

contemporary oncology

współczesna onkologia

Indexed in: Science Citation Index Expanded (Sci-Search), Journal Citation Reports, Index Copernicus, EMBASE, Elsevier Databases, Scopus, Sci-Finder, KBN/MNiSW, Directory of Open Access Journals (DOAJ) and OpenMed Database

TERMEDIA Publishing House

contemporary oncology

współczesna onkologia

Editorial Board

Prof. Andrea Ardizoni (Włochy)	Prof. Bogusław Maciejewski (Gliwice)
Prof. Thierry Le Chevalier (Francja)	Prof. Julian Malicki (Poznań)
Prof. Tanja Čufer (Słowenia)	Prof. Jan P. van Meerbeeck (Holandia)
Prof. Angus Dalglish (Wielka Brytania)	Prof. Paweł Murawa (Poznań)
Prof. Andrzej Deptała (Warszawa)	Prof. Jacek Nikliński (Białystok)
Prof. Michał Drews (Poznań)	Prof. Janusz Pawłęga (Kraków)
Prof. Soldano Ferrone (USA)	Prof. Marek Pawlicki (Kraków)
Prof. Fred R. Hirsch (USA)	Prof. Stanisław Radowicki (Warszawa)
Prof. Jerzy Hołowiecki (Katowice)	Prof. Czesław Radzikowski (Wrocław)
Prof. Paul Van Houtte (Belgia)	Prof. Giovanni Rosti (Włochy)
Prof. Wojciech Golusiński (Poznań)	Prof. Branimir I. Sikic (USA)
Prof. Jacek Jassem (Gdańsk)	dr hab. Janusz Skowronek (Poznań)
Prof. Wiesław W. Jędrzejczak (Warszawa)	Prof. Marek Spaczyński (Poznań)
Prof. Leszek Kaczmarek (Warszawa)	Prof. Stanisław Szala (Gliwice)
Prof. Maciej Krzakowski (Warszawa)	Prof. Cezary Szczylik (Warszawa)
Prof. Włodzimierz Krzyżosiak (Poznań)	Prof. Andrzej Szkaradkiewicz (Poznań)
Prof. Zbigniew Kwias (Poznań)	Prof. Maurizio Tonato (Włochy)
Prof. Andrzej Lange (Wrocław)	Prof. Maciej Ugorski (Wrocław)
Prof. Janusz Limon (Gdańsk)	Prof. Marek Wojtukiewicz (Białystok)
Prof. Jan Lubiński (Szczecin)	Piotr J. Wysocki (Poznań)
Prof. Jacek Łuczak (Poznań)	

layout

_studio termedia

print

Zakład Poligraficzny Moś i Łuczak sp.j.

Editor-in-Chief

Andrzej Mackiewicz
e-mail: andrzej.mackiewicz@wco.pl

Publisher

TERMEDIA sp. z o.o. Wydawnictwo Medyczne
e-mail: termedia@termedia.pl

Editors

Leszek Kaczmarek,
Włodzimierz Krzyżosiak,
Cezary Szczylik

Warsaw office

tel./faks +48 22 827 75 14
e-mail: biuro.warszawa@termedia.pl

Executive Editor

Piotr J. Wysocki

President of the Management Board

Editor-in-Chief of the Publishing House

Janusz Michalak
e-mail: j.michalak@termedia.pl

*Journal published under the auspices
of the Association for Fight Against Cancer
“Genes for Life” (Poznan)
and the Foundation of Experimental
and Clinical Oncology (Warsaw)*

Director of the Publishing House

Andrzej Kordas
e-mail: a.kordas@termedia.pl

www.termedia.pl
www.onkologia.termedia.pl

Editorial Office

Termedia sp. z o.o.
ul. Kleeberga 2, 61-615 Poznań
tel./faks +48 61 822 77 81

Marketing and Advertising

tel./faks +48 61 822 77 81 w. 508
e-mail: m.pretka@termedia.pl

Circulation of 2,500 copies

Distribution and Subscriptions

tel./faks +48 61 656 22 02
e-mail: w.powierza@termedia.pl

Project co-funded as part of the “Index Plus”
Programme of the Ministry of Science and Higher Education

*The advertisers shall be liable for the contents
of advertisements placed
in Contemporary Oncology.
Advertisements of prescription drugs are
intended only for physicians licensed
to prescribe them*

contemporary oncology

współczesna onkologia

Contents

Suppl. 1/2011

1 Programme
Program

9 Abstracts
Streszczenia

15 Plenary sessions and oral presentations
Sesje plenarne i sesja doniesień ustnych

79 Poster sessions
Sesja plakatowa

Ladies and Gentlemen, Friends,

On behalf of the Organizing and Science Committee I am pleased to welcome you to Poznan. We are happy you have joined the Third Congress of *Contemporary Oncology* [*Współczesna Onkologia*]: Tumour targeting of the “Cancer – a challenge of the 21st century” series.

A number of international experts in the field and the cream of Polish oncologists decided to come and discuss topics related to innovative oncology. The Second Congress held one year ago with the leading topic of personalized medicine continues today. Some of the invited speakers could not come last year due to the volcano eruption. They are in Poznan today. We have 62 invited speakers, experts in basic and clinical cancer research. Our ambition is to gather interdisciplinary specialists to discuss the current state-of-the-art and further development of tumour targeting. We are witnessing rapid development of new targeted therapies however; we are starting to face obstacles related to long-term clinical follow-ups.

The end of 2010 and the beginning of 2011 will be remembered as a breakthrough for the development of targeted active immunotherapy of cancer. The first therapeutic vaccine and anti-CTLA-4 antibodies were approved by the FDA for cancer treatment, ending scepticism towards active immunotherapy development. Similar scepticism lasting 20 years accompanied the development of therapeutic monoclonal antibodies until humanized and human antibodies production technology was developed. Today they are widely used in various cancer treatment strategies.

For the first time we have invited patients and patients’ organizations, both Polish and European, for the panel discussion “The patient as a partner of professionals in health care”. Participants will discuss the need to build a communication platform for patients, physicians and health care administration. Rules for correct relationships between patients, physicians, and health care administration will be suggested.

Contemporary Oncology has been published for 12 years. So far it has been published in Polish in order to “make it easy” for Polish oncologists. However, we are back to Europe and the free world so we need to use the language of science, which is English (often poor English). Thanks to all of you, *Contemporary Oncology* is indexed in a growing number of databases including the Science Citation Index. Thus it has its own impact factor. Accordingly, I invite you to submit your work and cite papers published in our journal. After the Congress we would like to publish in *Contemporary Oncology* lectures and results presented on posters. Hence, we invite speakers and poster presenters to submit full papers to the Editorial Office.

Once again, welcome. We wish you fruitful discussions and a pleasant stay in Poznan.

Andrzej Mackiewicz
Editor-in-Chief

Programme/Program

Thursday, April 14, 2011/Czwartek, 14 kwietnia 2011 r.		
10.00–12.15	<p style="text-align: center;">ROUND TABLE DISCUSSION Nothing about us without us – upright partnership with participation of Polish Cancer Patients Coalition PANEL DYSKUSYJNY <i>Nic o nas bez nas – rzetelne partnerstwo z udziałem Polskiej Koalicji Organizacji Pacjentów Onkologicznych</i></p>	
	Room A/Sala A	Room B/Sala B
13.00–14.30	<p style="text-align: center;">Session 1. Combinational treatment of hepatocellular carcinoma in the era of targeted therapies <i>Sesja 1. Skojarzone leczenie raka wątrobowokomórkowego w dobie leków ukierunkowanych molekularnie</i> Chair/Przewodniczący: A. Deptała, M.Z. Wojtukiewicz</p>	<p style="text-align: center;">Session 2. Molecular biology, diagnostics and cancer therapy <i>Sesja 2. Biologia molekularna, diagnostyka i cele terapii nowotworów</i> Chair/Przewodniczący: K. Szyfter, C. Cybulski</p>
13.00–13.20	<p>Morphological and molecular background of hepatocellular carcinoma <i>Morfologiczno-molekularne podłoże rozwoju raka wątrobowokomórkowego</i> A. Nasierowska-Guttmejer (Warsaw)</p>	<p>The Cancer Genome Atlas <i>Atlas Genomu Nowotworów</i> M. Wiznerowicz (Poznan)</p>
13.20–13.40	<p>Multi-disciplinary approach in hepatocellular carcinoma treatment <i>Interdyscyplinarne podejście do leczenia raka wątrobowokomórkowego</i> P. Małkowski (Warsaw)</p>	<p>Identification of new oncogenes and tumor suppressor genes associated with laryngeal squamous cell carcinoma by molecular biology <i>Identyfikacja nowych onkogenów i genów supresji nowotworowej związanych z płaskonabłonkowym rakiem krtani przy użyciu technik biologii molekularnej</i> K. Szyfter, M. Giefing, M. Jarmuż, M. Kostrzewska-Poczekaj, D. Brauze, N. Zemke, K. Pelińska, R. Siebert, R. Grenman (Poznan)</p>
13.40–14.00	<p>Sorafenib in the treatment of hepatocellular carcinoma – gold standard or medical experiment? <i>Sorafenib w leczeniu raka wątrobowokomórkowego – złoty standard czy eksperyment medyczny?</i> A. Deptała (Warsaw)</p>	<p>Tumor cells of laryngeal carcinoma show expression and functional features of various Toll-like-receptors <i>Komórki raka krtani wykazują ekspresję oraz cechy funkcjonalne różnych wzorców molekularnych receptorów Toll-podobnych</i> J. Sikora, M. Kaczmarek, M. Frydrychowicz, B. Brzezicha, M. Szczepański, G. Dworacki, T. Whiteside, J. Żeromski (Poznan)</p>
14.00–14.20	<p>What beyond sorafenib – other targeted therapies, classical chemotherapy or symptomatic treatment? <i>Co oprócz sorafenibu? Nowe leki celowane, klasyczna chemioterapia, a może leczenie objawowe?</i> M.Z. Wojtukiewicz (Białystok)</p>	<p>Design and generation of MLPA assay for parallel analysis of copy number and small-size mutations in EGFR gene <i>Opracowanie testu MLPA do jednoczesnej analizy zmienności liczby kopii i mutacji punktowych w genie EGFR</i> P. Kozłowski (Poznan)</p>
14.20–14.30	Discussion/Dyskusja	Discussion/Dyskusja
14.30–15.40	Lunch break/Przerwa na lunch	
	Room A/Sala A	Room B/Sala B
15.40–17.30	<p style="text-align: center;">Session 3. Personalization of treatment and targeted therapies I <i>Sesja 3. Personalizacja leczenia oraz terapie celowane I</i> Chair/Przewodniczący: J. Markowska, Ch. Zielinski</p>	
15.40–16.00	<p>Personalized medicine in cancer diagnosis and treatment <i>Medycyna spersonalizowana w diagnostyce i leczeniu nowotworów</i> Ch. Zielinski (Vienna)</p>	

		16.00-19.00	Session 4. Oral presentations <i>Sesja 4. Doniesienia ustne</i> Chair/Przewodniczący: D. Duś, M. Wiznerowicz
16.00 - 16.20	Analysis of the frequency of pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy with cisplatin in BRCA1 mutation carriers with breast cancer <i>Analiza częstości uzyskiwania całkowitych remisji patologicznych w leczeniu przedoperacyjnym cisplatyną BRCA1-zależnych raków piersi</i> T. Byrski (Szczecin)	16.00–16.20	Leukemic stem cells – hypotheses and facts <i>Macierzyste komórki białaczkowe – hipotezy i fakty</i> D. Duś
16.20–16.40	Bevacizumab in the first line ovarian cancer. Dilemma <i>Bewacizumab w leczeniu I rzutu raka jajnika. Dylemat</i> R. Mądry, J. Markowska (Poznan)	16.20–16.30	Analysis of suppressor genes PTEN, APC and DCC expression in endometrial carcinoma <i>Analiza ekspresji genów supresorowych PTEN, DCC, APC w raku endometrium</i> P. Grosman-Dziewiszek
		16.30–16.40	Co-occurrence of MGMT gene promoter methylation and amplification of EGFR in malignant gliomas <i>Ocena współwystępowania metylacji promotora genu MGMT i amplifikacji genu EGFR w złośliwych glejakach operowanych w Klinice Neurochirurgii CM UJ</i> D. Adamek
16.40–17.00	Possibilities of non-small cell lung cancer treatment using EGFR <i>Możliwości leczenia inhibitorami receptorów naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR) chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca</i> R. Ramlau (Poznan)	16.40–16.50	Heme oxygenase-1 is a key player in differentiation of melanoma cells <i>Oksygenaza hemowa 1 odgrywa istotną rolę w różnicowaniu komórek czerniaka</i> H. Waś
		16.50–17.00	Podoplanin expression by cancer-associated fibroblasts as an unfavorable marker of prognosis in invasive ductal breast carcinoma <i>Ekspresja podoplaniny w fibroblastach towarzyszących guzom jako niekorzystny czynnik prognostyczny w raku przewodowym gruczołu piersiowego</i> B. Puła
17.00–17.20	Tyrosine kinase inhibitors and cardiovascular system <i>Inhibitory kinaz tyrozynowych a układ sercowo-naczyniowy</i> S. Szmit (Warsaw)	17.00–17.10	Liposomes as carriers of anticancer drugs <i>Liposomy jako nośniki leków przeciwnowotworowych</i> I. Czopek
		17.10–17.20	Combination of DNA vaccine against endoglin and cyclophosphamide effectively inhibit tumor growth <i>Kombinacja szczepionki DNA skierowanej przeciwko endoglinie i cyklofosfamidowi skutecznie hamuje wzrost guzów nowotworowych</i> M. Jarosz
17.20–17.30	Discussion/Dyskusja		
17.30–17.40	Coffee break/Przerwa na kawę		
17.40–19.00	Session 5. Cancer genetics and biology <i>Sesja 5. Genetyka i biologia nowotworów</i> Chair/Przewodniczący: J. Lubiński, P. Kozłowski		
17.40–18.00	Selenoprotein genotypes as well as selenium levels in organisms are critical features of human cancer risk <i>Genotypy selenoprotein, a także stężenia selenu w organizmie jako kluczowe czynniki ryzyka wystąpienia raka u ludzi</i> J. Lubiński (Szczecin)	Session 4. Oral presentations continuance <i>Sesja 4. Doniesienia ustne cd.</i>	

18.00–18.20	Diagnostic significance of testing for mutations in the CHEK2 gene <i>Znaczenie diagnostyczne testów wykrywających nosicielstwo mutacji genu CHEK2</i> C. Cybulski (Szczecin)	18.00–18.10	The evaluation of the prognostic value of CYFRA 21-1 and IGF-1 in patients with advanced non-small cell lung cancer <i>Ocena wartości prognostycznej stężenia CYFRA 21-1 oraz IGF-1 u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca w zaawansowanym stadium</i> B. Mastyk
		18.10–18.20	Liposomes application for transport vanadium (IV) complexes in antitumor therapy <i>Zastosowanie liposomów do transportu związków wanadu (IV) w terapii antynowotworowej</i> A. Hałas
18.20–18.40	Genes of metastasizing in ovarian carcinoma <i>Geny przerzutowania w raku jajnika</i> A. Markowska, K. Jaszczyńska-Nowinka, J. Markowska (Poznan)	18.20–18.30	Nanoparticles for diagnosis and systems of drug delivery in contemporary oncology <i>Nanocząstki do diagnostyki i systemów dostarczania leków we współczesnej onkologii</i> M. Jarzębski
		18.30–18.40	Photodynamic reaction in combination with electroporation in human melanoma cells in vitro <i>Reakcja fotodynamiczna w połączeniu z elektroporacją na ludzkich komórkach czerniaka in vitro</i> N. Skotucka
18.40–19.00	Implications of cancer-associated systemic inflammation for biomarker discovery <i>Swoistość markerów nowotworowych w kontekście stanu zapalnego towarzyszącego rozwojowi nowotworów złośliwych</i> M. Chechlińska (Warsaw)	18.40–18.50	Sorafenib in hepatocarcinoma: effectiveness and appropriateness of drugs using the italian RFOM registry <i>Sorafenib w leczeniu raka wątroby: skuteczność oraz stosowność leków przy użyciu włoskiego rejestru RFOM</i> A. Jirillo
		18.50–19.00	Discussion/Dyskusja
19.00–19.40	POSTER VIEWING/SESJA PLAKATOWA		
19.40	OPENING CEREMONY		
	<ul style="list-style-type: none"> • Welcome address: J. Michalak, A. Mackiewicz • Key-note lecture: Expectations and facts: involvement of the immune system in the tumour growth and spread – A. Lange (Wroclaw) <ul style="list-style-type: none"> • Concert <p style="text-align: center;"><i>UROCZYSTE OTWARCIE KONGRESU</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Powitanie: J. Michalak, A. Mackiewicz • Wykład inauguracyjny: Oczekiwania i fakty: wpływ układu odpornościowego na wzrost i rozprzestrzenianie się nowotworu – A. Lange (Wroclaw) <ul style="list-style-type: none"> • Koncert 		
20.30–22.00	WELCOME RECEPTION/KOKTAIL POWITALNY		
Friday, April 15, 2011/ <i>Piątek, 15 kwietnia 2011 r.</i> All lectures will be simultaneously translated			
9.00–10.50	Session 6. Cancer biology I <i>Sesja 6. Biologia nowotworów I</i> Chair/Przewodniczący: C. Kieda, P. Sehgal		
9.00–9.20	All STAT proteins associate with mitochondria in different cell types <i>Wszystkie rodzaje białek STAT łączą się z mitochondriami w różnych typach komórek</i> P. Sehgal (New York)		
9.20–9.40	Targeting cancer stem cells – salinomycin as an example <i>Terapia celowana z zastosowaniem nowotworowych komórek macierzystych – na przykładzie salinomycyny</i> M. Los (Linköping)		
9.40–10.00	From stem cells to cancer: novel regulators of microRNAs <i>Od komórek macierzystych do nowotworu: nowe regulatory mikro-RNA</i> J. Dulak (Krakow)		

10.00–10.20	Control of tumor angiogenesis normalization to favor reversal of hypoxia <i>Kontrola neoangiogenezy nowotworowej prowadzi do odwrócenia hipoksji</i> C. Kieda (Orleans)
10.20–10.40	Pleiotropic effects of plasminogen activator inhibitor-1 in cancer <i>Pleiotropowe działanie inhibitora aktywatora plazminogenu typu 1 (PAI-I) w chorobie nowotworowej</i> C. Cierniewski (Lodz)
10.40–10.50	Discussion/Dyskusja
10.50–11.00	Coffee break/Przerwa na kawę
11.00–12.50	Session 7. Immunotargeting <i>Sesja 7. Immunoterapia celowana</i> Chair/Przewodniczący: E. Pennacchioli, S. Markowicz
11.00–11.20	Vaccination with salmonella of melanoma metastatic patients <i>Immunizacja szczepionką opartą na salmonelli chorych na przerzutowego czerniaka</i> E. Pennacchioli, A. Testori (Milan)
11.20–11.40	Dendritic cell-based vaccine as an adjuvant therapy for cancer patients <i>Szczepionka oparta na komórkach dendrytycznych w terapii uzupełniającej chorych na nowotwory</i> S. Markowicz (Warsaw)
11.40–12.00	Update on long term survival of high risk melanoma patients immunized with an allogeneic whole cell genetically modified vaccine (AGI-101) after complete resection <i>Długotrwałe przeżycia chorych na czerniaka z usuniętymi przerzutami immunizowanych alogeniczną komórkową szczepionką czerniakową (AGI-101)</i> A. Mackiewicz (Poznan)
12.00–12.20	New strategies in the treatment of advanced melanoma – anti-CTLA4 <i>Nowe strategie leczenia zaawansowanego czerniaka – blokada CTLA-4</i> R. Zaucha (Gdansk)
12.20–12.40	Role of immunotherapy in patients with non-small cell lung cancer – multicenter clinical trials <i>Rola immunoterapii w leczeniu chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca na podstawie wieloośrodkowych badań klinicznych</i> Ł. Spychalski, M. Bryl, R. Ramlau, A. Barinow-Wojewódzki (Poznan)
12.40–13.00	Targeted therapy in prevention and treatment of metastatic bone lesions <i>Terapie celowane w profilaktyce i leczeniu zmian wtórnych w kościach u chorych na nowotwory złośliwe</i> W. Rogowski
13.00–13.10	Discussion/Dyskusja
13.10–13.30	Sponsored lecture/Wykład sponsorowany Single cell PCR in cancer research and future diagnostic applications <i>PCR jednej komórki w badaniach i w przyszłości, w diagnostyce nowotworów</i> A. Toegl (Munich)
12.50–14.00	Lunch break/Przerwa na lunch
14.00–15.50	Session 8. Personalization of targeted therapy II <i>Sesja 8. Personalizacja terapii celowanej II</i> Chair/Przewodniczący: P. Gascon, M. Ratain
14.00–14.20	Current approaches to discovery of new polymorphisms of pharmacogenomic importance <i>Aktualne podejścia do nowo odkrytych polimorfizmów o znaczeniu farmakogenomicznym</i> M. Ratain (Chicago)
14.20–14.40	Polymorphisms as predicting factors for response of cancer targeted therapies and chemotherapy <i>Polimorfizmy jako czynniki predykcyjne odpowiedzi na leczenie celowane nowotworów i chemioterapię</i> S. Nawrocki (Olsztyn)
14.40–15.00	Can we optimize the use of monoclonal antibodies in oncology? <i>Czy możemy zoptymalizować leczenie przeciwciałami monoklonalnymi w onkologii?</i> P. Gascon (Barcelona)
15.00–15.20	Molecular basis of novel treatment strategies of advanced melanoma <i>Molekularne podstawy nowych strategii leczenia w zaawansowanym czerniaku</i> P. J. Wysocki (Poznan)
15.20–15.40	Expression and targeted inhibition of immunoregulatory protein, galectin-1 in classical Hodgkin lymphoma and post-transplant lymphoproliferative disorder <i>Ekspresja i celowana inhibicja białka immunoregulatorowego galektyny 1 w terapii chłoniaka Hodgkina i poprzyszczepowej chorobie limfoproliferacyjnej</i> P. Juszczyński (Warsaw)

15.40–16.00	Electrochemotherapy: from palliation to a consolidated treatment <i>Elektrochemioterapia: od paliacji do terapii skonsolidowanej</i> E. Pennacchioli, A. Testori (Mediolan)	
16.00–16.10	Discussion/Dyskusja	
16.10–16.20	Coffee break/Przerwa na kawę	
16.20–19.20	Session 9. New targets and therapy development <i>Sesja 9. Nowe cele oraz rozwój terapii</i> Chair/Przewodniczący: A. Lange, C. Szczylik	
16.20–16.40	New treatment algorithms of biologic treatment in metastatic renal cancer <i>Nowe algorytmy terapii biologicznej raka nerki z przerzutami</i> C. Szczylik (Warsaw)	
16.40–17.00	New targets in therapy of gastrointestinal stromal tumors <i>Nowe cele w terapii nowotworów podścieliska przewodu pokarmowego</i> P. Rutkowski (Warsaw)	
17.00–17.20	Perspectives and difficulties in rational design of targeted therapies in diffuse large B-cell lymphoma: a translational view <i>Perspektywy i trudności z opracowywaniem terapii celowanych w przypadku chłoniaków z dużych komórek B: od koncepcji do kliniki</i> P. Juszczyński, K. Warzocha (Warsaw)	
17.20–17.40	New monoclonal antibodies close to registration for lymphoma treatment and active epigenetic agents (HDACi, IMiDs) <i>Nowe przeciwciała monoklonalne u progu rejestracji w leczeniu chłoniaków oraz nowe aktywne czynniki epigenetyczne (HDACi, IMiDs)</i> J. Walewski (Warsaw)	
17.40–17.50	Coffee break/Przerwa na kawę	
17.50–18.10	Chronic myeloproliferative neoplasms and Janus kinase 2 gene (JAK2) and thrombopoietin receptor gene (MPL) mutations <i>Przewlekłe nowotwory mieloproliferacyjne a mutacje genu kinazy Janusowej 2 (JAK2) i genu receptora dla trombopoetyny (MPL)</i> K. Lewandowski (Poznan)	
18.10–18.30	ASPS, DFSP, PVNS, GCTB, PEComa and other rare sarcomas – role of molecular targeting <i>ASPS, DFSP, PVNS, GCTB, PEComa i inne rzadko występujące mięsaki – rola leczenia ukierunkowanego molekularnie</i> T. Świtaj (Warsaw)	
18.30–18.50	Classification of targeted therapies used in neoplastic disorders of hematopoietic system <i>Klasyfikacja terapii celowanych w nowotworach układu krwiotwórczego</i> W.W. Jędrzejczak (Warsaw)	
18.50–19.10	Significant potential of bevacizumab in glioma treatment <i>Wysoka skuteczność bevacizumabu w leczeniu glejaków</i> W. Abumoammar (Warsaw)	
19.10–19.20	Discussion/Dyskusja	
20.15	BANQUET/BANKIET	
Saturday, April 15, 2011/Sobota, 16 kwietnia 2011 r.		
	Room A/Sala A	Room B/Sala B
9.00–11.20	Session 10. Cancer biology II and treatment <i>Sesja 10. Biologia nowotworów II oraz leczenie</i> Chair/Przewodniczący: B. Kamińska-Kaczmarek, S. Szala	Session 11. Progress in therapy <i>Sesja 11. Postępy terapii</i> Chair/Przewodniczący: M. Reinfus, P. Milecki
9.00–9.20	Mitochondrial failure in cell transformation <i>Zaburzenia mitochondrialne w procesie nowotworzenia</i> A.M. Czarnecka (Warsaw)	Paliative radiotherapy of the thorax in non-small cell lung cancer – what could be improved? <i>Radioterapia paliatywna klatki piersiowej w niedrobnokomórkowym raku płuca – co można udoskonalić?</i> M. Reinfuss, M. Hetnał (Krakow)

9.20–9.40	Tumor blood vessels <i>Nowotworowe naczynia krwionośne</i> S. Szala (Gliwice)	Prostate cancer: for which patients the local therapy, local and regional, and local and systemic? <i>Rak prostaty: dla jakich pacjentów leczenie miejscowe, miejscowe i regionalne, miejscowe i systemowe?</i> P. Milecki (Poznan)
9.40–10.00	Cancer stem cells as targets of anti-cancer therapy <i>Nowotworowe komórki macierzyste jako cele terapii przeciwnowotworowej</i> J.K. Siwicki (Warsaw)	Numerous fractionation schedules in brachytherapy of prostate cancer – clinical implications <i>Wiele schematów frakcjonowania w brachyterapii raka gruczołu krokowego – implikacje kliniczne</i> M. Kanikowski, J. Skowronek, A. Chichet (Poznan)
10.00–10.10	Coffee break/Przerwa na kawę	
10.10–10.30	Dissecting signal transduction in discrete components of tumor microenvironment to select new therapeutic targets <i>Przeznaczność sygnału w mikrośrodowisku nowotworu i macierzystych komórkach nowotworowych jako nowy cel terapeutyczny</i> B. Kamińska-Kaczmarek (Warsaw)	Innovations in head and neck surgery <i>Innowacje w chirurgii głowy i szyi</i> W. Golusiński (Poznan)
10.30–10.50	Mechanisms of acquired resistance to the MEK1/2 inhibitor AZD6244 in tumour cells <i>Mechanizmy nabytej odporności na AZD6244 inhibitor MEK1/2 w komórkach nowotworowych</i> S.J. Cook (Cambridge)	Blood dissemination of non-advanced endometrial cancer <i>Rozsiew krwio pochodny u chorych na niezaawansowanego raka endometrium</i> M. Reinfuss, P. Blecharz (Krakow)
10.50–11.10	The role of ceramide galactosyltransferase (UGT8), new molecular marker of breast cancer malignancy and lung metastasis, in tumor progression <i>Znaczenie galaktozylotransferazy UDP-galaktoza: ceramid (UGT8), nowego markera molekularnego złośliwości raka piersi i przerzutów do płuc w progresji choroby nowotworowej</i> M. Ugorski (Wroclaw)	Efficacy measurement in second line treatment of metastatic renal cell carcinoma <i>Ocena skuteczności drugiej linii leczenia przerzutowego raka nerki</i> P. Tomczak, M. Litwiniuk, P. Kolenda, M. Chajewska-Ciekańska (Poznan)
11.10–11.20	Discussion/Dyskusja	Discussion/Dyskusja
11.20–11.30	Coffee break/Przerwa na kawę	
11.30–12.40	Session 12. Targeted therapies II <i>Sesja 12. Terapie celowane II</i> Chair/Przewodniczący: D. Kowalczyk, J. Roliński	Session 13. Progress of therapy, diagnostics and prevention <i>Sesja 13. Postępy terapii, diagnostyki i profilaktyki</i> Chair/Przewodniczący: M.A. Komarnicki, M. Chechlińska
11.30–11.50	New perspectives for application of dendritic cells in cancer immunotherapy <i>Nowe perspektywy zastosowania komórek dendrytycznych w immunoterapii nowotworów</i> J. Roliński (Lublin)	Current therapies of chronic lymphoblastic leukemia <i>Współczesne leczenie przewlekłej białaczki limfocytowej</i> M.A. Komarnicki (Poznan)
11.50–12.10	Application of iNKT cells in cancer immunotherapy <i>Zastosowanie komórek iNKT w immunoterapii nowotworów</i> I. Hus (Lublin)	Receptor PET with somatostatin analogs labeled with positron gal in neuroendocrine cancers <i>Pozytonowa tomografia emisyjna (PET) receptorowa z użyciem analogów somatostatyny znakowanych galem pozytonowym w rakach neuroendokrynnych</i> Z. Wygoda (Gliwice)
12.10–12.30	Target therapy of neuroendocrine neoplasms: results of the treatment with radiolabelled somatostatin analogues <i>Leczenie celowane nowotworów neuroendokrynnych: ocena wyników terapii znakowanymi analogami somatostatyny</i> D. Handkiewicz-Junak (Gliwice)	Why do Polish women not have preventive examinations? What needs to be changed? <i>Dlaczego kobiety w Polsce nie zgłaszają się na badania profilaktyczne – co trzeba zmienić?</i> A. Dyzmann-Sroka (Poznan)

12.30–12.40	Discussion/Dyskusja	Discussion/Dyskusja
12.40–12.50	Coffee break/Przerwa na kawę	
12.50–13.50	Session 14. Paraneoplastic syndromes and polyneuropathies induced by the anticancer therapy <i>Sesja 14. Zespoły paranowotworowe i polineuropatie indukowane terapią przeciwnowotworową</i> Chair/Przewodniczący: D. Łycki, R. Zaucha	
12.50–13.10	Neurological paraneoplastic syndromes <i>Neurologiczne zespoły paranowotworowe</i> R. Zaucha (Gdansk)	
13.10–13.30	Polyneuropathies in hematological malignancies <i>Polineuropatie w chorobach rozrostowych układu krwiotwórczego</i> A. Niezgoda (Poznan)	
13.30–13.50	Peripheral neuropathies induced by the anticancer treatment <i>Obwodowe neuropatie indukowane leczeniem onkologicznym</i> D. Łycki (Poznan)	
14.00	CLOSING CEREMONY Awards for the best publication in <i>Contemporary Oncology</i> (Współczesna Onkologia) in 2010 Awards for the best oral presentation submitted Awards for the best poster ZAKOŃCZENIE KONFERENCJI <i>Wręczenie nagród za najlepszą publikację w Contemporary Oncology (Współczesna Onkologia) w 2010 r.</i> <i>Wręczenie nagród za najlepszą prezentację ustną zgłoszoną na Kongres</i> <i>Wręczenie nagród za najlepszy plakat zgłoszony na Kongres</i>	

Abstracts

Streszczenia

Key-note lecture

Wykład inauguracyjny

[1]

Expectations and facts: involvement of the immune system in the tumour growth and spread

Oczekiwania i fakty udziału układu odpornościowego we wzroście i rozprzestrzenianiu się nowotworu

Andrzej Lange

Zakład Immunologii Klinicznej, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Dolnośląskie Centrum Transplantacji Komórkowej z Krajowym bankiem Dawców Szpiku we Wrocławiu

Limfocyty T montują odporność przeciwko strukturom zawierającym epitopy rozpoznawane przez ich receptory. Organizacja tej odporności związana jest z wykorzystaniem odporności humoralnej w obszarze odporności komórkowej pomocniczych komórek, wśród których makrofagi odgrywają dominującą rolę. Doskonale zorganizowana odporność spostrzegana jest przez pokolenia lekarzy jako narzędzie zwalczania nowotworów. Problem polega na tym, że niekiedy odporność rozpoznaje nowotwór jako coś obcego. Aby pomóc odporności, opracowano cały katalog antygenów związanych z nowotworem, a jeżeli nie można było zdefiniować takiego antygeny, który byłby antygenem publicznym charakteryzującym ogół nowotworów określonego pochodzenia, zaczęto poszukiwać specyficzności prywatnych przypisanych danemu nowotworowi na zasadzie polimorfizmu genów kodujących struktury powierzchniowe guzów. Takie prywatne antygeny, wynik polimorfizmu genu, mają być odpowiedzialne za przypisane konkretnym osobom spontaniczne regresje raka nerki. Nie jest to regresja spontaniczna, a właśnie wywołana przez limfocyty T spostrzegające antygen nowotworu, który różni się od podobnego w innych tkankach w następstwie polimorfizmu genu.

Jeżeli zgodzimy się, że układ odpornościowy może zniszczyć nowotwór, a obecność antygenów związanych z nowotworem może wywołać odporność, to dlaczego tak się nie dzieje w normalnej sytuacji? Prototypem takiego działania jest aktywność przeciwnowotworowa w nowotworach krwi, którą egzekwują przeszczepione obce komórki. Jest to wprawdzie aloreaktywność, ale również dowód na to, że układ odpornościowy może zniszczyć nowotwór. Podobne działanie w raku nerki, tzn. przeszczepienie alogenicznego szpiku jako immunoterapii przeciwnowotworowej, nie ma uznanej efektywności, ponieważ sama procedura jest zbyt obciążająca a przeszczepione komórki niekiedy są zainteresowane zwalczaniem nowotworu, który wprawdzie jest obcy, ale komórki niszczące nowotwór muszą mieć tak jak sokół wypuszczony na polowanie zdjęty kaptur z głowy.

Istnieje system kontrolujący jakość i wysokość odpowiedzi immunologicznej. Mamy przed oczyma obrazy raka jajnika, w których to przypadkach limfocyty T znajdowały się w otoczeniu guza, niekiedy infiltrując jego wnętrze.

Łatwiej limfocytom T szło w środowisku wysięku nowotworowego na co wskazuje związane a dłuższym przeżyciem nagromadzenie się w wysięku efektorowych limfocytów T. Okazało się, że obecne w środowisku guza limfocyty supresorowe mogą hamować aktywność przeciwnowotworową limfocytów T, które zdolne są do tej odpowiedzi. To hamowanie efektywności limfocytów T przez komórki supresujące (FoxP3+) może mieć miejsce już na poziomie prezentacji antygeny przez komórki dendrytyczne. Wykazano ten mechanizm tolerancji nowotworu w raku stercza. Wykazaliśmy, że zwiększona proporcja regulatorowych komórek (CD4+CD25++) u chorych po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych wiąże się z większym ryzykiem rozwoju nowotworu. Wykazano, że komórki regulatorowe niezależnie od tego czy są w tkance w przebiegu raka czy zapalenia jelita są morfologicznie i czynnościowo takie same. Blokowanie istotnego w ich działaniu receptora CTLA4 (CD 152) ma już swoją dobrą kartę w leczeniu chorych z czerniakiem.

Ważne obserwacje związane są z nie tak dawno opisaną populacją limfocytów T produkujących interleukinę 17 (Th17). Okazało się, że interleukina ta może ograniczać rozprzestrzenianie się miejscowe i odległe nowotworu. Problem efektywności a częściej jej braku jest upośledzenie napływu tych limfocytów do tkanki nowotworowej, które tylko wtedy tam się zgromadzą jeżeli wydzielana jest odpowiednia chemokina. Limfocyty Th17 mają receptor CCR6 i mogą odpowiadać na sygnał. Potrzebna jest tylko zachęta, która może mieć formę modyfikacji genetycznej guza lub działania farmakologicznego. Przykładem tego ostatniego działania jest stosowanie interferonu α w niektórych nowotworach.

Kolejnym przełomem myślowym są ostatnio opublikowane dane o współdziałaniu chemioterapeutyku i przeciwciała przeciwko receptorowej CD40 w leczeniu chorych na raka trzustki. Okazało się, pobudzenie tego receptora na limfocytach T, za ich widocznie udziałem, aktywuje makrofagi do niszczenia raka. Podobnym działaniem pobudzającym odporność przeciwnowotworową jest oryginalna polska szczepionka przeciwczeriakowa. Wykorzystanie w niej genu Hyper-IL-6 (chimera sIL-6R/IL-6) modyfikującego alogeniczne komórki czerniaka promuje spostrzeganie przez układ odpornościowy związanych z guzem specyficzności z korzystnym przeciw nowotworowym działaniem. Każde miesiące to nowe odkrycia w obszarze podstawowej immunologii bo one determinują nowe immunoterapeutyczne przedsięwzięcia. Wiele z nich pozwala już teraz na uratowanie szeregów istnień ludzkich.

Cytowane w pracy informacje są w części wynikiem współpracy z obecnymi lub niedawnymi kolegami z laboratorium, że wymienię tylko Inkę Kryczek i Aleksandrę Klimczak. Prace nad komórkami FoxP3 i Th17 prowadzone są w ramach grantu N R13 0082 06 (Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego).

ROUND TABLE DISCUSSION

Nothing about us without us – upright partnership with participation of Polish Cancer Patients Coalition

PANEL DYSKUSYJNY

Nic o nas bez nas – rzetelne partnerstwo z udziałem Polskiej Koalicji Organizacji Pacjentów Onkologicznych

[2]

The prognosis of cancer incidence in Wielkopolska in 2018

Prognoza występowania nowotworów złośliwych w Wielkopolsce w 2018 roku

Dariusz Godlewski, Piotr Wojtyś

Background: The cancer incidence in Wielkopolska in 2018 was one of the highest in the country and was higher than in Poland by 21% in men and by 14% in women. We can quantify the future burden of cancer from two different perspectives: the number of new cancer cases and age-standardized rates (taking account the changes in age composition and size of the population).

Aim of the study: The prognosis of number of new cancer cases and cancer incidence in Wielkopolska in 2018.

Material and methods: These projections of number of cancer cases, age specific rates and age-standardized rates for 2018 (all cancers and the most frequent cancers for men and women) has been based on the historical trends of cancer incidence in Wielkopolska in 1999-2008 and demographical prognosis of Central Statistical Office using the method of Hakulinen and Dyba.

Results: There will be over 9000 new cancer cases in men in Wielkopolska in 2018 and nearly 8000 in women. Compare to the period 2004-2008 the number of cancer cases will increase by 50% for men and by 30% for women. The increase of cancer incidence for both sexes will be observed. In 2018 the increase of colorectal cancer incidence for both sexes, lung and breast cancer incidence for women, prostate cancer incidence for men will be observed. For cervix cancer in women and lung cancer for men the incidence will decrease.

Conclusions: The predicted cancer incidence increase in Wielkopolska and in Poland in 2018 will be the results of: the changes in the population demography (bigger impact of the older age groups), the influence of the cancer risk factors (mainly smoking) and the participation in the screening programs.

Wstęp: W 2008 r. zachorowalność na nowotwory złośliwe w Wielkopolsce należała do najwyższych w kraju i była wyższa niż średnia dla Polski o 21% u mężczyzn oraz o 14% u kobiet. Analiza występowania nowotworów w przyszłości wynika z interpretacji dwóch mierników: liczby zachorowań oraz współczynnika zachorowalności standaryzowanego względem wieku (wpływ czynników niezależnych od zmian w strukturze wieku populacji).

Cel pracy: Wykonanie prognozy liczby zachorowań oraz zachorowalności na nowotwory złośliwe w Wielkopolsce w 2018 r.

Materiał i metody: Przewidywane liczby zachorowań, wartości specyficzne dla grup wieku oraz zachorowalność standaryzowaną względem wieku w 2018 r. dla wszystkich nowotworów ogółem oraz dla najczęstszych umiejscowień u mężczyzn i kobiet obliczono na podstawie trendów historycznych występowania nowotworów złośliwych w Wielkopolsce w latach 1999–2008 oraz prognoz demograficznych Głównego Urzędu Statystycznego, przy użyciu metody opracowanej przez Hakulinena i Dybę.

Wyniki: W 2018 r. w Wielkopolsce rozpoznanych zostanie ponad 9000 nowych przypadków zachorowań na nowotwory złośliwe u mężczyzn oraz prawie 8000 u kobiet. W porównaniu z okresem 2004–2008 nastąpi ok. 50-procentowy wzrost liczby zachorowań u mężczyzn i 30-procentowy u kobiet. Zachorowalność na nowotwory złośliwe wzrośnie dla obu płci. Obserwowany będzie wzrost zachorowalności na nowotwory złośliwe jelita grubego i odbytnicy u obu płci, piersi oraz płuca u kobiet oraz gruczołu krokowego u mężczyzn. Tendencja spadkowa zachorowalności wystąpi dla nowotworów szyjki macicy u kobiet oraz płuca u mężczyzn.

Wnioski: Prognozowany wzrost liczby zachorowań na nowotwory złośliwe oraz wzrost zachorowalności w Wielkopolsce i w Polsce w 2018 r. będzie wynikiem zmian w strukturze demograficznej populacji (większy udział procentowy starszych grup wiekowych), wpływu czynników ryzyka (przede wszystkim palenia papierosów) oraz uczestnictwa w programach badań przesiewowych.

[3]

Breast cancer screening program attitudes among women from Wielkopolska. The report from Focus Group Interview (FGI) studies

Postawy mieszkanek województwa wielkopolskiego wobec profilaktycznych badań mammograficznych.

Raport z badań jakościowych FGI

Dariusz Godlewski, Małgorzata Adamczak, Paulina Pietrzak

Center of Cancer Prevention and Epidemiology, Poznań

Aim of the study: The assessment of breast cancer screening program attitudes among women from Wielkopolska. The research was ordered by the Center of Cancer Prevention and Epidemiology in Poznań. It was conducted between 30.01.2009 and 11.02.2009.

Material and methods: The research has been conducted in the Breast Cancer Screening Program target group (women between 50 to 69 years old). This program is in Poland financed by the NFZ. Participants were divided into six groups of 7-12 women by place of residence and level of education.

The Focus Group Interview was used. There was a scenario for the discussion prepared. The conversation was led by the moderator in groups of women. The discussion was conducted as informal as it was possible. The main aim of moderator was to encourage women to exchange opinions spontaneously.

Conclusions:

1. Women do not attend breast cancer screening program because they do not receive invitations.
2. Mammography in mobile mammography units is the best solution for women from towns and villages because they do not have to worry about traveling to the city.
3. Some of the women from families without the history of cancers think that they will be never diagnosed with cancer.
4. The biggest irrational reason for avoiding mammography is the fear of cancer diagnosis.
5. The recent mass media mess about the low quality of mammography (especially in mobile units) is still in women's memory.
6. Most of respondents avoid contacts with the health service.

Cel pracy: Określenie postaw mieszkank województwa wielkopolskiego wobec profilaktycznych badań mammograficznych. Socjologiczne badanie jakościowe na zlecenie Ośrodka Profilaktyki i Epidemiologii Nowotworów w Poznaniu zostało przeprowadzone w dniach od 30.01.2009 do 11.02.2009 r.

Materiał i metody: Mieszkanki województwa wielkopolskiego w wieku 50–69 lat, adresatki programu profilaktycznych badań mammograficznych finansowanych przez Narodowy Fundusz Zdrowia. Uczestniczki zostały podzielone na 6 grup z uwzględnieniem miejsca zamieszkania i wykształcenia.

Focus Group Interview (Zogniskowany Wywiad Grupowy) – prowadzenie przez moderatora wg przygotowanego scenariusza dyskusji w 7–12 osobowych grupach. Dyskusja przebiega w sposób możliwie mało sformalizowany. Celem moderatora jest uruchomienie spontanicznej wymiany opinii pomiędzy uczestnikami grupy.

Wnioski:

1. Kobiety nie zgłaszają się na bezpłatne badania mammograficzne, dlatego że nie docierają do nich zaproszenia na mammografię.
 2. Badanie w mammobusie jest najwygodniejsze dla kobiet z małych miast i ze wsi, bo nie naraża ich na wydatki i stres, który towarzyszy wyprawie do dużego miasta.
 3. Część kobiet z rodzin, w których nie było choroby nowotworowej, uważa, że nie zachoruje na raka.
 4. Najważniejszym z irracjonalnych powodów unikania badań mammograficznych jest strach przed wykryciem nowotworu.
 5. Burza medialna wokół jakości mammografii mocno utkwiła w świadomości kobiet. Wątpliwości co do jakości i sprawności mammografów dotyczą przede wszystkim mammobusów.
 6. Większość respondentek unika kontaktów ze służbą zdrowia.
-

Poster sessions

Sesja plakatowa

Sesja plakatowa

[80]

Prevalence and prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication in pediatric acute myeloid leukemia (AML) in Poland

Częstość występowania i znaczenie prognostyczne wewnętrznej tandemowej duplikacji w genie *FLT3* u dzieci z ostrą białaczką szpikową (AML) w Polsce

T. Książek¹, K. Szewczyk¹, G. Wątor², J.J. Pietrzyk³,
W. Balwierz¹, M. Matysiak⁴, B. Sikorska-Fic⁴,
A. Balcerska⁵, L. Maciejka-Kapuścińska⁶,
T. Szczepański⁶, R. Tomaszewska⁶, J. Kowalczyk⁷,
B. Wójcik⁷, M. Krawczuk-Rybak⁸, K. Muszyńska-Rostań⁸,
W. Młynarski⁹, A. Jasińska⁹, T. Urański¹⁰,
E. Kamieńska¹⁰, G. Sobol¹¹, A. Mizia-Malarz¹¹,
M. Wieczorek¹², I. Karpińska-Derda¹², G. Karolczyk¹³,
J. Podhorecka¹³, M. Wysocki¹⁴, S. Kottan¹⁵, A. Chybicka¹⁵,
J. Wachowiak¹⁶

¹Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej, PA Instytut Pediatrii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

²Zakład Genetyki Medycznej, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

³Klinika Chorób Dzieci, PA Instytut Pediatrii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

oraz współpracujące ośrodki Polskiej Pediatricznej Grupy ds. Leczenia Białaczek i Chłoniaków (PBGLBC): ⁴Warszawa,

⁵Gdańsk, ⁶Zabrze, ⁷Lublin, ⁸Białystok, ⁹Łódź, ¹⁰Szczecin,

¹¹Katowice, ¹²Chorzów, ¹³Kielce, ¹⁴Bydgoszcz, ¹⁵Wrocław,

¹⁶Poznań

Background: The *FLT3* gene encodes a tyrosine kinase receptor which participates in regulation of proliferation and differentiation of hematopoietic stem cells. An internal tandem duplication of *FLT3* gene (FLT3/ITD) occurs in AML with different frequency, in pediatric AML between 5.3% and 27.7%. Prognostic significance of FLT3/ITD in pediatric AML is not fully known, but in some therapeutic protocols this mutation qualifies patients to high risk group (HR).

Aim of the study: The aim of the study is to define the prevalence of FLT3/ITD mutation in pediatric AML in a Polish population and to evaluate its prognostic significance.

Material and methods: Molecular study included 107 patients (0,1-18,5 years) with *de novo* AML since March 2006 till November 2009, treated with AML-BFM 2004 INTERIM protocol in 14 centers of PBGLBC. The samples of blood and bone marrow were collected during diagnosis. Genomic DNA samples were tested for the presence of FLT3/ITD by PCR amplification of exon 14 and 15 of *FLT3* gene. Products were resolved on 3% agarose gel. In the presence of FLT3/ITD⁺, patients were qualified to HR group (except for children with Down syndrome and promyelocytic leukemia), which was associated with more intensive treatment. The influence of FLT3/ITD presence on frequency of deaths due to progression of AML and on frequency of disease relapse was assessed within the HR. Observations ended on 30 November 2010.

Results and conclusions: In the study population of 107 patients, 37 children were qualified to SR group and 70 to HR group. The presence of FLT3/ITD mutation was detected in 10 of 107 cases (9.3%), 9 of them in HR (12.9%). Within HR in both analyzed subgroups (FLT3/ITD⁺ and FLT3/ITD⁻), there was no predominance of particular FAB class ($p > 0.10$), however it was showed significant differences in the average percentage of peripheral blast cell number ($82.3 \pm 15\%$ vs. $44.9 \pm 33.3\%$, $p = 0.0047$). The analysis did not demonstrate significant differences in the frequency of deaths due to progression of AML ($p = 0.684$) and incidence of disease relapse ($p = 0.2795$) depending on the presence of FLT3/ITD. This study is a part of attempt to evaluate the predictive value of FLT3/ITD mutation in pediatric AML.

Wstęp: Gen *FLT3* koduje receptorową kinazę tyrozynową uczestniczącą w regulacji namnażania i różnicowania hematopoetycznych komórek macierzystych. Wewnętrzna tandemowa duplikacja w *FLT3* (FLT3/ITD) występuje w AML z różną częstością, u dzieci w zakresie 5,3–27,7%.

Jej znaczenie prognostyczne w dziecięcej AML nie jest w pełni poznane, jednak w niektórych protokołach terapeutycznych obecność mutacji FLT3/ITD kwalifikuje pacjenta do grupy wysokiego ryzyka (HR).

Cel pracy: Określenie częstości występowania mutacji FLT3/ITD w AML u dzieci w populacji polskiej oraz próba oceny znaczenia prognostycznego tej nieprawidłowości.

Materiał i metody: Badaniami molekularnymi objęto 107 pacjentów (0,1–18,5 roku) z nowo rozpoznaną AML w okresie od marca 2006 r. do listopada 2009 r., leczonych wg protokołu AML-BFM 2004 INTERIM w 14 ośrodkach PBGLBC. Od dzieci w czasie diagnozy pobierano szpik kostny i krew obwodową. Próbkę wyizolowanego DNA badano pod kątem obecności FLT3/ITD, za pomocą reakcji PCR obejmującej egzon 14 i 15 genu *FLT3*. Detekcje produktów prowadzono w 3-procentowym żelu agarozowym. W przypadku FLT3/ITD⁺ pacjenci byli kwalifikowani do HR (oprócz dzieci z zespołem Downa i białaczką promielocytową), co łączyło się z bardziej intensywnym leczeniem. Oceniono wpływ obecności FLT3/ITD na częstość zgonów z powodu progresji AML oraz na występowanie wznowy choroby w obrębie HR. Obserwacje zakończono 30 listopada 2010 r.

Wyniki i wnioski: Wśród 107 ocenianych pacjentów, 37 dzieci zakwalifikowano do grupy SR, a 70 do HR. Obecność FLT3/ITD łącznie stwierdzono w 10 (9,3%) przypadkach, w tym 9 (12,9%) w HR. W grupie HR w obu analizowanych podgrupach (FLT3/ITD⁺ oraz FLT3/ITD⁻) nie zaobserwowano dominującego typu FAB ($p > 0,10$), stwierdzono jednak istotne różnice w średnim odsetku blastozy obwodowej ($82,3 \pm 15\%$ vs $44,9 \pm 33,3\%$, $p = 0,0047$). Nie wykazano istotnego wpływu FLT3/ITD⁺ ani na częstość zgonów z powodu progresji AML ($p = 0,684$), ani na występowanie wznowy choroby ($p = 0,2795$). Przeprowadzone badanie wpisuje się w problem oceny wartości predykcyjnych mutacji FLT3/ITD w AML u dzieci.

[81]

Methylation profile of chosen TSGs in normal thyroid tissue adjacent to primary PTC

Analiza profilu metylacji regionów promotorowych wybranych genów supresorowych (TSGs) w tkance otaczającej pierwotną zmianę nowotworową tarczycy

Monika Migdalska-Sęk, Karolina Czarnecka, Dorota Pastuszek-Lewandoska, Ewa Nawrot, Ewa Brzezińska

Department of Molecular Bases of Medicine, I Chair of Internal Diseases, Medical University of Lodz

Wstęp: Hipermetylacja regionów promotorowych genów supresorowych (TSGs) jest epigenetycznym mechanizmem ich funkcjonalnego wyciszenia. W ognisku pierwotnym raka brodawkowatego tarczycy (PTC) modyfikacje epigenetyczne stwierdzono dla wielu TSGs, dotąd nie przeprowadzono jednak analizy poziomu metylacji TSGs w tkance prawidłowej, otaczającej pierwotne ognisko nowotworowe.

Cel pracy: Odpowiedź na pytanie, czy w gruczole tarczowym obecność metylacji TSGs jest charakterystyczna tylko dla zmian nowotworowych, czy występuje również w tkance niezmięnionej makroskopowo, otaczającej PTC.

Materiał i metody: Fragmenty tkanek tarczycy pobrane od pacjentów z rozpoznaniem PTC wraz z marginesem tkanki niezmięnionej makroskopowo ($n = 11$).

Konwersja bisulfidowa genomowego DNA. Amplifikacja w reakcji MS-PCR zmetylowanych i niezmetylowanych fragmentów sekwencji promotorowych genów *ARHI*, *p16INK4A*, *KCNQ1*, *MEST*, *RASSF1*, *SLC5A8*, *VHL*, *CDH1*. Ocena jakościowa i ilościowa (indeks metylacji – MI) produktów MS-PCR w zautomatyzowanej elektroforezie (na płytках DNA LabChip).

Wyniki: Analiza jakościowa wykazała obecność alleli zmetylowanych i niezmetylowanych badanych TSGs zarówno w PTC, jak i w tkance prawidłowej otaczającej zmianę. Najwyższą częstość występowania metylacji obserwowano dla genów *ARHI*, *CDH1*, *p16INK4A*, *MEST* i *RASSF1A*. Tylko w przypadku *KCNQ1* nie stwierdzono obecności alleli zmetylowanych. Analiza ilościowa potwierdziła bardzo wysoki poziom metylacji (wartości MI) genu *ARHI* oraz nieco niższy w przypadku *CDH1* i *RASSF1A*. Poziom metylacji badanych TSGs tylko nieznacznie był wyższy w grupie PTC.

Wnioski: Zmiany poziomu metylacji TSGs w gruczole tarczowym można uznać za wczesne zdarzenie molekularne, charakteryzujące nie tylko zmiany nowotworowe. Epigenetyczne modyfikacje analizowanych genów mogą mieć znaczenie funkcjonalne w procesie nowotworzenia w gruczole tarczowym. Zjawisko to może jednak reprezentować tzw. kancerogenezę płaszczyznową.

Introduction: Promoter hypermethylation of tumor suppressor genes (TSGs) represents epigenetic mechanism of their functional silencing. In primary papillary thyroid carcinoma (PTC) epigenetic modifications were observed for several TSGs, although there is a lack of such studies involving normal thyroid tissue adjacent to PTC.

Aim: Answer to the question if TSG methylation is a genetic alteration found only in the malignant thyroid tissue or is it also present in the surrounding normal tissue.

Material and methods: Thyroid tissue samples from patients with PTC obtained from the centre of primary lesion and the adjacent noncancerous tissue, macroscopically unchanged ($n = 11$).

Sodium bisulfite modification of DNA. Methylation-specific polymerase chain reaction (MS-PCR) using methylated and unmethylated primers for 8 TSGs: *ARHI*, *p16INK4A*, *KCNQ1*, *MEST*, *RASSF1*, *SLC5A8*, *VHL*, *CDH1*. Qualitative and quantitative (Methylation Index, MI) assessment of MS-PCR products in automated electrophoresis (using DNA LabChip plates).

Results: Qualitative analysis revealed the presence of methylated and nonmethylated alleles both in PTC and normal thyroid tissue for all genes, except one (*KCNQ1*). The highest methylation frequency was observed for *ARHI*, *CDH1*, *p16INK4A*, *MEST* and *RASSF1A*. Quantitative assessment confirmed very high methylation level (MI values) for *ARHI* and a little bit lower for *CDH1* and *RASSF1A*. Methylation levels of the studied TSGs were only slightly higher in PTC group.

Conclusions: Alterations of TSG methylation levels in thyroid tissue may be considered as an early molecular event, specific not only for cancerous lesions. Epigenetic modifications of these genes may be of functional importance for thyroid carcinogenesis. On the other hand, it may be explained by the concept of field cancerization.

[82]

Overexpression of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 12 (HSD17B12) correlates with poor prognosis in ovarian cancer

Nadekspresja 17 β -dehydrogenazy steroidowej typu 12 (HSD17B12) jako niekorzystny rokowniczo marker raka jajnika

Marta Szajnik¹, Mirosław Szczepański², Carmen Visus³, Esther Elishaev³, Diana Lenzner³, Marek Spaczyński¹, Albert DeLeo³, Theresa Whiteside³

¹Ginekologiczno-Położniczy Szpital Kliniczny, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Katedra Immunologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

³University of Pittsburgh Cancer Institute, USA

Introduction: There is growing evidence for the role of 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD17B) in the pathogenesis and development of various hormone-dependent carcinomas. The aim of the study was to correlate HSD17B isoform 12 (HSD17B12) expression with clinicopathologic outcome in patients with ovarian cancer and to determine its role in growth and progression of this tumor.

Material and methods: Tumor specimens from 100 untreated patients with ovarian cancer were evaluated for HSD17B12 by immunohistochemistry and correlated with clinicopathologic characteristics, patient outcome and 5 year follow-up. Ovarian carcinoma cell lines OvCa, A2780 and AD10 were used in this study. In A2780 OvCa cell line expressing HSD17B12, siRNA knockdown of the enzyme was

performed and its effects on tumor cell proliferation and Annexin V binding were determined.

Results: HSD17B12 expression was observed in all tumor samples, but the staining intensity was variable. Normal ovarian epithelium was negative. Patients with tumor showing weak/moderate expression of HSD17B12 had a better overall survival than those with strongly positive tumors ($p < 0.001$). The time to first recurrence was longer for patients with tumors with heterogenous staining relative to patients with tumors that were uniformly positive ($p < 0.001$). Upon silencing of HSD17B12, tumor cell growth was inhibited ($p < 0.005$), and apoptosis of tumor cells increased ($p < 0.05$). Arachidonic acid but not estradiol reversed the growth inhibition mediated by HSD17B12 knockdown.

Conclusion: The overexpression of HSD17B12 is an independent marker of poor survival in patients with OvCa. Expression and function of this enzyme are essential for OvCa progression.

Wstęp: Istnieje coraz więcej dowodów potwierdzających rolę 17 β -dehydrogenazy steroidowej (HSD17B) w patogenezie i rozwoju hormonozależnych nowotworów. Celem pracy była ocena ekspresji HSD17B isoformy 12 (HSD17B12), a następnie korelacja z danymi klinicznopatologicznymi pacjentek z rakiem jajnika oraz określenie roli HSD17B12 we wzroście i progresji guza.

Materiał i metody: Tkanki guza pobrano od 100 pacjentek z pierwotnym rakiem jajnika. Za pomocą immunohistochemii oceniono ekspresję HSD17B12 i następnie skorelowano wyniki z danymi klinicznopatologicznymi i pięcioletnią obserwacją. Do badań funkcjonalnych użyto linie raka jajnika: A2780 i AD10. Oceniono proliferację i apoptozę komórek nowotworowych przed wyciszeniem genu HSD17B12 i po wyciszeniu za pomocą siRNA.

Wyniki: We wszystkich ocenionych tkankach raka jajnika wykazano ekspresję HSD17B12, lecz z różną intensywnością. W zdrowej tkance jajnika nie wykazano ekspresji HSD17B12. Pacjenci ze słabą lub umiarkowaną ekspresją HSD17B12 wykazywali istotnie statystycznie ($p < 0.001$) wyższą całkowitą przeżywalność w stosunku do pacjentów z silnie wyrażoną ekspresją. Istotnie statystycznie dłuższy czas do pierwszej wznowy obserwowano u pacjentów z heterogenną ekspresją HSD17B12 ($p < 0.001$). Wyciszenie genu HSD17B12 spowodowało zahamowanie proliferacji komórek nowotworowych ($p < 0.005$) oraz wzrost liczby komórek apoptotycznych ($p < 0.05$). Zastosowanie kwasu arachidonowego, ale nie estradiolu przywraca proliferację komórek rakowych zahamowaną przez wyciszenie HSD17B12.

Wnioski: Nadekspresja HSD17B12 jest niezależnym i niekorzystnym rokowniczo markerem prognozy w raku jajnika. Ekspresja i funkcja enzymu HSD17B12 jest niezbędna do wzrostu i progresji guza.

[83]

Regulatory T cells in the microenvironment of pleural effusion in lung cancer patients and their impact on the course

Limfocyty T regulatorowe w mikrośrodowisku wysięku opłucnowego u chorych na raka płuca oraz ich wpływ na przebieg procesu nowotworowego

Łukasz Szychalski¹, Joanna Budna², Halina Batura-Gabryeł¹, Jan Sikora²

¹Wielkopolskie Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii w Poznaniu

²Zakład Immunologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

³Katedra i Klinika Pulmonologii, Alergologii i Onkologii Pulmonologicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Background: Treg cells are the subpopulation of T cells that influence the development and progression of cancer.

Aim of the study: Evaluation of the lymphocytes, CD4⁺ cells, CD4⁺CD25⁺ cells and Treg difference between malignant effusion and study control likewise the determination of relationship between Treg cells' frequency and the disease status. Prognostic value of Treg frequency in the malignant pleural effusion was analyzed.

Material and methods: Samples of pleural effusions from 76 patients were analyzed by conventional cytology. Biological materials were divided into three groups: malignant pleural effusions with malignant cells ($n = 30$), effusions without malignant cells ($n = 21$) and study control ($n = 25$). The Treg levels (%) were measured utilizing a flow cytometry. The degree of disease advance was established according to TNM lung cancer classification.

Results: There is a significant increased frequency of Treg patients with malignant cells in pleural effusions (group I) compared to study control (2,68 \pm 2,09% vs. 1,07 \pm 0,78%; $p < 0.001$) as well as in all patients regardless of absence or lack of malignant cells in pleural effusions (group I + II together) compared to study control (2,47 \pm 2,17% vs. 1,07 \pm 0,78%; $p = 0.002$). The data shown the association between higher Treg cells level in pleural effusion and more advanced disease stage. The highest frequency of Treg was found out in patients with highest stage of the disease. In patients who died during observation the negative correlation was between Treg frequency and overall survival. When alive patients were incorporated to that analysis significant difference in overall survival was revealed between patient with high and normal level of Treg ($p = 0.035$).

Conclusion: The data confirm the increase percentage of Treg in microenvironment of malignant pleural effusion compared to study control and the relationship between increase level of Treg and disease stage and overall patients' survival. That results provide impetus to further investigate modulation of Treg activity in lung cancer patients as part of therapy.

Wstęp: Komórki T regulatorowe (Treg) są subpopulacją limfocytów T, które wpływają na rozwój i progresję procesu nowotworowego.

Cel pracy: Ocena różnic w zakresie odsetka limfocytów, komórek CD4⁺, CD4⁺CD25⁺ i Treg między wysiękami nie-nowotworowymi i wysiękami w przebiegu choroby nowotworowej oraz określenie zależności między rozpowszechnieniem Treg a stopniem zaawansowania choroby nowotworowej, a także ocena ich wartości prognostycznej

Materiał i metody: Badaniem objęto 76 chorych z wysiękiem w jamie opłucnowej. Wysięki podzielono na trzy grupy: I – wysięki z obecnością komórek nowotworowych ($n = 30$), II – wysięki bez komórek nowotworowych ($n = 21$), III – grupa kontrolna ($n = 25$). Komórki Treg w wysiękach oznaczano w badaniu cytometrycznym. Oceny stopnia zaawansowania procesu nowotworowego dokonano na podstawie klasyfikacji TNM dla raka płuca.

Wyniki: Stwierdzono istotnie wyższe wartości odsetkowe limfocytów Treg w grupie I w porównaniu z grupą kontrolną ($p < 0,001$) oraz w grupie chorych z rozpoznaniem raka niezależnie od obecności bądź braku komórek nowotworowych w wysięku (tj. łącznie grupy I + II) w porównaniu z grupą kontrolną ($p = 0,002$). Zaobserwowano zwiększenie się odsetka Treg wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania choroby. W grupie pacjentów zmarłych w trakcie obserwacji wykazano negatywną korelację między odsetkiem Treg a czasem przeżycia chorych. Po włączeniu do analizy pacjentów żyjących uzyskano istotne statystycznie różnice w czasie przeżycia między chorymi z wysokim i prawidłowym odsetkiem Treg ($p = 0,035$).

Wnioski: Dane potwierdzają zwiększony odsetek komórek Treg w wysięku nowotworowym w jamie opłucnowej oraz ich negatywny wpływ na czas przeżycia chorych i dostarczają dowodów na słuszność dalszych badań skupionych na modulowaniu aktywności Treg u chorych na raka płuca jako części terapii.

however, purified proteins show some cytotoxicity and activate macrophages when tested at high concentration. Toxicity may be linked to contamination by lipopolysaccharides (LPS). LPS are integral ingredients of the bacterial cell membrane. Purification procedure of ESS needs to be optimized.

Aim of the study: Comparison of two methods of ESS 15-mer protein purification in respect of yield and cytotoxicity.

Materials and methods: 15-mer protein production was performed in bacteria *Escherichia coli* BLR. Protein was purified by extraction with Propionic acid. One of the methods adopted an extra purification step in order to reduce LPS content. Proteins were dialyzed, concentrated and analyzed by SDS-PAGE. Purified proteins at concentration from 1 to 0.00001 mg/ml were used for cytotoxicity (MTT) and macrophage activation tests.

Results: Extra purification step decreased the yield of the protein by 58% and elongated the procedure by 2 hours. MTT test showed that 15-mer reduced the cells viability from 30 to 42% at 1 mg/ml 15-mer concentration, however, there was no significant difference between cytotoxicity of proteins obtained by different methods. From the other hand, protein obtained from extra purification step reduced macrophage activation.

Conclusions: Application of extra purification procedure is generally not profitable.

Wstęp: Biomateriały zbudowane z inżynierowanego pajęczego jedwabiu (IPJ) mają duże potencjalne zastosowanie w medycynie (m.in. medycyna regeneracyjna, nośniki leków). Inżynierowany pajęczy jedwab 15-mer jest 15-krotnie powtórzoną sekwencją konsensusową jedwabiu pajęczego od pająka *N. clavipes*. Produkcja białka 15-meru prowadzona jest w bakteriach, a do jego oczyszczania można użyć dwie alternatywne metody wykorzystujące następujące właściwości jedwabiu: odporność na stężone kwasy organiczne lub na wysoką temperaturę. Dzięki ekstrakcji w kwasie organicznym uzyskuje się więcej białka, które testowane w dużych stężeniach wykazuje niewielką cytotoxycywność i aktywację makrofagów. Przyczyną tego może być zanieczyszczenie lipopolisacharydem (LPS). Lipopolisacharydy stanowią integralny składnik zewnętrznej błony komórkowej bakterii używanych w produkcji 15-meru. Optymalizacja procesu oczyszczania IPJ ukierunkowana na redukcję zawartości LPS jest bardzo wskazana.

Cel pracy: Porównanie dwóch metod oczyszczania białka 15-meru pod względem wydajności i cytotoxycywności produktu.

Materiał i metody: Produkcję białka 15-meru jedwabiu pajęczego przeprowadzano w bakteriach *Escherichia coli* szczepu BLR. Białko oczyszczano za pomocą metody ekstrakcji w kwasie propionowym. W jednej z metod stosowano dodatkowy etap oczyszczania, który potencjalnie usuwa LPS. Następnie białka poddawano kolejno dializie i zagęszczaniu, po czym analizowano metodą SDS-PAGE. Oczyszczone białka stosowano w testach cytotoxycywności (test MTT) oraz aktywacji makrofagów w stężeniach od 1 do 0,00001 mg/ml.

Wyniki: Dodatkowy etap oczyszczania białka powodował spadek wydajności metody o 58% oraz wydłużył procedurę o dodatkowe 2 godz. Test MTT wykazał, że 15-mer w stężeniach 1 mg/ml powoduje spadek żywotności komór-

[84]

Optimization of purification method of engineered spider silk for potential application as anticancer drug carrier

Optymalizacja metody oczyszczania inżynierowanego jedwabiu pajęczego, potencjalnego nośnika leków przeciwnowotworowych

Konrad Piekos¹, Andrzej Mackiewicz^{1,2},
Hanna Dams-Kozłowska^{1,2}

¹Chair of Medical Biotechnology, Poznan University of Medical Sciences

²Department of Cancer Diagnostic and Immunology, Greater Poland Cancer Centre, Poznan

Background: Biomaterials made of engineered spider silk (ESS) have great potential for medical applications (e.g. regenerative medicine, drug carriers). ESS 15-mer is 15 fold repeated consensus sequence of spider silk from *N. clavipes*. 15-mer protein is produced in bacteria and purified by two alternative methods based on unusual silk properties as: resistance to concentrated organic acids and high temperature. Extraction with organic acid increases protein amount,

rek o 30–42% niezależnie od stosowanej metody oczyszczania. Z drugiej strony białko dodatkowo oczyszczane redukowało aktywację makrofagów.

Wnioski: Zastosowanie dodatkowego etapu oczyszczania IPJ jest nieracjonalne.

[85]

Designer hypercytokine IL-11 (H11) is a biologically active molecule of great potential for treatment of thrombocytopenia

Sztuczna hipercytokina IL-11 (H11) – aktywna biologicznie molekula o dużym potencjale leczenia małopłytkowości

Hanna Dams-Kozłowska^{1,2}, Katarzyna Gryśka², Eliza Kwiatkowska^{1,2}, Andrzej Mackiewicz^{1,2}

¹Department of Cancer Diagnostic and Immunology, Greater Poland Cancer Centre in Poznan

²Chair of Medical Biotechnology, Poznan University of Medical Sciences

Background: Thrombocytopenia is a common problem observed after chemo- or/and radiotherapy in cancer patients. Chemotherapy-induced thrombocytopenia may reduce the frequency of drug dose and cause the treatment delays. The major treatment of thrombocytopenia is platelet transfusion. However, the transfusion may induce some side effects e.g. allo-immunization. It is also limited by supply and cost. Interleukin 11 (IL-11) is the only agent currently approved by FDA for treatment of thrombocytopenia. We have constructed the Hyper interleukin 11 (H11) which is composed of soluble IL-11 receptor alfa (sIL-11R) and IL-11. One of the potential applications of H11 is treatment of thrombocytopenia and/or *ex vivo* platelet production.

Aim of the study: Production, purification and analysis of biological activity of H11 including role at megakaryocytopoiesis.

Material and methods: H11 protein was produced in baculovirus expression system and then was purified by using ion exchange chromatography. The H11 activity was tested in three independent assays: induction of acute phase proteins, stimulation of B9 and Baf/3-gp130 cells proliferation. The role of H11 at megakaryocytopoiesis was analyzed by flow cytometry.

Results: The yield of H11 after production and purification was 525 µg per liter of supernatant from infected insect cells. H11 is a biologically active protein: it induced acute phase protein and stimulated proliferation of B9 i Baf/3-gp130 cells. The plateau of B9 proliferation was observed for IL-11 when tested at concentration of 32 000 pM, while for H11 at 6.25 pM. The induction of Baf/3-gp130 directly indicated that both H11 subunits are biologically active. Moreover, H11 is involved in proliferation and differentiation of human progenitors cells when tested at megakaryocyte development process.

Conclusions: H11 protein is biologically active molecule of great potential to treat thrombocytopenia.

Wstęp: Małopłytkowość jest często obserwowana u chorych na nowotwory poddanych chemioterapii i/lub radioterapii. Zmniejszenie liczby płytek ogranicza stosowanie dawek terapeutycznych leków bądź opóźnia kolejne cykle leczenia. Główną formą zapobiegania i/lub leczenia małopłytkowości jest transfuzja płytek krwi. Transfuzja jednak może wywoływać reakcje niepożądane, np. autoimmunizację. Problemem jest też ograniczona dostępność materiału do przetoczeń, a także wysoki koszt. Interleukina 11 (IL-11) jest dotychczas jedynym lekiem zatwierdzonym przez FDA zapobiegającym trombocytopenii. W naszym laboratorium skonstruowaliśmy sztuczną cytokinę hiperinterleukinę 11 (H11), która powstała poprzez połączenie rozpuszczalnego receptora IL-11 (sIL-11R) z cytokiną IL-11. Jednym z potencjalnych zastosowań H11 jest leczenie trombocytopenii i/lub wykorzystanie do produkcji płytek *ex vivo*.

Cel pracy: Produkcja, oczyszczanie i ocena aktywności biologicznej H11 m.in. w szlaku megakariocytalnym.

Materiał i metody: Białko H11 produkowano w systemie bakulowirusowym, a następnie oczyszczano, stosując chromatografię jonowymienną. Aktywność H11 oceniano w trzech testach *in vitro*: aktywacji białek ostrej fazy, stymulacji proliferacji komórek B9 i Baf/3-gp130. Aktywność H11 w szlaku megakariocytalnym analizowano przy użyciu cytometrii przepływowej.

Wyniki: Wydajność produkcji i oczyszczania białka H11 wynosiła 525 µg z litra pożywki znad infekowanych komórek owadzych. H11 jest aktywna biologicznie: indukuje białka ostrej fazy oraz stymuluje komórki B9 i Baf/3-gp130. Największą liczbę komórek w teście proliferacji linii B9 obserwowano przy stymulacji 32 000pM IL-11, podczas gdy dla H11 przy stężeniu 6,25 pM. Stymulacja komórek Baf/3-gp130 wskazuje bezpośrednio na aktywność obu podjednostek białka H11. Analiza aktywności H11 w szlaku megakariocytalnym świadczy o jej zaangażowaniu zarówno w proliferację, jak i różnicowanie wczesnych komórek progenitorowych.

Wnioski: Białko H11 jest aktywną biologicznie molekulą o olbrzymim potencjale leczenia małopłytkowości.

[86]

Potential application of engineered spider silk proteins for targeted cancer therapy

Potencjalne zastosowanie białek hybrydowych inżynierowanego jedwabiu pajęczego w celowanej terapii nowotworów

Anna Florczak^{1,4}, Violetta Filas², Andrzej Mackiewicz^{3,4}, Hanna Dams-Kozłowska^{3,4}

¹NanoBioMedical Centre, Faculty of Physics, Adam Mickiewicz University in Poznan

²Department of Cancer Pathology, Greater Poland Cancer Centre in Poznan

³Department of Cncer Diagnostics and Immunology, Greater Poland Cancer Centre in Poznan

⁴Chair of Medical Biotechnology, Poznan University of Medical Sciences

Background: The unique mechanical properties of spider silk plus biocompatibility and biodegradability enables

its potential applications in medicine. The assembly and processing of engineered spider silk (ESS) proteins into biomaterials has been at the recent focus. ESS sequences are based on the repeated consensus motives of their natural equivalents. Furthermore, the engineered silk proteins can be modified in order to gain a new function. Hybrid proteins besides silk structural domains contain also functional domain recognizing cell receptors, what further expand their potential application at targeted therapy.

Aim: Development of construction, production and purification methods of hybrid spider silk proteins with potential use in targeted anticancer therapy.

Material and methods: Synthetic spider silk construct and its fusion variants were obtained using standard molecular biology techniques. The engineered 15mer protein (comprising 15 repeats of consensus sequence MaSp1 derived from *N. clavipes* spider) and hybrid proteins (15mer fused with Her2 receptor binding domains H2.1 and H2.2) were produced in bacterial expression system. Proteins were purified using organic acid extraction method. Obtained spider silks were tested using SKOV3 cell line at Her2 receptor binding assay. The presence of Her2 receptor on SKOV3 cell surface was confirmed by immunohistochemical analysis.

Results: 15mer constructs and hybrid constructs 15X-H2.1, H2.1-15X, 15X-H2.2, H2.2-15X were obtained. Different protein variants were produced and purified. Preliminary tests indicated increased level of hybrid proteins bounding to the SKOV3 cells comparing to control protein.

Conclusions: Preliminary results encourage further exploiting the possibilities of hybrid spider silk proteins application in targeted cancer therapy. Hybrid silk proteins, which on the one hand assemble in morphological form (e.g. spheres) and on the other hand recognize cell receptors, are potential drug carriers.

Wstęp: Unikalne właściwości mechaniczne jedwabiu pajęczego a przy tym biodegradowalność i biokompatybilność umożliwiają potencjalne jego wykorzystanie w medycynie. Obecnie inżynierowane białka jedwabiu pajęczego są stosowane do tworzenia biomateriałów. Ich sekwencje są wielokrotnie powtarzanymi motywami konsensusowymi białek naturalnych. Ponadto, białka inżynierowane można konstruować tak, aby nadać im „nowe” funkcje. Technologia białek hybrydowych wyposażonych prócz jedwabnej domeny strukturalnej w domenę funkcyjną rozpoznającą receptory komórkowe stwarza potencjalne możliwości wykorzystania w terapiach celowanych.

Cel pracy: Opracowanie technologii konstrukcji, produkcji i oczyszczania hybrydowych białek jedwabiu pajęczego o potencjalnym zastosowaniu w celowanych terapiach przeciwnowotworowych.

Materiał i metody: Konstrukty sztucznego jedwabiu pajęczego oraz jego fuzyjne warianty otrzymano dzięki stosowaniu standardowych technik biologii molekularnej. Inżynierowane białko jedwabnego 15-meru (zawierające 15 powtórzeń sekwencji konsensusowej białka MaSp1 od pająka *N. clavipes*) oraz białka hybrydowe (fuzja 15-meru z domenami rozpoznającymi receptor HER2 tzw. H2.1 i H2.2) produkowano w bakteryjnym systemie ekspresyjnym. Białka oczyszczano poprzez ekstrakcję w kwasie organicznym. Użyte jedwabie analizowano w teście wiązania do recep-

tora Her2 na powierzchni komórek SKOV3. Obecność receptora Her2 na SKOV3 oceniono immunohistochemicznie.

Wyniki: Otrzymano konstrukty zawierające 15mer oraz konstrukty hybrydowe 15X-H2.1, H2.1-15X, 15X-H2.2, H2.2-15X. Wyprodukowano i oczyszczono wszystkie warianty białek. Pilotażowe testy wiązania do komórek SKOV3 wykazały większe wiązanie białek hybrydowych niż białka kontrolnego.

Wnioski: Wstępne wyniki zachęcają do dalszego eksplorowania możliwości wykorzystania hybrydowych białek jedwabiu pajęczego w celowanej terapii przeciwnowotworowej. Hybrydowy jedwab, który z jednej strony tworzy strukturę (np. sfery), a z drugiej rozpoznaje receptory komórkowe jest potencjalnym nośnikiem leków.

[87]

Estimation status of endothelium in women with breast cancer

Ocena stanu śródbłonna naczyniowego u kobiet chorych na raka piersi

Anna Thielemann¹, Zygmunt Kopczyński¹, Sylwia Grodecka-Gazdecka²

¹Department of Laboratory Diagnostics, Poznan University of Medical Sciences

²Department of Oncological Surgery, Department of Oncology, Poznan University of Medical Sciences

Background: The endothelium plays important role in pathology many disease. It prove, that dysfunction of endothelium is reason of generation of thrombus, sclerosis and changes of blood vessels in hypertension. However, influence of endothelium dysfunction for evolution of solid cancer tumors and metastatic lesions is not explained so far. It as assumed, that changes of quantitative forms of soluble adhesion molecules can be tied with dysfunction of endothelium in tumor process.

Aim of the study: The aim of the study was to ascertain the value of assessment of VEGF, sVEGFR-1, sVEGFR-2, sICAM-1 and sVCAM-1 levels in serum in women with primary breast cancer and its correlations with disease stage, histological malignancy, status of axillary lymph nodes and the size of primary tumor.

Material and methods: The group of 103 patients with primary breast cancer who didn't underwent surgery was selected. Patient's age ranged from 29 to 89 years old. All patients were treated in the Oncological Surgery Department, Poznań University of Medical Sciences. The 40 healthy women age from 24 to 75 formed a control group.

The assessment of concentration of VEGF, sVEGFR-1, sVEGFR-2 and soluble form of the vascular endothelial adhesion molecule sVCAM-1 and soluble form of intercellular adhesion molecule sICAM-1 was performed in serum by an enzyme-linked immunosorbent assay ELISA (R&D Systems).

Results: The results of the study suggested that the level of VEGF, sVEGFR-1, sVEGFR-2 and sVCAM-1 and sVCAM-2 in women with breast cancer was significantly higher than

in serum of healthy women. The statistical analysis showed a significant difference between VEGF, sVEGFR-1, sVEGFR-2 and sVCAM-1,2 level in control group comparing to women with breast cancer in stages I, II and III of clinical disease advancement. The similar correlation was found between all parameters levels and the size of primary tumor. Significant differences were also found in group of women with metastases to the lymph nodes and women with no metastases.

Conclusions: The results of the study suggested that the concentration of the VEGF, sVEGFR-1, sVEGFR-2 and sICAM-1 and sVCAM-1 can be involved in the disturbance of the endothelium function in women with breast cancer.

Wstęp: Śródbłonek naczyniowy odgrywa ważną rolę w patologii wielu chorób. Uszkodzenie śródbłoneka jest przyczyną powstawania zakrzepów, miażdżycy oraz zmian naczyniowych w przebiegu nadciśnienia. Zmiany ilościowe substancji produkowanych przez endotelium mogą także wiązać się z dysfunkcją śródbłoneka naczyniowego u chorych na raka.

Cel pracy: Celem badań była ocena stanu śródbłoneka naczyniowego u chorych na raka piersi poprzez oznaczanie czynników produkowanych przez endotelium: czynnika wzrostu śródbłoneka naczyniowego (*vascular endothelial growth factor* – VEGF), rozpuszczalnych receptorów sVEGFR-1 i sVEGFR-2 oraz cząsteczek adhezyjnych: sICAM-1 i sVCAM-1. W ocenie tej uwzględniono takie czynniki rokownicze, jak: zaawansowanie kliniczne choroby, stopień złośliwości histologicznej, stan węzłów chłonnych pachowych oraz wielkość guza pierwotnego.

Materiał i metody: Oceny stężeń badanych wskaźników VEGF, sVEGFR-1 i sVEGFR-2, sVCAM-1 i sICAM-1 dokonano w surowicy 103 kobiet chorych na raka piersi w wieku 29–89 lat przed zabiegiem chirurgicznym, leczonych w Katedrze i Klinice Onkologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu. Grupę kontrolną stanowiły surowice 40 kobiet zdrowych w wieku 24–75 lat. Stężenia badanych parametrów oznaczano metodą ELISA.

Wyniki: Wykazano istotnie większe stężenia VEGF, receptorów sVEGFR-1 i sVEGFR-2, oraz rozpuszczalnych cząstek adhezyjnych sVCAM-1 i sICAM-1 u kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego w porównaniu z grupą referencyjną. Wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania klinicznego choroby wzrastały istotnie stężenia białka VEGF, receptorów sVEGFR-1 i sVEGFR-2 oraz cząstek sVCAM-1 i sICAM-1. Podobną kierunkowość zmian obserwowano między średnim stężeniem badanych cząsteczek a wielkością guza. Różnice istotnie statystyczną dla VEGF, receptorów sVEGFR-1 i sVEGFR-2 oraz sVCAM-1 i sICAM-1 wykazano w grupie kobiet chorych na raka piersi z przerzutami i bez przerzutów do węzłów chłonnych pachowych.

Wnioski: U kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego wykazano ilościowe zmiany stężeń badanych parametrów VEGF, receptorów sVEGFR-1 i sVEGFR-2 oraz cząstek sVCAM-1 i sICAM-1. Zaobserwowane zmiany wskazują na zaburzenia funkcji śródbłoneka naczyniowego u chorych na raka piersi.

[88]

Development of the recombinant protein Hyper-IL-11 production and analysis its biological activity

Opracowanie metody produkcji rekombinowanego białka sztucznej cytokiny Hyper-IL-11 oraz analiza jego aktywności biologicznej

Anna Teresiak-Mańczak¹, Andrzej Mackiewicz^{2,3}, Hanna Dams-Kozłowska^{2,3}, Eliza Kwiatkowska-Borowczyk^{2,3}, Katarzyna Lamperska¹

¹Cancer Genetics Laboratory, Greater Poland Cancer Centre, Poznan

²Department of Cancer Immunology, Faculty of Medical Biotechnology, Poznan University of Medical Sciences

³Department of Diagnostics and Cancer Immunology, Great Poland Cancer Centre, Poznan

Background: Hyper-IL-11 (H11) is a fusion protein coded by cDNA fragment, which was constructed by linkage of IL-11 nucleotides sequence with the sequence of its soluble receptor (sIL-11R α). The fusion protein H11 affects directly gp130 receptor on the cell surface increasing the probability of the cell reaction. H11 influences also the cells, which do not express IL-11R α . The recombinant IL-11 is approved as a drug for prevention severe thrombocytopenia following chemotherapy.

Aim of the study: The effective method of production and purification of biological active H11 will enable further research, both *in vitro* and *in vivo*, connected with its potential application in thrombocytopenia prevention and treatment.

Material and methods: H11-Histag protein was purified from Mich2/AdH11-Histag cells supernatant using the affinity chromatography method. Two functional tests were performed to analyse the biological activity of the purified protein: Baf/3/gp130 cells proliferation test and α ACT expression by HepG2 cells.

Results: The purified H11-Histag was obtained using the suitable concentration of imidazole in the particular steps of purification process. Baf/3/gp130 proliferation test showed that the biological activity of stimulated cells by purified H11-Histag compared to unstimulated cells increased. The biological activity of the purified H11-Histag was confirmed in the second test, in which HepG2 cells expressed α ACT in the dose-dependent manner after the purified H11-Histag treatment.

Conclusions: The production and purification methods used in the project allow to obtain the biological active H11-Histag protein. The received amount of the purified protein will enable its functional analysis and further research connected to potential usage in prevention and treatment of thrombocytopenia.

Wstęp: Cząsteczka Hyper-IL-11 (H11) jest białkiem fuzyjnym będącym połączeniem interleukiny 11 (IL-11) z fragmentem jej rozpuszczalnego receptora α . Białko fuzyjne H11 bezpośrednio wiąże się do gp130, zwiększając prawdopodobieństwo odpowiedzi komórki na bodziec. Fuzyjne biał-

ko oddziałuje również na komórki, które nie wykazują obecności IL-11R α . Rekombinowana IL-11 została zaakceptowana przez FDA jako lek stosowany u chorych z trombocytopenią po chemioterapii.

Cel pracy: Opracowanie metody wydajnej produkcji i oczyszczania aktywnego biologicznie rekombinowanego białka Hyper-IL-11 umożliwi prowadzenie dalszych badań, również *in vivo*, nad zastosowaniem H11 w profilaktyce i leczeniu trombocytopenii.

Materiał i metody: Białko H11-Histag wydzielane do pożywki przez modyfikowane komórki Mich2/AdH11-Histag oczyszczano, wykorzystując metodę chromatografii powinowactwa. Ocenę jego aktywności biologicznej *in vitro* przeprowadzono za pomocą dwóch testów funkcjonalnych określających stopień proliferacji komórek Baf/3/gp130 oraz ekspresję α ACT przez komórki HepG2 pod wpływem stymulacji oczyszczonym H11-Histag.

Wyniki: Stosując odpowiednie stężenie imidazolu na poszczególnych etapach oczyszczania, otrzymano H11-Histag w czystej postaci. Test proliferacji komórek Baf/3/gp130 wykazał wzrost aktywności biologicznej komórek stymulowanych oczyszczonym H11-Histag w porównaniu z komórkami niestymulowanymi. Test indukcji wydzielania α ACT przez komórki HepG2 potwierdził aktywność biologiczną oczyszczonego białka.

Wnioski: Zastosowane metody produkcji i oczyszczania umożliwiają otrzymanie aktywnego biologicznie białka H11-Histag w ilościach warunkujących przeprowadzenie jego analizy funkcjonalnej oraz dalszych badań związanych z potencjalnym wykorzystaniem w profilaktyce i leczeniu trombocytopenii.

[89]

Expression of different insulin-like growth factor 1 (IGF-1) mRNA isoforms in colorectal cancer

Ekspresja różnych izoform mRNA insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1) w raku jelita grubego

Aldona Kasprzak¹, Witold Szaflarski², Jacek Szmaja³, Małgorzata Andrzejewska², Wiesława Przybyszewska², Maria Koczorowska⁴, Michał Drews³

¹Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Katedra i Zakład Histologii i Embriologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

³Zakład Immunologii Nowotworów, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu

⁴Zakład Wirusologii Molekularnej Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Background: The factors known to stimulate normal and abnormal growth of intestinal epithelial cells include IGF-1 and IGF-2. Human *IGF1* gene is composed of 6 exons and demonstrated expression of 6 different splice variants (isoforms) of mRNA, e.g. I, II, A, B, C. Exons 1 and 2 are used interchangeably, and constitute classes I and II, respectively. Exons 3 and 4 are invariants. The expression and

nucleotide composition of exons 5 and 6 determine classes A, B, C within IGF-1-I or IGF-1-II. IGF-1 expressed from different mRNA variants may impact on the proliferation level of neoplastic cells.

Aim of the study: expression of different isoforms of IGF-1 mRNA in human adenocarcinoma of the colon and adjacent normal colon tissue.

Material and methods: 13 paired tissue specimens (colorectal tumor and nontumor tissues) were obtained by surgical treatment (12 adenocarcinomas and one adenocarcinoma *in situ*). The samples were analyzed using both quantitative PCR (QPCR) and immunocytochemistry methods. The expression of all classes of IGF-1 mRNA (I, II, A, B, C) were measured and presented as a fold change between cancerous and control tissue.

Results: Expression of class I IGF-1 increased in 6 patients with adenocarcinoma and in 6 decreased (the patients without fold changes not counted). The level of class II increased in 7 and decreased in 4 cases. As continued, the class A, B and C represented the following fold changes: 8 up, 4 down, 7 up, 3 down, 5 up, 7 down, respectively. Furthermore a significant Spearman's rank correlation was found between class I and A, and between II and C analyzed isoforms of IGF-1. Immunocytochemical study showed variable intensity of cytoplasmic and nuclear expression of IGF-1 in 9/13 patients.

Conclusions: The expression of different IGF-1 isoforms is varied between normal and neoplastic tissues of the colon but any of them predominates in examined adenocarcinoma specimens. Furthermore, positive correlations between class I and A, and between II and C indicate that they form IGF-1-IA and IGF-1-IIC transcripts in the cell but their presence is observed in control as well as in cancer cells.

Wstęp: Do poznanych czynników stymulujących normalny i patologiczny wzrost komórek nabłonka jelitowego zaliczają się IGF-1 i IGF-2. Ludzki gen *IGF-1* zbudowany jest z 6 eksonów, które w wyniku splicingu dają ekspresję 6 różnych wariantów (izoform) mRNA, tj. I, II, A, B, C. Eksony 1 i 2 występują zamiennie i tworzą odpowiednio klasy I i II. Eksony 3 i 4 są niezmiennie. Ekspresja i skład nukleotydów eksonów 5 i 6 determinują tworzenie klas A, B i C w obrębie IGF-1-I lub IGF-1-II. IGF-1 ekspresyjony z różnych wariantów mRNA może mieć wpływ na poziom proliferacji komórek nowotworowych.

Cel pracy: Ekspresja różnych izoform mRNA IGF-1 w gruczolakoraku jelita grubego i towarzyszącej zdrowej tkance jelita.

Materiał i metody: Trzydzieści par materiału tkankowego (guzy jelita grubego i kontrola) uzyskane w czasie operacji (12 gruczolakoraków i 1 *adenocarcinoma in situ*). Materiał tkankowy badano z zastosowaniem ilościowej metody PCR (QPCR) i immunocytochemii. Ekspresję wszystkich klas mRNA IGF-1 (I, II, A, B, C) mierzono i prezentowano jako zmianę poziomu ekspresji w tkance nowotworowej w stosunku do kontrolnej.

Wyniki: Ekspresja klasy I IGF-1 wzrosła u 6, a zmalała u 6 pacjentów z *adenocarcinoma* (pacjenci bez zmian w ekspresji nie byli brani pod uwagę). Zwiększony poziom ekspresji klasy II obserwowano u 7, a zmniejszony u 4 pacjentów. Kontynuując, zmiany poziomu ekspresji klas A, B i C prezentowały się odpowiednio: w 8 przypadkach wzrost,

a w 4 spadek, w 7 wzrost i w 3 spadek, w 5 przypadkach wzrost i w 7 spadek. Istotną statystycznie korelację Spearmana wykazano pomiędzy ekspresją klasy I i A oraz II i C izoform IGF-1. Badania immunocytochemiczne wykazały zmienną w nasileniu cytoplazmatyczną i jądrową ekspresję białka IGF-1 u 9/13 pacjentów.

Wnioski: Ekspresja różnych izoform IGF-1 różni się pomiędzy prawidłową i nowotworową tkanką jelita grubego, choć żadna z izoform nie dominuje w badanych przypadkach *adenocarcinoma*. Pozytywna korelacja pomiędzy klasami I i A, oraz II i C wskazuje, że tworzą one transkrypty IGF-1-IA oraz IGF-1-IIC, ale ich obecność jest zarówno w tkance kontrolnej, jak i zmienionej nowotworowo.

[90]

Alterations of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) and estradiol levels in chronic hepatitis C

Zmiany w stężeniach insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1) i estradiolu w przewlekłym zapaleniu wątroby typu C

Aldona Kasprzak¹, Agnieszka Adamek²,
Agnieszka Seraszek³, Hanna Mikoś⁴, Aleksandra Kępa²,
Iwona Mozer-Lisewska²

¹Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

²Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

³Katedra Patomorfologii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

⁴Katedra Endokrynologii Pediatricznej i Cukrzycy, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Background: Chronic hepatitis C (CHC) currently is thought to represent the most important risk factor of primary hepatocellular carcinoma (HCC). The factor known to stimulate hepatocytes proliferation and inhibit apoptosis includes insulin-like growth factor 1 (IGF-1). Deregulation of IGF-1 production and decreased hepatic estrogen levels were associated with the development of HCC in hepatitis C virus (HCV) infected cirrhotic patients.

Aim of the study: was to determinate serum levels of IGF-1, insulin and 17- β estradiol (17- β E) and potential correlations with other markers of the liver injury in HCV-infected patients.

Material and methods: 30 anti-viral treatment-naïve CHC patients and 10 healthy subjects. HCV infection was confirmed by presence of anti-HCV and HCV-RNA in serum. Serum levels of IGF-1, insulin and of 17- β E were tested using ELISA method.

Results: Serum levels of IGF-1 and 17- β E were significantly lower in CHC patients than in controls, and insulin level were similar in both groups. Lower IGF-1 level (but not of 17- β E) was observed in cirrhotic CHC patients in comparison to noncirrhotic ones. Decreased serum level of IGF-1 was associated with more advanced staging and liver steatosis, high-

er levels of AFP and γ -globulins, and of AST activity in CHC patients. Insulin and 17- β E levels positively correlated with patient's age. Positive correlation was observed between insulin level and staging, liver steatosis and of γ -globulins in CHC patients. Negative correlation between IGF-1 and insulin levels was present only in HCV infected patients.

Conclusions: Decreased mean IGF-1 levels, and increased levels of insulin better than estradiol serum levels characterize stages of progression of liver injury, especially staging and liver steatosis in CHC patients.

Wstęp: Przewlekłe zapalenie wątroby typu C (*chronic hepatitis C* – CHC) uważane jest aktualnie za najważniejszy czynnik ryzyka rozwoju pierwotnego raka wątroby (*hepatocellular carcinoma* – HCC). Do poznanych czynników stymulujących proliferację hepatocytów i hamujących ich apoptozę należy m.in. insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (*insulin-like growth factor 1* – IGF-1). Zaburzenia regulacji produkcji IGF-1 i zmniejszone wątrobowe stężenia estrogenów wiązano z rozwojem HCC u pacjentów z marskością wątroby na tle zakażenia wirusem C zapalenia wątroby (HCV).

Cel pracy: Określenie surowiczych stężeń IGF-1, insuliny i 17- β -estradiolu (17- β E) oraz potencjalnych zależności z innymi wykładnikami uszkodzenia wątroby u pacjentów z przewlekłym zakażeniem HCV.

Materiał i metody: Materiał stanowiło 30 nieleczonych przeciwwirusowo pacjentów z CHC i 10 zdrowych osobników. Zakażenie HCV zostało potwierdzone obecnością anti-HCV oraz HCV RNA w surowicy. Stężenia surowicze IGF-1, insuliny i 17- β E oceniono z zastosowaniem metody ELISA.

Wyniki: Surowicze stężenia IGF-1 i 17- β E były znacznie mniejsze u pacjentów z CHC w porównaniu z kontrolą, a insuliny było podobne w obu grupach. Mniejsze stężenie IGF-1 (ale nie 17- β E) obserwowano u pacjentów z marskością wątroby na tle CHC w porównaniu z pacjentami bez oznak marskości wątroby. Zmniejszone stężenie IGF-1 było związane z bardziej zaawansowanym włóknieniem i stłuszczeniem wątroby, większymi stężeniami α -fetoproteiny (AFP), γ -globulin i większą aktywnością AST u pacjentów z CHC. Surowicze stężenie insuliny oraz 17- β E było pozytywnie skorelowane z wiekiem pacjenta. Pozytywną korelację obserwowano pomiędzy stężeniem insuliny i zaawansowaniem włóknienia (*staging*), stłuszczeniem wątroby i γ -globulin u pacjentów z CHC. Negatywną zależność pomiędzy stężeniem IGF-1 i insuliny wykazano tylko u pacjentów z zakażeniem HCV.

Wnioski: Zmniejszone stężenia IGF-1 i zwiększone insuliny lepiej niż 17- β E odzwierciedlają progresję zmian w wątrobie, zwłaszcza zaawansowanie włóknienia (*staging*) i stłuszczenia narządu u pacjentów z CHC.

[91]

HO-1 expression in squamous cell carcinoma

Ekspresja HO-1 w raku płaskonabłonkowym

Agata Szade, Paulina Stala, Krzysztof Szade, Halina Waś, Józef Dulak, Alicja Józkowicz

Department of Medical Biotechnology, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University, Krakow

Squamous cell carcinoma is a heterogeneous group of aggressive cancers of not yet clear pathogenesis. Heme oxygenase-1 (HO-1), enzyme which catalyses the breakdown of heme, was shown to have cytoprotective, anti-apoptotic, anti-inflammatory and proangiogenic activities. Hepatocyte growth factor (HGF) influences cancer invasiveness. It was also demonstrated to induce the expression of HO-1 in the mouse model of severe acute renal failure.

The aim of this study was to investigate whether stimulation with HGF can influence the HO-1 expression in squamous cancer cells.

Murine squamous cell carcinoma cell line SCC VII cells were treated with HGF or HO-1 inducers: hemin and cobalt protoporphyrin (CoPPiX). Expression of genes involved in HO-1 pathway: HO-1, biliverdin reductase (BVR), and ferritin (FTH – heavy chain and FTL – light chain) and HGF pathway: HGF, MET (receptor for HGF), Kunitz-type protease inhibitor-1 and-2 (SPINT1 and SPINT2) was measured by real-time PCR. Additionally, stably transduced cell lines overexpressing luciferase (luc) HO-1, HGF and MET were established. In these cell lines expression of HO-1 was evaluated by real-time PCR, Western blot, immunocytofluorescence and ImageStream analysis.

No significant effect of HGF on expression of HO-1-associated genes was found, regardless of time of treatment, although we found a strong and dose-dependent induction of HO-1 mRNA in response to hemin and CoPPiX with maximal fold of induction after 6 and 24 hours, respectively. Overexpression of introduced genes (luc, HO-1, HGF, MET) in established cell lines was confirmed.

In conclusion: quantitative analysis of mRNA suggests that expressions of genes of HGF and HO-1 pathways are not mutually regulated in squamous cell carcinoma cell line.

Rak płaskonabłonkowy to niejednorodna grupa agresywnych nowotworów o nie do końca wyjaśnionej patogenie. Oksygenaza hemowa 1 (*heme oxygenase-1* – HO-1) – enzym, który katalizuje rozkład hemu wykazuje działanie cytoprotekcyjne, antyapoptotyczne, przeciwzapalne i proangiogenne. Czynn timerostu hepatocytów (*hepatocyte growth factor* – HGF) wpływa na inwazyjność nowotworu. Wykazano również, że indukuje ekspresję HO-1 w mysim modelu ostrej niewydolności nerek.

Celem niniejszej pracy było zbadanie, czy stymulacja HGF może mieć wpływ na ekspresję HO-1 w komórkach raka płaskonabłonkowego.

Komórki mysiej linii raka płaskonabłonkowego SCC VII stymulowano HGF lub induktorami HO-1: heminą i protoporfiryną kobaltu (CoPPiX). Metodą reakcji łańcuchowej polimerazy (*polymerase chain reaction* – PCR) w czasie rzeczy-

wistym zbadano ekspresję genów zaangażowanych w szlak HO-1: HO-1, reduktazy biliwerdyny (*biliverdin reductase* – BVR) oraz ferrytyny (FTH – łańcuch ciężki i FTL – łańcuch lekki) oraz ścieżki HGF: HGF, MET (receptora HGF), inhibitora proteaz Kunitza typu 1 i 2 (SPINT1 i SPINT2). Dodatkowo wyprowadzono stabilnie stransdukowane linie komórek z nadekspresją lucyferazy (Luc), HO-1, HGF i MET. W tych liniach ekspresja HO-1 została sprawdzona metodami PCR w czasie rzeczywistym, Western Blot, barwieniem immunocytofluorescencyjnym oraz analizą cytometryczną z wykorzystaniem technologii ImageStream.

Nie stwierdzono istotnego wpływu HGF na ekspresję genów HO-1, niezależnie od czasu stymulacji, pomimo silnej i zależnej od dawki indukcji mRNA HO-1 w odpowiedzi na heminę i CoPPiX, z maksymalną indukcją odpowiednio po 6 i 24 godz. Potwierdzono nadekspresję genów Luc, HO-1, HGF, MET w wyprowadzonych liniach komórkowych.

Podsumowując – analiza ilościowa ekspresji na poziomie mRNA sugeruje, że ścieżki HGF i HO-1 nie są wzajemnie regulowane w linii komórkowej raka płaskonabłonkowego.

[92]

Cytotoxicity of different purine analogs combined with alkylating agent and/or monoclonal antibody in CLL cells

Cytotoksyczność analogów purynowych oraz ich kombinacji ze związkiem alkilującym i/lub przeciwciałem monoklonalnym wobec komórek CLL

Małgorzata Rogalińska¹, Mariusz Hartman¹, Jerzy Z. Błoński², Paweł Góralski³, Daniel Wysokiński⁴, Katarzyna Woźniak⁴, Henryk Piekarski⁵, Tadeusz Robak², Józefa Węsierska-Gądek⁵, Zofia M. Kiliańska¹

¹Department of Cytobiochemistry, University of Lodz

²Department of Hematology, Medical University of Lodz

³Department of Physical Chemistry, University of Lodz

⁴Department of Molecular Genetics, University of Lodz

⁵Medical University of Vienna, Department of Medicine 1, Institute of Cancer Research, Cell Cycle Regulation Group, Austria

Background: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is characterized by a severe imbalance between cell proliferation and apoptosis. The strong variability of the clinical course of CLL and outcome of anticancer therapy are major problems in the curing of this disease. Among new therapies of this hematologic neoplasm, much attention is paid to treatment with apoptosis-promoting agent(s). The development of the personalized medicine based on the individual CLL patient's profiles could increase the rate of complete remission and progression-free survival.

Aim of the study: The aim of this study was to determine under ex vivo conditions the sensitivity of leukemic cells to conventional purine analogs (cladribine, fludarabine) alone and combined with mafosfamide or rituximab as well as to a new purine analog – roscovitine (ROSC) and to evaluate the apoptosis-inducing potential of the combined treatment.

Material and methods: The biological effects of tested agents on CLL cells were determined by several complementary tests. The reduction of the number of living leukemic cells during the course of treatment was examined by Vybrant Apoptosis Assay #4. Chromatin changes were monitored by differential scanning calorimetry (DSC) of nuclear fraction isolated from examined cells and DNA damage by comet assay. Changes in the status of selected regulators of apoptosis were assessed by immunoblotting.

Results: DSC revealed a marked decrease or even complete loss of thermal transition at $95 \pm 3^\circ\text{C}$ in the profiles of nuclear preparations after treatment. Interestingly, the extent of the changes in thermal characteristics correlated with a strong reduction of the numbers of living cells, an increase of DNA damage assessed by comet assay and alterations in cellular levels/proteolytic cleavage of proteins involved in apoptosis (caspase-9, caspase-3, PARP-1, Mcl-1 and Bcl-2).

Conclusion: The obtained results revealed that DSC combined with other techniques could be helpful to establish optimal therapy for individual patients on the basis of the *ex vivo* sensitivity of CLL cells to anticancer agent(s).

Wstęp: Obecnie przyjmuje się, że w rozwoju przewlekłej białaczki limfocytowej (CLL) ważną rolę odgrywa zaburzenie równowagi pomiędzy proliferacją i usuwaniem komórek na drodze apoptozy. Silne zróżnicowanie pomiędzy pacjentami w dynamice rozwoju choroby oraz odpowiedzi na leczenie przeciwnowotworowe stanowi wciąż duży problemem w terapii tej białaczki. Zakłada się, że spersonalizowana terapia oparta na doborze odpowiedniego typu traktowania dla każdego chorego umożliwi jego efektywniejsze leczenie.

Cel pracy: Ocena w warunkach *ex vivo* wrażliwości oraz potencjału indukcji apoptozy komórek białaczkowych eksponowanych na analogi purynowe (kladrybina, fludarabina) w kombinacji z mafosfamidem czy rituksimabem oraz nowym analogiem purynowym R-roskowityną (ROSC).

Materiał i metody: Efekt biologiczny testowanych na komórkach białaczkowych związków analizowano przy użyciu szeregu technik uzupełniających. Spadek przeżywalności komórek białaczkowych podczas ekspozycji komórek na związki antynowotworowe był analizowany testem Vybrant Apoptosis Assay #4. Zmiany konformacji chromatyny wydzielonej z komórek poddanych ekspozycji na badane związki monitorowano przy użyciu różnicowej kalorymetrii skaningowej (DSC), a uszkodzenia w DNA badano za pomocą metody kometowej. Zmiany ekspresji/proteolizy wybranych regulatorów apoptozy analizowane były techniką Western blot.

Wyniki: W profilach termicznych frakcji jądrowej komórek CLL obserwowano obniżenie lub nawet zanik przejścia fazowego w $95 \pm 3^\circ\text{C}$, gdy komórki były wrażliwe na stosowane związki. Zmianom w termogramach towarzyszył spadek przeżywalności komórek białaczkowych, zwiększenie uszkodzeń w DNA, a także różnice w poziomie ekspresji/proteolizy białek związanych z apoptozą (kaspaza 9, kaspaza 3, PARP-1, Mcl-1 i Bcl-2).

Wnioski: Otrzymane wyniki wskazują, że technika DSC w połączeniu z innymi testami uzupełniającymi może być pomocna w doborze optymalnej terapii dla pacjenta na pod-

stawie oceny *ex vivo* wrażliwości komórek CLL na związki przeciwnowotworowe.

[93]

Silkworm silk and engineered spider silks form stable spheres – potential anticancer drug carriers

Jedwab naturalny i inżynierowane jedwabie pajęczę tworzą stabilne sfery – potencjalne nośniki leków przeciwnowotworowych

Katarzyna Kazmierska¹, Anna Kicińska-Jakubowska², Edyta Bogacz², Maria Wołun-Cholewa³, Andrzej Mackiewicz^{1,4}, Hanna Dams-Kozłowska^{1,4}

¹Chair of Medical Biotechnology, Poznan University of Medical Sciences

²The Department of Textile Raw Materials and Products Metrology, Institute of Natural Fibers and Medicinal Plants, Poznan

³The Department of Cell Biology, Poznan University of Medical Sciences

⁴Department of Cancer Diagnostic and Immunology, Greater Poland Cancer Centre, Poznan

Background: Silk proteins are capable of spontaneous assembly and polymerization with simultaneous liquid/solid phase transition. This property is used to produce strong and biocompatible materials of high potential for application in medicine. One of the structural forms derived from the silk is micro- and nanospheres, which may act as effective and targeted drug vesicles, and depot release system at the same time.

Aim of the study: Development and optimization of assembly process of stable and size-homogeneous silk spheres out of natural silk and engineered spider silk.

Material and methods: Silk proteins were extracted from silkworm cocoons or obtained by expression in *Escherichia coli* system. The recombinant spider silk proteins are based on a consensus motive of MaSp1 protein of spider *N. clavipes* (6mer or 15mer). Spheres obtained by salting out protein in the presence of K₃PO₄ were analyzed by light, confocal and scanning microscopy.

Results: The conditions of salting out process such as protein and PO₄³⁻ ions concentrations, speed and intensity of mixing affected the size of the spheres and their homogeneity. Production of stable spheres was determined by high concentration of PO₄³⁻ ions (at least 0.9 M). By increasing the mixing speed, the size of obtained sphere was decreasing. The increase in protein concentration above 1 mg/ml resulted in larger and less homogeneous spheres. Mixing with a greater ratio of protein/PO₄³⁻ caused a significant reduction in the sphere size and increased their homogeneity. The obtained spheres are stable in aqueous solutions.

Conclusions: Production of spheres of diameter less than 1 μm encourages to continue the research. The next step is to analyze the loading and release of model drugs to and from the spheres. Furthermore, the use of engineered spider silk hybrid proteins containing structural domain (silk)

and additional functional domain (e.g. recognizing cell receptor), enables the targeted delivery of a therapeutic agent.

Wstęp: Białka jedwabiu mają zdolność spontanicznej polimeryzacji z równoczesnym przejściem z fazy ciekłej do stałej. Właściwość ta jest wykorzystywana do produkcji wytrzymałych i biokompatybilnych materiałów o dużym potencjale aplikacyjnym w różnych dziedzinach medycyny. Jedną z form strukturalnych uzyskiwanych z jedwabiu są mikro- i nanosfery, które służą do efektywnego i celowanego transportowania leków, działając jednocześnie jako system opóźnionego uwalniania.

Cel pracy: Opracowanie i optymalizacja technologii wytwarzania homogennych pod względem rozmiaru oraz stabilnych sfer z jedwabiu naturalnego oraz inżynierowanych jedwabiu pajęczych.

Materiały i metody: Białka jedwabiu ekstrahowano z kokonów jedwabnika morwowego lub otrzymano na drodze ekspresji w bakteriiach *Escherichia coli*. Rekombinowane białka jedwabiu pajęczego oparte są na sekwencji konsensusowej białka MaSp1 pająka *N. clavipes* (6mer lub 15mer). Sfery otrzymywane na zasadzie wysalania białka w obecności soli K_3PO_4 analizowano w mikroskopie świetlnym, konfokalnym i skaningowym.

Wyniki: Warunki procesu wysalania, takie jak stężenie białka i jonów PO_4^{3-} oraz szybkość i intensywność mieszania wpływają na wielkość powstających sfer oraz ich homogenność. Powstanie stabilnych sfer warunkuje odpowiednio wysokie stężenie jonów PO_4^{3-} ($> 0,9$ M). Zwiększając szybkość mieszania, uzyskiwano mniejsze sfery. Zwiększenie stężenia białka powyżej 1 mg/ml skutkowało otrzymaniem sfer większych i mniej homogennych. Mieszanie przy większym stosunku objętości roztworów białka/ PO_4^{3-} powodowało znaczące zmniejszenie się wielkości i wzrost homogenności sfer. Otrzymane sfery są stabilne w roztworze wodnym.

Wnioski: Otrzymanie sfer o średnicy poniżej 1 μm zachęca do kontynuacji badań. Następnym etapem będzie analiza tadowania i uwalniania substancji czynnych do i ze sfer. Ponadto zastosowanie białek hybrydowych inżynierowanego jedwabiu pajęczego zawierających oprócz domeny strukturalnej (jedwab) domenę funkcyjną (np. rozpoznającą receptory komórkowe) stwarza możliwość celowanego dostarczania terapeutycznego.

w leczeniu wielu nowotworów. Niestety, preparaty te wywołują stosunkowo dużo skutków ubocznych. Najsilniejsze reakcje występują ze strony układu nerwowego, przewodu pokarmowego, nerek i słuchu. U niektórych chorych obserwujemy platynooporność, co objawia się nawrotem choroby przed upływem 6 miesięcy od ukończenia pierwotnej chemioterapii z użyciem cisplatyny lub jej pochodnych. Mimo wieloletnich badań nie wiadomo, jakie czynniki wpływają na występowanie lekooporności i jak ją eliminować. Wydaje się, że określenie form platyny, które występują w surowicy i moczu chorych leczonych tymi cytostatykami, a także identyfikacja białek uczestniczących w transporcie leku, pomoże zrozumieć i wyeliminować problem lekooporności.

Do ilościowego oznaczenia poziomu platyny w połączeniach białkowych wykorzystuje się techniki łączone, które umożliwiają bezpośrednie rozdzielanie białek na kolumnie chromatograficznej i ilościowe oznaczenie związanego metalu za pomocą spektrometrii mas, np. w układzie chromatografia cieczowa ze spektrometrią mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie wzbudzonej (HPLC ICP MS). W zależności od zastosowanej kolumny chromatograficznej możliwe jest rozdzielanie poszczególnych form platyny obecnych w badanym materiale (zastosowanie kolumny kationowymiennej) bądź rozdzielanie białek związanych z platyną (chromatografia wykluczenia). Zastosowanie ICP MS jako detektora dostarcza natomiast informacji, z którym białkiem związana jest lek platyna.

W niniejszej pracy przedstawimy zastosowanie techniki wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas (HPLC ICP MS) do badania połączeń platyny z białkami surowicy oraz moczu pacjentów leczonych chemioterapią z wykorzystaniem cis- i karboplatyny. W tym celu przebadano surowicę i mocz pobrane od 12 chorych na nowotwory złośliwe w toku stosowanej chemioterapii z użyciem związków platyny.

Badania wykazały niewielkie zwiększenie stężenia platyny połączonej z białkami u chorych, u których klinicznie obserwowano postęp choroby w porównaniu z pacjentami z dobrą reakcją kliniczną i utrzymującą się remisją nowotworu.

Niniejsza praca obejmuje statystycznie małą grupę chorych i wymaga jej powiększenia w celu potwierdzenia zaobserwowanej zależności i wykorzystania uzyskanych wniosków przy doborze lub zamianie stosowanych leków u poszczególnych chorych w celu poprawy wyników leczenia u chorych platynoopornych.

Badanie finansowane z grantu MNiSW, NN 204 013235.

[94]

Zastosowanie wysokosprawnej chromatografii cieczowej w badaniu form chemicznych platyny w organizmie ludzkim

Monika Kaczmarczyk¹, Jakub Karasiński¹,
Barbara Kozakiewicz², Ewa Bulska¹

¹Pracownia Teoretycznych Podstaw Chemii Analitycznej,
Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski

²Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie
w Warszawie

Leki na bazie platyny, takie jak cisplatyna, karboplatyna czy oksaliplatyna, od wielu lat są powszechnie stosowane

[95]

Ekspresja markerów śródbłonnków w nabłonkowopodobnych śródbłoniakach naczyń naczyniowych płuc

Magdalena Białas, Bolesław Papla

Katedra Patomorfologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Wstęp: Nabłonkowopodobne śródbłoniaki naczyniowe (*Hemangioendothelioma epithelioides*) to bardzo rzadkie nowotwory mogące rozwijać się m.in. w płucach. Przyjmuje się, że wywodzą się one z komórek śródbłonkowych naczyń.

Cel pracy: Ocena profilu immunohistochemicznego komórek nowotworów typu *Hemangioendothelioma epithelioides* płuc przy użyciu przeciwciał znakujących komórki śródbłonnków naczyń krwionośnych oraz naczyń limfatycznych w celu potwierdzenia linii komórkowej, z której wywodzą się powyższe nowotwory.

Materiał i metody: Autorzy zgromadzili unikalny materiał obejmujący 8 przypadków *Hemangioendothelioma epithelioides* i przebadali go immunohistochemicznie przy użyciu trzech przeciwciał: CD-31, CD105 (znakujących m.in. śródbłonnki naczyń krwionośnych) oraz D2-40 (znakującego śródbłonnki naczyń limfatycznych).

Wyniki: We wszystkich przypadkach cytoplazma komórek guza wykazywała silną i powszechną ekspresję CD-31. Odczyn CD-105 dawał wynik dodatni głównie w cytoplazmie komórek na obwodzie guza, zwłaszcza w guzach bogatokomórkowych z obecnością komórek wrzecionowatych oraz w śródbłonnkach tworzonych naczyń. Strefy szklawiejące i wapniejące były ujemne zarówno w odczynie CD-31, jak i CD-105. Odczyn na antygen D2-40 w większości przypadków był ujemny. Jedynie w dwu przypadkach na obwodzie guza obecne były nieliczne, kapilarne naczynia o dodatnim śródbłonnku – nie można wykluczyć, że część z nich stanowiła pozostałość prawidłowego guza stwierdzonego u 57-letniego mężczyzny niewielką część wrzecionowatych komórek wykazywała dodatni odczyn D2-40.

Wnioski: Wykonane badania potwierdzają pochodzenie guzów typu *Hemangioendothelioma epithelioides* ze śródbłonnków głównie naczyń krwionośnych.

Background: Hemangioendothelioma epithelioides is a very rare neoplasm which can develop in the lungs. It is assumed that these tumors derive from vascular endothelial cells.

Aim of the study: Identification of the immunohistochemical profile of tumor cells of lung Hemangioendothelioma epithelioides using antibodies marking endothelial cells of blood vessels and lymphatic vessels to determine the cell line from which these tumors originate.

Material and methods: The authors collected unique material consisting of eight cases of lung Hemangioendothelioma epithelioides and examined it using immunohistochemical methods with three antibodies: CD-31, CD105 (marking vascular endothelial cells) and D2-40 (marking lymphatic endothelial cells).

Results: In all cases, the cytoplasm of tumor cells showed strong and widespread expression of CD-31. Reaction to CD-105 antigen gave a positive result mainly in the cytoplasm of tumor cells at the periphery of tumors especially of highly cellular neoplasm with the presence of spindle cells and in endothelial cells of new vessels. Areas of hyalinisation and calcification were negative in both the CD-31 and CD-105. Reaction to D2-40 antigen in most cases was negative. Only in two cases on the periphery of the tumor the presence of few capillary vessels with positive endothelial cells was revealed – it can not be excluded that some of them were the rest of residual lung parenchyma. Only in one case of the highly cellular tumor found in a 57 year old man a small part of the spindle cells showed positive reaction to D2-40.

Conclusions: The above studies confirmed the origin of Hemangioendothelioma epithelioides tumor mainly from vascular endothelial cells.

[96]

Immunohistochemical profile of adrenocortical cells, proliferative lesions and tumors of the adrenal cortex

Profil immunohistochemiczny komórek kory nadnerczy oraz zmian rozrostowych i nowotworów wywodzących się z kory nadnerczy

Magdalena Białas, Grzegorz Dyduch, Anna Sińczak-Kuta, Dariusz Adamek

Katedra Patomorfologii, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Wstęp: Postęp w technikach obrazowania doprowadził do znacznego wzrostu wykrywania zmian rozrostowych i nowotworowych na terenie nadnerczy. Dokładne określenie profilu immunohistochemicznego zmian wywodzących się z komórek kory nadnerczy może być przydatne w codziennej diagnostyce tych w miarę rzadko spotykanych zmian.

Cel pracy: Określenie profilu immunohistochemicznego komórek kory nadnercza przy zastosowaniu szerokiego panelu przeciwciał i porównanie go z profilem immunohistochemicznym raków, gruczolaków i rozrostów kory nadnercza.

Materiał i metody: Badania immunohistochemiczne przeprowadzono w 67 przypadkach obejmujących 30 gruczolaków, 30 rozrostów (w tym rozrosty rozlane, guzkowe i mieszane) i 8 raków kory nadnercza, wykorzystując panel 15 przeciwciał: synaptofizyna, chromogranina, melan A, HMB-45, S-100, calretynina, inhibina, wimentyna, p-53, CK, CK7, CK20, EMA i HER2. Aktywność proliferacyjną określono przy pomocy ekspresji białka proliferacyjnego Ki-67.

Wyniki i wnioski:

1. Dla potwierdzenia pochodzenia zmiany z komórek kory nadnercza najbardziej przydatne wydaje się wykonanie panelu 4 odczynów: melan A, calretynina, chromogranina, CK, z których dwa pierwsze powinny być dodatnie, a pozostałe ujemne.

2. Wimentyna jest odczynem, który wychodzi dodatnio w większości komórek pochodzenia korowego, jednak silna reakcja podścieliska utrudnia interpretację wyników, co ogranicza przydatność tego odczynu.
3. Raki kory nadnerczy wykazują ekspresję tych samych markerów co gruczolaki, jednak jest ona słabsza i występuje w mniejszym odsetku komórek niż w gruczolakach.
4. Zarówno komórki kory nadnerczy, jak i zmiany rozrostowe i nowotworowe wywodzące się z nich nie wykazują ekspresji markerów nabłonkowych.
5. We wszystkich gruczolakach stwierdzono ekspresję synaptofizyny obecną w 10–80% komórek guza, jednak w żadnym nie stwierdzono obecności chromograniny, dlatego dwa powyższe markery mogą być używane do różnicowania zmian pochodzenia korowego i rdzeniowego nadnerczy.

Background: Advances in imaging techniques led to a significant increase in detection of proliferative lesions and tumors in the adrenal glands. Estimation of immunohistochemical profile of lesions deriving from adrenal cortex may be useful in daily diagnosis of these rare lesions.

Aim of the study: To identify the immunohistochemical profile of adrenocortical cells using a broad panel of antibodies and to compare it with the immunohistochemical profile of adrenocortical cancers, adenomas and adrenal hyperplasia.

Material and methods: Immunohistochemistry was performed in 67 cases, including 30 adenomas, 30 hyperplasias (diffuse, nodular and mixed hyperplasia) and 8 adrenocortical carcinomas using a panel of 15 antibodies: synaptophysin, chromogranin, melan A, HMB-45, S-100, calretinin, inhibin, vimentin, p-53, CK, CK7, CK20, EMA and HER-2. Proliferative activity was determined using the expression of proliferative protein Ki-67.

Results and conclusions:

1. Adrenocortical origin of the lesion can be confirmed by use of the panel of four antibodies: melan A, calretinin, chromogranin, CK. The first two should be positive and others negative.
2. Reaction to vimentin is positive in most cells of cortical origin, but the strong reaction of the stroma makes the interpretation of the results difficult limiting the usefulness of it.
3. Adrenocortical carcinoma cells express the same markers as adenomas, but the reaction is weaker and it is present in less percentage of cells than in adenomas.
4. The cells of the adrenal cortex, proliferative lesion and tumors derived from cortex do not express epithelial markers.
5. Synaptophysin expression was present in 10-80% of cells of adenoma, but there was no chromogranin expression, therefore these two markers can be used to differentiate lesions of cortical and medullary origin.

[97]

Diagnostic potential of cyclooxygenase-2 immunohistochemical expression for differentiating between melanocytic naevi and early human cutaneous melanomas

Diagnostyczny potencjał immunohistochemicznej ekspresji cyklooksygenazy 2 w odróżnianiu znamion barwnikowych od wczesnych czerniaków skóry człowieka

Łukasz Kuźbicki¹, Dariusz Lange²,
Anita Strączyńska-Niemiec², Barbara W. Chwirot¹

¹Department of Medical Biology, Institute of General and Molecular Biology, Nicolaus Copernicus University, Toruń

²Department of Tumor Pathology, Oncology Center – M. Skłodowska-Curie Institute, Gliwice

Background: Differential diagnostics of early primary melanomas and melanocytic naevi based on cytological criteria and tissue architecture may be sometimes very difficult.

Aim of the study was to assess usefulness of cyclooxygenase-2 (COX-2) expression as a tool for differentiating between early cutaneous melanomas and a group of naevi selected by histopathologists as difficult to diagnose. The diagnostic algorithm was the same as described in our earlier publication.

Material and methods: COX-2 was detected immunohistochemically in formalin-fixed paraffin-embedded sections representing 46 melanocytic naevi (including 27 dysplastic, Spitz and Reed naevi) and 30 early human cutaneous melanomas. Diagnostic performance of the test was assessed using ROC (receiver operating characteristics) analysis.

Results: COX-2 expression was in melanomas significantly stronger compared to naevi both in central regions ($P \approx 10^{-12}$) and peripheral areas ($P \approx 10^{-10}$) of the lesions investigated. The diagnostic test involving determination of percentage fractions of COX-2 positive cells ensures very sensitive and specific differentiation of early melanomas from benign naevi (AUC = 0.946 ± 0.030 – center and 0.941 ± 0.031 – border) even for the benign lesions group comprising only dysplastic, Spitz and Reed naevi (AUC = 0.933 ± 0.034 – center and 0.923 ± 0.037 – border).

Conclusions: COX-2 expression is significantly enhanced in melanomas also in early stages of the disease. The diagnostic algorithm involving determination of the COX-2 positive cells may be a useful auxiliary tool supporting differential diagnosis of histologically difficult malignant and benign skin lesions.

The project was financed from Polish government budget funds for research in the years 2010-2011.

Wstęp: Diagnostyka różnicowa wczesnych stadiów czerniaka pierwotnego od znamion barwnikowych na podstawie kryteriów cytologicznych i zmian architektury tkanek bywa bardzo trudna.

Cel pracy: Ocena przydatności ekspresji cyklooksygenazy 2 (COX-2) w odróżnianiu wczesnych czerniaków od łagod-

nych zmian melanocytarnych wybranych przez histopatologów jako przypadki trudne do jednoznacznej diagnozy. W badaniach zastosowano algorytm diagnostyczny opracowany w wcześniejszej pracy autorów.

Materiał i metody: Cyklooksyzgenazę 2 wykrywano immunohistochemicznie w preparatach utrwalanych w formalinie i zatopionych w parafinie z 46 znamion barwnikowych (w tym 27 przypadków znamion dysplastycznych, Spitz i Reed) oraz z 30 wczesnych czerniaków skóry człowieka. Diagnostyczną poprawność testu oceniano metodą ROC (*receiver operating characteristics*).

Wyniki: Wykazano znacznie silniejszą ekspresję COX-2 w czerniakach niż w znamionach, zarówno w centrum ($P \approx 10^{-12}$), jak i w brzegu zmian ($P \approx 10^{-10}$). Test diagnostyczny oparty na obliczaniu udziału procentowego komórek COX-2 – pozytywnych pozwala na odróżnianie wczesnych czerniaków od znamion z dużą czułością i specyficznością ($AUC = 0.946 \pm 0.030$ – centrum i 0.941 ± 0.031 – brzeg), nawet grupy znamion dysplastycznych, Spitz i Reed ($AUC = 0.933 \pm 0.034$ – centrum i 0.923 ± 0.037 – brzeg).

Wnioski: Ekspresja COX-2 jest znacząco podwyższona w czerniakach, również we wczesnych stadiach zaawansowania. Algorytm diagnostyczny, oparty na określeniu procentowego udziału komórek wykazujących ekspresję tego markera, może być narzędziem użytecznym w odróżnianiu histopatologicznie trudnych złośliwych i łagodnych melanocytarnych zmian skóry.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2010–2011.

[98]

Cytostatic and cytotoxic effect of tyrphostin AG1296 on RMS cells

Cytostaticzny i cytotoksyczny efekt działania tyrfostinu AG1296 na komórki mięsaka mięśni poprzecznie prążkowanych (RMS)

Małgorzata Lasota^{1,2}, Andrzej Klein², Walentyna Balwierz¹

¹Department of Pediatric Oncology and Hematology, Polish-American Institute of Pediatrics, Faculty of Medicine, Jagiellonian University Medical College

²Department of General Biochemistry, Faculty of Biochemistry, Biophysics and Biotechnology, Jagiellonian University

Background: We can notice disturbances in signal transduction as result of change in tyrosine kinases activity. Recent years research has confirmed practical using of small – molecular inhibitors of tyrosine kinases as drugs.

Aim of the study: The aim of work was to determine the influence of inhibitor of PDGFR tyrosine kinases on autocrine growth of rhabdomyosarcoma RMS cells.

Material and methods: RMS cells were cultured in serum-free DMEM/F12 medium. Modified crystal violet and MTT methods were used to determine the RMS cells proliferation and viability. Influence of the investigated inhibitor on cell apoptosis or necrosis was determined by differential staining method with Hoechst 33258 and Iodine Propide.

The Western Blot technique was applied to analyze the p53, Akt and Erk1/2 proteins expression.

Results: The AG1296 inhibitor effects RMS cells proliferation in a dose-dependent way at the concentration range 1–100 μM . A concentration above 25 μM there is 100% inhibition of growth of these cells and cytotoxic effect is noticed. The 50% inhibition of RMS cells proliferation (IC_{50}) was observed at concentration $6.65 \pm 0.44 \mu\text{M}$ (method CV) and $7.30 \pm 0.26 \mu\text{M}$ (method MTT). Differential staining method shows that this inhibitor causes cytotoxic effect. It was also shown that tested inhibitor could influence on expression of main signal proteins.

Conclusions: The results of these experiments indicate that autocrine growth of RMS cells is regulated by at least one autocrine loop, involving PDGF and its receptor (PDGFR).

The fact that tyrphostin AG1296 is able to complete inhibition of RMS cells growth *in vitro* gives chances for providing a new group of antitumor drugs, which can be more effective than the medicines that have been used so far.

Wstęp: W komórkach wielu typów nowotworów można zaobserwować zaburzenia przekazywania sygnałów mitogennych w skutek zmiany aktywności kinaz tyrozynowych. Badania prowadzone od kilku lat potwierdziły zastosowanie drobnocząsteczkowych inhibitorów kinaz tyrozynowych jako leków.

Cel pracy: Zbadanie wpływu inhibitora kinazy tyrozynowej PDGFR na autokryny wzrost komórek mięsaka mięśni poprzecznie prążkowanych (*rhabdomyosarcoma* – RMS).

Materiał i metody: Komórki linii RMS hodowane były w wolnym od surowicy płynie DMEM/F12. Przy użyciu fioletu krystalicznego i metody MTT określono wzrost i żywotność komórek. Wpływ inhibitora na proces apoptozy lub nekrozy komórek był określany metodą barwienia różnicowego z użyciem barwnika Hoechst 33258 i jodku propidyny. Technika Western blot oceniono ekspresję białek p53, Akt i Erk1/2.

Wyniki: Uzyskane wyniki wskazują, że inhibitor AG1296 wpływa w sposób zależny od dawki na proliferację komórek RMS w zakresie stężeń 1–100 μM , a powyżej 25 μM następuje 100% zahamowanie wzrostu tychże komórek i pojawia się efekt cytotoksyczny. Wartość połowicznej dawki cytostaticznej inhibitora AG1296 dla komórek RMS wynosi: $6,65 \pm 0,44 \mu\text{M}$ (metoda CV) i $7,30 \pm 0,26 \mu\text{M}$ (metoda MTT). Wyniki barwienia różnicowego pokazują, że inhibitor wywołuje efekt cytotoksyczny. Wykazano również, że badany związek może wpływać na ekspresję głównych białek sygnałowych.

Wnioski: Rezultaty przeprowadzonych doświadczeń wskazują, że autokryny wzrost komórek RMS jest regulowany przynajmniej przez jedną pętlę autokrynną, w skład której wchodzi PDGF oraz jego receptor PDGFR.

Hamowanie przez tyrfostin wzrostu komórek nowotworu mięśni poprzecznie prążkowanych *in vitro* stwarza szansę na opracowanie nowej grupy leków przeciwnowotworowych, które mogą wykazać większą skuteczność niż dotąd stosowane preparaty.

[99]

An attempt to identify new oncogenes and tumor suppressor genes in laryngeal squamous cell carcinoma

Próba identyfikacji nowych onkogenów i genów supresji nowotworowej w płaskonabłonkowym raku krtani

Kinga Pelińska¹, Małgorzata Jarmuż¹, Maciej Gieffing^{1,2}, Damian Brauze¹, Katarzyna Kiwerska¹, Magdalena Kostrzewska-Poczekaj¹, Marcin Szaumkessel¹, Krzysztof Szyfter^{1,3}, Marek Figlerowicz⁴, Reiner Siebert², Reidar Grenman⁵

¹Institut Genetyki Człowieka PAN w Poznaniu

²Institut Genetyki Medycznej, Uniwersytet w Kilonii, Niemcy

³Katedra Otolaryngologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

⁴Institut Chemii Bioorganicznej PAN w Poznaniu

⁵Katedra Otolaryngologii, Uniwersytet w Turku, Finlandia

Treatment of head and neck cancers (HNC), despite progress in chemo- and radiotherapy, is not sufficiently effective as shown by a low 5-year survival rate. Thus, an attention was focused on head and neck cancer genetics. So far, such oncogenes, like *CTTN*, *FADD*, *PPIFA1*, *EGFR1*, *CCND1* and tumor suppressor genes including *CDKN2A*, *MLH1*, *TP53* were attributed to HNC but many studies are still open.

The aim of the study was to identify new potential oncogenes and tumor suppressor genes not associated yet with laryngeal squamous cell carcinoma. The study was done on 10 cell lines derived from laryngeal cancer. As a control DNA from healthy patient's peripheral blood, and RNA from 3 types of non-cancer cells: epithelial, total larynx and tissue from surgery margins were used. Using DNA microarray technology the following genes: *SNAI2*, *ATAD2*, *NETO2*, *LAPTM4B*, *CDK1* and *SERPINH1* where upregulated when *SFRP2*, *CEACAM6*, *FUT3*, *CLCA4* remained downregulated. All of observed changes are statistically significant. So far, none of these genes was connected with larynx cancer, though some of them are involved in progression of head and neck and other tissues cancers.

All the established changes of expression were not connected by changes of DNA copy number. It suggests, that other mechanisms as DNA mutation, promoter methylation or gene polymorphism could be involved in regulation of expression of the studied genes. To explain a mechanism of dysregulation of gene expression a battery of methods including quantitative real time PCR, methylation profiling, DNA sequencing for mutation(s) and Western blotting are currently in use.

Nowotwory głowy i szyi (*head and neck cancers squamous cell carcinoma* – HNSCC), w tym płaskonabłonkowe raki krtani, mimo rozwoju chemio- i radioterapii nadal charakteryzują się słabą skutecznością leczenia, co odzwierciedla niski współczynnik 5-letniego przeżycia. Duże nadzieje pokłada się obecnie w badaniach z zakresu genetyki nowotworów głowy i szyi. Chociaż dotychczas w HNSCC wykazano udział szeregu onkogenów, takich jak: *CTTN*,

FADD, *PPIFA1*, *EGFR1*, *CCND1*, i genów supresorowych: *CDKN2A*, *MLH1*, *TP53*, to trwają poszukiwania kolejnych genów.

Celem badań jest wyłonienie innych genów (onkogenów i genów supresorowych) dotychczas niewiązanych z płaskonabłonkowym rakiem krtani, a mogących mieć wpływ na przebieg choroby.

Zastosowano mikromacierze DNA dwójakiego typu: oparte na liczbie kopii DNA *array*-CGH oraz mikromacierz ekspresyjną. Analizie poddano DNA oraz RNA izolowane z 10 linii komórkowych płaskonabłonkowego raka krtani. Jako kontrolę zastosowano DNA uzyskane z krwi obwodowej zdrowych osób, a także RNA z trzech typów zdrowych komórek: całkowitej krtani, komórek epitelialnych oraz prawidłowych komórek marginesu operacyjnego.

Wykazano wzrost poziomu ekspresji genów *SNAI2*, *ATAD2*, *NETO2*, *LAPTM4B*, *CDK1* i *SERPINH1* oraz spadek poziomu ekspresji genów *SFRP2*, *CEACAM6*, *FUT3*, *CLCA4* w badanych liniach komórkowych. Obserwowane zmiany są istotne statystycznie. Ponieważ nie obserwowano zmian liczby kopii DNA dla żadnego z badanych genów, sugeruje to, że przyczyna inaktywacji lub nadmiernej aktywacji dla tych genów jest inna niż zmiana liczby kopii DNA. W celu wyjaśnienia przyczyny zmian ekspresji badanych genów konieczne jest włączenie innych technik, takich jak reakcja łańcuchowa polimerazy w czasie rzeczywistym (*real-time polymerase chain reaction* – *real-time* PCR), analiza profilu metylacji DNA, sekwencjonowanie w poszukiwaniu mutacji czy Western-blot w celu sprawdzenia obecności białek.

[100]

BLM and RAD51 genes polymorphism in breast cancer

Polimorfizm genów BLM i RAD51 w raku piersi

Ewelina Synowiec¹, Agnieszka Sassi¹, Marcin Popielarski¹, Zbigniew Morawiec², Maja Wasylecka², Łukasz Dziki³, Jan Morawiec³, Janusz Błasiak¹, Katarzyna Woźniak¹

¹Department of Molecular Genetics, University of Lodz

²Department of Surgical Oncology, Nicolas Copernicus Hospital, Lodz

³Department of General and Colorectal Surgery, Medical University of Lodz

Background: BLM and RAD51 proteins are key components of the eukaryotic homologous recombination machinery, which is a fundamental cell process for genome stability and integrity. Several studies suggest a link between polymorphisms in homologous recombination genes and predisposition to sporadic as well as hereditary breast cancer.

Aim of the study: We performed a case-control study to test the association between polymorphic variants of the *BLM* gene (g.96267 A>C; rs 2270132) and *RAD51* gene (172 G/T; rs 1801321) and breast cancer risk.

Material and methods: Genotypes were determined in DNA from peripheral blood lymphocytes of 244 ductal breast cancer patients and 338 healthy individuals by PCR-RFLP. The odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CIs) were calculated using a logistic regression model to assess the association between genotypes and breast cancer occurrence. We also correlated polymorphic variants of the genes with estrogen and progesterone receptors and human epidermal growth factor receptor (HER2) expression.

Results: Breast cancer occurrence was associated with the A/A variant (OR 3.23; 95% CI: 1.93-5.39) and the A/C variant (OR 0.31; 95% CI: 0.19-0.52) in the *BLM* gene. The A/A variant could be associated with the increase and the A/C variant could be related with the reduction in breast cancer risk. In the case of the *RAD51* gene polymorphism we observed an association between the G/T variant (OR 5.05; 95% CI 3.46-7.37) and the T/T variant (OR 0.17; 95% CI: 0.11-0.24) and breast cancer risk. The G/T variant could be related with an increase and the T/T variant could be associated with reduction in breast cancer risk. We did not observe any association between studied polymorphisms and hormone receptors and HER2 status.

Conclusions: The present results suggest a link between the *BLM* gene (g.96267 A>C; rs 2270132) and *RAD51* gene (172 G/T; rs 1801321) polymorphisms and breast cancer risk in Polish population.

Wstęp: Białka BLM i RAD51 należą do głównych białek rekombinacji homologicznej u *Eukaryota*, podstawowego procesu komórkowego, który służy do utrzymania stabilności i integralności genomu. Wiele badań wskazuje na związek między polimorfizmami genów rekombinacji homologicznej a ryzykiem sporadycznego i dziedzicznego raka piersi.

Cel pracy: Zbadanie związku między wariantami polimorficznymi genu *BLM* (g.96267 A>C; rs 2270132) i genu *RAD51* (172 G/T; rs 1801321) a ryzykiem raka piersi.

Materiał i metody: Genotypy były określane w DNA limfocytów krwi obwodowej pochodzącej od 244 pacjentek ze zdiagnozowanym rakiem piersi (rak naciekający przewodowy) oraz 338 kobiet, u których nie rozpoznano choroby. Do analizy genotypów wykorzystano metodę PCR-RFLP. Posłużono się modelem regresji logistycznej do obliczenia ilorazu szans (OR) i 95-procentowego przedziału ufności (CIs), które to parametry wykorzystano do określenia związku między badanymi wariantami polimorficznymi a ryzykiem raka piersi. Przeprowadzono także analizę korelacji między polimorfizmami a ekspresją receptorów hormonów (estrogeny i progesteronu) oraz receptora naskórkowego czynnika wzrostu (HER2).

Wyniki: Wykazano związek między ryzykiem raka piersi a wariantem A/A genu *BLM* (OR 3,23; 95% CI: 1,93–5,39) oraz wariantem A/C (OR 0,31; 95% CI: 0,19–0,52). Pierwszy wariant zwiększał ryzyko raka piersi, drugi natomiast miał efekt ochronny. W przypadku polimorfizmu genu *RAD51* obserwowano związek między wariantem G/T (OR 5,05; 95% CI: 3,46–7,37) oraz wariantem T/T (OR 0,17; 95% CI: 0,11–0,24). Pierwszy wariant zwiększał ryzyko raka piersi, drugi natomiast miał efekt ochronny. Nie obserwowano żadnego związku między badanymi polimorfizmami a statusem receptorów hormonów (estrogeny i progesteronu) oraz receptora HER2.

Wnioski: Wyniki badań wskazują na związek między polimorfizmami w genie *BLM* (g.96267 A>C; rs 2270132) i genie *RAD51* (172 G/T; rs 1801321) a ryzykiem raka piersi w populacji polskiej.

[101]

Identification of N-Myc gene amplification by I-FISH in children with neuroblastoma: preliminary results

Identyfikacja amplifikacji genu N-Myc metodą I-FISH u dzieci z neuroblastoma: wstępne wyniki

Katarzyna Szewczyk¹, Walentyna Balwierz¹, Grażyna Drabik², Katarzyna Bolek-Marzec¹

¹Klinika Onkologii i Hematologii Dziecięcej PAIP UJCM, Kraków

²Zakład Patologii USD, Kraków

Background: Neuroblastoma (NBL) is one of the most common childhood cancer (7-10%) which develops from the embryonic neural cells. The most unfavorable prognostic factors in the NBL include age over the first years at diagnosis, advanced stage of disease and amplification of *N-Myc* oncogene. *N-Myc* as the transcription factor plays a role in regulation of cell cycle control, differentiation and apoptosis. *N-Myc* amplification occurs in 25% of primary tumors and is associated with adverse prognosis regardless of disease's stage.

Aim of the study: Identification of selected chromosomal aberrations prognostic for the NBL particularly ampli-

fication of *N-Myc* oncogene in the population of Polish pediatric patients.

Material and methods: Touch preparations from resected primary tumors of NBL patients from Department of Pediatric Oncology and Hematology PAIP UJCM in Krakow. As a research technique used I-FISH (Interphase fluorescent in situ hybridization). The results were verified in accordance with international criteria (International Neuroblastoma Risk Group, INRG) [1].

Results: In 2/10 patients were identified multiplying the number of signals from the probe 2p24 (locus of *N-Myc*) compared to the control signals from the probe 2q LAF. Only one of them had *N-Myc* amplification - the number of 2p24 signals exceeded 10-fold the number of control signals. In the second patient was 2p gain - in the microscopic image there was only about 1-2 more signals from the probe 2p24.

Conclusions: There is a need for further monitoring of chromosomal aberrations prognostic for the NBL particularly the *N-Myc* amplification which is the strong negative marker. This will not only confirm the literature's frequency of aberrations but also allow the development of methodologies adapted to international guidelines which will allow obtaining reliable results.

References

1. Ambros PF, Ambros IM, Brodeur GM, et al. International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics: report from the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Biology Committee. *Br J Cancer* 2009; 100: 1471-82.

Wstęp: Neuroblastoma (NBL) to jeden z najczęstszych nowotworów wieku dziecięcego (7–10%), który rozwija się z embrionalnych komórek nerwowych. Do najbardziej niekorzystnych czynników rokowniczych w NBL zalicza się wiek pacjenta powyżej 1. roku życia w momencie rozpoznania, wysoki stopień zaawansowania choroby oraz amplifikację genu *N-Myc*, wpływającego na kontrolę cyklu komórkowego, różnicowanie i apoptozę komórek. Amplifikacja *N-Myc* występuje w 25% guzów pierwotnych i łączy się z niepomyślnym rokowaniem bez względu na stopień zaawansowania choroby.

Cel pracy: Identyfikacja w populacji polskich pacjentów pediatrycznych wybranych aberracji chromosomowych o znaczeniu rokowniczym dla NBL, szczególnie amplifikacji genu *N-Myc*.

Materiał i metody: Materiał badawczy stanowiły preparaty odciskowe wykonane po resekcji guza pierwotnego NBL u pacjentów Kliniki Onkologii i Hematologii Dziecięcej PAIP UJCM w Krakowie. Jako technikę badawczą wykorzystano I-FISH (*interphase fluorescent in situ hybridization*). Wyniki weryfikowano zgodnie z międzynarodowymi kryteriami (*International Neuroblastoma Risk Group* – INRG) [1].

Wyniki: U 2 spośród 10 analizowanych pacjentów, w dwóch przypadkach zidentyfikowano z wielokrotnieniem liczby sygnałów pochodzących od sondy znakującej region 2p24 (locus *N-Myc*) w stosunku do sygnałów kontrolnych od sondy znakującej region okołocentromerowy na ramieniu 2q. Tylko u jednego z nich stwierdzono amplifikację genu *N-Myc* – liczba sygnałów 2p24 ponad 10-krotnie przewyższała liczbę sygnałów kontrolnych. U drugiego pacjenta

stwierdzono gain 2p – w jego obrazie mikroskopowym odnotowano tylko o 1–2 sygnałów więcej od sondy 2p24.

Wnioski: Istnieje konieczność dalszego monitorowania aberracji chromosomowych o znaczeniu rokowniczym dla NBL, zwłaszcza amplifikacji genu *N-Myc*, która jest silnym niekorzystnym czynnikiem rokowniczym. Pozwoli to nie tylko na potwierdzenie częstości literaturowej aberracji, ale przede wszystkim umożliwi wypracowanie metodyki dostosowanej do międzynarodowych wytycznych, dzięki której uzyskiwane będą wiarygodne wyniki.

Piśmiennictwo

1. Ambros PF, Ambros IM, Brodeur GM, et al. International consensus for neuroblastoma molecular diagnostics: report from the International Neuroblastoma Risk Group (INRG) Biology Committee. *Br J Cancer* 2009; 100: 1471-82.

[102]

Ekspresja receptorów melatoninowych MT1R w raku gruczołu piersiowego

Karolina Jabłońska

Background: Numerous studies in vitro and in vivo showed that melatonin (the main pineal hormone) reduces the proliferation of breast cancer cells. Oncostatic effect of melatonin is most likely induced via its membrane receptor MT1R and MT2R.

Aim of the study: The aim of this study was to determine the intensity of MT1R receptor expression in the cells of ductal breast cancer, and correlate it with clinical and pathological data.

Material and methods: The study was conducted on 143 cases of breast ductal carcinoma (IDC). Material for immunohistochemistry (IHC) were paraffin tissue blocks. For molecular studies used frozen fragments of tumors ($n = 35$) and cell lines of breast cancer: MCF-7, SK-BR-3, MDA-MB-231. To determine the intensity of antigen expression by IHC uses antibodies: rabbit polyclonal (MT1R) and monoclonal mouse antibodies (Ki-67, ER, PgR, HER-2). To evaluate the expression of MT1R used modified Remmele scale (IRS). In addition, expression of MT1R was examined using the method: PCR (tissue material) and Western blot (cell lines). Statistical analysis was performed in Prism 5.0 ($p < 0.05$).

Results: It has been shown negative, significant correlation between receptor expression MT1R with the expression of the proliferative antigen Ki-67 ($r = -0.22$) and positively correlation of MT1R expression with ER ($r = 0.18$). It was also an upward trend MT1R expression with increasing expression of PgR and HER-2. The results obtained in molecular biology techniques and IHC reactions show a decrease in expression MT1R both in cells and in tumors with higher malignancy.

Conclusions: The above-mentioned results may suggest the prognostic significance of MT1R.

Wstęp: W licznych badaniach *in vitro* oraz *in vivo* wykazano, iż melatonina (główny hormon szyszynki) zmniejsza

proliferację komórek nowotworowych raka gruczołu piersiowego. Onkostatyczny efekt melatoniny wywoływany jest najprawdopodobniej za pośrednictwem jej receptorów błonowych MT1R i MT2R.

Cel pracy: Określenie stopnia nasilenia ekspresji receptora MT1R w komórkach raków przewodowych gruczołu piersiowego oraz skorelowanie jej z danymi kliniczno-patologicznymi.

Materiał i metody: Badania przeprowadzono na 143 przypadkach raka przewodowego gruczołu piersiowego (IDC). Materiał do badań immunohistochemicznych (IHC) stanowiły bloczki parafinowe. Do badań molekularnych wykorzystano zamrożone fragmenty ww. guzów ($n = 35$) oraz linie komórkowe raka gruczołu piersiowego: MCF-7, SK-BR-3, MDA-MB-231. Do oznaczenia nasilenia ekspresji antygenów metodą IHC zastosowano przeciwciała: poliklonalne królicze (MT1R) oraz monoklonalne mysie (Ki-67, ER, PgR, HER-2). Do oceny ekspresji MT1R posłużyła zmodyfikowana skala (IRS) wg Remmele. Ponadto ekspresję MT1R zbadano, wykorzystując metody: polimerazy reakcji łańcuchowej (*polymerase chain reaction* – PCR) (materiał tkankowy) oraz Western blot (linie komórkowe). Analizę statystyczną wykonano w programie Prism 5.0 ($p < 0,05$).

Wyniki: Wykazano ujemną, istotną korelację ekspresji receptorów MT1R z ekspresją antygeny proliferacyjnego Ki-67 ($r = -0,22$), a także dodatnią korelację ekspresji MT1R z ER ($r = 0,18$). Stwierdzono także tendencję wzrostową ekspresji MT1R wraz ze wzrostem ekspresji PgR oraz HER-2. Wyniki uzyskane technikami biologii molekularnej oraz reakcji IHC wskazują na spadek ekspresji MT1R zarówno w komórkach, jak i w guzach o wyższej złośliwości.

Wnioski: Wyżej wymienione rezultaty mogą sugerować rokownicze znaczenie MT1R.

were also classified for the staining intensity (concentration of the reaction product).

Results: COX-2 of cancerous epithelial and stromal cells was significantly higher than in normal tissue. The highest percentage fractions of the stained cells were present in lymph node metastases while the expression of the protein in epithelial cells was strongest in lobular cancers and in tumors of the diameter exceeding 2 cm. COX-2 expression was comparable for epithelia of cancers of different degrees of malignancy and metastatic potential. However, stromal expression of COX-2 was higher for metastasizing than for not metastasizing cancers. Also, in normal tissues surrounding the malignant lesions the COX-2 expression was higher than in more distant regions.

Conclusion: Development and/or progression of human breast cancers is associated with enhanced COX-2 expression both in the epithelia and stroma of the lesions and in the surrounding normal tissues.

Wstęp: Dotychczasowe wyniki badań dotyczących immunodetekcji cyklooksygenazy 2 (COX-2) w nowotworach piersi człowieka uzyskane przez różne grupy są niejednoznaczne i rozbieżne.

Cel pracy: Określenie ekspresji COX-2, przestrzennych rozkładów oraz typów wyznakowanych komórek w zmianach nowotworowych i normalnych tkankach piersi człowieka oraz ustalenie potencjalnych przyczyn istotnych rozbieżności danych publikowanych na ten temat przez różne zespoły badawcze.

Materiał i metody: Przebadano 23 raki, 5 przerzutów raka do węzłów chłonnych, 5 łagodnych dysplazji i 2 gruczolakowłóknaki. Ekspresję COX-2 wykrywano immunohistochemicznie, stosując przeciwciała poliklonalne. Wyniki reakcji immunohistochemicznej wykrywania COX-2 oceniano półilościowo. Obliczano udział procentowy komórek nabłonka i podścieliska różniących się pod względem koncentracji strąków barwnego produktu reakcji.

Wyniki: Ekspresja COX-2 w komórkach nabłonka i podścieliska raków była znacznie wyższa niż w prawidłowej tkance. Najwyższy udział procentowy wybarwionych komórek wykrywano w przerzutach raka do węzłów chłonnych, a najsilniejszą ekspresję COX-2 w komórkach nabłonka wykrywano w rakach zrazikowych i nowotworach o średnicy przekraczającej 2 cm. Ekspresja COX-2 w komórkach nabłonka raków o odmiennym stopniu złośliwości histopatologicznej oraz różniących się pod względem występowania przerzutów była porównywalna. Udział procentowy wyznakowanych komórek podścieliska raków przerzutujących był natomiast wyższy niż w rakach niedających przerzutów. W tkance otaczającej raki, ekspresja COX-2 była podwyższona w stosunku do tkanki oddalonej od zmian.

Wniosek: Powstawaniu i/lub progresji nowotworów piersi towarzyszy podwyższona ekspresja COX-2 w nabłonku i podścielisku zmian oraz tkanki otaczającej te zmiany.

[103]

Ekspresja cyklooksygenazy 2 (COX-2) w nowotworach piersi człowieka

Justyna Urban, Łukasz Kuźbicki, Barbara Chwirot

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Background: Several studies of immunohistochemically detected COX-2 expression reported so far by different groups yielded different, often divergent results.

Aim of the study: The aim of the present study is to determine the levels and spatial patterns of COX-2 expression by cells of different types in malignant and normal tissues of human breast and, if possible, to define causes of significant difference in the data reported earlier by different groups.

Material and methods: The material for study comprised tissue samples of 23 cancers, 5 lymph node metastases, 5 cases of mild dysplasia and 2 adenofibromas. COX-2 expression was detected immunohistochemically using polyclonal antibodies. The expression levels were assessed semi-quantitatively as percentage fractions of COX-2 positive cells found in epithelium and stroma. The COX-2 positive cells

[104]

Evaluation of clinical applicability of hypoxia and angiogenesis markers in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck

Ocena przydatności klinicznej markerów hipoksji i angiogenezy u chorych na płaskonabłonkowego raka głowy i szyi

J. Mrochem-Kwarciak¹, B. Mastyk¹, A. Chmura¹, R. Deja¹, T. Rutkowski², A. Wygoda², B. Pilecki², M. Goleń², M. Hutnik², W. Przeorek², B. Lukaszczyk-Wideł², A. Hajduk², Z. Kotosza³, K. Skłodowski²

¹Department of Analytics and Clinical Biochemistry, Comprehensive Cancer Centre Maria Skłodowska-Curie Memorial Institute, Branch Gliwice

²Radiotherapy Clinic, Comprehensive Cancer Centre Maria Skłodowska-Curie Memorial Institute, Branch Gliwice

³Department of Epidemiology and Silesia Cancer Registry, Comprehensive Cancer Centre Maria Skłodowska-Curie Memorial Institute, Branch Gliwice

Background: Low sensitivity of biochemical markers used for monitoring patients with SCCHN is the reason for continuous search for new proteins of potential predictive value.

Aim of the study: The purpose of the research was to evaluate clinical applicability of proteins: osteopontin (OPN), vascular endothelial growth factor (VEGF) and insulin-like growth factor (IGF-I).

Material and methods: The research was conducted on 51 patients qualified for radio- or chemo-radiotherapy. The measurement of protein levels was determined before and after treatment by enzyme-linked immunosorbent assay ELISA.

Results: During 6-12 months of clinical observation in the case of 36 patients there was a complete remission (CR), but in the case of 15 patients the treatment was not successful or there was a locoregional relapse.

In the group of the patients with unsuccessful treatment results the median of initial conc. of OPN $m = 83.3$ ng/ml was above the cut-off point 82.4 ng/ml whereas in the case of the patients with CR it was below this value $m = 59.1$ ng/ml.

A statistically significant difference was observed between the initial IGF-I level in CR patients as compared with unsuccessful treatment $p = 0.05$.

In the case of pre-treatment VEGF determination there was no significant difference observed between the median of conc. in patients with CR $m = 103.8$ ng/ml vs. unsuccessful treatment $m = 147.7$ ng/ml.

It was observed that high initial conc. of OPN within the group of patients with unsuccessful treatment is also high after the completion of the treatment $m = 95.4$ ng/ml.

The medians of conc. of IGF I and VEGF decrease as a result of the treatment, but no statistically significant difference between the conc. of these proteins before and after the treatment was observed regardless of the effects of the therapy.

Conclusions: Preliminary results of the research showed correlation between raised conc. of OPN before and after

the treatment and high initial IGF I conc. and the risk of unsuccessful treatment in patients with SCCHN. The applicability of plasma VEGF levels in the evaluation of the applied therapy efficiency in these patients has not been proved.

Wstęp: Niska czułość wykorzystywanych dotąd markerów biochemicznych dla monitorowania chorych na płaskonabłonkowego raka regionu głowy i szyi powoduje, że wciąż poszukuje się nowych białek o potencjalnej wartości predykcyjnej.

Cel pracy: Ocena przydatności klinicznej białek: osteopontyny (OPN), czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) oraz insulinopodobnego czynnika wzrostu (*insulin-like growth factor* – IGF-I).

Materiał i metody: Badaniem objęto 51 chorych zakwalifikowanych do radio- lub chemo-radioterapii. Oznaczenia białek wykonano w osoczu krwi metodą immunoenzymatyczną (ELISA), przed leczeniem oraz po zakończeniu leczenia chorych.

Wyniki: Podczas 6–12-miesięcznej obserwacji klinicznej u 36 chorych stwierdzono całkowitą regresję choroby (CR), u 15 niewyleczenie lub wznowę miejscową.

W grupie chorych, u których odnotowano niepowodzenie, leczenia mediana wyjściowego stężenia OPN ($m = 83,3$ ng/ml) była powyżej punktu odcięcia (82,4 ng/ml), natomiast u chorych z CR utrzymywała się poniżej tej wartości ($m = 59,1$ ng/ml).

Zaobserwowano również statystycznie znamiennej różnicę pomiędzy wyjściowym stężeniem IGF-I u chorych z CR vs niewyleczeniem ($p = 0,05$).

W przypadku oznaczeń VEGF nie stwierdzono statystycznie istotnej różnicy pomiędzy medianą stężenia przed leczeniem u chorych z CR ($m = 103,8$ ng/ml) vs chorych niewyleczonych ($m = 147,7$ ng/ml).

Zaobserwowano, że duże wyjściowo stężenia OPN w grupie chorych niewyleczonych utrzymują się na wysokim poziomie również po zakończeniu procesu terapeutycznego ($m = 95,4$ ng/ml).

Mediany stężeń IGF I i VEGF ulegają obniżeniu na skutek zastosowanego leczenia, lecz nie wykazano statystycznie znamiennej różnicy pomiędzy stężeniem tych białek przed leczeniem i po leczeniu, niezależnie od efektów terapii.

Wnioski: Wstępna analiza badania wykazała dodatnią korelację pomiędzy zwiększonym stężeniem OPN przed i po leczeniu oraz dużym wyjściowym stężeniem IGF I a ryzykiem niepowodzenia leczenia u chorych na raka płaskonabłonkowego głowy i szyi. Nie wykazano przydatności oznaczeń osoczkowego VEGF w ocenie skuteczności zastosowanej terapii u tych chorych.

[105]

Analysis of the DEPDC1B gene mutations and expression in ovarian cancers

Analiza mutacji i ekspresji genu DEPDC1B w rakach jajnika

Iwona K. Rzepecka, Łukasz Szafron, Paweł Kwaśniak, Alina Rembiszewska, Anna Felisiak-Gotąbek, Agnieszka Dansonka-Mieszkowska, Joanna Moes-Sosnowska, Bożena Konopka, Ewa Kwiatkowska, Jolanta Kupryjańczyk

The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw

Background: Ovarian cancer is the leading cause of death from gynecologic cancer. Search for new prognostic and predictive markers of this tumor, potential targets for the molecular therapy, is of great clinical importance. A candidate is the *DEPDC1B* gene whose product is likely to control Ras>Raf>MEK>ERK signaling pathway.

Aim of the study: The aim of this study was to evaluate the frequency of *DEPDC1B* mutations, and to analyze the gene expression correlations with chemotherapy response and overall survival of ovarian cancer patients.

Material and methods: Molecular analysis was performed on 68 ovarian tumors with the use of PCR-SSCP and sequencing. *DEPDC1B* mRNA expression was evaluated using Real Time PCR method on 32 tumors from patients treated with platinum-cyclophosphamide regimens (PC/PAC).

Results: The *DEPDC1B* somatic mutation was detected in one tumor (1.5 %, 1/68). It was a substitution, 1474C>T, leading to aminoacid change, Pro492Ser. Moreover, we found two polymorphisms; 255T>C (Ile85Ile) in exon 2, and c.48+53C>G in intron 1. High *DEPDC1B* mRNA expression diminished odds of platinum sensitivity ($OR \leq 0.33$, $p = 0.006$) and complete remission ($OR \leq 0.38$, $p = 0.011$) in the platinum-cyclophosphamide treated patients. Patient's overall survival and disease free survival were not influenced by the *DEPDC1B* gene expression.

Conclusions: Our findings suggest that *DEPDC1B* mRNA expression may be a marker predicting ovarian cancer response to chemotherapy. Mutations in this gene are rare in ovarian cancer.

Wstęp: Rak jajnika stanowi najczęstszą przyczynę zgonów spośród nowotworów narządu rodneego. Trwają poszukiwania nowych, prognostycznych i predykcyjnych markerów tego nowotworu, mogących stanowić cel dla terapii ukierunkowanej molekularnie. Takim potencjalnym markerem jest gen *DEPDC1B*, którego produkt prawdopodobnie reguluje ścieżkę przekazywania sygnałów Ras>Raf>MEK>ERK.

Cel pracy: Ocena częstości mutacji i analiza ekspresji genu *DEPDC1B* pod kątem odpowiedzi na chemioterapię i czasu przeżycia chorych na raka jajnika.

Materiał i metody: Analizę mutacji wykonano na 68 rakach z zastosowaniem techniki PCR-SSCP i sekwencjonowania. Poziom mRNA zbadano metodą reakcji łańcuchowej polimerazy w czasie rzeczywistym (*real-time poly-*

merase chain reaction – real-time PCR) w 32 rakach pobranych od pacjentek, następnie leczonych pochodnymi platyny (PC/PAC).

Wyniki: Wykryto jedną somatyczną mutację (1/68, 1,5%), 1474C>T, powodującą zmianę aminokwasu Pro492Ser, jeden przypadek synonimicznego polimorfizmu, 255T>C (Ile85Ile), oraz polimorfizm w intronie, c.48+53C>G. Ponadto stwierdzono związek między wysokim poziomem mRNA genu a zmniejszoną wrażliwością guzów na chemioterapię (PS) pochodnymi platyny i cyklofosfamidem ($OR \leq 0,33$, $p = 0,006$) oraz mniejszym prawdopodobieństwem wystąpienia całkowitej remisji (CR) ($OR \leq 0,38$, $p = 0,011$). Nie zaobserwowano zależności między ekspresją genu a parametrami przeżycia.

Wnioski: Ekspresja genu *DEPDC1B* może być czynnikiem predykcyjnym w raku jajnika. Mutacje genu występują rzadko w tym nowotworze.

[106]

Analysis of the CEBPA gene mutations and polymorphisms in ovarian cancers

Analiza mutacji i polimorfizmów genu CEBPA w rakach jajnika

Ewa Kwiatkowska, Bożena Konopka, Iwona Rzepecka, Joanna Moes-Sosnowska, Łukasz Szafron, Agnieszka Dansonka-Mieszkowska, Anna Felisiak-Gotąbek, Jolanta Kupryjańczyk

Department of Molecular Pathology, The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw

Background: The *CEBPA* gene localized on chromosome 19q13.1 encodes a transcription factor CCAAT/enhancer binding protein α (C/EBP α), which is a crucial factor in proliferation and differentiation of various cell types. Mutations in the *CEBPA* gene, leading to abrogation of C/EBP α expression and function, occur most frequently in acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndrome, but also in some solid tumors such as prostate, lung and gastric cancers. The role of *CEBPA* gene in ovarian cancers has not yet been investigated.

Aim of the study: The aim of this study was to evaluate the occurrence of the *CEBPA* gene mutations and polymorphisms in ovarian cancers.

Material and methods: The *CEBPA* gene mutations and polymorphisms were determined in 68 ovarian cancers and blood samples of the same patients and, as well as in a group of 128 healthy controls, with the use of PCR-SSCP and sequencing methods.

Results: Three types of synonymous polymorphisms in the *CEBPA* gene have been found in ovarian carcinomas. The most frequent type of the polymorphism was c.690G>T (p.Thr230Thr), (16 of 68 cases; 23.5%). The c.402G>A (p.Ala130Ala) polymorphism was present in four cases (5.8%) and c.573C>T (His191His) polymorphism was found in one case (1.5%). Moreover, in six cancers (6/68; 8.8%) we found in-frame insertion of six nucleotides c.586_587insAC-

CCGC; p.HP196_197ins, which leads to two amino acids – histidine and proline duplication. This insertion was also present in blood samples from the same patients and with comparable frequency, in healthy control cases 10/128; 7.8%).

Conclusions: Our results indicate that in-frame insertion p.HP196_197ins identified in ovarian cancers is the relatively frequent polymorphism.

Wstęp: Gen *CEBPA* zlokalizowany na chromosomie 19q13.1 koduje czynnik transkrypcyjny CCAAT/enhancer binding protein α (C/EBP α), kluczowy w procesach proliferacji i różnicowania wielu typów komórek. Mutacje genu *CEBPA*, prowadzące do zaburzeń ekspresji i funkcji kodowanego białka, występują przede wszystkim w ostrej białaczce szpikowej i w zespole mielodysplastycznym, ale wykrywa się je także w niektórych guzach litych, takich jak rak prostaty, żołądka i płuca. Rola genu *CEBPA* w rakach jajnika nie została dotychczas zbadana.

Cel pracy: Ocena występowania mutacji i polimorfizmów genu *CEBPA* w rakach jajnika.

Materiał i metody: Analizę mutacji genu *CEBPA* wykonano w 68 rakach jajnika oraz we krwi tych samych chorych i w grupie kontrolnej 128 zdrowych osób, z zastosowaniem techniki PCR-SSCP i sekwencjonowania.

Wyniki: W badanych rakach zidentyfikowano trzy synonimiczne polimorfizmy. Najczęściej występował polimorfizm c. 690G>T (p.Thr230Thr), 16/68; 23,5%. W 4 rakach (5,8%) obecny był polimorfizm c.402G>A (p.Ala130Ala), a w jednym raku (1,5%) – polimorfizm c.573C>T (His191His). Ponadto, w 6 rakach (6/68; 8,8%) wykryto insercję 6 par zasad c.586_587insACCCGC; p.HP196_197ins, która nie zmienia ramki odczytu, ale skutkuje duplikacją dwóch aminokwasów, histydyny i proliny. Insercja ta była obecna także we krwi tych samych chorych oraz, z podobną częstością (10/128; 7,8%), w badanej grupie kontrolnej.

Wnioski: Wyniki wskazują, że HP196_197ins jest względnie częstym polimorfizmem.

tem catalyzes proteins degradation. It has been assumed that plasminogen activators released from cancer cells catalyze the proteolytic conversion of the inactive zymogen plasminogen to the active proteinase plasmin, which in turn catalyzes degradation of proteins in basement membranes and extracellular matrix and thus facilitates cancer cell invasion of the surrounding tissue.

Aim of the study: The aim of the study was to determine the clinical usefulness of uPA and tPA levels in women with breast cancer. The assessment also took into account: clinical stage of the disease, the histological grade, status of the axillary lymph nodes and the size of primary tumor.

Material and methods: The 103 women, suffering with primary breast cancer and surgically not treated, at the age ranging from 29 to 89 took a part in this study. The women have been treated in the Department of Oncological Surgery, Poznań University of Medical Sciences. The 40 healthy women, at the age range from 27 to 75, accounted for the control group.

The activity of plasminogen-type urokinase activator in the plasma was assessed by colorimetric method and with the use of uPA Activity Assay Kit purchased from CHEMICON company. The concentration of tPA in the serum was performed ELISA, BioVendor systems.

Results: The study found significantly raised concentrations of urokinase- and tissue plasminogen activators in the serum of women with breast cancer, relative to values obtained from a control group. The higher stage of disease clinical progression was the higher values of the uPA activities were obtained. What is more, the higher uPA and tPA activity was noticed of women with metastases to the lymph nodes than in group of women without metastases. The analysis of the outcomes proves that the statistical differences between uPA and tPA activity in control group and the size of primary tumor at women with breast cancer.

Conclusions: The results point to the usefulness of assessing uPA and tPA in the clinical assessment of patients with breast cancer.

Wstęp: System aktywacji plazminogenu przy udziale uPA i tPA odgrywa ważną rolę w procesie przerzutowania. Aktywatory plazminogenu katalizują proteolityczną przemianę nieaktywnego plazminogenu do aktywnej plazminy. Plazmina z kolei wywołuje degradację białek błony podstawnej i macierzy pozakomórkowej, co ułatwia inwazję komórek rakowych do odległych narządów.

Cel pracy: Ocena aktywności urokinazowego (uPA) i tkanekowego (tPA) aktywatora plazminogenu we krwi kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego. W ocenie tej uwzględniono takie czynniki rokownicze, jak: zaawansowanie kliniczne choroby, stopień złośliwości histologicznej nowotworu, stan okolicznych węzłów chłonnych pachowych oraz wielkość guza pierwotnego.

Materiał i metody: Badaniem objęto 103 chore na raka gruczołu piersiowego, w wieku 29–89 lat, leczone na Oddziale Chirurgii Onkologicznej Katedry Onkologii Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. Grupę kontrolną stanowiły surowice i osocza 40 zdrowych kobiet w przedziale wiekowym 24–75 lat. Oznaczenia aktywności uPA dokonano przy użyciu zestawu uPA Activity Assay Kit firmy CHEMICON, a stężenia tPA metodą ELISA zestawem firmy BioVendor.

Wyniki: Wyniki badań wykazały istotnie wyższe wartości aktywności uPA i stężenia tPA u kobiet chorych na raka

[107]

The clinical usefulness of assessing tissue- and urokinase-type plasminogen activators in women with breast cancer

Przydatność kliniczna oznaczania aktywatorów plazminogenu typu tkankowego i urokinazowego u kobiet chorych na raka piersi

Anna Thielemann¹, Zygmunt Kopczyński¹, Sylwia Grodecka-Gazdecka²

¹Department of Laboratory Diagnostics, Poznan University of Medical Sciences

²Department of Oncological Surgery, Department of Oncology, Poznan University of Medical Sciences

Background: The plasminogen activation system seems to play an important role in tumor invasion and metastasis. This is possible because the plasminogen activator sys-

gruczołu piersiowego w porównaniu z wartościami w grupie kontrolnej. Wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania klinicznego choroby wzrastała istotnie wartość obu badanych aktywatorów. Znamienne wyższą aktywność uPA i poziom tPA obserwowano w grupie kobiet chorych na raka piersi z przerzutami i bez przerzutów do węzłów chłonnych pachowych. Różnicę statystycznie istotną uzyskano, kiedy porównano aktywność urokinazowego i tkankowego aktywatora plazminogenu w grupie kontrolnej i w grupie kobiet chorych na raka piersi.

Wnioski: Uzyskane wyniki badań wskazują na przydatność oznaczania aktywatorów plazminogenu typu urokinazowego i tkankowego w ocenie stanu zaawansowania choroby u kobiet chorych na raka gruczołu piersiowego.

[108]

Elektrochemioterapia – metoda wspomagająca leczenie nowotworów

Sławomir Salwa, Michael Bourke, Patrick Forde, Declan Soden, Gerald O'Sullivan

Cork Cancer Research Centre, Cork, Ireland

Background: Currently the basic methods of cancer treatment are surgery, chemotherapy, radiotherapy and hormonal therapy. Electrochemotherapy is a tumour ablation modality whereby the application of electric currents to cancer tissue enhances drug permeability. It uses electroporation phenomenon – generation pores in the cell membrane by the electric pulse. The pores potentiate cytotoxic effect by cell permeabilisation and antineoplastic drug efficacy directly inside cellular DNA.



Fig. 1. Basal cell carcinoma, treated with electrochemotherapy

Material and methods: Patients referred for electrochemotherapy presented with advanced breast cancer, malignant melanoma, squamous cell carcinoma, basal cell carcinoma and others. Majority of patients were not suitable candidates for surgical treatment, chemotherapy or radiotherapy or they did not qualify for any other treatment down to co-morbidities.

Results: The great majority of patients showed response to the electrochemotherapy. The best results – complete response was observed in cases of the basal cell carcinoma of the skin. Malignant melanoma patients presented good local control of the disease progression. Similarly metastatic deposits of breast cancer in half cases showed disease inhibition and healing of ulcerations. Squamous cell carcinoma of the skin showed good response to the treatment in non-advanced cases.

Conclusions: Electrochemotherapy is a good treatment option of certain forms of cancer. The best results are observed in the basal cell carcinoma treatment. Such a response inspired us to perform a randomized controlled clinical trial which is currently in progress. We suggest electrochemotherapy as one of the basic treatment options of the basal cell carcinoma.

Wstęp: Obecnie podstawowymi metodami terapii chorób nowotworowych są: leczenie chirurgiczne, chemioterapia, radioterapia oraz terapia hormonalna. Elektrochemioterapia jest metodą ablacji guza, w której przepływ prądu elektrycznego w tkance nowotworowej wzmacnia przepuszczalność cytotatyku. Wykorzystuje zjawisko elektroporacji – tworzenia por w błonie komórkowej za pomocą impulsu elektrycznego. Owe pory wzmagają ogólny efekt cytotoksyczny poprzez umożliwienie przenikania leku do wnętrza komórek i bezpośredniego wpływu na komórkowe DNA.

Materiał i metody: Pacjenci skierowani do leczenia za pomocą elektrochemioterapii stanowili osoby w zaawansowanym stadium raka piersi, czerniaka skóry, raka kolczystokomórkowego skóry (*squamous cell carcinoma – SCC*), raka podstawnokomórkowego skóry (*basal cell carcinoma – BCC*) i innych. U większości pacjentów wyczerpano możliwości leczenia metodami podstawowymi: chirurgicznym, chemo- lub radioterapią lub też pacjenci nie kwalifikowali się do innego leczenia z powodu współistniejących chorób.

Wyniki: Znakomita większość pacjentów wykazała odpowiedź na leczenie elektrochemioterapią. Najlepsze efekty – całkowite wyleczenie – zaobserwowano w przypadkach raka podstawnokomórkowego skóry. Przypadki czerniaka złośliwego wykazały dobrą lokalną kontrolę postępu choroby. Podobnie zmiany przerzutowe na skórze raka piersi w około połowie przypadków wykazały zahamowanie postępu choroby oraz gojenie się owrzodzeń. Rak kolczystokomórkowy wykazał dobrą odpowiedź na leczenie w przypadkach niezaawansowanych.

Wnioski: Elektrochemioterapia z pewnością znajduje zastosowanie w leczeniu niektórych postaci nowotworów. Najlepsze rezultaty widoczne są w terapii raka podstawnokomórkowego skóry. Tak dobra odpowiedź BCC na leczenie z zastosowaniem elektrochemioterapii zainspirowała nas do przeprowadzenia prospektywnych badań klinicznych z randomizacją, które obecnie są w trakcie realizacji. Suge-

rujemy elektrochemioterapię jako jedną z podstawowych metod leczenia raka podstawnkomórkowego skóry.

[109]

Atorvastatin ex vivo intensifies synergically proapoptotic activity of cladribine and mafosfamide combination in chronic lymphocytic leukemia cells

Atorwastatyna synergistycznie wzmacnia proapoptotyczną aktywność ex vivo kombinacji kladrybiny i mafosfamidu w komórkach przewlekłej białaczki limfocytowej

Jolanta D. Żołnierczyk¹, Paweł Hikisz¹, Arleta Borowiak¹, Jerzy Z. Błoński², Barbara Cebula-Obrzut³, Piotr Smolewski³, Tadeusz Robak², Zofia M. Kiliańska¹

¹Katedra Cytobiochemii, Uniwersytet Łódzki

²Katedra Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Katedra Hematologii Eksperymentalnej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Background: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common type of leukemia of adults in Europe. CLL cells are characterized by a rapid acquisition of chemotherapy resistance manifested by short disease-free survival time and CLL relapses. This is the reason of seeking new therapeutic approaches to CLL treatment.

Aim of the study: The aim of current research was to evaluate the effectiveness of apoptosis induction in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) from CLL patients by synthetic HMG-CoA reductase inhibitor – atorvastatin alone or in combination with drugs being used in CLL therapy i.e. cladribine and mafosfamide (active form of cyclophosphamide; CM).

Material and methods: Leukemic and normal PBMCs were incubated in the presence of tested agents for 48 h. Cytotoxicity and proapoptotic potential of examined drugs were analyzed cytometrically by Vybrant apoptosis assay #4 and by sub-G₁ cell population measurement. The Chou-Talalay method was used to estimate combined drug effects. Moreover, Western-blotting technique was used to assess the expression level of caspase-3, and the proteolysis of apoptosis markers – PARP1 and lamin B.

Results: Our results revealed that atorvastatin, at concentrations nontoxic to normal PBMCs, induced apoptosis of CLL cells and displayed synergism with CM combination. A growth of sub-G₁ cell percentage, a drop of procaspase-3 expression as well as cleavage of PARP-1 and lamin B confirmed apoptosis induction in the drug-treated CLL cells.

Conclusions: It seems likely that usage of atorvastatin, as a single agent or a support for the conventional therapy – cladribine + cyclophosphamide, might improve remarkably the result of CLL treatment.

Wstęp: Przewlekła białaczka limfocytowa (PBL) jest najczęstszą postacią białaczki dorosłych w Europie. Komór-

ki PBL cechują się szybkim nabywaniem oporności na zastosowane leczenie przeciwnowotworowe, co przejawia się nawrotem choroby po krótkim czasie wolnym od jej objawów. Skłania to do poszukiwań nowych sposobów terapii PBL.

Cel pracy: Celem podjętych badań była ocena skuteczności indukowania apoptozy w komórkach jednojądrzastych (*peripheral blood mononuclear cells* – PBMCs) wydzielonych z krwi pacjentów z PBL przez syntetyczny inhibitor reduktazy HMG-CoA – atorwastatinę zastosowaną samodzielnie bądź w połączeniu z kombinacją leków stosowanych w terapii PBL, tj. kladrybiną i mafosfamidem – CM (aktywna postać cyklofosfamidu).

Materiał i metody: Komórki PBMCs – białaczkowe oraz prawidłowe – inkubowano w obecności badanych leków przez 48 godz. Cytotoksyczność i proapoptotyczną aktywność badanych związków oceniano cytometrycznie testem *Vybrant apoptosis assay #4* i na podstawie pomiaru odsetka komórek sub-G₁. Efekt leków w kombinacji oceniono metodą Chou-Talalaya. Dodatkowo techniką Western blot analizowano ekspresję kaspazy 3 oraz białek: PARP-1 i lamin B – uznanych markerów apoptozy.

Wyniki: Wykazano, że atorwastatyna użyta w stężeniach nietoksycznych dla komórek prawidłowych skutecznie indukuje apoptozę komórek białaczkowych i wykazuje synergizm z kombinacją leków CM. Wzrost odsetka komórek sub-G₁, spadek ekspresji prokaspazy 3 oraz proteoliza PARP-1 i lamin B potwierdziły proapoptotyczną aktywność badanych leków.

Wnioski: Wydaje się prawdopodobne, że zastosowanie atorwastatyny, samodzielnie lub jako składnika w połączeniu z konwencjonalną chemioterapią – kladrybiną + cyklofosfamid, może istotnie poprawić wyniki leczenia chorych na PBL

[110]

The use of targeted molecular therapy (antiangiogenic; anti-EGFR) at 19-year-old woman with metastatic breast cancer disease

Zastosowanie leczenia ukierunkowanego molekularnie (antyangiogenego – anti-VEGF) u 19-letniej chorej z rozsiałym rakiem piersi – prezentacja przypadku

Jolanta Żok, Ewa Wachuła, Wojciech Rogowski

ZOZ MSWiA z Warmińsko-Mazurskim Centrum Onkologii w Olsztynie

The use of anti-VEGF treatment in patients with metastatic breast cancer disease can have a beneficial impact on progression-free survival (PFS). Few data regarding effect of this treatment are available in young women population.

In 19-year-old woman left breast cancer was detected in 2008. The patient underwent left radical mastectomy. Histopathological examination of the tumor showed: invasive lobular cancer G1 (p T3N1M0), ER(+), PGR(-), HER2(1+).

After the surgery following therapies were started: adjuvant chemotherapy (six courses of TAC: doxorubicin 50 mg/m², docetaxel 75 mg/m², cyclophosphamide 500 mg/m², intravenous, 21 days), radiotherapy on the left side of the chest and hormone therapy (LHRH agonist and tamoxifen).

In March 2010 metastasis to lungs and chest lymph nodes were diagnosed. The patients' clinical condition was 100% in Karnofsky's scale.

In April was started combination therapy which consisted of: vinorelbine (90 mg orally every 7 days) and bevacizumab (10 mg/kg; intravenous every 14 days).

After three months of this treatment, stabilization disease in lungs and partial response in chest lymph nodes achieved.

After further three months (September 2010) complete response in lymph nodes was noted.

The patient is treated by this regimen from April 2010 until now (March 2011) with stabilization in lungs and complete response in lymph nodes. During the treatment no significant toxicities appeared. The patient still has 100% in Karnofsky's scale.

Despite the fact that few data about antiangiogenic treatment in young women population are available, the presented case shows that this treatment can be effective and safe.

Zastosowanie leczenia anty-VEGF u chorych z rozszanym rakiem piersi może mieć korzystny wpływ na czas do wystąpienia progresji. Istnieje niewiele danych dotyczących efektów takiego leczenia u młodych chorych.

U 19-letniej chorej w 2008 r. wykryto raka lewej piersi. Wykonano radykalną mastektomię lewostronną. W badaniu histopatologicznym: rak zrazikowy inwazyjny G1 (pT3N1M0). W ocenie stanu receptorowego komórek guza stwierdzono: ER(+), PGR(-), HER2(-).

Zastosowano leczenie: 6 cykli chemioterapii wg schematu TAC w składzie: doxorubicyna 50 mg/m² p.c., docetaksel 75 mg/m² p.c., cyklofosfamid 500 mg/m² p.c., dożylnie co 21 dni), przeprowadzono napromienianie na obszar ściany klatki piersiowej oraz rozpoczęto hormonoterapię (analog LHRH i tamoksyfen).

W marcu 2010 r. stwierdzono rozsiew choroby do płuc i węzłów chłonnych klatki piersiowej. Stan chorej wynosił 100% wg skali Karnofskiego (KPS).

W kwietniu 2010 r. rozpoczęto chemioterapię wg schematu: winorelbina (90 mg doustnie co 7 dni) w skojarzeniu z bevacizumabem (10 mg/kg m.c. co 14 dni).

Po 3-miesięcznym leczeniu uzyskano stabilizację zmian w płucach oraz częściową regresję zmian węzłowych.

We wrześniu 2010 r. nadal utrzymywała się stabilizacja zmian w płucach, a w zmianach węzłowych stwierdzono całkowitą remisję – uzyskana odpowiedź utrzymuje się do chwili obecnej (marzec 2011 r.), chora kontynuuje leczenie.

Podczas leczenia nie wystąpiły istotne działania niepożądane. Chora nadal w stopniu sprawności 100% wg KPS.

Mimo niewielu danych dotyczących leczenia antyangiogenego w populacji młodych kobiet, przedstawiony przypadek wykazuje, że leczenie takie może być skuteczne i bezpieczne.

[111]

The development of therapeutic, genetically modified cellular vaccines combined with chemotherapy (cyclophosphamide or docetaxel) for the treatment of prostate cancer – preclinical study

Rozwój terapeutycznych genetycznie modyfikowanych szczepionek komórkowych skojarzonych z chemioterapią (cyklofosfamid lub docetaksel) do leczenia raka gruczołu krokowego – badanie przedkliniczne

Jacek Mackiewicz, Marek Kotlarski, Urszula Kaźmierczak-Majchrzak, Konstanty Korski, Anita Nowicka, Ewelina Dondajewska, Piotr J. Wysocki, Andrzej Mackiewicz

Zakład Immunologii Nowotworów, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu, Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu

Background: Cyclophosphamide (CY) and docetaxel (DXL) are cytostatic drugs exhibiting efficacy in treatment of various types of cancer. In case of murine, ectopic models of large intestine and prostate cancers, immunomodulatory influence of CY and DXL on immunisation with genetically modified cellular and peptide vaccines was demonstrated.

Aim of the study: The purpose of the study was to create and assess the efficacy of genetically modified cellular vaccines enhanced by combined application of cytostatic drug (cyclophosphamide – CY or docetaxel – DXL) in orthotopic, murine prostate cancer model.

Material and methods: In orthotopic model, 8-12 weeks old C57BL6/J mice were given wild-type TRAMP cells (2×10^5) into posterolateral lobe of the prostate. Immunotherapy was conducted using cellular vaccines modified with artificial Hyper-IL-6 (H-6) and Hyper-IL-11 (H-11) cytokines genes (GMTV). Efficacy of GMTV-H6 and GMTV-H11 therapy in therapeutic model was assessed.

Results: Median overall survival was the longest in case of murine cohort receiving GMTV-H6 combined with cytostatic drugs in comparison to other groups. It was observed that GMTV+CY immunisation enhances immunological response by Treg lymphocytes (CD4+/CD25+) inhibition. Furthermore, mice treated with GMTV+DXL were shown to have enhanced CD8+, CD4+ and NK cells response compared to animals from other groups.

In murine, orthotopic model of prostate cancer GMTV-H6 combined with CY and DXL shows high therapeutic potential, which stems from modulation of various immunological mechanisms.

Wstęp: Cyklofosfamid (CY) i docetaksel (DXL) są cytostatykami wykazującymi skuteczność w leczeniu wielu nowotworów. W mysich ekotopowych modelach raka jelita grubego i raka prostaty udowodniono immunomodulujący wpływ CY i DXL na immunizację genetycznie modyfikowanymi szczepionkami komórkowymi oraz szczepionkami peptydowymi.

Cel pracy: Opracowanie i ocena efektywności genetycznie modyfikowanych szczepionek komórkowych wzmocnionych poprzez skojarzone podanie cytostatyku (cyklofos-

famidu – CY, lub docetakselu – DXL) w modelu ortotopowym mysiego raka gruczołu krokowego.

Materiał i metody: W modelu ortotopowym myszom C57 w wieku 8–12 tygodni podawano dzikie komórki TRAMP (2×10^5) do płata tylnobocznego gruczołu krokowego. Immunoterapia była prowadzona przy użyciu leczniczych modyfikowanych genami sztucznych cytokin Hyper-IL-6 (H-6) oraz Hyper-IL-11 (H-11) szczepionek komórkowych (GMTV). Oceniano efektywność terapii GMTV-H6 i GMTV-H11 w skojarzeniu z CY i DXL w modelu terapeutycznym.

Wyniki: Mediana czasu całkowitego przeżycia myszy była najdłuższa w grupie zwierząt otrzymujących GMTV-H6 w skojarzeniu z cytostatykami w porównaniu z myszami z innych grup. Zaobserwowano, że immunizacja GMTV+CY wzmacnia odpowiedź immunologiczną poprzez hamowanie limfocytów Treg (CD4+/CD25+), ponadto u myszy otrzymujących GMTV+DXL stwierdzono wzmocnienie odpowiedzi limfocytów CD8+, CD4+ i komórek NK w stosunku do zwierząt z innych grup.

W mysim ortotopowym modelu raka gruczołu krokowego GMTV-H6 skojarzona z CY i DXL wykazuje wysoki potencjał terapeutyczny, który wynika z modulacji licznych mechanizmów immunologicznych.

[112]

Wyniki leczenia trabektedyną chorych na zaawansowane mięsaki tkanek miękkich o wybranych podtypach histologicznych

The results of trabectedin therapy in patients with advanced soft tissue sarcoma of selected histological subtypes

Hanna Koseta, Katarzyna Wiater, Tomasz Świtaj, Anna Klimczak, Iwona Ługowska, Sławomir Falkowski, Piotr Rutkowski

The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw

Background: Trabectedin is a new cytotoxic drug – a molecule primarily isolated from tunicates *Ectenascidia turbinata*. It was registered in year 2007 for therapy of advanced and metastatic soft tissue sarcomas in case of failure of treatment with anthracyclines and ifosamide or in patients that are not eligible for this kind of treatment. Pre-registration studies showed its efficiency in therapy of advanced soft tissue sarcomas especially liposarcoma and leiomyosarcoma. The clinical benefit varies, according to available reports from 29% to 54%. This agent shows specific activity in type myxoid liposarcoma, where the percentage of response exceeds 50%. The aim of the study was an analysis of the results of trabectedin therapy in patients with advanced soft tissue sarcoma of selected histological subtypes treated in one oncological center.

Material and methods: We retrospectively analyzed 26 patients (13 female, 13 male; age median 51 years) treated with Trabectedin for locally advanced or metastatic soft tissue sarcomas, in a period from 04.2008 to 03.2011. Thirteen

patients (50%) were diagnosed with leiomyosarcoma, 10 patients (38%) – liposarcoma [including 6 (60%) with type myxoid liposarcoma], 2 patients (7.6%) – synovial sarcoma, 1 (3.8%) pleomorphic sarcoma. All patients were earlier treated with chemotherapy (100% of them with regimens including anthracyclines, 46% – ifosfamide). Median of the earlier lines of chemotherapy was 3 (range 1 to 8).

Results: There were given 120 courses of Trabectedin (median 4, range 1-20). We were able to assess the response in 24 patients. According to the RECIST criteria responses were: 1 partial response (4%), 12 stabilization of the disease (50%), and 11 progression of the disease (46%). The percentage of 6-month PFS was 21%, median of the PFS was 2.5 months, but in the group of patient who had a benefit of the therapy (PR + SD) the median of the PFS was 5 months. Four (15.4%) patients experienced grade 3 or 4 toxicity, and 1 (3.8%) stopped treatment due to toxicity.

Conclusion: In the analyzed group of patient treated with Trabectedin clinical benefit was noticed in 54% of the patients. We showed that Trabectedin is effective and well tolerated by patients treated earlier with many lines of chemotherapy for soft tissue sarcoma.

Wstęp: Trabektedyna jest nowym cytostatkiem pierwotnie wyizolowanym z ostonic *Ectenascidia turbinata*, zarejestrowanym w 2007 r. do leczenia zaawansowanych i przerzutowych mięsaków tkanek miękkich (MTM) przy niepowodzeniu leczenia antracyklinami i ifosfamidem. Badania przedrejestracyjne wykazały jej skuteczność w leczeniu zaawansowanych MTM ze szczególnym uwzględnieniem podtypu *leiomyosarcoma* i *liposarcoma*. Korzyść kliniczna terapii waha się wg różnych doniesień od 29% do 54%. Lek wykazuje szczególną aktywność w podtypie *liposarcoma myxoides*, gdzie odsetek odpowiedzi przekracza 50%.

Cel pracy: Analiza wyników chorych na zaawansowane MTM o wybranych podtypach histologicznych w jednym ośrodku onkologicznym.

Materiał i metody: Retrospektywnej analizie poddano dane 26 chorych (13 kobiet, 13 mężczyzn; mediana wieku 51 lat) na zaawansowane miejscowo i/lub przerzutowe MTM, leczonych trabektedyną w okresie między kwietniem 2008 r. a marcem 2011 r. Wśród chorych 13 (50%) miało rozpoznanie *leiomyosarcoma*, 10 (38%) – *liposarcoma* [w tym 6 (60%) podtyp myksoidny], 2 (7,6%) – *sarcoma synoviale*, 1 (3,8%) – mięsaka pleomorficznego.

Wszyscy chorzy leczeni byli wcześniej wg schematów zawierających doksorubicynę, 46% – ifosfamid. Mediana liczby wcześniejszych linii chemioterapii wyniosła 3 (zakres 1–8).

Wyniki: Podano 120 kursów trabektedyny (mediana 4; zakres 1–20). U 24 chorych możliwa była ocena odpowiedzi na leczenie. Najlepsze odpowiedzi ogółem wg kryteriów RECIST były następujące: 1 odpowiedź częściowa (4%), 12 stabilizacji choroby (50%) i 11 progresji choroby (46%). Odsetek 6-miesięcznych PFS wyniósł 21%, mediana PFS dla ogółu wyniosła 2,5 miesiąca, natomiast dla chorych, którzy odnieśli korzyść kliniczną (PR + SD), 5 miesięcy. U 4 (15%) chorych obserwowano toksyczność 3. i 4. stopnia, u 1 (4%) zakończono leczenie z powodu toksyczności.

Wnioski: W analizie danych chorych leczonych trabektedyną korzyść kliniczną odnotowaliśmy u 54% chorych.

Wykazaliśmy skuteczność i dobrą tolerancję u chorych leczonych wcześniej wieloma liniami chemioterapii z powodu zaawansowanych MTM.

[113]

Efficacy of vinorelbine in chemotherapy of anthracycline and taxane pretreated metastatic breast cancer

Ocena chemioterapii z udziałem winorelbiny w leczeniu niepowodzeń chorych na zaawansowanego raka piersi

Marek Ziobro, Bożena Cybulska-Stopa, Ewelina Kojs-Pasińska, Ida Cedrych, Anna Brandys

Klinika Nowotworów Układowych i Uogólnionych, Centrum Onkologii w Krakowie

Background: The goal of this study is assessment of progression free survival (PFS), response rate (RR), and toxicity of vinorelbine applied for metastatic breast cancer patients pretreated with anthracycline and taxane.

Methods: From June 2001 to September 2009, 103 patients with metastatic breast cancer were treated with vinorelbine based chemotherapy, which was administered as second or next lines of therapy after chemotherapy with taxane and anthracyclines. The treatment consisted of vinorelbine 25 mg/m² i.v. plus fluorouracil (5-FU) 500 mg/m² i.v. given on day 1 and 8 every 3 weeks (53 patients) or vinorelbine alone 30 mg/m² i.v. given on day 1 and 8 every 3 weeks (50 patients). Therapy was administered until disease progression or unacceptable toxicity. Median age was 54 years (range 38-76) in group with vinorelbine and 5-FU, and 55.5 years (range 38-73) in group with vinorelbine alone. All administered cycles were 417. Median of cycles was four (range 1-11). Evaluation of treatments effects was possible in 93 cases (10 patients received only one cycle of chemotherapy).

Results: There were 16 RR (17%) for all assessed patient, including 2 complete responses (CR) (2%) and 14 partial responses (PR) (15%). Stable Disease (SD) was observed for 40 (43%) patient. In subgroup with navelbine and 5-FU – 2 CR (4%), 5 PR (10.5%), 24 SD (50%) and 17 PD (35.5%) was registered. In group treated with navelbine alone there were only 9 PR (20%) and 16 SD (35.5%). Median TTP assessed for all treated patients was 18 weeks, and consequently 22 weeks in group with navelbine and 5-FU, and 16 weeks in second group. The most common hematologic adverse events were neutropenia registered during 20% cycles and thrombocytopenia (4% of cycles), Grade 3-4 incidence of these events (according NCI CTC) were registered consequently during 8% and 1.5% cycles. Nausea and vomiting were registered during 13% cycles. The doses of chemotherapeutic agents were reduced in 26 (25%) cases. There were no treatment-related deaths.

Conclusions: Vinorelbine combined with 5-FU or vinorelbine alone is an effective and safe treatment for pretreated metastatic breast cancer patients. The application of vinorelbine and 5-FU seems to be better than vinorelbine alone.

Wstęp: Wyniki leczenia chorych na zaawansowanego, nieoperacyjnego raka piersi lub raka piersi z przerzutami powoli się poprawiają, a mediana przeżyć całkowitych w tej grupie wynosi 2–3 lata. Leczenie systemowe, które w tych przypadkach jest leczeniem paliatywnym, polega na sekwencyjnym stosowaniu kolejnych linii terapii (chemioterapia, hormonoterapia, terapie celowane). Zdefiniowane są obecnie pierwsze linie leczenia, składające się z pochodnych antracyklin i taksanów, a w przypadku niepowodzeń tych terapii stosuje się najczęściej kapecytabinę (samodzielnie lub w kombinacjach z innymi cytostatykami). Sekwencja i skuteczność dalszych linii leczenia jest nadal oceniana, a dane o jej efektywności pochodzą głównie z badań jednośrodkowych lub badań retrospektywnych. Winorelbina jest cytostatykiem o udowodnionej skuteczności w pierwszych liniach leczenia chorych na raka piersi z przerzutami, obecnie jest jednak stosowana w kolejnych liniach. Dlatego celowa wydaje się ocena efektywności i tolerancji tego leku w leczeniu niepowodzeń u chorych na zaawansowanego raka piersi lub raka piersi z przerzutami.

Materiał i metody: Od czerwca 2001 r. do września 2009 r. w Centrum Onkologii – Instytucie im. M. Skłodowskiej-Curie w Krakowie leczono 103 chore na zaawansowanego, nieoperacyjnego raka piersi lub raka piersi z przerzutami. Chore otrzymywały chemioterapię opierającą się na winorelbinie, która była podawana jako druga lub kolejna linia leczenia po chemioterapii z udziałem taksanów i antracyklin. Winorelbina wraz z 5-fluorouracylem (5-FU) (w dawkach odpowiednio 25 mg/m² i.v. i 500 mg/m² i.v. w 1 i 8. dniu cyklu co 3 tygodnie) otrzymały 53 chore, a winorelbina w monoterapii (30 mg/m² w 1. i 8. dniu cyklu co 3 tygodnie) otrzymało 50 chorych. Terapia była kontynuowana do progresji choroby lub wystąpienia nieakceptowanej toksyczności. Mediana wieku w grupie chorych leczonych winorelbina z 5-FU wyniosła 54 lata (zakres 38–76), a w grupie otrzymującej winorelbina w monoterapii 55,5 roku (zakres 38–73). Łącznie podano 417 cykli chemioterapii – 177 cykli winorelbiny z 5-FU i 137 cykli winorelbiny w monoterapii. Chore otrzymały 1–11 cykli leczenia – mediana 4 cykle. Ocena efektu leczenia była możliwa u 93 chorych (10 chorych otrzymało tylko 1 cykl leczenia).

Wyniki: Obiektywną odpowiedź na leczenie (RR) uzyskano u 16 (17%) chorych, w tym 2 (2%) całkowite remisje (*complete response* – CR) i 14 (15%) częściowych remisji (*partial response* – PR). Stabilizację choroby (*stable disease* – SD) zaobserwowano u 40 (43%) chorych. W grupie leczonej winorelbina z 5-FU uzyskano 2 CR (4%), 5 PR (10,5%), 24 SD (50%) i 17 PD (35,5%). W grupie otrzymującej winorelbina w monoterapii zanotowano tylko 9 PR (20%) and 16 SD (35,5%). Mediana czasu do progresji w całej grupie wyniosła 18 tygodni, odpowiednio 22 tygodnie w grupie leczonej winorelbina z 5-FU i 16 tygodni w drugiej grupie. Najczęstszymi powikłaniami hematologicznymi była neutropenia (w 20% cykli) oraz trombocytopenia (w 4% cykli), powikłania te w stopniu 3.–4. (zgodnie z NCI CTC) zanotowano odpowiednio w 8% and 1,5%. Nudności i wymioty wystąpiły w 13% podań. Dawki chemioterapii były redukowane w 26 (25%) przypadkach. Nie zanotowano zgonów związanych z leczeniem.

Wnioski: Winorelbina w monoterapii lub w połączeniu z 5-FU jest efektywnym i bezpiecznym leczeniem kolejnej

linii u chorych na zaawansowanego, nieoperacyjnego raka sutka lub raka sutka z przerzutami. Stosowanie winorelbiny w połączeniu z 5-FU wydaje się bardziej skuteczne niż winorelbiny w monoterapii.

[114]

Analysis of results of systemic treatment of advanced, metastatic melanoma

Analiza wyników leczenia systemowego chorych na zaawansowane, rozsiane czerniaki skóry

Bożena Cybulska-Stopa¹, Piotr Rutkowski², Marek Ziobro¹, Marta Skoczek¹, Ida Cedrych¹

¹Klinika Nowotworów Układowych i Uogólnionych, Centrum Onkologii w Krakowie

²Klinika Nowotworów Tkanek Miękkich, Kości i Czerniaków, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Background: The incidence of melanoma is increasing rapidly in worldwide. Metastatic melanoma at the time are incurable and lead in short period of time to death. Current methods to predict in patients with advanced, metastatic melanoma are limited. To determine clinical prognostic factors that accurately predict survival in patient with metastatic melanoma, a retrospective analysis was performed.

Material and methods: The retrospective analysis of 427 patients with metastatic melanoma who were treated between 1995 and 2005 at the Department of Systemic and Generalized Malignancies of the Centre of Oncology (Krakow Division) – 177 (41.45%) patients and Department of Soft Tissue/Bone Sarcoma and Melanoma of the Centre of Oncology (Warsaw Division) – 250 (58.55%) patients.

Results: The median overall survival time (OS) was 7.1 month (95% CI: 6.7-7.9) and the 1-year, 2-year and 5-year survival rates were 32.3%; 12.5%; 3.9%, respectively. The median progression free survival time (PFS) after first line of treatment was 3.5 month (95% CI: 3.1-3.8). There were 19.1% objective responses (CR – 6.1%, PR – 13.0%) and SD – 45.5% after first line of therapy. The most common adverse events were anaemia, neutropenia, thrombocytopenia and nausea and vomiting.

In multivariate analyses: PS >1, normal serum levels of LDH and AspAT, female age (older women), palliative surgical treatment and palliative radiotherapy, kind of treatment in the first line of therapy (DTIC), metastatic melanoma of unknown primary site were independent positive predictor for survival.

Conclusions: The survival rate of patients with metastatic melanoma has not change significantly over the last years. The independent positive predictor for survival are PS > 1, normal serum levels of LDH and AspAT, female age (older women), palliative surgical treatment and palliative radiotherapy, kind of treatment in the first line of therapy (DTIC), metastatic melanoma of unknown primary site. DTIC is useful to treatment patients in a good condition and with normal serum levels of LDH. Because results of treatment metastatic melanoma are not satisfactory, majority of

patients should be treated in prospective, randomized protocols with a new therapy.

Wstęp: Czerniaki skóry w III nieoperacyjnym oraz IV stopniu zaawansowania są obecne nieuleczalne i w krótkim czasie prowadzą do zgonu. Brakuje również jednolitych poglądów co do leczenia chorych w tych stopniach zaawansowania. W chwili obecnej istotne jest pełne określenie zestawu czynników prognostycznych i predykcyjnych w grupie chorych na czerniaki z nieresekcyjnymi przerzutami do regionalnych węzłów chłonnych lub przerzutami *in-transit* lub rozsiewem do narządów odległych leczonych przy zastosowaniu klasycznych metod terapii, zwłaszcza biorąc pod uwagę możliwość pojawienia się w najbliższym czasie leków o nowych mechanizmach, które mogą zmienić postępowanie lecznicze u chorych na zaawansowane czerniaki.

Cel pracy: 1. Ustalenie na podstawie zebranego materiału klinicznego optymalnego postępowania u chorych na czerniaki skóry w stopniu zaawansowania III nieoperacyjnym i IV. 2. Wyodrębnienie czynników prognostycznych mających wpływ na przeżycia całkowite dla grupy chorych leczonych systemowo. 3. Ocena toksyczności i wpływu na przeżycia różnych rodzajów leczenia systemowego. 4. Znaleźnienie czynników predykcyjnych pozwalających na wyodrębnienie z całej populacji chorych na zaawansowane czerniaki skóry grup pacjentów o największych szansach uzyskania odpowiedzi klinicznej na określone leczenie systemowe.

Materiał i metody: Przeprowadzono retrospektywną analizę 427 chorych na czerniaki skóry w stopniu zaawansowania klinicznego III nieoperacyjnym i IV, którzy rozpoczęli leczenie systemowe w Klinice Nowotworów Układowych i Uogólnionych Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Krakowie – 177 (41,45%) chorych, oraz Klinice Nowotworów Tkanek Miękkich, Kości i Czerniaków Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie – 250 (58,55%) chorych, w latach 1995–2005.

Wyniki: Mediana przeżycia całkowitego w całej analizowanej grupie chorych wyniosła 7,1 miesiąca (95% CI: 6,7–7,9), odsetki przeżyć rocznych, 2-letnich i 5-letnich, odpowiednio: 32,3%; 12,5%; 3,9%, a mediana czasu wolnego od progresji choroby (PFS) po pierwszej linii leczenia 3,5 miesiąca (95% CI: 3,1–3,8), odsetek obiektywnych odpowiedzi po pierwszej linii leczenia wyniósł 19,1% (CR – 6,1%, PR – 13,0%), SD – 45,5%. Przeanalizowano 36 zmiennych, 20 z nich wykazało znamiennej statystycznie wpływ na długość przeżycia całkowitego w analizie jednoczynnikowej. W analizie wieloczynnikowej czynnikami wpływającymi znamiennej na przeżycia całkowite okazały się: stan sprawności wg ECOG, wyjściowa aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) i aminotransferazy asparaginianowej (ASpAT) w surowicy, wiek kobiet w momencie podjęcia decyzji o niezakwalifikowaniu do leczenia radykalnego, wykonanie chirurgicznej resekcji paliatywnej przerzutów, zastosowanie paliatywnej radioterapii, rodzaj zastosowanego leczenia w pierwszej linii, występowanie rozsiewu w momencie rozpoznania, przerzuty czerniaka z nieznanego ogniska pierwotnego.

Wnioski: Chemioterapia oparta na dakarbazynie (zwłaszcza w schemacie 5-dniowym) nadal może być wykorzysty-

wana w leczeniu chorych w dobrym stanie ogólnym i z prawidłowym stężeniem LDH w surowicy. Do ewentualnego leczenia drugiej linii należy kwalifikować jedynie chorych, którzy odnieśli korzyść z leczenia pierwszej linii. Istotne znaczenie kliniczne w terapii chorych na zaawansowane czerniaki ma zastosowanie paliatywnej resekcji i radioterapii zmian przerzutowych. Niezależnymi czynnikami rokowniczymi wpływającymi na przeżycie chorych na czerniaki skóry w stopniu zaawansowania klinicznego III nieoperacyjnym i IV są: stan sprawności wg ECOG, wyjściowa aktywność dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w surowicy, wyjściowa aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) w surowicy, wiek kobiet w momencie podjęcia decyzji o niezakwalifikowaniu do leczenia radykalnego u kobiet, wykonanie chirurgicznej resekcji paliatywnej przerzutów, zastosowanie paliatywnej radioterapii, rodzaj zastosowanego leczenia w pierwszej linii, występowanie rozsiewu w momencie rozpoznania, przerzuty czerniaka z nieznanego ogniska pierwotnego. Stosowanie innych schematów niż dakarbazyna w monoterapii w pierwszej linii leczenia nie wpływa na długość przeżycia całkowitego. Ogólna toksyczność stosowanego leczenia nie była duża, a najczęstszymi powikłaniami w stopniu G3 oraz G4 były zaburzenia hematologiczne w postaci niedokrwistości, trombocytopenii i neutropenii oraz nudności i wymioty. Powikłania były większe przy zastosowaniu schematów wielolekowych. Ze względu na niezadowolające wyniki leczenia klasycznymi formami terapii wskazane jest włączanie jak największej liczby chorych na czerniaki skóry w nieoperacyjnym stopniu III i IV do prospektywnych badań klinicznych z nowymi terapiami.

[115]

Dakarbazyna (DTIC) w leczeniu chorych na zaawansowane czerniaki w schemacie jednodniowym w większej dawce czy w mniejszych dawkach przez kilka kolejnych dni?

Bożena Cybulska-Stopa¹, Piotr Rutkowski²,
Marta Skoczek¹, Marek Ziobro¹, Ida Cedrych¹

¹Klinika Nowotworów Układowych i Uogólnionych, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Krakowie

²Klinika Nowotworów Tkanek Miękkich, Kości i Czerniaków, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Background: Since the FDA approval in 1975, dacarbazine (DTIC) has been a systemic treatment of choice for metastatic melanoma, however the schedule of administration has not been definitively established.

To date no significant impact of dacarbazine on overall survival has been reported in the randomized trials.

DTIC is typically administered intravenously at a dose of 200–250 mg/m²/day for 5 consecutive days, repeated every 3–4 weeks or at a single dose of 800 to 1000 mg/m² administered every 3 weeks. There is no data confirming the supe-

riority of one regimen over another one. In the presented study we evaluated the efficacy and toxicity of two different regimens containing DTIC.

Material and methods: We analyzed the data of 80 patients with cutaneous melanoma in inoperable stage III and IV treated with dacarbazine monotherapy as a first-line treatment in the Department of Systemic and Generalized Malignancies (M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center, Cracow) and the Department of Soft Tissue/Bone Sarcomas (M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center, Warsaw) between 1995 and 2005. The median age of the patients was 54.45 years (range 21–78), including 38 (47.5%) men and 42 (52.5%) women. 49 of the patients received DTIC intravenously at a single dose of 1000 mg/m² repeated every 3 weeks, and 31 patients received DTIC at a dose of 250 mg/m² i.v. on days 1–5 every 3 weeks. The therapy was continued until disease progression or unacceptable toxicity. In total, 593 cycles of chemotherapy were administered, including 289 (median – 3) cycles of DTIC in a 1-day regimen and 304 (median – 7) cycles of DTIC in a 5-day regimen.

Results: The median overall survival (OS) was 7.4 (95% CI: 6.7–10.5) months in the group receiving 1-day regimen, and 17.3 (95% CI: 10.0–25.5) months in the group receiving 5-day regimen and the difference was statistically significant ($p = 0.0309$). There was also a statistically significant difference in progression-free survival (PFS) between two groups – 3.8 (95% CI: 2.9–5.6) months and 7.6 (95% CI: 5.5–12.8) months respectively, ($p = 0.0357$). Objective responses were observed in 10 (20.4%) of 49 patients in the first group including 3 CR (6.1% of patients) and 7 PR (14.3% of patients), 16 patients had stable disease – SD (32.7%). In the second group: 6 RR (19.4%), including 5 CR (16.1%) and 1 PR (3.2%), SD was observed in 18 (58.1%) of the patients. The difference between groups was not statistically significant ($p = 0.0523$). The chemotherapy was relatively well tolerated. The most common adverse events were neutropenia registered during 3.75% of cycles, nausea and vomiting during 30% of cycles in a group treated with a single dose of DTIC.

Conclusions: In this study administration of dacarbazine at a dose of 250 mg/m² i.v. for 5 consecutive days every 3 weeks significantly prolonged overall survival (OS) and progression free survival (PFS). A sum of response (CR + PR + SD) was higher in a 5-day regimen without statistic significance. A lower toxicity of treatment was observed in 5-day regimen. The obtained results suggest that the use of DTIC at the dose of 250 mg/m² on days 1–5 appeared to be more effective and better tolerated than DTIC at a single dose of 1000 mg/m².

Wstęp: Niezmiennie od lat 70. ubiegłego stulecia standardem w leczeniu w zaawansowanego czerniaka jest dakarbazyna (DTIC), która pomimo tak długiego okresu stosowania nie ma ostatecznie ustalonego standardu podawania. Do tej pory brak jest również badań klinicznych z randomizacją potwierdzających jej wpływ na przeżycia całkowite. Lek stosowany jest zarówno w dawce 220–250 mg/m² przez 4–5 dni co 3–4 tygodnie, jak również jako jednodniowa terapia w dawce 800–1000 mg/m² podawanej co 3 tygodnie. W pracy oceniono skuteczność oraz toksyczność dwóch różnych schematów podawania DTIC.

Materiał i metody: Przeprowadzono retrospektywną analizę 80 chorych na czerniaki skóry w stopniu zaawansowania klinicznego III nieoperacyjnym i IV, w wieku średnio 54,45 roku (zakres 21–78 lat), w tym 38 mężczyzn (47,5%) i 42 kobiet (52,5%), którzy otrzymywali jako leczenie pierwszej linii dakarbazynę w monoterapii w Klinice Nowotworów Układowych i Uogólnionych Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Krakowie oraz Klinice Nowotworów Tkanek Miękkich, Kości i Czerniaków Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie w latach 1995–2005. Czterdziestu dziewięciu chorych otrzymywało DTIC w dawce 1000 mg/m² i.v. w 1. dobie co 3 tygodnie (37% cho-

rych było w III stopniu zaawansowania), a 31 w dawce 250 mg/m² i.v. w 1–5. dobie co 3 tygodnie (tylko 6,3% chorych w III stopniu zaawansowania). Terapia była kontynuowana do progresji choroby lub nieakceptowanej toksyczności. W sumie podano 593 cykle chemioterapii, w tym 289 (mediana – 3) cykle DTIC w 1-dniowym schemacie oraz 304 (mediana – 7) cykle DTIC w schemacie 5-dniowym.

Wyniki: Mediana czasu przeżycia całkowitego (OS) wyniosła w grupie otrzymującej schemat 1-dniowy 7,4 (95% CI: 6,7–10,5) miesiąca, a w grupie otrzymującej schemat 5-dniowy 17,3 (95% CI: 10,0–25,5) miesiąca. Wykazano znamieną statystycznie różnicę dla mediany OS pomiędzy anali-

Tabela 1. Charakterystyka analizowanych grup chorych

Cecha	N (%) DTIC 1000	N (%) DTIC 250
liczba chorych	49	31
kobiety	20 (40,8%)	22 (71,0%)
mężczyźni	29 (59,2%)	9 (29,0%)
wiek w chwili usunięcia zmiany pierwotnej (zakres) w latach	51,7 ±12,2 50,0 (21–73)	53,4 ±14,1 49,0 (19–75)
leczenie uzupełniające – immunoterapia	8 (16,3%)	5 (16,1%)
leczenie uzupełniające – radioterapia	5 (10,2%)	8 (25,8%)
czas od momentu rozpoznania czerniaka do chwili wystąpienia nieoperacyjnego rozsiewu choroby: średnia/mediana (zakres) w miesiącach	31,4 ±31,7 16,4 (0–137)	23,4 ±17,2 17,1 (1,71–72,2)
przebieg choroby przed rozpoznaniem przerzutów czerniaka, rozsiew:		
rozsiew z FPI	4 (8,2%)	1 (3,2%)
pozostałe	45 (91,8%)	30 (96,8%)
wiek w chwili dyskwalifikacji od leczenia radykalnego lub wystąpienia rozsiewu odległego średnia/mediana (zakres) w latach	54,0 ±12,5 53,3 (23,6–78,9)	54,9 ±14,0 51,7 (21,2–74,8)
stan menopauzalny (tylko kobiety)	11 (55,0%)	10 (45,5%)
ECOG		
0	8 (16,3%)	25 (80,7%)
1	35 (71,4%)	5 (16,1%)
2	4 (8,2%)	1 (3,2%)
3	2 (4,1%)	0 (0%)
brak danych	0	0
stopień zaawansowania wg AJCC/UICC		
III	3 (6,3%)	10 (37,0%)
IVa	0 (0,0%)	2 (7,4%)
IVb	1 (2,0%)	0 (0,0%)
IVc	44 (91,7%)	15 (55,6%)
Bd	1	4

Tabela 1. Cd.

Cecha	N (%) DTIC 1000	N (%) DTIC 250
liczba zajętych lokalizacji (organów) w momencie dyskwalifikacji od leczenia radykalnego:		
1	12 (25,0%)	22 (71,0%)
2	25 (52,1%)	9 (29,0%)
3 lub >	11 (22,9%)	0
brak danych	1	0
lokalizacja zmian przerzutowych w momencie dyskwalifikacji od leczenia radykalnego:		
tkanki miękkie	24 (49,0%)	25 (89,3%)
węzły	28 (57,1%)	3 (10,7%)
płuca	15 (30,6%)	3 (10,7%)
wątroba	10 (20,4%)	0 (0,0%)
kości	5 (10,2%)	1 (3,6%)
OUN	5 (10,2%)	0 (0,0%)
inne	14 (28,6%)	1 (3,6%)
brak danych	0	3
wyjściowa aktywność LDH w surowicy:		
norma	23 (56,1%)	17 (63,0%)
podwyższony	18 (43,9%)	10 (37,0%)
brak danych	8	4
wyjściowa aktywność ALAT w surowicy:		
norma	35 (83,3%)	27 (96,4%)
podwyższony	7 (16,7%)	1 (3,6%)
brak danych	7	3
wyjściowa aktywność ASPAT w surowicy:		
norma	36 (83,7%)	27 (96,4%)
podwyższony	7 (16,3%)	1 (3,6%)
brak danych	6	3
wyjściowy poziom hemoglobiny:		
norma	30 (68,2%)	29 (100%)
obniżony	17 (31,8%)	0
brak danych	5	2
liczba cykli: średnia; mediana (zakres)	5,9 ±11,9 9,8 ±11,1	3,0 (1–80) 7,0 (1–60)
odpowiedź na leczenie I linii		
PD	23 (46,9%)	7 (22,6%)
SD	16 (32,7%)	18 (58,1%)
PR	7 (14,3%)	1 (3,2%)
CR	3 (6,1%)	5 (16,1%)

Tabela 2. Czas przeżycia całkowitego (OS) w badanych grupach

	Przeżycie całkowite wśród pacjentów leczonych mono-DTIC								
	N	N zgonów	Średnia	Mediana (miesiące)	95% CI dla mediany	1-roczone (%)	2-letnie (%)	5-letnie (%)	wartość p
DTIC 1000	49	47	15,4	7,4	6,7–10,5	32,7	14,3	7,7	0,0309
DTIC 250	31	28	28,9	17,3	10,0–25,5	64,5	35,5	17,20	

Tabela 3. Czas wolny od progresji choroby (PFS) w badanych grupach

	Czas wolny od progresji choroby wśród pacjentów leczonych mono-DTIC								
	N	N zgonów	Średnia	Mediana (miesiące)	95% CI dla mediany	6-miesięczne (%)	1-roczone (%)	2-letnie (%)	wartość p
DTIC 1000	49	48	7,9	3,8	2,9–5,6	28,6	18,4	8,2	0,0357
DTIC 250	31	27	12,4	7,6	5,5–12,8	62,5	34,7	13,9	

zowanymi grupami ($p = 0,0309$), podobnie dla mediany czasu wolnego od progresji (PFS), która wyniosła odpowiednio 3,8 (95% CI: 2,9–5,6) miesiąca oraz 7,6 (95% CI: 5,5–12,8) miesiąca, wykazano znamiennej statystycznie różnicę ($p = 0,0357$). Zanotowano 10 (20,4%) obiektywnych odpowiedzi (RR) na leczenie w pierwszej grupie, w tym 3 CR (6,1%) i 7 PR (14,3%) oraz 16 SD (32,7%), natomiast w drugiej grupie 6 RR (19,4%), w tym 5 CR (16,1%) i 1 PR (3,2%) oraz 18 SD (58,1%), bez znamiennej statystycznie różnicy pomiędzy grupami ($p = 0,0523$). Ogólna toksyczność stosowanych terapii była niewielka. Najczęstszymi powikłaniami były: neutropenia (w 3,75% cykli) oraz nudności i wymioty (w 30% cykli), które dotyczyły schematu 1-dniowego.

Wnioski: Podawanie DTIC w dawce 250 mg/m² i.v. w 1.–5. dobie co 3 tygodnie okazało się mieć znamienne lepszy wpływ na przeżycia całkowite oraz długość czasu wolnego od progresji niż dawka 1000 mg/m² w 1. dobie co 3 tygodnie. Liczba odpowiedzi na leczenie (CR + PR + SD) była wyższa w grupie z mniejszą dawką, jednak bez znamienności statystycznej, zanotowano również mniejszą toksyczność leczenia w schemacie 5-dniowym. Otrzymane wyniki przemawiają za stosowaniem dakarbazyny w dawce 250 mg/m² i.v. w 1.–5. dobie co 3 tygodnie.

intercellular generation of reactive oxygen species. The oxidative stress is a factor which initiates the cell death during photodynamical reaction. Cell death in PDT may occur by apoptosis or by necrosis.

Aim of the study: The aim of this study was to assess photodynamic therapy *in vitro* which induces apoptosis in the human melanoma C32 cell line. Control tests were performed on the normal human keratinocytes – HaCaT cell line.

Material and methods: The Photofrin was used for the photodynamic reaction *in vitro* as a photosensitizer. The cells were incubated for 18 h with 20 µg/ml of Ph in DMEM. Then cells were irradiated 10 min with the light intensity of 10 mW/cm² using a lamp with polarized light and red filter (632.8 nm). The cells viability was determined by cloning efficacy test. For the detection of DNA fragmentation associated with apoptosis, the alkaline comet assay method was performed.

Results: After PDT with 20 µg/ml concentration of Ph survived less than 50% of C32 cells and 67% of HaCaT cells. In the same combination, but without irradiation survived 99% of C32 and HaCaT cells. According to the alkaline comet assay, high percentage of apoptotic cells was observed in C32 cell line after applied Ph-PDT, while in HaCaT cells only 1% of cells died on this way.

Conclusions: Photodynamic reaction based Ph induced apoptosis in C32 cells.

Wstęp: Terapia fotodynamiczna (PDT) należy do miejscowych metod leczenia nowotworów. Cytotoksyczność terapii polega na generacji reaktywnych form tlenu. Powstały stres oksydacyjny jest czynnikiem, który inicjuje śmierć komórek podczas reakcji fotodynamicznej. Śmierć komórki może nastąpić na drodze apoptozy lub martwicy.

Cel pracy: Celem pracy była ocena terapii fotodynamicznej pod kątem indukcji apoptozy w ludzkiej linii komórkowej czerniaka C32. Badania kontrolne wykonano na prawidłowej linii ludzkich keratynocytów HaCaT.

Materiał i metody: Jako fotouczulacz zastosowano Photofrin (Ph). Komórki inkubowano przez 18 godz. z 20 mg/ml Ph w DMEM, następnie naświetlano przez 10 min światłem o mocy 10 mW/cm² przy użyciu lampy emitującej światło spolaryzowane i o długości fali 632,8 nm. Żywotność komó-

[116]

Effect of PDT on the apoptosis induction in melanoma cells

Wpływ PDT na indukcję apoptozy w komórkach czerniaka

Anna Choromanska¹, Jolanta Saczko¹, Julita Kulbacka¹,
Agnieszka Chwilkowska¹, Nina Skolucka¹,
Małgorzata Drag-Zalesińska², Teresa Wysocka²

¹Department of Medical Biochemistry, Wrocław Medical University

²Department of Histology and Embryology, Wrocław Medical University

Background: The photodynamic therapy (PDT) is an effective local cancer treatment that induces cytotoxicity through

rek zbadano testem klonogennym. W celu wykrycia apoptotycznych zmian w DNA wykonano test kometowy, alkaliczny.

Wyniki: Po terapii przeżywalność wynosiła mniej niż 50% w przypadku komórek linii C32 i 67% w przypadku komórek linii HaCaT. W tych samych warunkach, ale bez naświetlania przeżywalność wyniosła 99% dla komórek linii C32 oraz dla komórek linii HaCaT. Test kometowy wykazał wysoki odsetek komórek apoptotycznych dla linii komórkowej C32 po zastosowaniu Ph-PDT, podczas gdy w komórkach HaCaT tylko 1% komórek uległ apoptozie.

Wnioski: Reakcja fotodynamiczna z Photofrinem indukuje apoptozę w komórkach ludzkiego czerniaka linii C32.

[117]

Phototoxic effect of three porphyrin photosensitizers: disodium protoporphyrinate, diarginine protoporphyrinate and disodium N,N-diphenylalanyl protoporphyrinate in combination with 5-methoxypsoralen toward human fibroblasts and keratinocytes in vitro: implication to skin cancer photochemotherapy

Fototoksyczne działanie trzech fotosensybilizatorów porfiryńowych: protoporfirynianu disodowego, protoporfirynianu diargininowego oraz N,N-difenyloalanyloprotoporfirynianu disodowego w połączeniu z 5-metoksypsoralenem na ludzkie fibroblasty i keratynocyty in vitro: odniesienie do zastosowania w fotochemioterapii nowotworów skóry

Andrzej M. Bugaj^{1,3}, Patrice Morlière^{2,3,4}, René Santus^{3,4}, Josiane Haigle³

¹University of Health, Beauty and Education, Poznań

²INSERM ERI 12, Centre Hospitalier Universitaire Amiens Nord, Département de Biochimie, Amiens, France

³Département RDDM: Équipe de Photobiologie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France

⁴INSERM U.532, Institut de Recherche sur la Peau, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

In this work, we have studied the photodynamic effects of two new generation porphyrin photosensitizers: diarginine protoporphyrinate (PPArg₂) and disodium N,N-diphenylalanyl protoporphyrinate (PP(Phe)₂Na₂) toward human fibroblasts and keratinocytes in comparison with that of sodium salt of the parent compound, PPIX (PPNa₂). Synergistic effects of these porphyrins and 5-methoxypsoralen (5-MOP), a furocoumarin used in the PUVA therapy of skin proliferative diseases, were also investigated. Under UV-A irradiation ($\lambda = 365$ nm), the phototoxicity of the porphyrins toward cultured human fibroblasts and keratinocytes decreases in the order: PPNa₂ > PPArg₂ > PP(Phe)₂Na₂. The combination of these three porphyrins with 5-MOP signifi-

cantly potentiated their phototoxicity. The most effective potentiation was observed with the water-soluble PPArg₂ and 5-MOP concentrations lower than 0.75 μ M, and above this 5-MOP concentration this effect was abolished. Illumination with red light ($\lambda = 645$ -730 nm) not absorbed by 5-MOP, leads to a weak potentiation of the PPArg₂ phototoxic effect in the presence of 5-MOP, suggesting that dark interaction of 5-MOP with cell membranes aggravated by porphyrin photosensitization is involved in the observed phenomena. The intracellular concentration of PPNa₂ and PP(Phe)₂Na₂ was independent of the presence of 5-MOP while the intracellular content of PPArg₂ was decreased in a concentration-dependent manner by the psoralen. This loss in the PPArg₂ cell content probably explains the inhibition of the synergistic effect of 5-MOP on the PPArg₂ phototoxicity at high 5-MOP concentration. This study suggests that PPArg₂ in combination with 5-MOP might reveal a strong phototoxic effect when applied to skin cancer treatment.

W niniejszej pracy badano fotodynamiczne działanie dwóch fotosensybilizatorów porfiryńowych nowej generacji: protoporfirynianu diargininowego (PPArg₂) oraz N,N-difenyloalanyloprotoporfirynianu disodowego (PP(Phe)₂Na₂) na ludzkie fibroblasty i keratynocyty w porównaniu z analogicznym działaniem protoporfirynianu disodowego (PPNa₂), stanowiącego sól sodową substancji macierzystej (protoporfiryny IX). Przedmiotem badań było także synergistyczne działanie tych sensybilizatorów z 5-metoksypsoralenem (5-MOP), furokumaryną stosowaną w fotochemioterapii PUVA wykorzystywanej w leczeniu proliferacyjnych chorób skóry. W przypadku działania promieni UV-A ($\lambda = 365$ nm), fototoksyczność badanych związków porfiryńowych względem ludzkich fibroblastów i keratynocytów *in vitro* malała w szeregu: PPNa₂ > PPArg₂ > PP(Phe)₂Na₂, przy czym 5-MOP powodował nasilenie obserwowanego efektu fototoksycznego, widoczne najwyraźniej w przypadku rozpuszczalnego w wodzie PPArg₂, jeśli stężenia obu tych związków nie przekraczały 0,75 μ mol/l. W przypadku większych stężeń 5-MOP obserwowany efekt synergistyczny ulegał zmniejszeniu. Pod działaniem światła czerwonego ($\lambda = 645$ -730 nm), nieabsorbowanego przez cząsteczki 5-MOP, potęgujący efekt tego związku był nieznaczny, co sugerowałoby, iż jest on spowodowany niezależnym od światła oddziaływaniem 5-MOP z błonami komórkowymi fibroblastów i keratynocytów. Wewnątrzkomórkowe stężenia PPNa₂ i PP(Phe)₂Na₂ nie zależały od obecności 5-MOP, natomiast stężenie wewnątrzkomórkowe PPArg₂ ulegało zmniejszeniu ze wzrostem zewnątrzkomórkowego stężenia 5-MOP, co mogłoby stanowić wyjaśnienie spadku potęgującego działania 5-MOP względem PPArg₂ w przypadku większych stężeń 5-MOP. Uzyskane wyniki badań sugerują, że PPArg₂ w połączeniu z 5-MOP może wykazywać silne działanie fototoksyczne podczas stosowania w fotochemioterapii nowotworów skóry.

[118]

Newly synthesized fluphenazine analogues as inhibitors of P-glycoprotein transport function

Nowo syntezowane analogi flufenazyny jako inhibitory funkcji transportowej glikoproteiny P

Agata Jaszczyszyn¹, Kazimierz Gąsiorowski¹,
Piotr Świętek¹, Wiesław Malinka¹,
Katarzyna Cieślak-Boczula², Joanna Szwed²,
Bogusława Czarnik-Matusewicz²

¹Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Uniwersytet Wrocławski

Background: Fluphenazine, a phenothiazine derivative with strong antipsychotic activity, demonstrates also chemosensitive activity. Fluphenazine reverses the P-glycoprotein-mediated multidrug resistance and restores sensitivity of neoplastic cells to cytostatic drugs. However, its application in oncologic therapy is confined by numerous undesirable effects on the central nervous system, even an induction of drug-induced parkinsonism. In comparison with maternal compound, the newly synthesized fluphenazine analogues are characterized by lower lipophilicity value or a higher molecular weight. Therefore it can be assumed that in comparison with fluphenazine, they should poorly penetrate into the central nervous system and will cause extrapyramidal symptoms to a lesser extent.

Aim of the study: Evaluation of the influence of 17 newly synthesized fluphenazine analogues on the inhibition of the P-glycoprotein activity.

Material and methods: The rhodamine-123 accumulation test was used to evaluate the influence of the tested compounds on P-glycoprotein transport function. The test was carried out in human lymphocyte cultures, which were stimulated to increase the P-glycoprotein expression and to

genotoxic damages by the incubation with benzo[a]pyrene [7.5 μM, 48 h]. Lymphocyte cultures kept in the presence of benzo[a]pyrene without the tested compounds were used as a control.

Results: It was established that out of 17 tested compounds, 10 fluphenazine analogues (at a concentration of 10 μM) significantly increased rhodamine-123 accumulation in lymphocyte cultures ($p < 0.05$). As compared to the control cultures the P-glycoprotein activity was most strongly inhibited by 1a, 1b, 1d, 3f, 3h and 3i analogues (approximately by 25%).

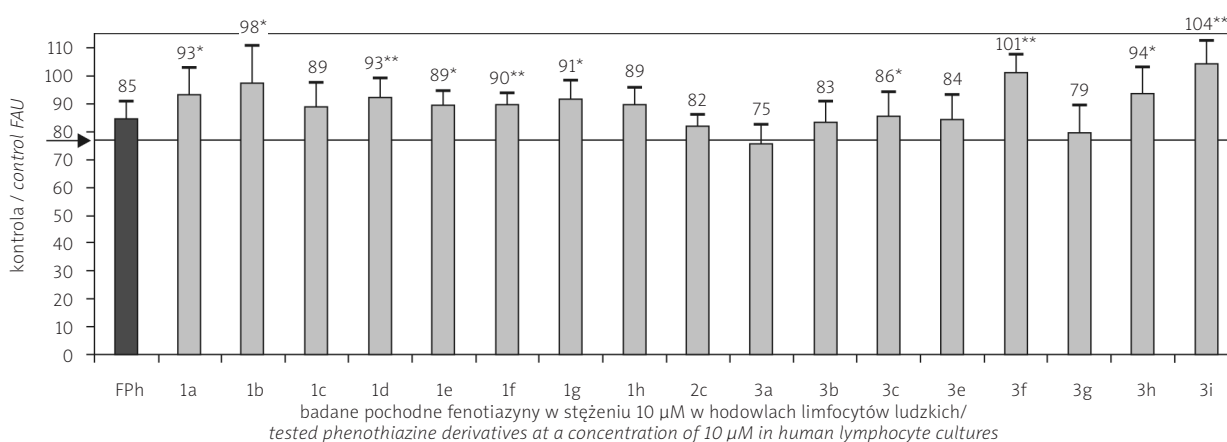
Conclusions: The tested fluphenazine analogues: 1a, 1b, 1d, 3f, 3h and 3i compounds are potential candidates for adjuvant agents in cancer chemotherapy.

This research was supported by the Polish Ministry of Sciences and Higher Education (Grant No. NN204 150338).

Wstęp: Flufenazyna, pochodna fenotiazyny o silnym działaniu antypsychotycznym, wykazuje także aktywność chemouwrażliwiającą. Flufenazyna odwraca wielolekową oporność związaną z glikoproteina P i przywraca wrażliwość komórek nowotworowych na cytostatyki. Jej zastosowanie w terapii onkologicznej ograniczają jednak liczne działania niepożądane ze strony ośrodkowego układu nerwowego, głównie wywoływanie polekowego parkinsonizmu. Nowo syntezowane analogi flufenazyny charakteryzują się niższą wartością współczynnika lipofilności lub mają wyższą masę cząsteczkową w porównaniu ze związkiem macierzystym. Dlatego można przyjąć, że będą one słabiej niż flufenazyna penetrowały do ośrodkowego układu nerwowego i w mniejszym stopniu wywoływały zaburzenia pozapiramidowe.

Cel pracy: Ocena wpływu 17 nowo syntezowanych analogów flufenazyny na zahamowanie aktywności glikoproteiny P.

Materiał i metody: Do oceny wpływu badanych związków na funkcję transportową glikoproteiny P zastosowano test gromadzenia rodaminę 123. Badania wykonano



* istotne statystycznie $p < 0,05$ / significant $p < 0.05$

** istotne statystycznie $p < 0,01$ / significant $p < 0.01$

FAU – umowne jednostki fluorescencji rodaminę 123 / fluorescence arbitrary units of rhodamine-123

FPh – flufenazyna / fluphenazine

Fig. 1. Rhodamine-123 accumulation test

Ryc. 1. Test gromadzenia rodaminę 123

w hodowlach limfocytów ludzkich stymulowanych do zwiększenia ekspresji glikoproteiny P i jednocześnie uszkodzonych genotoksycznie przez inkubację z benzo[a]pirenem (7,5 μ M, 48 godz.). Kontrolami były hodowle limfocytów prowadzone w obecności benzo[a]pirenu bez testowanych związków.

Wyniki: Wykazano, że spośród 17 badanych związków 10 analogów flufenazyny (w stężeniu 10 μ M) istotnie statystycznie zwiększało gromadzenie rodaminy 123 w hodowlach limfocytów ($p < 0,05$). Najbardziej w porównaniu z kontrolą (średnio o ok. 25%) aktywność glikoproteiny P blokowały analogi 1a, 1b, 1d, 3f, 3h i 3i.

Wnioski: Badane analogi flufenazyny, związki 1a, 1b, 1d, 3f, 3h i 3i są potencjalnymi kandydatami na adiuwantowe substancje lecznicze w chemioterapii nowotworów.

Badania finansowane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Grant Nr NN204 150338).

[119]

Post-transplant lymphoproliferative disorder after heart transplantation – case report

Potransplacyjna choroba limfoproliferacyjna po przeszczepieniu serca – opis przypadku

Bożena Cybulska-Stopa, Marek Ziobro, Marta Skoczek, Ida Cedrych

Klinika Nowotworów Układowych i Uogólnionych, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Curie-Skłodowskiej w Krakowie

Background: Post-transplant lymphoproliferative disorder (PTLD) is a well recognized, although relatively uncommon, complication of both solid organ and allogenic bone marrow transplantation. In most cases, PTLD is associated with Epstein-Barr virus (EBV) infection of B cells. There is no the optimal therapy strategy to treat PTLD.

Case report: We present the case of a 27-year old man after heart transplantation and immunosuppressive treatment. After 10 years post heart transplantation, the patient had intestinal obstruction which required surgical intervention. During the surgery tumor was removed from small intestine together with enlarged regional lymph nodes. There was diagnosed: monomorphic post-transplant lymphoproliferative disorders; diffuse large B-cell lymphoma; CD20+. Enlarged mesenteric and paraaortic lymph nodes were confirmed in CT. A treatment was started according to protocol treatment of European Study Group on PTLD. We reduced doses of immunosuppressives and then we started immunotherapy with rituximab 375 mg/m² at 1, 8, 15, 22 days. In control PET-CT there wasn't any active lesions of disease. We continued therapy by rituximab. In next control PET/CT we diagnosed one active lesion in the abdomen. There was a high risk of complications after chemotherapy CHOP thus we decided on radiotherapy. The patient received 30 Gy in ten fraction on paraaortic nodes field without any complications.

In this time patient has been staying in control without any symptoms of disease.

Immunotherapy – rituximab and radiotherapy in case of disease progression restricted to one side may be a good option for patients with high risk of complications after chemotherapy

Wstęp: Potransplacyjne zespoły limfoproliferacyjne (*post-transplant lymphoproliferative disorder* – PTLD) to niejednorodna grupa zespołów limfoproliferacyjnych, które pojawiają się po przeszczepieniu narządowym i stanowią jedno z najpoważniejszych powikłań przewlekłego leczenia immunosupresyjnego. Do rozwoju PTLD dochodzi najczęściej pod wpływem poliklonalnej aktywacji limfocytów zakażonych wirusem EBV, co następnie prowadzi do rozwoju chłoniaków – monoklonalnego rozrostu limfocytów B (limfoproliferacja). Nie ustalono dotychczas algorytmu postępowania z chorymi, u których rozpoznano PTLD.

Opis przypadku: Prezentujemy przypadek 27-letniego mężczyzny, u którego wykonano przeszczepienie mięśnia sercowego, a następnie zastosowano leczenie immunosupresyjne. Po 10 latach od wykonania przeszczepu u chorego wystąpiła niedrożność przewodu pokarmowego wymagająca interwencji chirurgicznej. W trakcie zabiegu usunięto dwuogniskowego guza jelita cienkiego powodującego niedrożność oraz powiększone regionalne węzły chłonne. W badaniu histopatologicznym stwierdzono monomorficzną postać PTLD oraz rozlanego chłoniaka olbrzymiokomórkowego linii B (*monomorphic post-transplant lymphoproliferative disorders; diffuse large B-cell lymphoma; CD20+*). W wykonanym następnie badaniu tomograficznym stwierdzono powiększenie węzłów chłonnych kręzkowych i okołoaortalnych. Zdecydowano o rozpoczęciu leczenia chorego zgodnie z protokołem leczenia Europejskiej Grupy ds. leczenia PTLD. Początkowo stopniowo zmniejszono dawki leków immunosupresyjnych (takrolimus), następnie podano 4 serie immunoterapii: rituksymab w dawce 375 mg/m² w dniach 1., 8., 15. i 22. W kontrolnym badaniu pozytonowej tomografii emisyjnej w połączeniu z tomografią komputerową (*positron emission tomography – computed tomography – PET/CT*) nie stwierdzono ognisk aktywnej choroby. Kontynuowano leczenie rituksymabem – podano 4 kolejne cykle leczenia. W kontrolnym badaniu PET/CT stwierdzono pojedyncze ognisko aktywnego procesu rozrostowego w jamie brzusznej (węzeł chłonny okołoaortalny o rozmiarach 23 × 20 mm). W związku z dużym ryzykiem wystąpienia powikłań u chorego po podaniu chemioterapii CHOP oraz obecnością tylko jednego aktywnego ogniska chorobowego zdecydowano o dalszym leczeniu z zastosowaniem radioterapii. Chory otrzymał dawkę 30 Gy w 10 frakcjach na obszar węzłów chłonnych okołoaortalnych, bez powikłań. W chwili obecnej pozostaje w kontrolach bez cech czynnego procesu nowotworowego.

Wnioski: Zastosowanie immunoterapii rituksymabem, a w razie progresji choroby radioterapii na pojedyncze ogniska aktywnego procesu nowotworowego, może być opcją leczenia chorych na PTLD z dużym ryzykiem wystąpienia powikłań po chemioterapii.

[120]

The influence of aerobic training on bone strength in premenopausal women undergoing breast cancer endocrine therapy

Wpływ aktywności fizycznej o charakterze aerobowym na wytrzymałość kości u kobiet przed menopauzą w trakcie hormonoterapii raka piersi

Katarzyna Hojan, Piotr Milecki

Wielkopolskie Centrum Onkologii w Poznaniu

Background: Breast cancer endocrine therapy is one of the most basic therapeutic methods in oncology. Well-balanced physical activity exerts positive influence on the bone strength, which has been confirmed by the clinical research regarding osteoporosis prevention and treatment alike. Accordingly, in the following study, an attempt was made to assess the selected parameters of young, premenopausal women's clinical state under the influence of breast cancer endocrine therapy, as well as to define the influence of physical activity on the studied parameters.

Aim of the study: The assessment of the influence of aerobic training on selected elements of bone strength in premenopausal women undergoing breast cancer endocrine therapy.

Material and methods: The study included 53 women (mean 44,3 ±4,9) rehabilitated in The Daily Rehabilitation Ward of Greater Poland Cancer Centre in Poznan between September 2007 and June 2010 during breast cancer treatment. Endocrine therapy consisted in using Zoladex (goserelin) 3,6 mg/28 days and Nolvadex D (tamoksyfen) 20 mg/day.

This was a nonrandomized, prospective clinical study. The following examinations of the assessment of bone strength in the DEXA were measured: the bone mineral density of a femur neck, lumbar region L1-L4, Total Body and the geometrical analysis of a femur neck (hip strength analysis – HSA) using: hip axis length – HAL, hip strength index – HSI, cross-sectional moment of inertia – CSMI, cross-sectional area – CSA. The examinations were conducted for all the patients according to the schedule: before the beginning of the endocrine therapy, after 6 months of the endocrine therapy and after 12 months of the endocrine therapy (after 6 month aerobic training).

Results: After the first 6 months of the endocrine therapy without regular physical exercise the following results were noted: the BMD mean value of the neck of a femur, in the L1-L4 spine region and in the Total Body were significantly lower ($p < 0.05$) than the initial value. The HAL and HSI mean values did not change significantly in comparison to the pre-treatment parameters. The CSMI and CSA were lower ($p < 0.05$) in comparison to its pre-treatment mean value. After 6 month aerobic training, in the 12 month of the follow up, the BMD mean value of the neck of a femur was 1,1% ($p > 0.05$) lower, while in the L1-L4 spine region it was 5.6% ($p < 0.05$) lower, and in the Total Body 2.7% ($p < 0.05$) lower in comparison to the values in the sixth month of the observation. The mean value of HAL ($p < 0.05$) and CSA

($p < 0.05$) were reduced, HSI ($p < 0.05$) and CSMI ($p < 0.05$) were increased in comparison to the value in the 6 month of the observation.

Conclusion: That even short course of the endocrine therapy is related to changes in bone strength. The introduction of aerobic physical activity caused a slowdown in negative changes in bones.

Wstęp: Hormonoterapia (HT) w raku piersi stanowi jedną z podstawowych metod terapeutycznych. Pomimo stosowania jej od wielu dekad u kobiet nadal istnieje szereg kontrowersji odnoszących się do oceny wpływu tego leczenia na stan wytrzymałości mechanicznej kości. Odpowiednio zaprojektowana aktywność fizyczna wpływa pozytywnie na wytrzymałość kości, co zostało potwierdzone badaniami klinicznymi w profilaktyce, jak i leczeniu osteoporozy. W związku z tym w poniższym badaniu podjęto próbę obiektywnej oceny wybranych składowych stanu klinicznego u młodych kobiet (przed okresem menopauzy) zachodzących pod wpływem leczenia hormonalnego z powodu raka piersi oraz określenia wpływu aktywności fizycznej na badane parametry.

Cel pracy: Ocena wpływu treningu aerobowego na wybrane elementy wytrzymałości mechanicznej kości u kobiet przed menopauzą leczonych hormonalnie z powodu raka piersi.

Materiał i metody: Do badania zakwalifikowano 53 kobiety (44,3 ±4,9) usprawnianych na Oddziale Rehabilitacji Diennej Wielkopolskiego Centrum Onkologii w Poznaniu od września 2007 r. do czerwca 2010 r. w trakcie HT raka piersi [Zoladex (goserelin) w dawce 3,6 mg/28 dni i Nolvadex D (tamoksyfen) w dawce 20 mg/dobę).

Badanie miało charakter prospektywnego badania klinicznego bez randomizacji. Ocena wytrzymałości kości określono w DEXA, dokonując: pomiarów BMD szyjki kości udowej oraz w L1–L4 kręgosłupa i *total body* oraz analizy geometrycznej szyjki kości udowej (*hip strength analysis* – HAS) przy wykorzystaniu: *hip axis length* – HAL, *hip strength index* – HSI, *cross-sectional moment of inertia* – CSMI, *cross-sectional area* – CSA. Badania prowadzono: przed rozpoczęciem HT, po 6 miesiącach HT oraz po 6 miesiącach aktywności fizycznej o charakterze aerobowym (po 12 miesiącach HT).

Wyniki: Po 6 miesiącach HT bez prowadzenia regularnej aktywności fizycznej stwierdzono, że średnia wartość BMD była istotnie mniejsza ($p < 0,05$) w szyjce kości udowej, w L1–L4 oraz *total body* od wartości wyjściowej. Średnie wartości HAL i HSI nie uległy istotnej zmianie, a CSMI i CSA były istotnie mniejsze ($p < 0,05$). Po 6 miesiącach treningu aerobowego średnie wartości BMD były mniejsze w szyjce kości udowej ($p > 0,05$) i w L1–L4 oraz *total body* ($p < 0,05$) w stosunku do 6 miesiąca. W tym czasie stwierdzono zwiększenie średnich wartości HAL ($p < 0,05$) i CSMI ($p > 0,05$) i mniejsze wartości parametrów HSI ($p < 0,05$) i CSA ($p > 0,05$).

Wnioski: Z uzyskanych danych wynika, że już po 6 miesiącach HT raka piersi u chorych dochodzi do niekorzystnych zmian wytrzymałości kości. Wprowadzenie aktywności fizycznej o charakterze aerobowym spowodowało spowolnienie powstawania niekorzystnych zmian w kośćcu.

[121]

Patient Empowered Medicine (PEM) model – a challenge to the Polish oncology healthcare system

Model wzmocnienia pozycji pacjenta w medycynie wyzwaniem dla polskiego systemu onkologicznej opieki zdrowotnej

Hanna Saryusz-Wolska

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Introduction: It is a fact that the importance of the position of a patient in modern medicine is increasing. The evolution in medicine from paternalism through participation to doctor-patient partnership has had complex circumstances and interesting dynamics.

The aim of the study was to present the complex circumstances in which the concept of PEM came into being and developed, and the current legal regulations of the European Union in the area of patient information.

Material and methods: The article is based on review of the literature and documents

Results: In management, patient empowerment springs from Baldrige's model (the early 1980's), where visionary leadership, patient-focused excellence and organizational learning were mentioned among the core values. The patient's opinion and the perception of medical service quality were crucial to the market success of the hospital.

PEM model, popular since the 1990's, involves the propagation of the patient's right to information, democratization of knowledge, new learning theories and knowledge management. The patient, as a fully informed partner should: a. receive accurate information on the course of the disease and prognosis, b. understand the risks, benefits, and uncertainties of the treatment undertaken, c. have the possibility to participate in the decision-making process of concerning treatment. The patients, strengthened by their knowledge, make better use of their right to medical care. They may also influence the changes in the healthcare system.

EU Directive on Patients' Rights in Trans-border Health Care released on January 19, 2011 obliges Poland to prepare appropriate information for patients concerning the system of treatment in our country (including access, availability of services, coverage, arrangement, quality and safety of medical care).

Conclusions: Under the current conditions in the operation of Polish health care system, the patient-doctor relation and the use of PEM principles are a real challenge for both sides.

It is necessary to undertake wide-scale information and education action.

Wstęp: Wzrost znaczenia pozycji pacjenta w nowoczesnej medycynie jest faktem. Ewolucja w medycynie od paternalizmu, przez partycypację do partnerstwa pacjent – lekarz ma złożone uwarunkowania i interesującą dynamikę.

Cel pracy: Ukazanie złożonych uwarunkowań kształtowania się i rozwoju koncepcji PEM oraz aktualnych regula-

cji prawnych Unii Europejskiej w obszarze informacji dla pacjenta.

Materiał i metody: Prezentowana praca opiera się na przeglądzie literatury i dokumentów.

Wyniki: W zarządzaniu wzmocnienie pozycji pacjenta wywodzi się z modelu Baldrige'a (początek lat 80.), gdzie wśród „jądra wartości” wymieniano m.in. wizjonerskie przywództwo, doskonałość skupioną na pacjencie oraz organizacyjne uczenie się. Opinia pacjenta i postrzeganie jakości usług medycznych decydowało o sukcesie rynkowym szpitala.

Model wzmocnienia pozycji pacjenta w medycynie (PEM), popularny w latach 90., wiąże się z upowszechnieniem prawa pacjenta do informacji, demokratyzacją wiedzy, nowymi teoriami uczenia się i zarządzania wiedzą. Pacjent jako w pełni poinformowany partner powinien:

- otrzymać dokładną informację dotyczące przebiegu choroby i rokowania,
- rozumieć ryzyko, korzyści i niepewność podejmowanych działań leczniczych,
- mieć możliwość uczestniczenia w procesie podejmowania decyzji leczniczych.

„Silny” wiedzą pacjent efektywniej korzysta z przysługujących mu praw do usług medycznych. Może także wpływać na zmiany w systemie opieki zdrowotnej.

Dyrektywa UE w sprawie stosowania praw pacjenta w transgranicznej opiece zdrowotnej przyjęta 19 stycznia 2011 nakłada na Polskę obowiązek przygotowania stosownych informacji dla pacjentów o systemie leczenia w naszym kraju (m.in. o dostępności, osiągalności, uprawnieniach do opieki zdrowotnej, zasadach organizacji, jakości, bezpieczeństwie opieki medycznej).

Wnioski: W warunkach funkcjonowania polskiego systemu opieki zdrowotnej relacja pacjent – lekarz i stosowanie zasad PEM stanowi prawdziwe wyzwanie dla obu stron. Niezbędne są zakrojone na szeroką skalę działania informacyjno-edukacyjne.

[122]

Early diagnosis in case of breast cancer reduces mortality

Ocena znajomości profilaktyki raka piersi wśród pacjentek hospitalizowanych na oddziale chirurgii

Renata Chrzan, Tomasz Kulpa

Oddział Chirurgii II, Dolnośląskie Centrum Medycyny Ratunkowej im. T. Marciniaka we Wrocławiu

Aim of the study: The aim of the study was evaluation of understanding of prevention of breast cancer among the women in-patients in the surgical and oncological ward

Material and methods: It was analyzed anonymous surveys of 200 in-patients women in age 25-75 years old without breast cancer. Survey affected questions about breast cancer in family, material status, marital status, number of children, level of education, breast self-examination, body weight, age of first menstruation, mammography and co-existent diseases.

Results: breast cancer in family occurs by 20%, good material status declared 14% of patients, middle – 56%, bad – 30%. 55% of women were married, 28% were widows, 17% were not widows and not married. Without children was 17%, 35% has more than two children, 15% – two children, rest-one children. 15% declared primary level of education, 35% professional education, 30% secondary level of education, 10%, incomplete high level of education and 10% high level of education. Breast self-examination was performed by 35%. It was observed relationship between material status, age and breast self-examination. Overweight was observed by 46% of patients, obesity by 23%. Age of first menstruation fluctuated from 10 to 18 years (average 15.5). Mammography was performed regular by 20% of women in age over 45 years. It was observed relationship between level of education and regular mammography. Co-existing diseases were present by 58% of patients.

Conclusions: level of knowledge about breast cancer among the patients treated in surgical ward is low, especially among patient with bad material status and low education level. It is necessity to leverage in the field of health education and coaxing to participation in the free screening.

Wstęp: Wczesna diagnoza w przypadku raka piersi ogranicza śmiertelność.

Cel pracy: Ocena znajomości profilaktyki raka piersi wśród pacjentek hospitalizowanych na oddziale chirurgii ogólnej i onkologicznej.

Materiał i metody: Badaniem objęto 200 pacjentek bez raka piersi w wieku od 25 do 75 lat hospitalizowanych na tutejszym oddziale. Pacjentki wypełniały anonimową ankietę zawierającą pytania dotyczące występowania raka piersi w rodzinie, sytuacji materialnej, stanu cywilnego, liczby dzieci, poziomu wykształcenia, samobadania piersi, ciężaru ciała, wieku pierwszej miesiączki, wykonywania mammografii oraz chorób współistniejących.

Wyniki: Rak piersi w rodzinie występował u 20% chorych, dobrą sytuację materialną podało 14% chorych, średnią – 56%, złą – 30%. Zamężnych było 55% kobiet, 28% to wdowy, 17% stanowiły osoby stanu wolnego. Osoby bezdzietne stanowiły 17%. Więcej niż dwoje dzieci posiadało 35%, 15% dwoje dzieci, pozostałe – jedno dziecko. Wykształcenie podstawowe deklarowało 15%, zawodowe – 35%, średnie – 30%, niepełne wyższe – 10% i 10% wyższe. Samobadanie piersi prowadziło 35% chorych. Zaobserwowano zależność pomiędzy sytuacją materialną, wiekiem a samobadaniem piersi. Nadwagę prezentowało 46% kobiet, a otyłość 23%. Wiek wystąpienia pierwszej miesiączki wahał się od 10. do 18. roku życia (średnio 15,5 roku). Regularną mammografię wykonywało 20% kobiet powyżej 45. roku życia. Zaobserwowano zależność pomiędzy wykształceniem a wykonywaniem regularnej mammografii. Choroby współistniejące deklarowało 58% chorych.

Wnioski: Poziom wiedzy na temat raka piersi wśród pacjentek hospitalizowanych na oddziale chirurgii jest niski, szczególnie u chorych ze złą sytuacją materialną i niskim poziomem wykształcenia. Konieczne jest położenie większego nacisku na edukację zdrowotną i zachęcanie do udziału w bezpłatnych badaniach przesiewowych.

[123]

Cancer genetic counselling – selected cases

Onkologiczne poradnictwo genetyczne – wybrane przypadki

**Anna Abramowska¹, Dariusz Godlewski²,
Andrzej Antczak²**

¹Prevention and Epidemiology Centre, Poznań

²Chair and Department of Urology and Urologic Oncology, Poznań University of Medical Sciences

Cancer genetics differs substantially from classic genetics. It is not possible to inherit cancer like a typical genetic disease (for example: Cystic Fibrosis or haemophilia). It is possible only to inherit predisposition to hereditary cancer.

Clinic of Cancer Genetics exist since 1995. Since then there were consulted members of more than 7400 families. Among this number there were more than 180 families with BRCA1 mutations.

There are few families with absolutely surprising genetic test results (CASE No.1). In the situation described below it was very difficult for a genetic consultant to explain the mutation carrier how it was possible to inherit a gene mutation if the was no cancer in his/ her family before.

The most specific group of patients of Clinic of Cancer Genetics are women who are BRCA1 mutations carriers. From the cancer genetics` point of view, they are most at risk of hereditary breast and ovarian cancer. Every woman who is a BRCA1 carrier is informed about the need of prophylactic salpingo-oophorectomy with subsequent HRT after completion of reproductive plans. They are also informed that there is a possibility of prophylactic mastectomy with simultaneous breast reconstruction (case No. 2 and case No. 3).

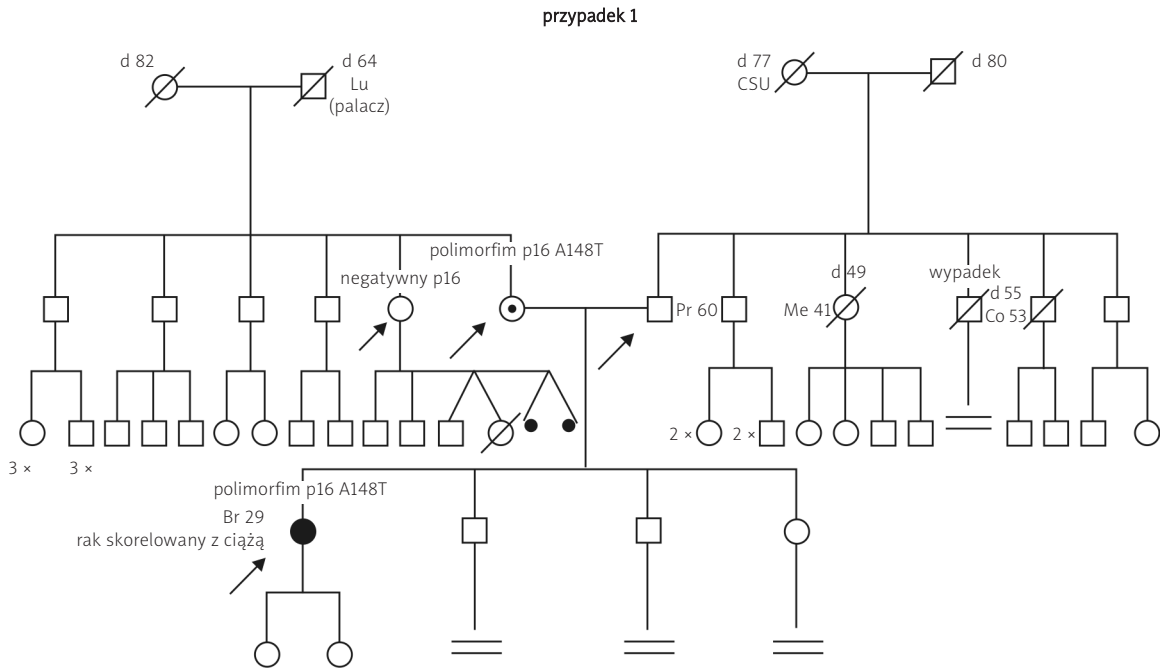
Cases discussed below show the necessity for individual treatment of every family history. They also indicate the importance to applying to the consultants` recommendations developed on the basis of international standards.

Breast cancer – case studies

Case No. 1

In Clinic of Cancer Genetics there was consulted a 29 years old pregnant patient after mastectomy (because of breast cancer) that was completed three weeks before the genetic consultation. She was identified the p16 gene mutation. This mutation increases the risk of hereditary: breast cancer, malignant melanoma, colorectal cancer, lung cancer and pancreatic cancer. After hospitalisation (the patient did not agree to chemotherapy because of the pregnancy) the patient was under oncological control in Prevention and Epidemiology Centre.

After three years patient`s parents decided to molecular analysis of 16 gene. They had never had a cancer. In patient`s mother family only her father had a lung cancer (a smoker). In the patient`s father family a few members had cancer: his sister had a malignant melanoma, one of the brothers had a colorectal cancer, second of the brothers had a prostate cancer. Also their father had a cancer but no one could tell of which organ. Such cancer familial aggregation suggested inheriting the p16 mutation after patient`s father.



Ryc. 1. Rozpoznanie rodowodowo-kliniczne: Cancer Familial Aggregation, Hereditary Breast ccancer-site specific syndrome susp.

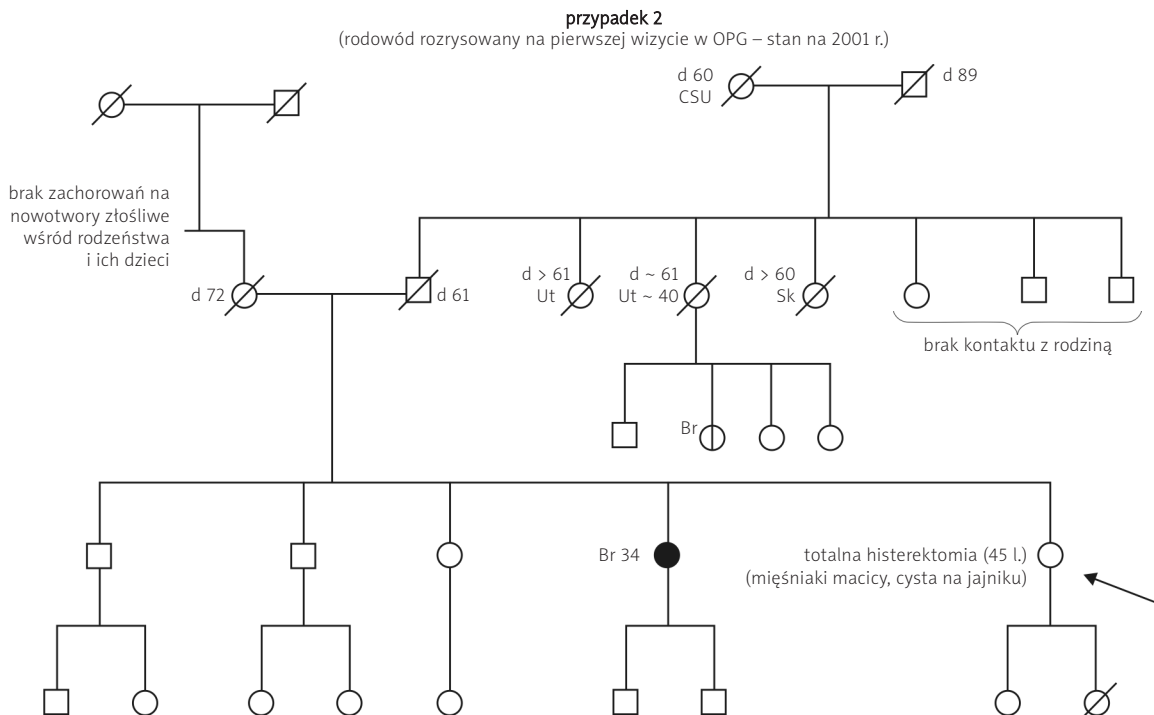
The results of the p16 gene analysis were surprising: patient's mother, no patient's father, was a carrier of gene mutation! Everybody was surprised: genetic consultant as well as patients. The woman who was a carrier was told to inform members of her family that they should have the p16 gene analysis done.

benign ovarian cyst. Patient's sister had a breast cancer at the age of 34 years o. Moreover patient`s cousin had a breast cancer.

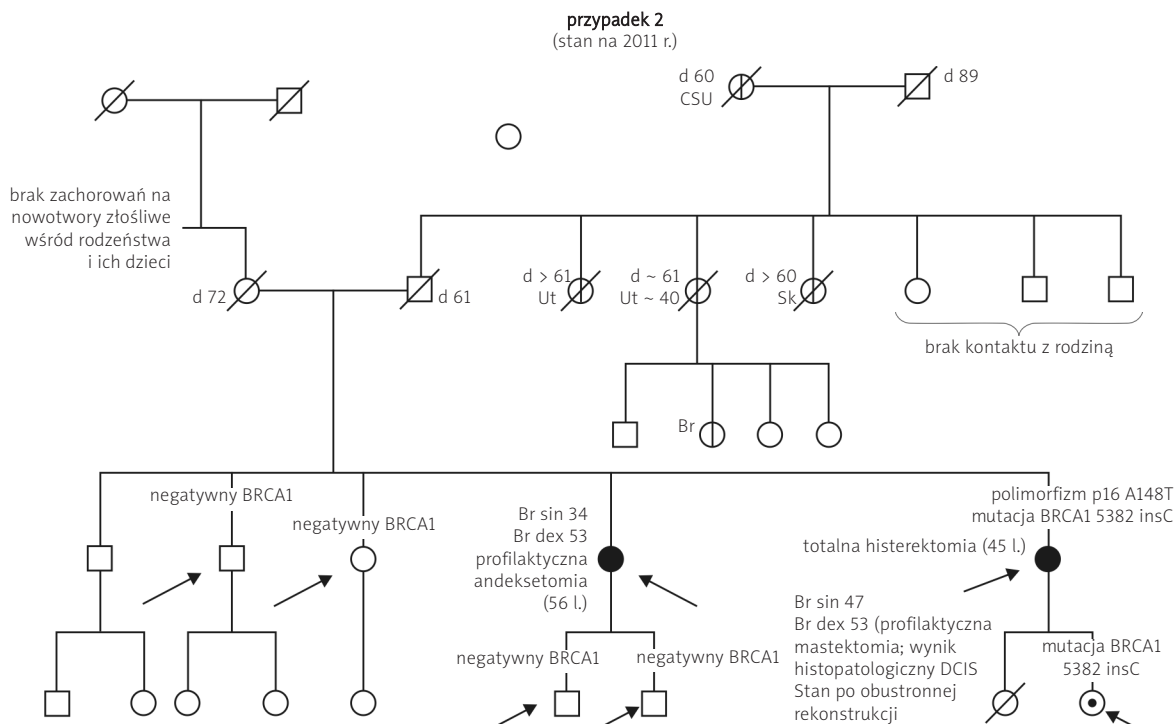
The patient had a *BRCA1* gene and *p16* gene analysis done. There were identified the mutations in both genes. Because of high risk of breast cancer, the patient was under oncological control in Prevention and Epidemiology Centre. During breast examination there was found a small (8 mm) malignant tumour in one breast. The patient had a mastectomy at the age of 47 years.

Case No. 2

There was consulted a healthy woman who had had a total hysterectomy because of uterine myomas and



Ryc. 2. Rozpoznanie rodowodowo-kliniczne: Cancer Familial Aggregation, Hereditary Breast ccancer-site specific syndrome susp., Familial Endometrial Cancer



Ryc. 3. Rozpoznanie rodowodowo-kliniczne: Cancer Familial Aggregation, Hereditary Breast cancer-site specific syndrome, Familial Endometrial Cancer

Four years later the patient's sister was diagnosed a second primary breast cancer, out of Prevention and Epidemiology Centre (she was also the BRCA1 mutation carrier but did not have the p16 gene mutation).

After next two years the woman who was the patient of Prevention and Epidemiology Centre decided to have a prophylactic mastectomy with simultaneous breast reconstruction. In clinical and radiological (mammography, ultrasonography) breast examination, there was no visible tumour in the breast. The breast was surgically cut off. In the histopathological examination there was found a tumour size of 1 cm which cells were described as *ductal carcinoma in situ*. The patient had neither chemotherapy nor radiotherapy.

So far only six BRCA1 mutations carriers, that were patients of Clinic of Cancer Genetics in Prevention and Epidemiology Centre, decided for prophylactic mastectomy. The case described above is the only in which there was found carcinoma in the tissue from prophylactic mastectomy.

Case No. 3

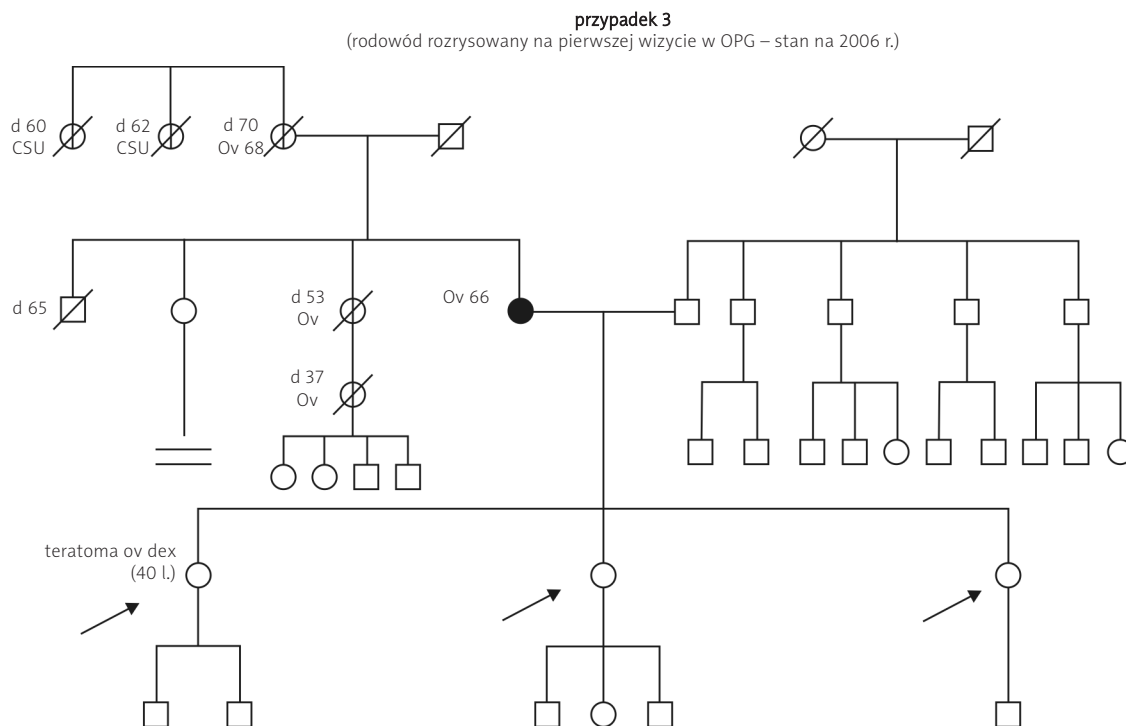
There were consulted three sisters, whose mother, mother's sister, grandmother and cousin had ovarian cancer. The BRCA1 mutation was detected in the blood of one of the consulted sisters. While discussing the results of the BRCA1 gene analysis the patient was informed that she should decide to prophylactic salpingoophorectomy. Their two sisters did not have the BRCA1 mutation. They were told that in their situation the risk of the hereditary breast and ovarian cancer was much lower than BRCA1 mutation carrier's. They were told to continue breast and gynaecological examination but without any recommendations about the frequency.

The woman who was BRCA1 mutation carrier was under the oncological control in Prevention and Epidemiology Centre due to recommendations for BRCA1 mutation carriers. During every visit she was informed by the genetic consultant about the necessity of a prophylactic salpingoophorectomy. The patient was still not determined to the surgery.

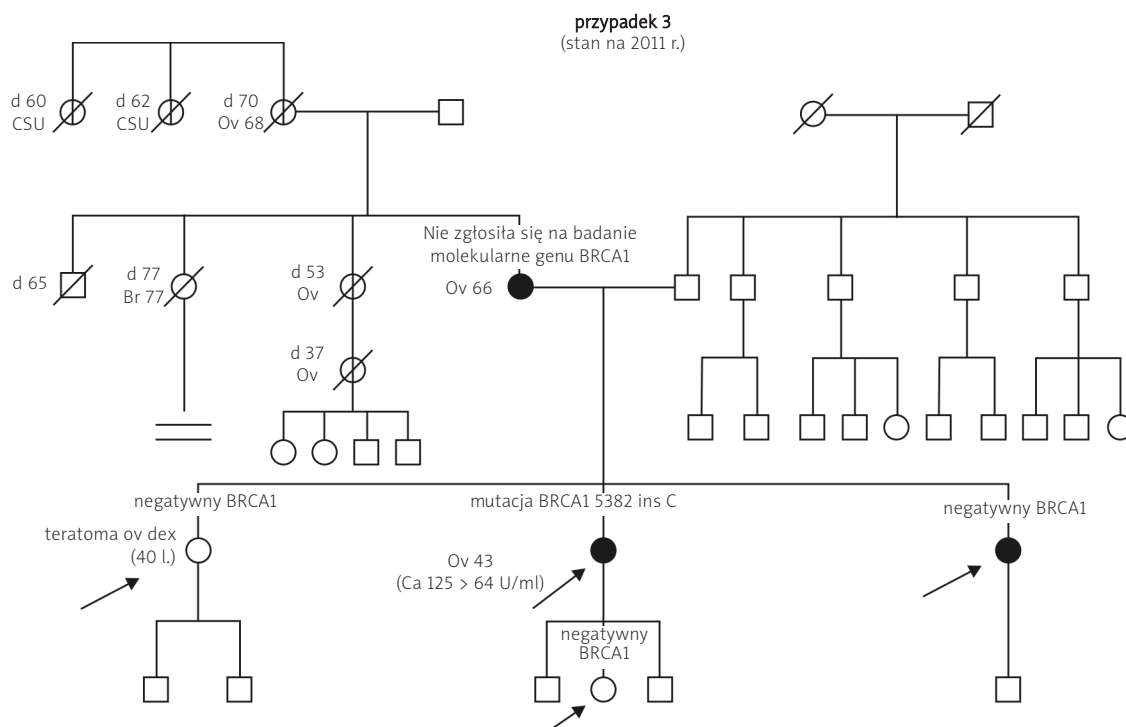
Meanwhile one of the patient's sister – two years after the BRCA1 gene analysis (negative BRCA1) – was diagnosed a breast cancer. She suspected that the results of the BRCA1 gene analysis were mistaken and that she was the carrier, not her sister who was under the special oncological control. The mistake was impossible because the women's blood was taken in different days and the results of molecular analysis were verified from two independent blood samples.

The patient who was the mutation carrier decided to prophylactic salpingoophorectomy. She was 43 years. During the gynaecological examination before the surgery she was diagnosed an inflammation of the vagina and date of surgery has been postponed. Six months later the patient had breast examination and laboratory test of ovarian cancer marker: Ca125. The level of Ca125 was high: > 64 U/ml. The patient was immediately informed about the blood results. During a gynaecologist consultation she was diagnosed an ovarian tumour. The doctor decided about the necessity of total hysterectomy. The histopathological analysis of the tumour was unequivocal: ovarian cancer. Now the patient is in the course of adjuvant chemotherapy.

Every female BRCA1 carrier is informed about the necessity of prophylactic salpingoophorectomy with possible subsequent HRT after completion of reproductive plans. Procrastination in the surgery after the age of 40 increases the



Ryc. 4. Rozpoznanie rodowodowo-kliniczne: Cancer Familial Aggregation, Hereditary Breast ccancer-site specific syndrome



Ryc. 5. Rozpoznanie rodowodowo-kliniczne: Cancer Familial Aggregation, Hereditary Breast ccancer-site specific syndrome

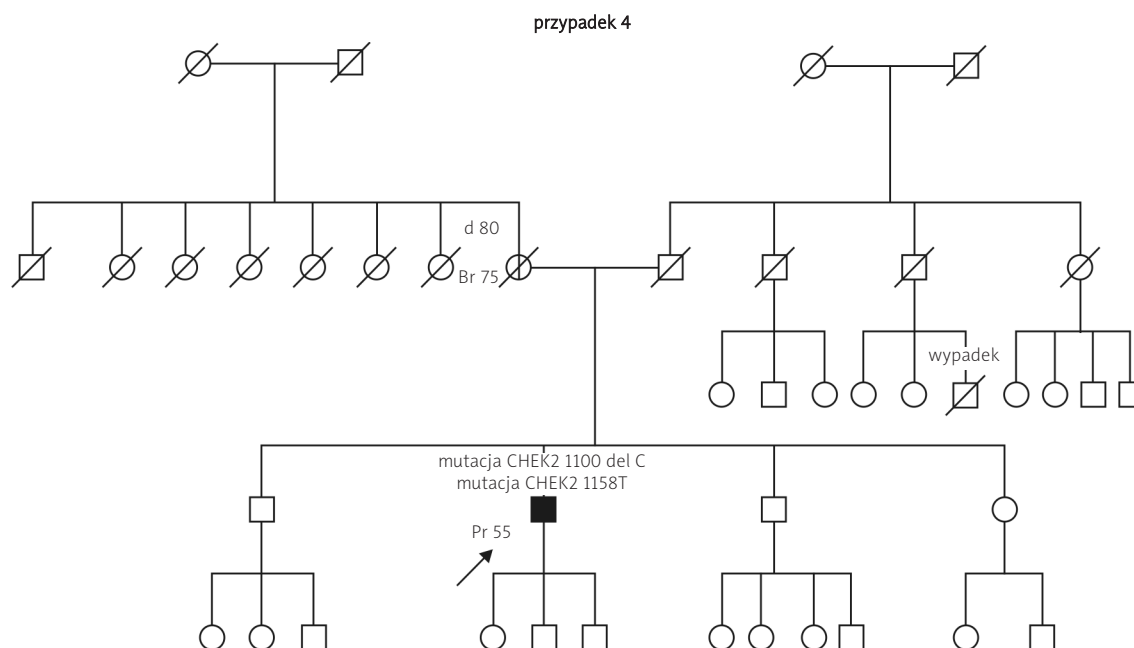
risk of ovarian cancer as well as hormone-dependent breast cancer.

Prostate cancer – case studies

Prostate cancer is the most common cancer among oncologically ill men in Clinic of Cancer Genetics. Patients with prostate cancer are suggested to have the *BRCA1* gene, *NBS1* gene and *CHEK2* gene analysis.

Case No. 4

There was consulted a 55 years old man with a prostate cancer. He was the only man with such type of cancer in his family. Additionally his mother had a breast cancer at the age of 75. The pedigree diagnosis was negative. The patient had *BRCA1*, *NBS1* and *CHEK2* genes tested. There were detected two mutations in the *CHEK2* gene: mutation that cuts the protein (1100 del C) and increases the risk of



Ryc. 5. Rozpoznanie rodowodowo-kliniczne: negatywne

prostate cancer about 2,3-times and mutation that mis-senses the protein (I157T) and increases the risk of prostate cancer about 1,6-times. After the results of the molecular tests it was obvious that patient`s cancer was hereditary which was not obvious after the family history analysis.

There are also completely opposite family histories: there are families in which a few men had prostate cancer and nonetheless there is detected no mutation in mentioned genes. From the cancer genetics` point of view such cases should be explained as follows: there is for sure a hereditary factor that was involved in a cancer but on the basis of present knowledge we can not indicate the factor. The example of such a situation is a case of 68 years old man (case No. 5) whose brother as well as father had prostate cancer diagnosed after the age of 70. The pedigree analysis was: Familial prostate cancer. During the genetic consultation the patient told that he had laboratory test of prostate cancer marker PSA recently. The PSA result was high (> 5 U/ml). The genetic consultant informed the patient that he must visit an urologist because of the high PSA result.

There were analysed four genes: *BRCA1*, *NBS1*, *CHEK2* and *p16* (because of malignant melanoma in the family). Four months later the patient informed by telephone that he was diagnosed a prostate cancer. In the molecular analysis no mutation was detected despite the definite predisposition to hereditary prostate cancer.

Genetyka onkologiczna w sposób zdecydowany różni się od klasycznej genetyki. Nowotworu złośliwego nie można odziedziczyć tak jak klasycznej choroby genetycznej, np. mukowiscydozy lub hemofilii. Możliwe jest jedynie odziedziczenie **predyspozycji** do zachorowania na nowotwór złośliwy.

W ciągu 16 lat działalności Onkologicznej Poradni Genetycznej w Ośrodku Profilaktyki i Epidemiologii Nowotworów

w Poznaniu konsultowano członków ponad 7400 rodzin, w tym ponad 180, w których wykryto mutacje w genie *BRCA1*.

Zdarzają się przypadki rodzin, w których zmianę genetyczną wykrywa się u osób najmniej podejrzanych o nosicielstwo na podstawie analizy rodowodowo-klinicznej (przypadek 1.). W takich sytuacjach problemem staje się racjonalne wytłumaczenie nosicielowi, dlaczego wykryto u niego dziedziczną skłonność do nowotworów złośliwych mimo braku zachorowań w rodzinie.

Szczególną grupą pacjentek Onkologicznej Poradni Genetycznej są nosicielki mutacji w genie *BRCA1*. Z punktu widzenia genetyki onkologicznej należą one do grupy najwyższego ryzyka zachorowania na dziedzicznego raka piersi i/lub jajnika. Każda nosicielka mutacji *BRCA1* jest informowana przez genetyka o wskazaniu do usunięcia jajników i jajowodów (po urodzeniu zaplanowanej liczby dzieci) oraz o możliwości profilaktycznej mastektomii z jednoczesną rekonstrukcją piersi (przypadek 2. i 3.).

Przedstawione przypadki uwiadcniają konieczność indywidualnego podejścia do każdego konsultowanego rodowodu. Wskazują też zasadność stosowania się do zaleceń konsultantów dotyczących profilaktyki, opracowanych na podstawie międzynarodowych standardów.

Rak piersi – przypadki

Przypadek 1.

Do Onkologicznej Poradni Genetycznej zgłosiła się 29-letnia pacjentka w 7. miesiącu ciąży, u której 3 tygodnie wcześniej amputowano pierś z powodu raka.

W wyniku konsultacji genetycznej ustalono rozpoznanie rodowodowo-kliniczne: zespół dziedzicznego raka piersi (*hereditary breast cancer – site specific syndrome susp*). Pobrano krew do badań molekularnych wykonywanych w ramach programu grantowego. Wykryto zmianę w genie

p16 (polimorfizm A148T) zweryfikowaną z dwóch niezależnych pobrań krwi (zmiana genetyczna predysponuje głównie do dziedzicznego: raka piersi, czerniaka, raka jelita grubego, raka płuc). Po zakończeniu leczenia szpitalnego (pacjentka nie wyraziła zgody na leczenie chemioterapeutykami ze względu na ciężę) pacjentka pozostawała pod kontrolą onkologiczną w Ośrodku Profilaktyki i Epidemiologii Nowotworów w Poznaniu.

Po 3 latach od wykrycia polimorfizmu p16 u pacjentki na badania genetyczne do Onkologicznej Poradni Genetycznej zgłosili się obydwaj rodzice pacjentki.

W rodzinie matki pacjentki nowotwór złośliwy został zdiagnozowany tylko u jednej osoby: na raka płuc chorował palący tytoń ojciec matki.

Ojciec pacjentki nie chorował onkologicznie, natomiast trójka jego rodzeństwa i ojciec zachorowali na raka (siostra – czerniak, bracia – rak jelita grubego, rak prostaty, ojciec – nowotwór złośliwy o nieznanym umiejscowieniu). Taka agregacja nowotworów złośliwych w rodzinie sugerowała dziedziczenie polimorfizmu genu p16 po ojcu pacjentki.

Obydwaj rodzice pacjentki mieli tego samego dnia pobraną krew do badań molekularnych genu p16. Wyniki były zaskakujące: po zweryfikowaniu wyników z dwóch pobrań krwi okazało się, że **nosicielem polimorfizmu p16 był nie ojciec, a matka pacjentki!** Matkę pacjentki poinformowano o konieczności wykonania badań molekularnych genu p16 wśród jej rodzeństwa.

Przypadek 2.

Na konsultację genetyczną w Onkologicznej Poradni Genetycznej zgłosiła się zdrowa kobieta po zabiegu totalnej histerektomii z powodu mięśniaków na macicy i łagodnej cysty na prawym jajniku. Siostra pacjentki zachorowała na raka piersi w wieku 34 lat, ponadto raka piersi zdiagnozowano u jednej z kuzynek.

Pobrano od pacjentki krew do badań molekularnych. Wykryto mutację markerową w genie *BRCA1* i polimorfizm w genie *p16*.

Pacjentka była kierowana na badania kontrolne piersi według kalendarza badań dla nosicielek mutacji *BRCA1*. W trakcie badań kontrolnych w piersi lewej wykryto 8 mm zmianę nowotworową potwierdzoną wynikiem biopsji cienkoigłowej (wiek pacjentki w momencie diagnozy: 47 lat). Dokonano amputacji chorej piersi.

Cztery lata później u siostry pacjentki zdiagnozowano raka drugiej piersi (siostra pacjentki jest nosicielką mutacji w genie *BRCA1*, wynik genu *p16* – negatywny).

Po kolejnych 2 latach pacjentka zdecydowała się na zabieg profilaktycznej mastektomii zdrowej piersi ze względu na chęć jednoczesnej obustronnej rekonstrukcji. W badaniach kontrolnych piersi przed zabiegiem amputacji obraz radiologiczny (mammograficzny i ultrasonograficzny) i badanie palpacyjne nie wskazywały na obecność podejrzanych zmian. Dokonano amputacji zdrowej piersi z jednoczesną obustronną rekonstrukcją za pomocą protez Beckera. W badaniu histopatologicznym materiału pooperacyjnego wykryto guz o średnicy ponad 1 cm – wynik histopatologiczny: *carcinoma ductale in situ*. Lekarze prowadzący podjęli decyzję, aby nie stosować chemioterapii ani radioterapii po mastektomii.

Dotąd jedynie 6 nosicielek mutacji w genie *BRCA1*, będących pacjentkami Onkologicznej Poradni Genetycznej Ośrodka Profilaktyki i Epidemiologii Nowotworów, zdecydowało się na profilaktyczne usunięcie piersi. Opisany przypadek jest jedynym, w którym wykryto zmianę złośliwą w materiale pooperacyjnym z zabiegu profilaktycznej mastektomii.

Przypadek 3.

Na konsultację genetyczną w Onkologicznej Poradni Genetycznej zgłosiły się 3 zdrowe kobiety (siostry), których matka, babcia, siostra matki i kuzynka chorowały na raka jajnika. Od pacjentek pobrano krew do badań molekularnych. U jednej z pacjentek stwierdzono nosicielstwo mutacji markerowej w genie *BRCA1* potwierdzoną z dwóch niezależnych pobrań krwi. Przy odbiorze wyników badań genetycznych pacjentka była poinformowana przez genetyka o wskazaniu do profilaktycznego usunięcia jajników i jajowodów.

U jej dwóch siostr nie stwierdzono mutacji markerowej dla rodziny. Zostały one poinformowane, że ryzyko zachorowania na dziedzicznego raka piersi i/lub jajnika było u nich o wiele niższe niż u nosicielek. Te pacjentki wykluczono z opieki onkologicznej Poradni Genetycznej oraz poinformowano, aby badały się zgodnie z zaleceniami onkologa.

Nosicielka mutacji, która pozostawała pod opieką Onkologicznej Poradni Genetycznej, miała wykonywane badania kontrolne piersi i badania ginekologiczne w Ośrodku Profilaktyki i Epidemiologii Nowotworów zgodnie z kalendarzem badań dla nosicielek mutacji *BRCA1*. Przy każdej kolejnej wizycie w Onkologicznej Poradni Genetycznej informowano pacjentkę o konieczności usunięcia przydatków. Pacjentka nie była wciąż zdecydowana na zabieg.

W międzyczasie u jednej z siostr – 2 lata po odbiorze wyniku badania molekularnego genu *BRCA1* (wykluczono nosicielstwo) – zdiagnozowano raka piersi (wiek diagnozy: 47 lat). Pacjentka podejrzewała, że pomyłono wyniki jej i siostry i że to ona miała mutację w badanym genie. Błąd był niemożliwy, ponieważ panie miały pobraną krew w innym terminie i oba wyniki były zweryfikowane z dwóch pobrań.

Wspomniana wcześniej pacjentka, która była nosicielką mutacji *BRCA1*, zdecydowała się ostatecznie na zabieg profilaktycznej adnektomii. Pacjentka miała wtedy 43 lata. W badaniu ginekologicznym w szpitalu przed zabiegiem stwierdzono stan zapalny pochwy i termin operacji odroczono. Pół roku później u pacjentki wykonano badania profilaktyczne piersi i badanie markera nowotworowego jajnika Ca125. Wynik markera był podwyższony: > 64 U/ml przy zakresie wartości referencyjnych < 35 U/ml, o czym niezwłocznie poinformowano pacjentkę. Z wynikiem Ca125 pacjentka zgłosiła się do ginekologa onkologa. W wyniku konsultacji ginekologicznej wykryto guz jajnika. Lekarz podjął decyzję o wycięciu macicy z przydatkami. Usunięto również sieć większą i węzły chłonne miedniczne. Rozpoznanie histopatologiczne było jednoznaczne: rak jajnika. Pacjentka jest obecnie w trakcie chemioterapii adiuwantowej.

Każda nosicielka mutacji *BRCA1* jest informowana o konieczności usunięcia przydatków po urodzeniu zaplanowanej liczby dzieci, z możliwością następczej estrogonowej terapii hormonalnej. Zwlekanie z zabiegiem do ukończenia 40. roku życia zwiększa nie tylko ryzyko wystąpienia raka jajnika, ale również hormonozależnego raka piersi.

Rak prostaty – przypadki

Największą grupę wśród chorych onkologicznie mężczyzn kierowanych do Poradni Genetycznej stanowią chorzy na raka prostaty. Pacjenci z rakiem gruczołu krokowego mają badany gen *BRCA1* oraz proponowane są im badania molekularne genów niskiego/średniego ryzyka predysponujących m.in. do dziedzicznego raka prostaty: *NBS1*, *CHEK2*.

Przypadek 4.

W 2006 r. na badania molekularne wymienionych genów w ramach programu grantowego został skierowany mężczyzna, u którego w wieku 55 lat zdiagnozowano raka prostaty. Poza pacjentem nikt w rodzinie nie chorował na raka prostaty. Na nowotwór złośliwy zachorowała jedynie matka pacjenta – w wieku 75 lat wykryto u niej raka piersi. Wywiad rodzinny nie wskazywał na dziedziczną skłonność do nowotworów złośliwych. Od pacjenta pobrano krew do badań molekularnych. Wykryto dwie mutacje w genie *CHEK2*: mutację skracającą białko (1100 delC), zwiększającą ryzyko raka prostaty ok. 2,3-krotnie, oraz zmianę typu „missense” (I157T), zwiększającą ryzyko raka prostaty ok. 1,6-krotnie. Wynik zweryfikowano z dwóch niezależnych pobrań krwi. Po otrzymaniu wyników badań molekularnych genu *CHEK2* można było jednoznacznie stwierdzić, że na zachorowanie pacjenta miały wpływ czynniki dziedziczne, czego nie można było założyć po samej analizie rodowo-klinicznej.

Zdarzają się też przypadki wręcz odwrotne: rodziny, w których kilku mężczyzn zachorowało na raka prostaty, a mimo to wyniki badań molekularnych genów *BRCA1*, *NBS1* i *CHEK2* są negatywne. Z punktu widzenia genetyki onkologicznej takie przypadki należy tłumaczyć następująco: w wywołaniu choroby nowotworowej na pewno brał udział jakiś czynnik dziedziczny, ale na podstawie obecnej wiedzy nie można wskazać, jaki to czynnik. Przykładem opisanej sytuacji jest przypadek 68-letniego mężczyzny (przypadek 5.), który zgłosił się ma konsultację genetyczną jako osoba z grupy podwyższonego ryzyka zachorowania na raka prostaty (chorobę zdiagnozowano u brata i ojca: u obydwu po 70. roku życia). W trakcie konsultacji pacjent poinformował, że wykonał niedawno badanie PSA. Wynik PSA (> 5 ng/ml) przekraczał granice wartości referencyjnych (< 4 ng/ml). Poinformowano pacjenta, aby jak najszybciej skonsultował się z urologiem przyjmującym w Ośrodku Profilaktyki i Epidemiologii Nowotworów. Pobrano krew na badanie genów: *BRCA1*, *NBS1*, *CHEK2* (3 ×) i *p16*. Cztery miesiące po wizycie w Onkologicznej Poradni Genetycznej pacjent poinformował telefonicznie, że zdiagnozowano u niego raka prostaty. W badaniach molekularnych nie stwierdzono mutacji w badanych genach, mimo że rodowodowo ustalono definitywną predyspozycję do dziedzicznego raka prostaty.

[124]

Metformin and CXCR2 receptor inhibitor as potential factors targeting ovarian cancer stem cells

Metformina i inhibitor receptora CXCR2 jako potencjalne czynniki ukierunkowane na eliminację macierzystych komórek nowotworowych w raku jajnika

Mariusz Kulińczak¹, Aneta Świercz¹, Agnieszka Dansonka-Mieszkowska², Michalina Zajdel¹, Alina Rembiszewska², Magdalena Chechlińska¹, Jolanta Kupryjańczyk², Jan Konrad Siwicki¹

¹Department of Immunology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Centre and Institute of Oncology, Warsaw
²Department of Molecular Pathology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Centre and Institute of Oncology, Warsaw

Background: Cancer cells resistant to standard anti-cancer therapy display features typical for the so-called “cancer stem cells” or “cancer initiating cells”. An anti-diabetic drug, metformin, has been recently shown to have an apparent anti-cancer activity and to eliminate “cancer stem cells” and cancer cells resistant to targeted therapy in breast cancer. Little is known about the anti-cancer potential of metformin in ovarian cancer and about the expression of putative predictive tumour biomarkers, such as LKB-1.

IL-8 and other CXCR2 receptor ligands play a crucial role in ovarian cancer initiation and progression and it has been recently found that increased CXCR2 expression promote proliferation and malignancy of ovarian cancer cells.

Aim of the study: The aim of our studies was to: examine the expression level of CXCR2 and LKB-1 in ovarian cancer cells, and evaluate *in vitro* sensitivity of ovarian cancer cells to metformin and a CXCR2 inhibitor (SB225002).

Material and methods: Gene expression was analysed in a panel of clinical samples of primary ovarian cancer and cell lines with different *TP53* status using RT-qPCR, with normal human ovarian surface epithelial cells as a calibrator. Cell growth and *in vitro* tumorigenicity were analysed with the use of standard methods.

Results and conclusions:

1. We found an overexpression of the CXCR2 mRNA in primary ovarian cancer, irrespective of the *T53* status, and decreased expression of LKB-1 mRNA, especially in the presence of *TP53* null mutations.
2. We observed that CXCR2 inhibitor (SB225002) induced strong cell growth inhibition and a significant reduction of *in vitro* tumorigenicity in all ovarian cell lines. The effect of metformin used in a small concentration (0.5 mM) was cell line specific, while clonogenicity was decreased in the IGROV-1 cell line only.

Our preliminary data suggest that metformin and CXCR2 inhibitor (SB225002) are potentially active against ovarian cancer stem cells.

Wstęp: W nowotworach złośliwych komórki odporne na klasyczną chemio- lub radioterapię mogą należeć do podgrupy tzw. nowotworowych komórek macierzystych. Ostat-

nio zaobserwowano, że metformina ma wyraźną aktywność przeciwnowotworową i może eliminować nowotworowe komórki macierzyste i odporne na ukierunkowaną chemioterapię w raku piersi. Brakuje jednak dokładniejszych danych na temat przeciwnowotworowego działania metforminy w raku jajnika oraz ekspresji wyznaczników prognozujących wrażliwość komórek tego nowotworu na metforminę, takich jak np. *LKB-1*, IL-8 oraz inne ligandy receptora CXCR2 mają istotny udział w powstawaniu i rozwoju raka jajnika, a ostatnio ponadto wykazano, że wzrost ekspresji CXCR2 w komórkach tego raka sprzyja zwiększeniu proliferacji oraz potęguje cechy złośliwości.

Cel pracy: Ocena poziomu ekspresji *CXCR2* oraz *LKB-1* w komórkach raka jajnika oraz sprawdzenie wrażliwości *in vitro* komórek raka jajnika na metforminę oraz na inhibitor CXCR2 (SB225002).

Materiał i metody: Ekspresję wybranych genów badano techniką RT-qPCR w seriach próbek klinicznych pierwotnego raka jajnika oraz liniach komórkowych o różnym statusie genu *TP53*, w odniesieniu do prawidłowego nabłonka powierzchniowego jajnika. Analizy wzrostu i klonogenności przeprowadzono za użyciem standardowych metod.

Wyniki i wnioski:

1. W pierwotnym raku jajnika stwierdzono zwiększony poziom mRNA *CXCR2*, niezależnie od statusu *TP53* oraz spadek poziomu ekspresji *LKB-1*, szczególnie w powiązaniu z mutacją *TP53* typu *null*.
2. Zaobserwowaliśmy wyraźne zahamowanie wzrostu oraz znaczący spadek klonogenności komórek wszystkich analizowanych linii w obecności inhibitora CXCR2 (SB225002) oraz zróżnicowany wpływ metforminy użytej w małym stężeniu (0,5 mM) na zahamowanie wzrostu badanych linii raka jajnika, przy spadku klonogenności jedynie w linii IGROV-1.

Wstępne dane sugerują, że metformina i inhibitor receptora CXCR2 są czynnikami mogącymi eliminować macierzyste komórki nowotworowe.

[125]

Poly-N-isopropylacrylamide based polymers in cancer treatment

Związki chemiczne oparte na łańcuchu poli-N-izopropylakrylamidowym w terapii nowotworowej

Tomasz Śliwa*, Maciej Jarzębski**, Tobiasz Deptuła***

Poznań

Poly-N-isopropylacrylamide (PNIPAM) is a thermoresponsive polymer which is investigated as a drug carrier in targeted drug delivery system. PNIPAM based copolymers can be used in cancer treatment and in this way only minimal dose of drug substance can be carried and delivered by PNIPAM.

The main aim was the investigation if the behavior of poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) in environment of various pH an temperature. A study of the specific behav-

our of the sample is important in order to understand the mechanism and manage the targeted drug delivery.

The behavior of a copolymer poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) was investigated by means of dynamic and static light scattering as a function of temperature. The environment was controlled from pH 2 to pH 10. The particles belong to the group of thermo responsive polymers, which have lower critical solution temperature at 32°C. At a higher temperature PNIPAM particles are changed from hydrophilic to hydrophobic and consequently the volume of the particle decreases.

The experiment confirms that the process of swelling and deswelling is mostly observed during the heating and cooling at pH about 4. This specific behavior of this substance is due to hydrophobic interaction between chains of the polymer and is fully reversible. However, at pH higher than 4 the diameter of the molecule is almost constant during the whole process of heating and cooling and is determined by the Donnan osmotic pressure. Because the phase transition take place at physiological temperature, this polymer is investigated to be used in drug delivery systems as a substance carrier.

Postęp badań związany z rozwojem nanotechnologii pozwala na wytwarzanie i badanie nowych związków chemicznych, które mają zdolność specyficznego reagowania na bodźce zewnętrzne. Należą do nich polimery oparte na łańcuchu poli-N-izopropylakrylamidowym (PNIPAM), zwanym również „inteligentnym polimerem”.

Celem pracy było zbadanie zachowania się kopolimeru poli-N-izopropylakryloamidu i kwasu akrylowego pod wpływem zmian pH środowiska i temperatury pod kątem zastosowania w systemach kontrolowanego uwalniania leków i możliwości aplikacji w terapii nowotworowej.

Badana substancja należy do grupy termowrażliwych polimerów o LCST (*lower critical solution temperature*) 32°C. Po przekroczeniu wartości krytycznej zmianie ulegają właściwości fizyczne z hydrofilowych na hydrofobowe, czego skutkiem jest wzrost wartości oddziaływań polimer-polimer nad oddziaływania polimer-rozpuszczalnik. Bezpośrednio obserwowanym skutkiem jest zmiana rozmiarów pojedynczej cząsteczki po przekroczeniu krytycznej wartości temperatury. Korzystając z powyższego mechanizmu związana wewnątrz cząsteczki polimeru substancja aktywna może zostać uwolniona na zewnątrz w sposób kontrolowany.

Metodą badawczą była spektroskopia korelacji fotonów PCS (Photon Correlation Spectroscopy), która pozwala na określenie kształtu i rozmiarów pojedynczej cząsteczki bez konieczności ingerencji w jej strukturę wewnętrzną. Przygotowane do badań próbki zostały podzielone na grupy w różnych środowiskach od pH 2 do pH 10.

W wyniku przeprowadzonego eksperymentu zaobserwowano dwukrotny spadek promienia badanej cząsteczki dla środowiska pH 4. Opisane powyżej zachowanie daje duże szanse na zastosowanie w układach kontrolowanego uwalniania leków poprzez możliwość miejscowego uwalniania substancji leczniczej w określonym środowisku, a co za tym idzie zmniejszenie dawki leku.

*Praca doktorska realizowana w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki współfinansowanego ze środków

Unii Europejskiej w ramach EFS projekt Zintegrowany Program Wspierający Rozwój Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu w zakresie nauk fizycznych: „Proinnowacyjne kształcenie, kompetentna kadra, absolwenci przyszłości”.

***Praca doktorska realizowana w ramach programu Międzynarodowe Projekty Doktoranckie, Wydział Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Międzyuczelniane Centrum Nanobiomedyczne. Projekt realizowany przez UAM w Poznaniu w ramach XIII Priorytetu Programu Operacyjnego Infrastruktura i Środowisko.*

****Praca doktorska realizowana w ramach programu Międzynarodowe Projekty Doktoranckie, Wydział Fizyki Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, Międzyuczelniane Centrum Nanobiomedyczne. Projekt realizowany przez UAM w Poznaniu w ramach XIII Priorytetu Programu Operacyjnego Infrastruktura i Środowisko.*

[126]

Glycyrrhizin, an inhibitor of HMGB1 protein inhibits growth of experimental murine melanoma tumors

Inhibitor białka HMGB1 – gliceryzyna hamuje wzrost doświadczalnych guzów czereśniaka mysiego

Ryszard Smolarczyk¹, Tomasz Cichoń¹, S. Matuszczak¹, M. Rzodkiewicz², Iwona Mitrus¹, M. Lesiak², Wojciech Kamysz³, Magdalena Jarosz¹, Aleksander Sieroń², Stanisław Szala¹

¹Center for Translational Research and Molecular Biology of Cancer, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch

²Department of General, Molecular Biology and Genetics, Medical University of Silesia Katowice

³Department of Inorganic Chemistry, Faculty of Pharmacy, Medical University of Gdańsk

Certain anticancer agents, including CAMEL, induce necrotic cell death. During this process a protein, called HMGB1, is released from cell nucleus into cytoplasm and then into extracellular matrix. Nuclear HMGB1 participates in maintaining nucleosome structure, in regulating gene expression and DNA repair, whereas outside of the cell it becomes a proinflammatory cytokine. The latter stimulates proliferation of neoplastic and endothelial cells, activates angiogenesis and affects cell mobility as well as induces inflammatory condition.

Release of HMGB1 cytokine during anticancer therapy thus affects adversely the effectiveness of such therapy, since it leads to tumor relapse. We believe that inhibiting HMGB1 activity may improve efficacy of therapies based on the use of the drugs that induce necrotic death in neoplastic cells. In our studies we used glycyrrhizin, a known HMGB1 inhibitor. Glycyrrhizin is a triterpenoid saponin glycoside of glycyrrhizic acid. The use of this inhibitor markedly affected the efficacy of anticancer therapy with CAMEL.

Niektóre leki przeciwnowotworowe, w tym peptyd CAMEL, indukują śmierć nekrotyczną komórek. Podczas tego procesu z jądra komórkowego do cytoplazmy a następnie do przestrzeni pozakomórkowej uwalniane jest białko HMGB1. Białko to w jądrze komórkowym bierze udział w utrzymaniu struktury nukleosomów, regulacji ekspresji genów oraz naprawie DNA. Poza komórką staje się cytokiną prozapalną. Cytokina ta stymuluje proliferację komórek nowotworowych, śródłonkowych, aktywuje proces angiogenezy, wpływa na ruchliwość komórek czy indukuje stan zapalny.

Uwalnianie podczas terapii przeciwnowotworowej cytokiny HMGB1 wpływa zatem negatywnie na skuteczność samej terapii, gdyż prowadzi do wznowy nowotworowej. Sądzymy, że zahamowanie aktywności HMGB1 może poprawić skuteczność terapii z wykorzystaniem leków indukujących śmierć nekrotyczną komórek nowotworowych. W naszych badaniach wykorzystaliśmy znany inhibitor HMGB1 – gliceryzynę. Zastosowanie w terapii tego inhibitora znacznie poprawiło skuteczność przeciwnowotworową peptydu CAMEL.

[127]

Complete disappearance of distant metastases (bones, meninges, soft tissues and lymph nodes) in patient with breast cancer after targeted therapy

Całkowita remisja zmian wtórnych w kościach czaszki i oponie twardej u chorej na przerzutowego raka piersi w trakcie leczenia celowanego – prezentacja przypadku i przegląd piśmiennictwa

Ewa Wachuła, Marzenna Ziomek, Jolanta Żok, Wojciech Rogowski

Oddział Kliniczny Chemioterapii, ZOZ MSWiA z Warmińsko-Mazurskim Centrum Onkologii w Olsztynie

Background: The efficacy of targeted therapy metastatic breast cancer is usually limited to partial remission and stabilization. We are presenting spectacular result of complete remission in skull bones and meninges.

Case report: 58-year-old patient in had left side mastectomy because of invasive breast cancer G3, pT2N2, (ER–), (PR–), HER2(3+). Adjuvant treatment: chemotherapy 6 × AC, radiotherapy of chest and supraclavicular area in 2005.

In 2009 she started to complain of headaches and hip joint pain. In brain MRI metastases in skull bones were found. The biggest lesion was 71 mm entire frontal bone and 16mm of dura mater and was pressing tissues of frontal lobe. There are no brain metastases were found. In CT of chest and abdomen few enlarged mediastinal lymph nodes were found (up to 32 mm), tumor of right adrenal gland (27 mm) and wide spectrum of osteolytic-osteoporosis in bones.

In September 2009 treatment was started: trastuzumab in dose 8 mg/kg, afterward 6 mg/kg every 21 days in combination with capecytabine in dose 1250 mg/m² twice a day, on day 1 to 14 every 21 days. At the beginning of the

treatment performance status was PS-1. 36 weeks of treatment complete remission (RECIST 1.0) of mass lesion in skull bones, infiltration in meninges, mediastinal lymph nodes lesions and adrenal gland right was observed. Metastases in skeleton were sclerotosis.

The patient is still being treated in this regimen with no significant side effects. Performance status PS-0, however memory and concentration disorder had appeared.

Conclusions: Application of HER2 blockade in combination with derivative of fluoropyrimidine is a good therapeutic option, possibility of complete and long term remission of lesions in bones, meninges and lymph nodes.

Wstęp: Ocena skuteczności leczenia celowanego przerzutowego raka piersi ogranicza się do uzyskania częściowych remisji i stabilizacji. Przedstawiamy spektakularny

wynik całkowitej remisji zmian w kościach czaszki oraz oponie twardej mózgowia.

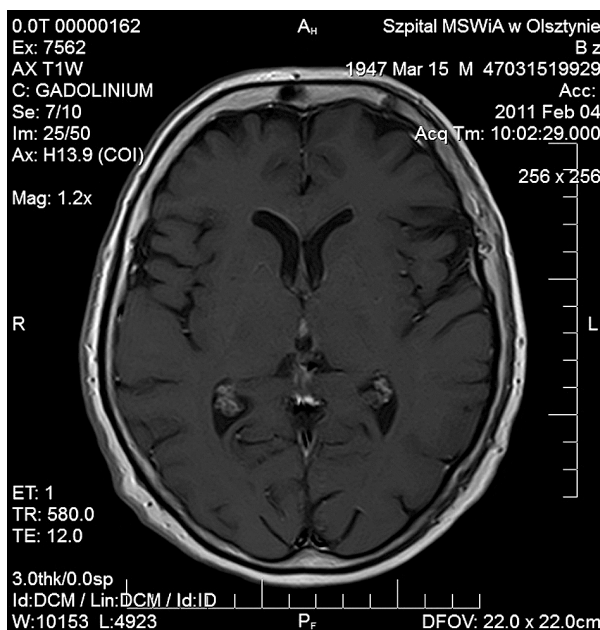
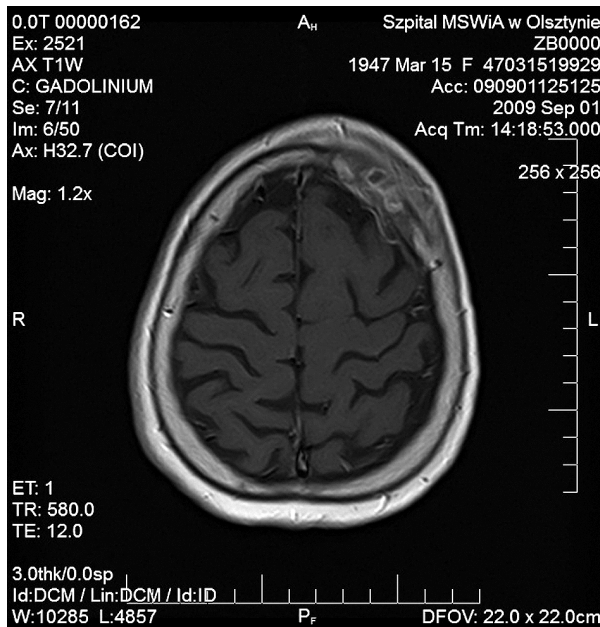
Opis przypadku: Chora, lat 58, w 2005 r. przebyła mastektomię lewostronną z powodu inwazyjnego raka piersi G3, pT2N2, (ER-), (PR-), HER2(3+). Leczenie uzupełniające: chemioterapia 6 × AC i radioterapia na obszar blizny i nadobojczyk.

W 2009 r. pojawiły się dolegliwości bólowe głowy i stawu biodrowego. W MRI głowy stwierdzono ogniska przerzutowe w kościach czaszki. Największy guz (71 mm) przerastał całą grubość lewej kości czołowej i oponę twardą na długości 16 mm, uciskając tkanki płata czołowego. W mózgowiu bez zmian ogniskowych. W TK klatki piersiowej i jamy brzusznej obecne były powiększone węzły chłonne śródpiersia (do 32 mm), guz nadnercza prawego (27 mm) oraz rozległe zmiany osteolityczno-osteoporotyczne w układzie kostnym.

We wrześniu 2009 r. rozpoczęto leczenie: trastuzumab w dawce 8 mg/kg, następnie 6 mg/kg *i.v.* co 21 dni w skojarzeniu z kapecytabiną w dawce 1250 mg/m² 2 razy dziennie w dniach 1–14, co 21 dni. W chwili rozpoczęcia leczenia stan sprawności PS-1. Od 36 tyg. leczenia obserwuje się całkowitą remisję (wg RECIST 1.0) masy patologicznej w kości czaszki, nacieku w oponie twardej, zmian węzłowych w śródpiersiu i nadnerczu prawym. Ogniska przerzutowe w kośćcu mają cechy sklerotyzacji.

Terapia jest nadal kontynuowana z dobrą tolerancją. Stan kliniczny PS-0, jednak pojawiły się zaburzenia pamięci i koncentracji.

Wnioski: Zastosowanie blokady receptora HER2 w skojarzeniu z pochodną fluoropirymidyny okazało się dobrą opcją terapeutyczną. Pozwoliło uzyskać całkowitą i długotrwałą remisję zmian wtórnych w układzie kostnym, węzłach chłonnych i tkankach miękkich przy dobrej tolerancji leczenia.



[128]

Leptomeningeal carcinomatosis in patient with breast cancer – the successful treatment with targeted therapy

Nowotworowe zajęcie opon mózgowo-rdzeniowych u chorej na raka piersi – korzyść kliniczna leczenia celowanego

Marzenna Ziomek, Ewa Wachuła, Katarzyna Gryc-Szymańska, Wojciech Rogowski

ZOZ MSWiA z Warmińsko-Mazurskim Centrum Onkologii w Olsztynie

Background: Leptomeningeal metastases from breast cancer are observed in the form of infiltration of leptomeninges (meningeal carcinomatosis) or disseminated with free float of tumor cells in the cerebrospinal fluid (carcinomatosis meningitis).

Case report: We present a care carcinomatosis patient with carcinomatosis meningitis as consequence of right

breast cancer. After carcinomatous meningitis was recognized in 54 year old woman the patient received intrathecal methotrexate as the first line treatment of that condition.

Then she received treatment with vinorelbine and trastuzumab (progression free survival PFS- 14 months) and after progression capecytabine with lapatinib (PFS-13 months).

Currently she is treated with liposomal doxorubicin due to further nonsymptomatic radiological progression. Now the patient is good condition general.

Conclusions: In spite of blood-brain barrier systemic targeted therapy may be effective in breast cancer patients with leptomeningeal metastases.

Jednym z miejsc umiejscowienia przerzutów z raka piersi mogą być opony mózgu i rdzenia kręgowego. Przerzuty do opon mózgowo-rdzeniowych mogą przebiegać w postaci rakowatości opon mózgowo-rdzeniowych (zmiany guzkowate na oponach lub linijne zgrubienia) bądź w postaci gorzej rokującej – nowotworowym zapaleniu opon (obecność komórek nowotworowych w płynie mózgowo-rdzeniowym).

Opis przypadku: Chora, lat 54, z rozpoznaniem w 2008 r. rakiem przewodowym piersi prawej [wyjściowo pT3N1 ER (-), PR (-), HER 2 (3+)], po leczeniu chemioterapią wg schematu AT, mastektomii i radioterapii uzupełniającej 5 miesięcy po zakończeniu leczenia, zgłosiła się z dolegliwościami bólowymi głowy i szyi. W rezonansie magnetycznym (*magnetic resonance imaging* – MRI) odcinka szyjnego kręgosłupa stwierdzono linijne wzmocnienia zarysów rdzenia wzdłuż opony miękkiej.

Chorej wykonano nakłucie lędźwiowe. W płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdzono obecność komórek nowotworowych. Podano dokałatowo metotreksat w dawce 10 mg i deksawan w dawce 4 mg.

Ze względu na pogorszenie stanu neurologicznego chora zdyskwalifikowano z kontynuacji leczenia dokałatowego i rozpoczęto leczenie trastuzumabem z winorelbina oraz napromieniono zajęty odcinek kręgosłupa. W badaniach obrazowych nie stwierdzono obecności przerzutów w innych narządach. W badaniach MRI obserwowano stopniowe zmniejszanie się zmian.

Po 14 miesiącach progresja w MRI mózgu. Włączono leczenie capecytabina z lapatinibem, które było kontynuowane przez 13 miesięcy. Z powodu dalszej progresji chora otrzymuje obecnie doksorubicynę liposomalną. Stan chorej WHO – 1.

Wnioski: Zastosowanie blokady receptorów HER 2 zarówno przeciwciałem monoklonalnym jak i inhibitorem kinaz wydaje się być skuteczną metodą leczenia przerzutów umiejscowionych w oponach mózgu, pomimo istnienia bariery krew – mózg.

[129]

Stemness markers and the TP53 status in primary ovarian cancer

Markery macierzystości a status TP53 w pierwotnym raku jajnika

Aneta Świercz¹, Agnieszka Dansonka-Mieszkowska², Michalina Zajdel¹, Alina Rembiszewska², Mariusz Kulińczak¹, Magdalena Chechlińska¹, Jolanta Kupryjańczyk², Jan Konrad Siwicki¹

¹Department of Immunology, Cancer Centre and Institute of Oncology, Warsaw

²Department of Molecular Pathology, Cancer Centre and Institute of Oncology, Warsaw

Background: Cancer stem cells, otherwise termed cancer-initiating cells, are thought to be responsible for cancer recurrence and therapy resistance. *TP53* mutations and alterations in the *TP53*-dependent pathway are critically important in ovarian cancer pathogenesis and seem to determine treatment response. *TP53* has recently been shown to be an important regulator of normal pluripotent stem cell differentiation, which is known to depend on several transcription factors and microRNAs (miRs). Some of those stemness regulatory miRs, are also key regulators of the *TP53*-dependent pathway, and their expression is often deregulated in cancer. Little is known about the expression of stem-cell markers, and their upstream regulators in ovarian cancer. This question has not been studied in clinical samples in the context of the *TP53* status.

Aim of the study: We aimed to assess the expression of a set of stemness markers and their regulators in clinical samples of primary ovarian cancer and in ovarian cancer cell lines with different *TP53* status.

Material and methods: Expression levels of miR-125b, miR-34a, miR-145, let-7i, *Lin28A*, *TP53* and *c-myc* were assessed in a panel of primary ovarian cancer samples containing at least 75% of cancer cells, and mostly of serous type, and in ovarian cancer cell lines, by qRT-PCR, with *U6*, *U48*, *PGK1* and *GAPDH* employed as reference genes, and normal human ovarian surface epithelium as a calibrator.

Results and conclusions:

1. Clinical samples of ovarian cancer overexpressed *Lin28A*, miR-125b and miR-145 while miR-34a and let-7i were down-regulated. Upregulated miR-125 and miR-145 suggest, that in primary ovarian cancer their role is different from that of a tumour suppressor, described in other cancers.
2. High-grade ovarian carcinomas with null *TP53* mutations presented higher levels of *Lin28A* transcript than those with the wild-type *TP53*. The lack of *TP53* may then influence the expression of stemness markers in ovarian cancer.
3. In the clinical samples of ovarian carcinoma, the expression of *c-myc* and the miR-34 family members does not relate to the *TP53* status.

Wstęp: Nowotworowe komórki macierzyste, inaczej zwane komórkami inicjującymi nowotwór, mogą być źródłem nawrotu choroby oraz niepowodzenia leczenia. Mutacje genu

TP53 lub zaburzenia w szlaku zależnym od *TP53* są krytycznie ważne w patogenezie raka jajnika i wydają się determinować oporność na leczenie. Niedawno wykazano istotną rolę *TP53* w regulacji procesu wielokierunkowego różnicowania się prawidłowych komórek macierzystych, kontrolowanego przez szereg czynników transkrypcyjnych oraz mikroRNA (miR). Niektóre mikroRNA z grupy regulatorów „macierzystości” odgrywają kluczową rolę w szlaku zależnym od *TP53*, a ich ekspresja w nowotworach jest często zaburzona. Ekspresja markerów macierzystości w raku jajnika badana była jak dotąd głównie na liniach komórkowych, a profil tych markerów i związek ze statusem *TP53* nie został określony.

Cel pracy: Ocena ekspresji wybranych regulatorów „macierzystości”, w tym: miR-125b, miR-34a, miR-145, let-7i, *Lin28A*, *TP53* oraz *c-myc* w pierwotnym raku jajnika oraz liniach raka jajnika w powiązaniu ze statusem *TP53*.

Materiały i metody: Poziom ekspresji badano metodą ilościowego RT-PCR z wykorzystaniem ludzkiego prawidłowego powierzchniowego nabłonka jajnika jako kalibratora oraz *U6*, *U48*, *PGK1* i *GAPDH* jako genów referencyjnych.

Wyniki i wnioski:

1. W próbkach klinicznych pierwotnego raka jajnika stwierdziliśmy wyraźną nadekspresję *Lin28A*, miR-125b i miR-145 oraz spadek ekspresji miR-34a i let-7i. Nadekspresja miR-125b oraz miR-145 sugeruje, że te mikroRNA w pierwotnym raku jajnika pełnią odmienną rolę niż supresorowa, opisywana w innych nowotworach.
2. Rak jajnika o wysokiej złośliwości ujawnia wyższą ekspresję *Lin28A* w przypadku występowania mutacji typu „null” genu *TP53*, niż w przypadku prawidłowego *TP53*. Może to świadczyć o udziale zaniku ekspresji *TP53* w ujawnianiu się cech „macierzystości” w raku jajnika.
3. W próbkach klinicznych raka jajnika nie ma jednoznacznej zależności między poziomem ekspresji *c-myc* oraz cząsteczek z rodziny miR-34 a statusem *TP53*.

[130]

STAT3 silencing sensitizes A549 lung cancer cells toward drug induced – but not TNF- α – and NK-induced apoptosis

Wyciszenie ekspresji STAT3 uwrażliwia komórki raka płuc A549 na apoptozę indukowaną farmakologicznie, ale nie wpływa na ich odpowiedź na TNF- α lub lizę przez komórki NK

**Dorota Weronika Kulesza¹, Salem Chouaib²,
Bożena Kamińska¹**

¹The Nencki Institute of Experimental Biology, Warsaw

²INSERM U 753, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

STAT3 (signal transducers and activators of transcription 3) is a transcription factor constitutively activated in a large number of human tumors. Persistent signaling via STAT3 may contribute to oncogenesis by stimulating cell proliferation, preventing apoptosis, modulating immune respon-

ses and angiogenesis. Thus it emerges as promising molecular target for cancer therapy. Aberrant activation of STAT3 is thought to be a consequence of either deregulation of upstream kinases (JAK1-3, EGFR) or loss of endogenous inhibitors. Constitutively active STAT3 promotes tumor progression through dysregulation of gene expression. To elucidate a precise role of STAT3 in tumor progression and resistance to therapy, we silenced the expression of STAT3 in human A549 non-small lung carcinoma cells using plasmid-transcribed shRNAs. Silencing of STAT3 in A549 cells had no impact on basal cell survival and cell lines stably depleted of STAT3 have been successfully developed. Moreover, there was no differences in proliferation of validated clones, suggesting that STAT3 expression is negligent for basal survival and proliferation. However, stable silencing of STAT3 sensitized A549 lung cancer cells to doxorubicin and cisplatin treatment, suggesting STAT3 involvement in regulation of intrinsic apoptotic pathways. In contrast, the permanent silencing of STAT3 had no effect on the susceptibility of A549 cells to TNF α - and did not increase NK-induced apoptosis. Altogether, our data suggest that modulation of STAT3 expression affects resistance to drug-induced cell death but does not modulate TNF α - and immune-mediated toxicity in A549 lung cancer cells.

Studies were supported by a grant M345/N-INCA/2008 (BK) from the Polish Ministry of Science and Higher Education.

Przebieg sygnału i aktywator transkrypcji 3 (STAT3) jest czynnikiem transkrypcyjnym konstytutywnie aktywowanym w licznych nowotworach. Odgrywa ważną rolę w transformacji nowotworowej i progresji nowotworu, co czyni go obiecującym celem nowoczesnych strategii przeciwnowotworowych. Nieprawidłowa aktywacja STAT3 w nowotworach wynika z zaburzenia funkcji fosforylujących go kinaz tyrozynowych (JAK1-3, EGFR) lub z utraty endogennych inhibitorów. Konstytutywnie aktywny STAT3 promuje niekontrolowany wzrost i rozwój nowotworów poprzez zakłócenie prawidłowej ekspresji genów. Dysfunkcja przebiegu z udziałem STAT3 może zaburzać szereg procesów, takich jak: proliferacja, apoptoza, angiogeneza oraz ucieczka spod kontroli układu odpornościowego. Aby określić bardziej precyzyjnie rolę białka STAT3 w regulacji żywotności i proliferacji komórek niedrobnokomórkowego raka płuc A549 oraz ich oporności na apoptozę i odpowiedź przeciwnowotworową, wyciszono ekspresję STAT3 za pomocą interferujących shRNA, transkrybowanych z plazmidu. Wyciszenie ekspresji STAT3 nie miało znaczącego wpływu na proliferację (test inkorporacji BrdU) i żywotność (test metabolizmu MTT) komórek A549 w warunkach podstawowych. Możliwe było wyprowadzenie linii ze stabilnie wyciszoną ekspresją STAT3 oraz linii kontrolnych (neutralny shRNA). Jednakże wyciszenie ekspresji STAT3 uwrażliwiało komórki A549 na apoptozę indukowaną przez leki cytotoksyczne: doksorubicynę i cisplatinę. Z kolei wyciszenie STAT3 w komórkach A549 nie uwrażliwiało komórek na apoptozę indukowaną przez TNF- α (czynnik nekrozy nowotworu alfa) lub lizę przez komórki NK. Reasumując, nasze wyniki wskazują na udział białka STAT3 w regulacji oporności komórek niedrobnokomórkowego raka płuc A549 na chemioterapeutyki (doksorubicynę, cisplatinę), ale nie na czynniki zewnętrzno-

mórkowe indukujące śmierć komórkową (TNF- α oraz stymulacja komórkami NK).

Badania są finansowane przez grant M345/N-INCA/2008 (BK) z Ministertwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

[131]

Analysis of consequently changed signaling pathways – a novel method for analyzing microarray data

Analiza dysfunkcji przekaźnictwa w ścieżkach sygnałowych – nowa metoda analizy danych mikromacierzowych

Jakub Mieczkowski, Karolina Świątek-Machado, Bożena Kamińska

Nencki Institute of Experimental Biology, Polish Academy of Sciences, Warsaw

Signaling pathways belong to a complex system of communication that governs cellular processes. They represent signal transduction from an extracellular stimulus via a receptor to intracellular mediators, as well as intracellular interactions. Perturbations in signaling cascade often lead to detrimental changes in cell function and they are a major cause of many diseases, including cancer. Identification of deregulated pathways may advance understanding of complex diseases and lead to improvement of therapeutic strategies.

We propose Analysis of Consistent Signal Transduction (ACST), a novel method for analysis of signaling pathways. Our method incorporates information regarding pathway topology, as well as data on the position of every gene in each pathway. To preserve gene-gene interactions we use a subject sampling permutation model to assess the significance of pathway perturbations. We applied our approach to four independent datasets of global gene expression profiling (vulvar epithelial neoplasia and endometriosis versus control and 2 sets of colorectal cancers-controls). The results of ACST, as well as three other methods used to analyze signaling pathways (SPIA, SEPEA and the maxmean), are presented in the context of biological significance and repeatability. We show that our method is characterized by biologically meaningful results, as well as strong repeatability between similar, yet independent, datasets.

Ścieżki sygnałowe tworzą skomplikowany system powiązań zarządzający procesami komórkowymi. Reprezentują drogę przekazania sygnału od bodźca zewnątrzkomórkowego przez receptory do wewnątrzkomórkowego mediatora, wzajemne interakcje wewnątrzkomórkowe oraz odpowiedź komórki. Zaburzenia w przekaźnictwie sygnałów prowadzą często do niekorzystnych zmian w funkcjonowaniu komórek oraz są przyczyną wielu chorób, w tym nowotworów. Rozpoznanie zaburzonych ścieżek sygnałowych może pomóc w zrozumieniu złożonych chorób, a także w usprawnieniu strategii terapeutycznych.

Proponujemy nową metodę – analizę konsekwentnie zmienionego przekaźnictwa w ścieżkach sygnałowych (*Analysis of Consistent Signal Transduction* – ACST) wykorzystującą dane mikromacierzowe. Nasza metoda wykorzystuje zarówno informację o topologii ścieżek sygnałowych, jak i o pozycji każdego genu w ścieżce. W celu oszacowania istotności zaburzenia ścieżki została wykorzystana permutacja próbek, co pozwoliło zachować interakcje pomiędzy genami. Nasza metoda została przetestowana na czterech niezależnych zbiorach danych (globalne profilowanie porównujące ekspresję genów w nabłonkowym raku sromu i endometriozie oraz w dwóch zbiorach danych porównujących zmiany ekspresji genów w komórkach raka jelita grubego i zdrowej tkance). Wyniki uzyskane naszą metodą, w postaci zidentyfikowanych zmienionych ścieżek przekaźnictwa, zostały porównane z wynikami trzech innych metod używanych do analizy zaburzeń w ścieżkach sygnałowych (SPIA, SEPEA and the maxmean) zarówno pod kątem wiedzy biologicznej, jak i powtarzalności wyników. Pokazujemy, że wyniki naszej metody są bardziej zgodne z dostępną wiedzą biologiczną oraz charakteryzują się wysoką powtarzalnością pomiędzy podobnymi, ale niezależnymi, zbiorami danych.

