

01

Analiza czynników klinicznych decydujących o kwalifikacji do leczenia chorych powyżej 65. roku życia z rozpoznaniem niedrobnokomórkowego raka płuca

Adam Płuzański, Aleksandra Piórek, Maciej Krzakowski

Klinika Nowotworów Płuca i Klatki Piersiowej, Centrum Onkologii — Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Wstęp. Chorzy powyżej 65. roku życia stanowią około 50% pacjentów z rozpoznaniem niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP). Z uwagi na heterogenność populacji istnieją różnice w określeniu czynników decydujących o wyborze metody postępowania. Niewielki udział osób starszych w badaniach klinicznych powoduje trudności w odnoszeniu standardów postępowania opracowanych dla ogółu chorych do omawianej grupy. Brak jest dostatecznej liczby danych dotyczących pacjentów leczonych w ramach rutynowej praktyki klinicznej, szczególnie w populacji polskiej.

Cel. Celem pracy jest retrospektywna analiza czynników decydujących w klinicznej praktyce o wyborze metody postępowania u chorych powyżej 65. roku życia z rozpoznaniem NDRP.

Materiał i metody. Przeprowadzono analizę dokumentacji medycznej 377 chorych po 65. roku życia w chwili rozpoznania NDRP leczonych w Klinice Nowotworów Płuca i Klatki Piersiowej Centrum Onkologii w Warszawie. Ocenie poddano wiek, płeć, stan sprawności ogólnej według skali ECOG, obecność chorób współistniejących, typ histologiczny NDRP i status palenia tytoniu.

Wyniki. Mediana wieku wyniosła 73 lata. U 29% chorych rozpoznano raka gruczołowego płuca, u 45% raka płaskonabłonkowego. U 47% aktualnych lub byłych palaczy rozpoznano raka płaskonabłonkowego, zaś wśród nigdy niepalących raka gruczołowego u 64% chorych ($p = 0,03$). Wśród kwalifikowanych do leczenia radykalnego w stopniu zaawansowania I i II istotnym czynnikiem było niepalenie tytoniu ($p < 0,01$). Chemioterapię otrzymało 144 z 225 (38%) w III lub IV stopniu zaawansowania. Do radioterapii paliatywnej zakwalifikowano 89 (24%) pacjentów, natomiast u 75 (20%) zastosowano leczenie objawowe. Stopień sprawności (ECOG 0-1) był jednym z czynników decydujących o kwalifikacji do leczenia ($p < 0,01$). Wśród leczonych chemioterapią chorzy w stopniu sprawności (ECOG 0-1) stanowili 76% populacji w porównaniu do 40% kwalifikowanych do radioterapii paliatywnej lub opieki objawowej ($p < 0,01$). Osoby powyżej 73 lat rzadziej kwalifikowano do chemioterapii (37% v. 63%) a istotnie częściej do radioterapii paliatywnej (65% i 35%) oraz leczenia objawowego (56% i 44%) ($p < 0,01$). Choroby współwystępujące stwierdzono u 5% leczonych radykalnie lub chemioterapią i u 74% otrzymujących paliatywną radioterapię lub leczenie objawowe ($p < 0,01$). Liczba chorób współwystępujących nie miała znaczenia. W analizie wielowariantowej wiek chorego > 73 lat (OR 2,1; 95% CI: 1,1-4,1), ECOG ≥ 2 i obecność chorób współwystępujących (OR 2,8; 95% CI: 1,0-7,5) były niezależnymi czynnikami decydującymi o leczeniu objawowym ($p < 0,001$). Natomiast wiek > 73 lat (OR 3,3; 95% CI: 1,8-6,4) i ECOG ≥ 2 (OR 11,8; 95% CI: 1,1-131) korelowały z kwalifikacją do radioterapii paliatywnej ($p < 0,001$).

Omówienie. Zaobserwano, że niezależnie od stopnia sprawności i obecności chorób współwystępujących wiek metrykalny stanowił jeden z czynników decydujących o przyjętej metodzie postępowania w grupie chorych w III i IV stopniu zaawansowania NDRP. Chorzy powyżej 73. roku życia częściej byli kwalifikowani do leczenia objawowego i radioterapii paliatywnej. Zgodnie z obecnymi standardami w celu zminimalizowania ryzyka związanego z leczeniem, u osób w wieku podeszłym zaleca się zastosowanie niezależnej od wieku metody oceny stanu geriatrycznego chorego przed kwalifikacją do leczenia przyczynowego.

02

Wpływ polimorfizmów genów *TS*, *MTHFR* i *ERCC1* na skuteczność leczenia I linii chemioterapii za pomocą związków platyny i pemetreksedu chorych na złośliwego międzybłoniaka opłucnej

Tomasz Powrózek¹, Dariusz M. Kowalski², Paweł Krawczyk¹, Rodryg Ramlau^{3,4}, Tomasz Kucharczyk^{1,6}, Marcin Nicoś^{1,6}, Ewa Kalinka-Warzocho⁵, Magdalena Knetki-Wróblewska², Kinga Winiarczyk², Wojciech Dyszkiewicz^{3,4}, Maciej Krzakowski², Janusz Milanowski^{1,7}

¹Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Klinika Nowotworów Płuca i Klatki Piersiowej, Centrum Onkologii — Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie

³Wielkopolskie Centrum Pulmonologii i Torakochirurgii im. Eugenii i Janusza Zeylandów, Poznań, Poland

⁴Klinika Torakochirurgii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

⁵Regionalne Centrum Onkologii w Łodzi

⁶Studium Medycyny Molekularnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁷Instytut Medycyny Wsi w Lublinie

Wstęp. Złośliwy międzybłoniak płucnej jest najczęstszym nowotworem pierwotnym płucnej, który jest ściśle związany z ekspozycją na azbest. Opcje terapeutyczne u chorych na międzybłoniaka obejmują leczenie chirurgiczne, radioterapię oraz chemioterapię. Zastosowanie związków platyny w połączeniu z pemetrekselem stanowi standardowy schemat leczenia I linii chemioterapii chorych na złośliwego międzybłoniaka płucnej. Pemetrexed jest antagonistą kwasu foliowego, który hamuje enzymy zależne od folianów (tj. syntaza tymidylowa, TS), prowadzi to do zahamowania syntezy nukleotydów i podziału komórki. Ekspresja TS regulowana przez polimorfizmy genowe oraz dostępność kwasu foliowego, którego poziom regulowany jest przez reduktazę metylenotetrahydrofolianu (MTHFR), ma znaczenie dla skuteczności chemioterapii pemetrekselem i wyników leczenia chorych na międzybłoniaka. Ekspresja białka ERCC1 biorącego udział w naprawie DNA, regulowana przez polimorfizmy w kodującym ją genie może być związana z odpowiedzią na leczenie związkami platyny. Celem retrospektywnego badania była ocena zależności pomiędzy polimorfizmami genów *TS*, *MTHFR* i *ERCC1* a skutecznością leczenia I linii chemioterapii platyną i pemetrekselem u chorych na złośliwego międzybłoniaka płucnej oraz określenie przydatności analizy powyższych polimorfizmów genetycznych jako czynników predykcyjnych chemioterapii platyną i pemetrekselem.

Materiały i metody. Za pomocą technik ASP-PCR (allelospecyficzny PCR) oraz RFLP-PCR (polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych) oceniono liczbę powtórzeń tandemowych (VNTR), polimorfizm (SNP) G>C wewnątrz VNTR oraz polimorfizm insercyjno-delecyjny 6 par zasad (1494del6) genu *TS* u 59 chorych na złośliwego międzybłoniaka płucnej (31 mężczyzn i 21 kobiet, mediana wieku: $62 \pm 9,5$ roku). Ponadto za pomocą techniki PCR-HRM (analiza krzywych topnienia wysokiej rozdzielczości) oceniono częstość występowania polimorfizmu 677C>T genu *MTHFR* oraz 19007C>T genu *ERCC1*. Badane polimorfizmy skorelowano z kontrolą choroby, czasem wolnym od progresji (PFS) oraz całkowitym czasem przeżycia (OS) chorych na międzybłoniaka płucnej. Odpowiedź na leczenie oceniano według kryteriów RECIST.

Wyniki. Wyższe ryzyko wczesnej progresji choroby (PD), skrócenie czasu PFS oraz OS związane były z czynnikami klinicznymi, to jest anemia (dla wczesnej PD i OS), ubytek masy ciała (PFS i OS), poprzedzający chemioterapię zabieg operacyjny (wczesna PD oraz PFS i OS). Insercja 6 pz w obu allelach genu *TS* (+6/+6 pz) była jedynym czynnikiem genetycznym związanym z wystąpieniem wczesnej progresji choroby ($p = 0,028$) i skróceniem mediany PFS ($p = 0,06$) u chorych na złośliwego międzybłoniaka płucnej. W analizie wieloczynnikowej Coxa polimorfizm 1494del6 wykazał także wartość predykcyjną dla czasu PFS ($p = 0,0185$, HR = 2,3258, dla homozygoty +6/+6 pz).

Wnioski. Większość analizowanych polimorfizmów w genach *TS*, *MTHFR* i *ERCC1* nie wykazało wartości predykcyjnej u chorych na międzybłoniaka płucnej leczonych chemioterapią opartą na pemetrekselem i związkach platyny. Natomiast, różne warianty polimorfizmu 1494del6 w regionie 3'UTR genu *TS* były związane z różnicami w kontroli choroby i czasie PFS u badanych chorych.

03

Markery przemiany epitelialno-mezenchymalnej w rozsiewie krążących komórek nowotworowych u chorych na rak piersi

Aleksandra Markiewicz^{1, 2}, Barbara Seroczyńska³, Jarosław Skokowski^{3, 4}, Hanna Majewska⁵, Jolanta Szade⁵, Marzena Welnicka-Jaskiewicz⁶, Anna Żaczek¹

¹Katedra Biotechnologii Medycznej, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Studium Medycyny Molekularnej w Warszawie

³Centralny Bank Tkanki i Materiału Genetycznego, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁴Katedra i Klinika Chirurgii Onkologicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁵Katedra Patomorfologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

⁶Katedra i Klinika Onkologii i Radioterapii, Gdański Uniwersytet Medyczny

Wstęp. Aktywacja procesu przemiany epitelialno-mezenchymalnej (EMT, *epithelial-mesenchymal transition*) w komórkach nowotworowych związana jest z ich zwiększoną agresywnością. Ze względu na czasowo i przestrzennie ograniczoną aktywację EMT wiedza na temat zachodzenia tego procesu w próbkach klinicznych jest jednak wciąż niewystarczająca. Celem badania było przeanalizowanie poziomu białek zaangażowanych w proces EMT w ogniskach pierwotnych i przerzutach do regionalnych węzłów chłonnych chorych na raka piersi oraz skorelowanie ich z obecnością i fenotypem rozsianych drogą hematogenną krążących komórek nowotworowych.

Materiały i metody. Materiał badawczy stanowiły pierwotne ogniska nowotworowe ($n = 108$), przerzuty do regionalnych węzłów chłonnych ($n = 55$) oraz krew obwodowa ($n = 86$) od 108 chorych na raka piersi w stadium I–III. Poziom białek związanych z aktywacją procesu EMT (utrata E-kadheryny, ekspresja wimentyny i N-kadheryny) został oceniony immunohistochemicznie w ogniskach pierwotnych i przerzutach raka piersi. Izolacja krążących komórek nowotworowych została wykonana w oparciu o gradient gęstości i selekcję negatywną z kulkami magnetycznymi opłaszczonymi przeciwciałem anti-CD45. We frakcji zmierzono ekspresję cytokeratyny 19 (*CK19*), mammaglobiny 1 (*MGB1*), wimentyny (*VIM*) i *HER2* techniką PCR w czasie rzeczywistym.

Wyniki. Ekspresja wimentyny i N-kadheryny wystąpiła z podobną częstością w ogniskach pierwotnych (odpowiednio 14% i 11%) i przerzutach (odpowiednio 16% i 17%); utrata E-kadheryny natomiast była obserwowana niemal wyłącznie w ogniskach pierwotnych (37% v. 2% w przerzutach). Krążące komórki nowotworowe wykryto u 28% chorych, z czego 42% frakcji wzbogaconych w krążące komórki nowotworowe miało fenotyp mezenchymalny (*VIM+/CK19-/MGB1+/HER2+*), a 58% fenotyp epitelialny (*CK19+/VIM-/MGB1+/HER2+*). Utrata E-kadheryny, ale nie innych markerów EMT, w pierwotnych ogniskach raka piersi nienależących do zrazikowego typu histologicznego związana była z zajęciem węzłów chłonnych i obecnością krążących komórek nowotworowych. Mezenchymalny fenotyp frakcji wzbogaconej w krążące komórki nowotworowe występował częściej u chorych z utratą E-kadheryny w guzie pierwotnym (30% chorych v. 6% chorych z ekspresją E-kadheryny). Częstość występowania epitelialnego fenotypu frakcji wzbogaconej w krążące

komórki nowotworowe nie była uzależniona od statusu E-kadheryny w pierwotnym ognisku raka. Ekspresja białkowych markerów EMT w przerzutach do węzłów chłonnych nie korelowała z obecnością krążących komórek nowotworowych.
Omówienie. Utrata E-kadheryny w pierwotnych ogniskach raka piersi związana jest z zajęciem węzłów chłonnych i obecnością w krwioobiegu bardziej agresywnych krążących komórek nowotworowych o fenotypie mezenchymalnym.

04

Pierwotny chłoniak rozlany z dużych komórek B jądra: wyniki immunochemioterapii R-CHOP z dokanałową profilaktyką zajęcia ośrodkowego układu nerwowego u 34 chorych

Joanna Romejko-Jarosińska, Michał Szymczyk, Ewa Mróz, Lidia Popławska, Katarzyna Domańska-Czyż, Beata Ostrowska, Michał Osowiecki, Barbara Brzeska, Grzegorz Rymkiewicz, Jan Walewski

Centrum Onkologii — Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Wstęp. Pierwotny chłoniak rozlany z dużych komórek B (DLBCL) jądra (PTL) jest rzadkim, agresywnym nowotworem układu chłonnego, zwykle występującym u osób w podeszłym wieku. W przypadkach nawrotu lub niepowodzenia leczenia pierwotnego, często powoduje zajęcie ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i/lub innych umiejscowień pozawęzłowych, także drugiego jądra. Zalecane postępowanie standardowe obejmuje, oprócz leczenia systemowego, orchiektomię, napromienianie drugiego jądra oraz dokanałowe podawanie metotreksatu w pierwszych 4 cyklach immunochemioterapii. Wartość tych zaleceń nie jest znana ze względu na brak porównawczych badań randomizowanych.

Metoda i cel pracy. Celem naszego badania była ocena wyników leczenia 34 kolejnych chorych na PTL, u których zastosowano w latach 2004–2013 program R-CHOP i dokanałowe dawki metotreksatu. U wszystkich chorych zastosowano orchiektomię, a w okresie do 2 miesięcy po zabiegu rozpoczynano leczenie wg programu R-CHOP, 6–8 cykli. U 30 chorych (88%) podawano metotreksat dokanałowo.

Wyniki. Mediana wieku chorych (zakres) wyniosła 68 (31–86) lat. Stopień zaawansowania (CS) IV stwierdzono u 10 (30%), a podwyższoną aktywność dehydrogenazy mleczanowej — u 8 (24%) chorych. Odpowiedź na leczenie uzyskało 30 chorych (88%), w tym całkowitą remisję — 29 (86%) chorych. Mediana obserwacji (zakres) wynosi 24 (1–77) miesiące. Przeżycie 2 i 5 lat całkowite (OS) oraz wolne od zdarzeń (EFS) wyniosło, odpowiednio, 83% (95% CI 72%, 100%) i 62% (95% CI 41%, 83%), oraz 80% (95% CI 66%, 94%) i 61% (95% CI 40%, 82%). Zaawansowanie choroby CS IV, zajęcie lewego jądra oraz wiek powyżej 60. roku życia były niekorzystnymi czynnikami rokowniczymi przeżycia całkowitego, a CS IV był niekorzystnym czynnikiem rokowniczym EFS. Nawrót lub progresja choroby nastąpiły u 6 chorych (18%), jednak w żadnym przypadku niepowodzenia nie stwierdzono zajęcia OUN ani drugiego jądra.

Wnioski. Immunochemioterapia R-CHOP i dokanałowe dawki metotreksatu pozwalają na uzyskanie długotrwałej remisji u ponad 60% chorych. Wyniki leczenia tej reprezentatywnej grupy chorych nie potwierdzają zasadności napromieniania drugiego jądra ani celowości intensyfikacji profilaktyki zajęcia OUN

05

Związek ekspresji glutaredoksyny 3 (GLRX3, PICOT) ocenionej na poziomie mRNA w komórkach nowotworowych i stężenia glutationu w osoczu z zaawansowaniem klinicznym raka trzonu macicy

Magdalena Kędzierska¹, Urszula Czernek¹, Ewa Forma², Magdalena Bryś², Monika Wyszczelska-Rokiel³, Rafał Głowacki³, Katarzyna Wójcik-Krowiranda⁴, Andrzej Bieńkiewicz⁴, Piotr Potemski¹

¹Klinika Chemioterapii Nowotworów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

²Katedra Cytobiochemii Uniwersytetu Łódzkiego

³Katedra Chemii Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego

⁴Oddział Ginekologii Onkologicznej — Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

Wstęp. Glutation w formie zredukowanej (GSH) jest najważniejszym elementem systemu antyoksydacyjnego. PICOT regeneruje białka zmodyfikowane przez S-glutanylację z szybkością około 10 razy większą niż pozostałe oksydoreduktazy. Ponieważ utleniona postać PICOT jest redukowana przez GSH, redukcyjna aktywność tego enzymu uzależniona jest od ilości GSH.

Cel pracy. Celem pracy było zbadanie ekspresji *PICOT* na poziomie mRNA i stężenia GSH u chorych operowanych z powodu raka trzonu macicy i zbadanie związków tych biomarkerów ze stopniem zaawansowania klinicznego.

Materiał i metody. Materiał badawczy stanowiły preparaty tkankowe z guzów i osocze pochodzące od chorych na raka błony śluzowej trzonu macicy. Do badania włączono jedynie chore w I (n = 26) i III (n = 15) stopniu zaawansowania. Ilościową ocenę ekspresji *PICOT* i *HPRT1* jako genu referencyjnego prowadzono techniką RT-PCR. Stężenie GSH oceniono wykorzystując wysokosprawną chromatografię cieczową. Do porównań między grupami użyto testu U Manna-Whitney'a, a do badania związku pomiędzy badanymi biomarkerami metody korelacji Pearsona.

Wyniki. U chorych w III stopniu zaawansowania wykazano istotnie większą ekspresję *PICOT* ($p < 0,05$) i istotnie mniejsze stężenie GSH ($p < 0,01$) w porównaniu z chorymi w I stopniu zaawansowania. Stwierdzono istotną statystycznie ujemną korelację ($p < 0,001$) pomiędzy ekspresją *PICOT* a stężeniem GSH u chorych w III stopniu zaawansowania ($r = -0,677$), ale nie u chorych w I stopniu ($p = 0,08$).

Omówienie. Większa ekspresja *PICOT* i mniejsze stężenie GSH u chorych w III stopniu zaawansowania w porównaniu z I stopniem w połączeniu z ujemną korelacją pomiędzy tymi zmiennymi obserwowaną wyłącznie u chorych w III stopniu zaawansowania sugerują, że w trakcie rozwoju choroby nowotworowej dochodzi do zaburzeń mechanizmów kontrolujących równowagę redukcyjno-oksydacyjną, w których *PICOT* i GSH mogą pełnić ważną funkcję.