



CENTRUM ONKOLOGII – INSTYTUT
IM. MARII SKŁODOWSKIEJ-CURIE



Perspektywy w onkologii molekularnej
III Zjazd Centrum Onkologii – Instytutu
im. Marii Skłodowskiej – Curie

5 – 6 kwietnia 2018



Warszawa

Komitet Naukowy

Prof. dr hab. Jan Walewski
Prof. dr hab. Janusz Siedlecki
Prof. dr hab. Jerzy Ostrowski
Prof. dr hab. Zbigniew Nowecki
Prof. dr hab. Mariusz Bidziński
Prof. dr hab. Zygmunt Pojda
Prof. dr hab. Sergiusz Markowicz
Dr hab. Paweł Kukułowicz, prof. nadzw.
Prof. dr hab. Tomasz Demkow
Dr hab. Piotr Sobiczewski
Prof. dr hab. Piotr Widłak
Prof. dr hab. Rafał Tarnawski
Dr hab. Katarzyna Lisowska, prof. nadzw.
Dr hab. Marek Rusin, prof. nadzw.
Dr hab. Tomasz Rutkowski
Prof. dr hab. Janusz Ryś
Dr hab. Beata Sas-Korczyńska, prof. nadzw.
Dr hab. Wojciech Wysocki
Dr hab. Angrzej Komorowski
Dr Marek Ziobro

Komitet organizacyjny

Dr hab. Magdalena Chechlinska, prof. nadzw.
Dr hab. Joanna Niemiec, prof. nadzw.
Dr hab. Andrzej Mróz
Dr Elżbieta Sarnowska
Dr Anna Fabisiewicz
Dr Natalia Rusetska
Dr Michał Szymański
Dr Ewelina Macech-Klicka
Dr Ryszard Konopinski
Lek. Roman Dubiański
Mgr Monika Leinz
Mgr Dorota Kielczewska
Mgr Agnieszka Niewiadomska
Mgr Anna Piechutowska
Mgr Marcin Leszczyński
Mgr Joanna Szarkowska
Mgr inż. Małgorzata Stachowiak
Mgr inż. Iga Jancewicz
Mgr Magdalena Markowska

WYKŁADY

Czynnik transkrypcyjny HSF1 jako element ścieżki sygnałowej zależnej od ER α w komórkach raka piersi.

Vydra N, Janus P, Toma-Jonik A, Stokowy T, Smolarczyk R, Korfanty J, Widlak W

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii-Institut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże AK 15, 44-101 Gliwice

HSF1 (ang. Heat Shock Factor 1) jest czynnikiem transkrypcyjnym aktywowanym pod wpływem stresu środowiskowego i jest uważany za głównego regulatora ekspresji białek HSP (ang. Heat Shock Proteins). HSP to białka opiekuńcze biorące udział w fałdowaniu innych białek i chroniące komórki przed apoptozą wywołaną działaniem stresu. W wielu typach nowotworów HSF1 i HSP ulegają zwiększonej ekspresji. Wykazano, że HSF1 może wspierać transformację nowotworową, a także ułatwiać przetrwanie zmienionych nowotworowo komórek modulując ścieżki sygnałowe związane ze wzrostem i proliferacją komórek, apoptozą, metabolizmem oraz ruchliwością komórek.

Celem badań jest poznanie mechanizmów molekularnych prowadzących do aktywacji HSF1 w komórkach nowotworowych piersi. Wykazaliśmy, że HSF1 jest aktywowany (fosforylacja w pozycji Ser326) przez estrogen (17 β -estradiol, E2) w komórkach MCF7 charakteryzujących się ekspresją ER α (ang. estrogen receptor α), ale nie w liniach komórkowych nie wykazujących ekspresji ER α . Fosforylacja HSF1 w pozycji Ser326 zachodzi również w komórkach MCF7 traktowanych agonistami ER α (PPT lub BPA), natomiast obniżenie ekspresji ER α za pomocą swoistych siRNA skutkuje zahamowaniem aktywacji HSF1 po traktowaniu E2. Stosując swoiste inhibitory ERK1/2 (U0126), PI3K (3-metyloadenina i LY294002) i mTOR (rapamycyna) wykazaliśmy, że w fosforylację HSF1 w wyniku działania E2 zaangażowane są ścieżki sygnałowe zależne od ERK oraz mTOR. Stosując immunoprecypitację chromatyny wykazano, że HSF1 aktywowany przez E2 wiąże się z sekwencjami regulatorowymi niektórych genów, co wpływa na ich ekspresję. W celu określenia roli HSF1 w komórkach MCF7

traktowanych E2 wyprowadziliśmy linię komórek

z obniżoną ekspresją HSF1 (za pomocą swoistych cząsteczek shRNA) i wykonaliśmy RNA-Seq w poszukiwaniu zmian ekspresji genów indukowanych E2. Analiza wykazała, że wśród procesów biologicznych, na które wpływa estrogen, najbardziej zależne od HSF1 są procesy związane z adhezją komórek i angiogenezą.

Praca finansowana ze środków Narodowego Centrum Nauki, nr grantów 2014/13/B/NZ7/02341, 2015/17/B/NZ3/03760

Polimorfizmy w rejonach 3'UTR genów ADME w aspekcie terapii raka piersi

Jolanta Pamuła-Piłat, Karolina Tęcza, Magdalena Mazur, Magdalena Kalinowska-Herok, Joanna Łanuszewska, Iwona Domińczyk, Lucyna Ponge, Ewa Grzybowska

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii – Institut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice, 44-101 Gliwice

W rejonach niekodujących genów (3'UTR) znajdują się sekwencje regulatorowe pełniące kluczową rolę w posttranskrypcyjnej regulacji ekspresji genów. Zmiany w sekwencjach regulatorowych genu mogą prowadzić do powstania licznych chorób w tym do rozwoju nowotworów. Celem projektu jest określenie korelacji pomiędzy występowaniem polimorfizmów we fragmentach 3'UTR genów uczestniczących w absorpcji, dystrybucji, metabolizmu i wydalania (ADME) a efektywnością i toksycznością leczenia raka piersi.

Do badań wykorzystano DNA od 324 pacjentek z rakiem piersi leczonych 5-fluorouracylem, doksorubicyną, cyklofosfamidem (schemat FAC). Do analiz wybrano 25 polimorfizmów pojedynczych nukleotydów (SNP) najczęściej występujących w populacji kaukaskiej o MAF \geq 0,05. Analizie poddano SNP występujące w regionach 3'UTR genów uczestniczących w metabolizmie (CYP, GST, UGT), transporcie (ABC, SLC), naprawie uszkodzeń DNA (ERCC) indukowanych przez trzy chemioterapeutyki stosowane w leczeniu raka piersi

schematem FAC. Warianty polimorficzne identyfikowano techniką RFPL-PCR i ASA-PCR.

We wstępnych wynikach badań zaobserwowano korelację pomiędzy polimorfizmami we fragmentach 3'UTR genów ABCC1, ABCA1, ABCC4, GSTM3 a wystąpieniem toksyczności hematologicznej. Z kolei polimorfizm w regionie 3'UTR genu ERCC1 wykazywał potencjalną zależność z nefrotoksycznością.

Wyniki badań mogą przyczynić się do opracowania w przyszłości optymalnych dla każdego pacjenta strategii terapeutycznych. Etapem kluczowym będzie opracowanie szybkich testów genetycznych do identyfikacji indywidualnej genetycznej predyspozycji do absorpcji, metabolizowania czy wydalania leków stosowanych w leczeniu raka piersi. Efektem indywidualnego doboru terapii z uwzględnieniem roli czynników genetycznych, może być poprawa jakości życia pacjentek z rakiem piersi leczonych 5-fluorouracylem, doksorubicyną i cyklofosfamidem.

Badania finansowane przez NCN grant nr 2016/21/D/NZ5/01913

Profile metaboliczne guzów piersi wyznaczone z wykorzystaniem techniki HR MAS NMR

Agnieszka Skorupa¹, Mateusz Ciszek¹,
Maria Turska-d'Amico², Ewa Stobiecka³,
Ewa Chmielik³, Andrea d'Amico⁴,
Łukasz Boguszewicz¹, Maria Sokół¹

¹ Zakład Fizyki Medycznej

² Klinika Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej

³ Zakład Patologii Nowotworów

⁴ Zakład Diagnostyki PET

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie,
Oddział Gliwice;

ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice

e-mail: agnieszka.skorupa@io.gliwice.pl

Spektroskopia HR MAS NMR (High Resolution Magic Angle Spinning Nuclear Magnetic Resonance) pozwala na uzyskanie widm o wysokiej rozdzielczości z nienaruszonych wycinków tkankowych. Brak ingerencji w strukturę próbek, krótkie czasy akwizycji sygnału oraz możliwość automatyzacji analizy danych czynią tę technikę potencjalnie przydatną w śródoperacyjnej charakterystyce metabolicznej marginesów resekcyjnych.

Celem pracy było określenie czułości techniki HR MAS NMR w detekcji komórek nowotworowych w materiale tkankowym pobranym śródoperacyjnie w oszczędzających pierś zabiegach usunięcia nowotworu piersi. Analizie poddano 58 wycinków od 15 pacjentek. Wycinki, o różnej zawartości komórek nowotworowych, pochodziły z: guza nowotworowego, pogranicza guza i tkanki prawidłowej, marginesu odległego o 1 cm od guza oraz tkanki prawidłowej. Widma ¹H HR MAS NMR (1D NOESY, 1D CPMG, 2D J-resolved oraz 1D LEDBP) zarejestrowano na spektrometrze NMR 400 MHz.

W pierwszej fazie analizy danych skupiono się na wizualizacji rozrzutu profili metabolicznych guzów nowotworowych i tkanki prawidłowej w dwuwymiarowej przestrzeni cech spektralnych wyznaczonych przy pomocy metod redukcji wymiaru danych (PCA, PLS-DA, O-PLS-DA). Analiza PLS-DA widm CPMG (zakres widmowy: 3.0 - 4.7 ppm) wykazała wyższy poziom mleczanu, glicyny, tauryny, fosfocholiny oraz niższy poziom mio-inozytolu i scyllo-inozytolu w tkance nowotworowej w odniesieniu do tanki prawidłowej. Analiza widm zarejestrowanych z marginesu oraz pogranicza guza i tkanki prawidłowej odbywała się przez automatyczne rzutowanie ocenianego przypadku na wyżej wymienioną przestrzeń oraz ocenę jego odległości od środków ciężkości skupień opowiadających tkance nowotworowej i tkance prawidłowej. Wyniki uzyskane przy pomocy metody HR MAS NMR zostały zinterpretowane w oparciu o histopatologiczną ocenę składu tkankowego badanych wycinków.

Technika HR MAS NMR wspiera identyfikację histopatologiczną tkanek oraz pozwala uzyskać cenny wgląd w procesy metaboliczne w guzach piersi.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu STRATEGMED (STRATEGMED2/267398/4/NCBR/2015).

Analiza mutacji BRCA1/2 metodą sekwencjonowania nowej generacji

Anna Fiszer-Kierzkowska¹,
Wojciech Piękowski^{1,2}, Artur Zajkiewicz¹,
Magdalena Mazur¹, Lucyna Ponge¹

¹Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Laboratorium Diagnostyki Molekularnej,
²Zakład Patologii Nowotworów.
Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Obecność mutacji w genach BRCA1 i BRCA2 związana jest z silną predyspozycją do raka piersi i/lub jajnika. Charakterystyczną cechą polskiej populacji jest jej stosunkowo wysoka homogenność, dzięki czemu możliwe było wykrycie mutacji założycielskich badanych genów. Testy DNA oparte o ocenę mutacji powtarzalnych w populacji polskiej pozwalają na identyfikację większości rodzin z mutacjami germinacyjnymi.

W naszej pracy zbadaliśmy występowanie germinalnych mutacji patogennych w genach BRCA1/2 w grupie pacjentek z rodzinną historią raka piersi i/lub jajnika, u których wykluczono wcześniej obecność mutacji założycielskich. Wykonano sekwencjonowanie NGS wszystkich eksonów genów BRCA1 i BRCA2 u 115 pacjentek z zastosowaniem zestawu OncoPrintTM BRCA Research Assay przy użyciu sekwencjonatora Ion Torrent PGM.

W analizowanych genach wykryto 11 mutacji w genie BRCA1 i 14 mutacji w genie BRCA2, część z nich to mutacje nowe dla populacji polskiej. Wykryto warianty patogenne typu nonsense, missense, przesunięcia ramki odczytu oraz mutacje splicingowe. Spośród mutacji patogennych w genie BRCA2, dwie mutacje wykryto dwukrotnie. W genie BRCA2 wykryto także 3 warianty missense, które zakwalifikowano jako warianty o nieznanym znaczeniu (VUS - variant of unknown significance). Ponadto, dzięki zastosowaniu oprogramowania do analizy liczby kopii poszczególnych eksonów, u dwóch pacjentek wykryto delecje eksonów. Sumarycznie, mutacje patogenne w BRCA1/2 wykryto u 25 ze 115 pacjentek (22%).

Zastosowanie sekwencjonowania nowej generacji znacząco podwyższyło liczbę wykrytych mutacji patogennych w genach BRCA1/2

w badanej grupie pacjentów. Badanie pełnej sekwencji genów BRCA1 i BRCA2 metodą sekwencjonowania nowej generacji należy rozważyć u wszystkich pacjentek z silną rodzinną agregacją raka piersi/jajnika.

Porównanie guza pierwotnego i synchronicznego przerzutu w węzle chłonny u chorych na raka piersi z nadekspresją HER2

Adamczyk A¹, Niemiec J¹, Kruczak A¹, Ambicka A¹, Harazin-Lechowska A¹, Grela-Wojewoda A², Domagała-Haduch M², Majchrzyk K¹, Janecka-Widła A¹, Cichocka A¹, Ryś J¹

¹Zakład Patomorfologii Nowotworów,
²Klinika Nowotworów Układowych i Uogólnionych,
^bKlinika Onkologii; Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

Nadekspresja receptora naskórkowego czynnika wzrostu 2 (HER2) dotyczy około 20-25% naciekających raków piersi. W przypadku raka piersi diagnostyczne markery na podstawie, których podejmowana jest decyzja o wyborze metody leczenia oznaczane są rutynowo w materiale z guza pierwotnego. Dodatkowo ocena amplifikacji genu HER2 jest wykonywana tylko w przypadku niejednoznacznego barwienia immunohistochemicznego (HER2 2+). Celem badania była ocena ekspresji receptorów: estrogenowego (ER) i progesteronowego (PgR) oraz statusu genu HER2 w tkance z guza pierwotnego i synchronicznego przerzutu w węzłach chłonnych w grupie 107 chorych na raka piersi z nadekspresją HER2.

W badanej grupie wykazano, że ekspresja ER i PgR w większości przypadków pozostaje niezmienną (88,5% - ER, $p < 0.001$; 84,1% - PgR, $p < 0.001$). Pojawienie się ekspresji ER w węzle (przy jej braku w guzie) odnotowano w 6,7% przypadków, zaś utratę ekspresji ER w węzle (ER+ w guzie i ER- w węzle) w 4,8%. Podobne wartości uzyskano w przypadku PgR: odpowiednio 7,5% i 8,4%.

Zgodność pomiędzy statusem genu HER2 (obecność lub brak amplifikacji) odnotowano w ponad 93% przypadków. W przypadku oceny amplifikacji genu HER2 na podstawie stosunku HER2/CEP17 w jednym przypadku zaobserwowano pojawienie się amplifikacji w węzle (1,1%), natomiast w przypadku 5 guzów z amplifikacją,

nie potwierdzono jej w przerzucie do węzła chłonnego (5.6%). W przypadku oceny amplifikacji genu HER2 na podstawie ilości sygnałów pochodzących z sondy HER2, w dodatkowych 2 przypadkach stwierdzono amplifikację w węzle chłonnym przy jej braku w guzie.

Polisomia chromosomu 17 (średnia ilość sygnałów sondy centromerowej na komórkę ≥ 3) wydaje się być cechą mniej stałą niż amplifikacja genu HER2. Zgodność pomiędzy guzem pierwotnym i przerzutem odnotowano w 76,4% ($p < 0.001$). Jednocześnie wykazano, że średnia ilość sygnałów sondy HER2 na komórkę i średni stosunek HER2/CEP17 oznaczone w obu lokalizacjach istotnie ze sobą korelowały ($r = 0,776$, $p < 0.00$; $r = 0,805$, $p < 0.00$). Zaobserwowano, że w przypadku guza pierwotnego wartości stosunku HER2/CEP17 są statystycznie istotnie wyższe niż w przerzucie do węzła (6,62 vs. 6,10; $p = 0.033$).

Przedstawione wyżej wyniki wskazują na podobny obraz immunofenotypowy (ekspresja ER i PR) oraz status genu HER2 w tkance guza pierwotnego i synchronicznego przerzutu w węzłach chłonnych raka piersi z nadekspresją HER2. Jednakże, warto zaznaczyć, że w badanej grupie chorych w 3 przypadkach odnotowano amplifikację genu HER2 w zajęтым węzle chłonnym przy jej braku w guzie.

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie decyzji numer DEC-2013/09/B/NZ5/00764.

Potencjał proliferacyjny jako marker prognostyczny i predykcyjny dla raka piersi – kontrowersje w odniesieniu do oceny indeksu ki-67

Niemiec J., Kruczak A, Adamczyk A, Ambicka A, Harazin-Lechowska A, Ryś J

Zakład Patomorfologii Nowotworów; Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

Duża wartość indeksu Ki-67 jest jednym z czynników predykcyjnych dla uzupełniającej chemioterapii w hormonozależnym raku piersi bez nadekspresji HER2. Jednakże rekomendacje dotyczące oceny tego parametru nadal nie są ściśle sprecyzowane, ze względu na istnienie

metodycznych problemów, takich jak: (1) wyznaczenie wartości odcinającej dla rozróżnienia indeksu dużego i małego, (2) technika oceny indeksu w przypadku heterogennego rozmieszczenia obszarów o dużej i małej proliferacji, (3) obecność błonowo-cytoplazmatycznego barwienia w przypadku zastosowania przeciwciała MIB-1 (jest to najczęściej używane klon przeciwciała anti-Ki-67).

Celem pracy była ocena indeksu Ki-67 (odsetek komórek z jądrowym barwieniem) (oraz wzoru ekspresji białka Ki-67) przy użyciu dwóch klonów przeciwciał anti-Ki-67: MIB-1 (IWMIB1) oraz BGX-Ki-67 (IWBGX); zarówno w guzie pierwotnym (T), jak i w synchronicznym przerzucie do węzła chłonnego (LNM) u chorych na przewodowego naciekającego raka piersi.

W przypadku klonu MIB-1, błonowo-cytoplazmatyczne barwienie zaobserwowano w 23/145 guzów i w 19/144 LNM. W przeciwieństwie do tego klon BGX-Ki-67 wykazywał jedynie barwienie jądrowe. W przypadku obecności barwienia błonowo-cytoplazmatycznego przeciwciałem MIB-1, IWBGX był istotnie wyższy niż IWMIB1 ($p < 0,001$). Ponadto wykazano istotną statystycznie negatywną korelację pomiędzy IWMIB a rozległością pól z obecnym barwieniem błonowo-cytoplazmatycznym ($p < 0,001$). Dodatkowo błonowo-cytoplazmatyczne barwienie MIB-1 było obserwowane istotnie częściej w rakach bez ekspresji receptora estrogenowego i progesteronowego ($p < 0,001$).

W przypadku reakcji o charakterze błonowo-cytoplazmatycznym w barwieniu przy użyciu MIB-1, wartość IWMIB ocenionego jedynie na podstawie barwienia jądrowego jest zaniżona, co skutkuje obniżeniem jego wartości predykcyjnej. Z powyższego względu, słusznym wydaje się konieczność oceny prognostycznej/predykcyjnej wartości IWBGX w dużych grupach chorych.

Projekt został sfinansowany ze środków Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego, przyznanych na podstawie umowy numer NN 401 096 137 oraz ze środków Narodowego Centrum Nauki przyznanych na podstawie umowy numer DEC-2013/09/B/NZ5/00764.

Ocena czynników prognostycznych i rokowniczych u młodych chorych na raka piersi na podstawie wyników

Jagielska Beata¹, Sarnowska Elzbieta²,
Konrad Tałasiewicz¹, Andrzej Czubek³,
Maciej Krzakowski⁴

¹Klinika Diagnostyki Onkologicznej, Kardiologii i Medycyny Paliatywnej Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej w Warszawie

²Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

³Izba Gospodarcza Medycyna Polska w Warszawie

⁴Klinika Nowotworów Płuca i Klatki Piersiowej Centrum Onkologii - Instytutu im. M. Skłodowskiej-Curie w Warszawie.

Uzupełniające leczenie trastuzumabem jest możliwe w ramach programu „Leczenie Raka Piersi”, który wprowadzono w 2008 roku. Do leczenia kwalifikowane są chore z wyjściowym stopniem zaawansowania (I - T1c N0, II - T0-2 N0-1 lub IIIA - T3 N1) lub po zastosowaniu wstępnej chemioterapii (T0-3 N2). Celem badania była ocena czynników prognostycznych i rokowniczych u młodych chorych na raka piersi na podstawie wyników leczenia trastuzumabem chorych na raka piersi, które zostały zakwalifikowane do udziału w programie lekowym w latach 2008-2015. Najważniejszym punktem końcowym analizy była ocena wpływu na czas przeżycia całkowitego (OS) i wolnego od choroby (DFS) wobec czynników demograficznych i klinicznych.

W latach 2008-2015 do programu Leczenie Raka Piersi zakwalifikowano łącznie 495 chorych poniżej 41 roku życia. Mediana obserwacji wynosiła 42,24 miesiąca (92,9-2,1). U chorych poddanych ostatecznej analizie stwierdzono 19 (3,84%) zgonów oraz 161 (32,53 %) nawroty nowotworu. Wykazano, że czynnikami istotnymi statystycznie wpływającymi na OS były: przeżyta chemioterapia, wielkość guza, status receptorów estrogenowych i progesteronowych, liczba podań trastuzumabu. W przypadku DFS istotność statystyczną wykazano jedynie dla liczby podań leku.

Wyniki przeprowadzonej potwierdzają właściwą alokację środków w aspekcie finansowania świadczeń, co przekłada się na wysoką jakość postępowania u chorych na raka piersi w Polsce porównywalną do wyników uzyskiwanych w ośrodkach europejskich.

Odległe wyniki uzupełniającej radioterapii u chorych na raka piersi leczonych w Centrum Onkologii w Warszawie - 30-letnie doświadczenia własne

J. Gałęcki

Zakład Radioterapii

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa Ursynów

W ostatnim czasie pomimo ogromnego postępu w diagnostyce i leczeniu raka piersi i spektakularnej poprawy przeżyć, nadal około 20% umiera z powodu raka piersi. W obecnej pracy przedstawiono 10-letnie wyniki leczenia chorych na raka piersi napromienianych po operacji w Centrum Onkologii w Warszawie w poszczególnych okresach ostatniego trzydziestolecia – tabela 1.

Tabela 1. 10-cio letnie wyniki leczenia chorych

Grupa	I	II	III	IV
Leczenie	MRM + RT	MRM + RT	BCS+ RT	BCS+ RT
W latach	1984-94	1995-99	1995-2002	2003-2006
Stopień	I-III ⁰	I-III ⁰	I-II ⁰	I-II ⁰
L. chorych	470	954	552	615
Przeżycie	DFS OS	DFS OS	DFS OS	DFS OS
10-letnie %	32 40	51 58	85 89	89 93

MRM – modified radical mastectomy;

RT – radiotherapy; BCS – breast conserving surgery; DFS- disease free survival; OS-overall survival

W latach 1984-94 po mastektomii radykalnej napromieniano chorych na obszar ściany klatki piersiowej wiązką elektronów, a węzły zamostkowe wiązką kobaltu 60, co wiązało się ze znacznym ryzykiem kardiotoxyczności. Takiego leczenia nie stosuje się od 1995 roku. Rutynowym leczeniem uzupełniającym była hormonoterapia Tamoxifenem i chemioterapia wg programu CMF. W latach 1995-99 rozpoczęto podawanie antracyklin i taksanów, które rutynowo do leczenia uzupełniającego wprowadzono od 2003 roku. Od tego też czasu zwiększała się liczba chorych po operacji oszczędzającej, w której limfadenektomię pachową zastąpiło procedurą węzła wartowniczego, co zmniejszało ryzyko obrzęku kończyny górnej. W 1999 roku skrócono w Centrum Onkologii schemat radioterapii pooperacyjnej na

czterotygodniowy, który był porównywalny co do skuteczności leczenia i efektu kosmetycznego z klasycznym 5 tygodniowym. W latach 2003-2006 rozpoczęto, początkowo sporadyczne, leczenie chorych Herceptyną. Radioterapia pooperacyjna od 1995 roku rutynowo, planowana była w systemie 3D w oparciu o tomografię komputerową i symulator. Powikłania późne po radioterapii pooperacyjnej występują w okresie od kilku miesięcy do kilkudziesięciu lat od jej zakończenia. Z odległych poważnych powikłań związanych z leczeniem u chorych po mastektomii rozpoznano: obrzęk kończyny górnej u 13,6% i porażenie splotu barkowego u 0,9% chorych. U jednej chorej po 19 latach od napromieniania rozpoznano, w obszarze spadku dawki, płaskonabłonkowego raka płuca. Z poważnych odległych powikłań obserwowanych u chorych napromienianych po operacji oszczędzającej rozpoznano: u dwóch chorych zespół BOOP (Bronchiolitis Obliterans Organizing Pneumonia), u dwóch chorych angiosarcoma w napromienianej piersi, a u jednej chorej rozpoznano zespół RIM (Radiation Induced Morphea). Wydaje się, że odsetek powikłań związanych z radioterapią może być większy, a ich odsetek niedoszacowany. Obecnie w Centrum Onkologii stosuje się nowoczesne komputerowe metody planowania i realizacji radioterapii pooperacyjnej. Po mastektomii napromienia się chorych metodą IMRT lub VMAT, a po operacji oszczędzającej techniką 3D CRT- SIB z procedurą DIBH zmniejszającą ryzyko kardiotoxyczności. Nie zwalnia to jednak radioterapeutów od badań kontrolnych chorych po napromienianiu, w których należy zwracać uwagę nie tylko na diagnostykę choroby nowotworowej, ale i na możliwość odległych powikłań po radioterapii.

Wpływ adjuwantowego leczenia (chemioterapia, terapia ukierunkowana molekularnie i radioterapia) na rozwój subklinicznych zmian w parametrach oceny funkcji serca w badaniu echokardiograficznym, u chorych na niezaawansowanego raka piersi.

Grela-Wojewoda A^a, Sas-Korczyńska B^b,
Domagała-Haduch M^a, Adamczyk A^c,
Ambicka A^c, Szadurska A^d, Niemiec J^c

^aKlinika Nowotworów Układowych i Uogólnionych,

^bKlinika Onkologii,

^cZakład Patomorfologii Nowotworów,

^dZakład Radioterapii;

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie,
Oddział w Krakowie

Schemat leczenia, który stosowany jest u chorych na raka piersi z nadekspresją HER2 (chemioterapia, hormonoterapia oraz terapia anty-HER2 tj. trastuzumab oraz radioterapia) istotnie wpływa na poprawę przeżycia, jednakże wiąże się z ryzykiem rozwoju późnych powikłań, z których na szczególną uwagę zasługują powikłania kardiologiczne. O wadze problemu kardiotoxyczności związanej z leczeniem u chorych na raka piersi świadczy fakt, że zgoni z powodu chorób serca stanowią w tej grupie około 90% zgonów niezwiązanych z rakiem piersi. Fakty powyższe, skłoniły nas to do oceny wczesnych, subklinicznych objawów kardiologicznych, które mogą wskazywać na rozwój powikłań kardiologicznych.

Do badania włączono 231 chorych na raka piersi ze stwierdzoną obecnością nadekspresji HER2, które otrzymały adjuwantową chemioterapię (CHT) i trastuzumab (T) oraz radioterapię (RT) i hormonoterapię (HT) (zgodnie z rekomendacjami St Gallen). Badania echokardiologiczne, które wykonywane były przed, w trakcie (4 badania) i po zakończeniu leczenia trastuzumabem posłużyły do oceny stopnia niedomykalności zastawek, wielkości komór i przedsionków serca oraz frakcji wyrzutowej lewej komory (LVEF).

U 83 chorych przed leczeniem trastuzumabem stwierdzano niedomykalność zastawek (o różnym stopniu nasilenia) zaś u 186 chorych zmiany takie nie były obecne. U wszystkich chorych, u których niedomykalności zastawek były stwierdzone przed leczeniem trastuzumabem (n=83) stwierdzano je także w trakcie/po leczeniu trastuzumabem. Z kolei u 122 chorych

niedomykalność zastawek pojawiała się w trakcie/po leczeniu ($p < 0,001$). Stopień niedomykalności zastawki mitralnej i aortalnej w trakcie leczenia trastuzumabem był istotnie większy u chorych, u których niedomykalności te stwierdzano także przed leczeniem ($p < 0,001$). W całej grupie chorych zaobserwowano zmniejszenie LVEF z 68,0% przed leczeniem trastuzumabem do 66,1% po leczeniu. Dalsza analiza (ANOVA z powtórzonymi pomiarami) wykazała jednak, że zmniejszenie tej wartości w toku leczenia było istotne statystycznie ($p < 0,001$) jedynie w podgrupie chorych otrzymujących RT i u chorych z niedomykalnością zastawki mitralnej przed leczeniem trastuzumabem. Wykazano istotną statystycznie pozytywną korelację pomiędzy dawką RT a wielkością komory lewej i przedsionka lewego ($p < 0,05$, korelacja Spearmana) oraz ujemną korelację pomiędzy dawką RT a wielkością komory prawej. Ponadto powiększenie komory lewej i lewego przedsionka, a także przegrody międzykomorowej było dodatnio skorelowane ze stopniem niedomykalności zastawki mitralnej, aortalnej i trójdzielnej ($p < 0,05$, korelacja Spearmana).

(1) Podczas terapii trastuzumabem wystąpienie niedomykalności zastawek jest zjawiskiem częstym. (2) Zastosowanie radioterapii wpływa na istotne (lecz bez klinicznej manifestacji) na zmniejszenie LVEF podczas leczenia trastuzumabem oraz skutkuje bezobjawowym powiększeniem struktur w obrębie lewej części serca (otrzymujących większą dawkę RT). Te subkliniczne zmiany obserwowane w badaniu echokardiograficznym mogą być skutkiem wczesnej fazy odpowiedzi struktur serca na działanie promieniowania jonizującego.

Porównanie charakterystyki ognisk wzmocnienia w mammografii spektralnej z cechami klinicznymi, histologicznymi i biologicznymi

Luczynska E^a, Niemiec J^b, Rudnicki W^a,
Marcyniuk P^c, Adamczyk A^b, Ambicka A^b,
Sas-Korczynska B^c

^aZakład Radiologii i Diagnostyki Obrazowej,

^bZakład Patomorfologii Nowotworów,

^cKlinika Onkologii,

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie,
Oddział w Krakowie

Wstęp: Mammografia spektralna (contrast-enhanced spectral mammography: CESM) to rodzaj mammografii, w której podawany jest kontrast jodowy a zmiana jest obrazowana w momencie gdy wydostaje się on z naczyń krwionośnych i jest odprowadzany z tkanki drogą naczyń krwionośnych i limfatycznych. Celem niniejszej pracy była ocena zależności pomiędzy wynikami CESM a: (i) gęstością naczyń krwionośnych i limfatycznych, (ii) cechami klinicznymi i histologicznymi badanych zmian oraz (iii) przeżyciem chorych (tę ostatnią analizę przeprowadzono w grupie chorych na raka piersi).

Materiał i metody: Do badania włączono 174 chore, u których w celach diagnostycznych wykonano mammografię spektralną. Wzmocnienie jakościowe w mammografii spektralnej podzielono na silne, średnie i słabe. Jednorodność wzmocnienia oceniono jako homogenną i heterogenną. Wszystkie zmiany poddano weryfikacji histopatologicznej. Gęstość naczyń krwionośnych (BVD) i odsetek pól widzenia z przynajmniej jednym naczyniem limfatycznym (DPV) oceniono na skrawkach parafinowych z materiału utrwalonego w formalinie, przy użyciu immunohistochemii.

Wyniki: W naszym badaniu czułość mammografii spektralnej (odsetek wyników prawdziwie dodatnich) wynosiła 100%. Ponadto wykazano, że zmiany najsilniej wzmacniające w CESM cechowały się dużą liczbą naczyń krwionośnych i małą liczbą naczyń limfatycznych: dodatnia korelacja pomiędzy stopniem wzmocnienia w CESM a BVD ($p = 0,007$, $r = 0,357$) oraz ujemna korelacja pomiędzy stopniem wzmocnienia w CESM a DPV ($p = 0,003$, $r = -0,390$). Ponadto, w grupie 82 chorych na raka piersi wykazano, że silne wzmocnienie było

obserwowane częściej w guzach dużych ($pT > 1$) i u chorych z przerzutami w regionalnych węzłach chłonnych ($p = 0,002$), zaś współistnienie silnego i niejednorodnego wzmocnienia w CESM było czynnikiem wskazującym na krótsze przeżycie bezobjawowe chorych ($p = 0,005$).
Konkluzja: Mammografia spektralna to metoda o dużej czułości diagnostycznej, która pozwala nie tylko na wykrycie nowotworu i na ocenę unaczynienia w badanych zmianach, lecz także dodatkowo może dostarczyć informacji o charakterze prognostycznym u chorych na raka piersi.

SESJA II

EBV zależny rak żołądka w materiale COI. Obraz kliniczny i morfologiczny jako wstęp do różnicowania molekularnego

Andrzej Mróz, Alicja Chrzan

Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Centrum Onkologii-Instytut w Warszawie

Rak żołądka, mimo tendencji spadkowej w bezwzględnych liczbach zachorowalności, stanowi nadal poważny problem diagnostyczny i kliniczny. Według klasyfikacji molekularnej około 10% przypadków raka żołądka jest związanych z zakażeniem/reaktywacją wirusa EBV w tkance, co ma powodować EBV zależny rozrost. Histologicznie raki te wykazują zazwyczaj niski stopień dojrzałości, a rozrostowi towarzyszy bogaty naciek zapalny z komórek jednoczynnych (lymphoepithelioma like carcinoma - LELC). Trwają prace nad molekularną charakterystyką tych nowotworów, co daje nadzieję na opracowanie spersonalizowanego leczenia pacjentów w niedalekiej przyszłości.

W materiale z COI oznaczono metodą EBER CISH obecność wirusa EBV oraz dokonano analizy obrazu klinicznego i morfologicznego w 148 przypadkach raka żołądka. W grupie ocenianej znaleziono 13 przypadków EBV pozytywnych (8,8%) z reakcją rozlaną w tkance nowotworowej. Wszystkie raki EBV dodatnie znajdowały się w proksymalnej części żołądka oraz były HER2 – negatywne, dominował typ rozlany (69,2%). Mężczyźni stanowili aż 84,6% (11 przypadków) w grupie EBV dodatniej. Stopień zaawansowania był następujący: pT1 (1 przypadek; 7,7%), pT2 (3 przypadki; 23,1%), pT3 (5 przypadków; 12

38,4%), pT4 (4 przypadki; 30,8%) oraz pN0 (4 przypadki; 30,8%), pN1 (6 przypadków, 46,1%), pN2 (2 przypadki; 15,4%), pN3 (1 przypadek; 7,7%). W morfologii zwraca uwagę obfity naciek zapalny między ogniskami nacieku raka w 11 przypadkach (rak żołądka typu LELC), za to 2 przypadki odpowiadały konwencjonalnym typom raka żołądka (rak żołądka typu NON-LELC). Nie wykazano jak dotąd istotnej różnicy w stopniu zaawansowania patologicznego pomiędzy grupami.

Zaplanowano ocenę ekspresji podjednostek kompleksów zaangażowanych w regulację epigenetyczną SWI/SNF oraz PRC1 i PRC2 (badania immunohistochemiczne na wybranych próbkach raka żołądka EBV(+) i EBV(-) z przeciwciałami do podjednostek kompleksu SWI/SNF i PRC2).

Badanie współfinansowane przez firmę ROCHE.

Znaczenie biologii molekularnej w diagnostyce chłoniaków.

Monika Prochorec-Sobieszek

Department of Pathology and Laboratory Diagnostics, Maria Skłodowska-Curie Institute-Oncology Center, Warsaw, Poland.

Molecular techniques, once considered an ancillary tool in the menu of clinical laboratory methods, are now a mainstream technology in the evaluation of lymphoma and other diseases. The molecular characterization of lymphomas in particular has always been at the vanguard of this diagnostic expansion and the impressive volume of data emerging from genomics, high-throughput sequencing, gene expression analysis and other nascent technologies is generating unprecedented additional opportunities for defining the molecular lesions in lymphomas and leukemias. Many of these fundamental discoveries are rapidly being developed into meaningful laboratory assays. However, while molecular techniques provide increased sensitivity and specificity in detecting genetic alterations and have improved diagnostic accuracy and classification, the decision to perform and more importantly the ability to interpret these assays are frequently contextual. In many instances, molecular genetic studies provide information that cannot be obtained from

conventional/traditional pathological evaluation, even including good quality cytogenetic studies (cryptic abnormalities). However, the power of these assays notwithstanding, it is important throughout to appreciate that in many situations the data gleaned there from should not be interpreted in isolation; rather, the results of these assays are to be eruditely integrated into those obtained from morphologic, histologic, immunophenotypic and conventional karyotypic studies, amongst others, as well as from the clinical scenario. Through the integration of these data, the diagnosis and classification of lymphoid neoplasms has become much more rationally and objectively based, ultimately leading to more appropriate, biologically-based diagnoses, and thus more pertinent, directed therapy. Additionally, many molecular abnormalities have, not surprisingly, immunophenotypic correlates, so that we can sometimes rely upon "conventional" techniques, such as immunohistochemistry and flow cytometry, to answer "molecular" questions.

Mechanizmy molekularne interakcji regulatorowych limfocytów T z komórkami chłoniaków wywodzących się z limfocytów B

L.A. Buksa, E. Grabowska, J. Miłoszewska, A. Świć, E. Paszkiewicz-Kozik, J. Walewski, S. Markowicz

Zakład Immunologii, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie
Klinika Nowotworów Układu Chłonnego, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

W większości badań obserwowano, że u chorych na chłoniaki z obwodowych limfocytów B zwiększona liczebność regulatorowych limfocytów T (Treg) wiąże się z lepszym rokowaniem. Upřednio wykazaliśmy, że limfocyty Treg powodują supresję proliferacji komórek chłoniaków wywodzących się z limfocytów B, a jednocześnie komórki chłoniaka wspomagają proliferację limfocytów Treg w obecności IL-2. W celu poznania mechanizmu interakcji Treg z komórkami chłoniaka zbadano metodą Western blot, które z kluczowych ścieżek sygnalizacyjnych są aktywowane podczas interakcji limfocytów Treg z komórkami chłoniaka w hodowlach

mieszanych. Badano te ścieżki, które są indukowane

w limfocytach T po związaniu receptora TCR (sygnał 1 rzędu dla limfocytów T), CD28 i CD4 (sygnał 2 rzędu) i IL-2R (sygnał 3 rzędu). Limfocyty Treg CD4⁺CD25⁺ i Treg CD4⁺CD25⁺CD127^{lo} wyodrębniano z krwi obwodowej zdrowych dawców i namnażano poliklonalnie w obecności IL-2 i rapamycyny. Badano poziom fosforylacji ZAP70, PKCθ, Lck, c-Jun, NFκB i STAT5 w hodowlach mieszanych Treg z komórkami chłoniaka MINO lub U-2940 oraz w odrębnie hodowanych populacjach. Nie wykryto fosforylacji ZAP70 w trakcie pierwszej doby interakcji Treg z chłoniakiem. Wzrost poziomu fosforylowanego c-Jun następował po 15 min. kokultury Treg z chłoniakiem i utrzymywał się przez 12 godz. Wzrost poziomu fosforylowanego PKCθ i Lck następował pomiędzy 2 i 4 godz., a spadek począwszy od 6 godziny kokultury. Wzrost poziomu fosforylowanego STAT5 obserwowano w hodowlach mieszanych już po 15 min. kokultury Treg i komórek chłoniaka, a najsilniejszy sygnał występował po 12 godz. Z obserwacji, że interakcja Treg z komórkami chłoniaka wiąże się aktywacją komórek przejawiającą się wywołaniem lub wzmocnieniem fosforylacji PKCθ, Lck, c-Jun i STAT5, ale nie ZAP70 wynika, że aktywacja namnożonych poliklonalnie limfocytów Treg przez komórki chłoniaka w hodowlach mieszanych opiera się na przekazaniu sygnałów 2 i 3 rzędu limfocytom Treg przez chłoniaka, ale nie na swoistym rozpoznaniu alloantygenów chłoniaka poprzez TCR limfocytów Treg. To oznacza, że limfocyty Treg, których funkcja supresyjna wobec chłoniaka została wywołana w trakcie stymulacji poliklonalnej bez obecności komórek chłoniaka, są później w hodowlach mieszanych restymulowane nieswoiście przez komórki chłoniaka.

Badania finansowane z grantu wewnętrznego nr rejestracyjny GW07SM

Czy duplikacja i delecja 11q jest zmianą specyficzną jedynie dla chłoniaka Burkitt-like z aberracjami 11q?

Beata Grygalewicz

Samodzielna Pracownia Cytogenetyki,
Centrum Onkologii-Instytut, Warszawa

Ostatnia korekta klasyfikacji WHO nowotworów limfoidalnych z 2016 wprowadziła nową, tymczasową podgrupę B-komórkowych chłoniaków agresywnych: „Chłoniak Burkitt-like z aberracjami 11q”, w oparciu o kilka źródłowych publikacji (Pienkowska-Grela B. et al. 2011, Salaverria I. et al. 2014, Ferreira J.F. et al. 2015). Według definicji grupę tę charakteryzuje morfologia komórek, immunofenotyp oraz profil ekspresji genów zbliżone do chłoniaka Burkitta, brak rearanżacji MYC, obecność specyficznej zmiany chromosomowej w postaci jednoczesnej duplikacji i delecji 11q, kariotypy bardziej kompleksowe niż w chłoniaku Burkitta, częsta prezentacja węzłowa oraz przebieg kliniczny podobny do chłoniaka Burkitta. Ten typ nowotworu występuje bardzo rzadko, jak dotąd zostało opisanych kilkanaście przypadków chłoniaków o takiej charakterystyce. Cytogenetycznie aberracja 11q opisana jest jako duplikacja z inwersją zduplikowanego regionu, której towarzyszy terminalna delecja. Ostatnie nasze badania (Grygalewicz et al. 2018), przeprowadzone metodami mikromacierzy SNP/CGH, wspierane technikami klasycznej cytogenetyki oraz FISH wykazały w ponad dziesięciu przypadkach chłoniaków z aberracjami 11q dwa typy duplikacji: większą (>50 Mpz) i mniejszą (<20 Mpz). W drugim typie duplikacji występowała wewnętrzna multiplikacja regionu 11q23.2 zawierającego gen KMT2A oraz duża średnica guza powyżej 20cm. Punkty pęknięć duplikacji i delecji nie były stałe, wykluczając aktywację określonego onkogenu lub powstanie genu fuzyjnego. W kilku przypadkach aberracjom 11q towarzyszyła rearanżacja genu MYC, co dowodzi, iż zmiana ta nie ogranicza się jedynie do podtypu „Chłoniak Burkitt-like z aberracjami 11q”, lecz może występować w MYC-pozytywnych chłoniakach Burkitta oraz w MYC-pozytywnych chłoniakach o wysokiej złośliwości, stanowiąc pierwszy lub drugi punkt krytycznego zaburzenia (hit) w onkogenezie agresywnych chłoniaków B-komórkowych.

Promieniowanie jonizujące i klasyczna odpowiedź zapalna mają podobny wpływ na ekspresję genów zależnych od NF-κB.

Patryk Janus¹, Katarzyna Szoltysek¹, Gracjana Zając¹, Anna Walaszczyk¹, Wiesława Widlak¹, Tomasz Stokowy², Bartosz Wojtaś³, Bartłomiej Gielniewski³, Simon Cockell⁴, Neil D. Perkins⁴, Marek Kimmel⁵, Piotr Widlak¹

¹Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej Curie, Oddział w Gliwicach, Polska

²Uniwersytet Bergen, Bergen, Norwegia

³Instytut Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego PAN, Warszawa, Polska

⁴Instytut Badań Komórkowych i Molekularnych, Uniwersytet Newcastle, Newcastle, Wielka Brytania

⁵Uniwersytet Rice, Houston, USA

Rodzina czynników transkrypcyjnych NF-κB aktywowana jest poprzez różne mechanizmy molekularne w odpowiedzi na wiele rodzajów bodźców. Białka te zaangażowane są w regulację różnorodnych zestawów genów docelowych, związanych z komórkową odpowiedzią na stres (w tym genów istotnych dla odpowiedzi na leczenie przeciwnowotworowe). W naszych badaniach chcieliśmy porównać podzbiory genów zależnych od NF-κB indukowanych w komórkach stymulowanych cytokiną prozapalną TNFα (ścieżka "klasyczna") oraz w komórkach uszkodzonych przez wysoką dawkę promieniowania jonizującego (ścieżka "atypowa"). Jako model badawczy wykorzystaliśmy linię komórkową kostniako-mięsaka U2-OS. Geny zależne od NF-κB zidentyfikowano przy użyciu globalnego profilowania ekspresji genów (RNA-Seq), również w komórkach z obniżoną ekspresją *RELA* (*knockdown* z użyciem siRNA). Wiedzę o ekspresji genów zestawiono z wynikami globalnego profilowania miejsc wiązania RelA (tj. podjednostki p65 kompleksu NF-κB) w regionach regulatorowych (analiza ChIP-Seq). Wyniki uzyskane metodami wysokoprzepustowymi były weryfikowane ilościowym PCR. Zidentyfikowano 37 zależnych od NF-κB genów kodujących białka: we wszystkich przypadkach RelA związała się w ich regionach regulatorowych, co skutkowało wzrostem ekspresji tych genów. W komórkach z wyciszonym *RELA*, indukcja tych genów była hamowana, co wskazywało na tryb regulacji pozytywnej. Zestaw tych genów zawierał geny nieopisane dotychczas jako zależne od NF-κB. Dodatkowo,

w trakcie pracy zebrano dowody na możliwą negatywną regulację genu ATF3 przez NF-κB. Zaobserwowano, że kinetyka aktywacji NF-κB w komórkach eksponowanych na promieniowanie była wolniejsza niż w komórkach stymulowanych przez cytokiny, jednak podzbiory genów zależnych od NF-κB, a indukowanych pozytywnie przez oba typy bodźców były zasadniczo takie same. Należy zatem oczekiwać, że zarówno w komórkach eksponowanych na cytokiny prozapalne, jak i w tych narażonych na uszkodzenia popromienne, następuje aktywacja podobnych procesów regulowanych przez NF-κB.

Regulacja szlaku TREM2-TYROBP - czy istnieje związek białka p53 z chorobą Alzheimera?

Marek Rusin

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach.

Gen TREM2 koduje białko zakotwiczone w błonie komórkowej. Występuje ono na komórkach mikrogleju, w osteoklastach i makrofagach i działa na komórki poprzez dwa mechanizmy. Po pierwsze, po związaniu liganda wiąże się z białkiem TYROBP i rozpoczyna kaskadę sygnalizacyjną, która moduluje aktywność fagocytarną komórek oraz wydzielanie cytokin prozapalnych. Po drugie zewnątrzkomórkowa domena TREM2 może być odcięta od reszty białka i działać parakrynnie. Zainteresowanie genem TREM2 wzrosło odkąd okazało się, że jego genetyczny wariant znacząco zwiększa ryzyko choroby Alzheimera. Homozygotyczne mutacje genu TYROBP są odpowiedzialne za występowanie innych chorób neurodegeneracyjnych. Korzystając z wyników sekwencjonowania transkryptomu komórek A549 odkryliśmy, że ekspresja genów TREM2 i TYROBP bardzo silnie wzrasta na skutek działania aktywności D i nutliny-3a - dwóch substancji, które powodują synergistyczną aktywację p53. Wyniki zostały potwierdzone przy pomocy reakcji RT-PCR w czasie rzeczywistym. Analiza in silico wykazała, że promotor genu TREM2 zawiera potencjalne miejsce wiązania białka p53. Eksperymenty wykorzystujące testy lucyferazowe, mutagenezę sterowaną oraz PCR na matrycy

immunoprecypitowanej chromatyny potwierdziły, że TREM2 zawiera sekwencję odpowiedzialną za aktywujący wpływ p53. Ponadto, ekspresja TREM2 na poziomie białka i mRNA jest osłabiona w komórkach z wyciszonym TP53. TREM2 jest więc genem regulowanym bezpośrednio przez p53 o wysokim stopniu aktywacji. Poszukując enzymu odpowiedzialnego za aktywację p53 prowadzącą do stymulacji TREM2 i TYROBP wytypowaliśmy kinazę GSK-3. Wyniki uzyskane z zastosowaniem swoistego inhibitora, substancji CHIR-98014, potwierdziły nasze przypuszczenie. Ponadto zaobserwowaliśmy, że w komórkach U-2 OS nutlina-3a działając samodzielnie powoduje akumulację białka TREM2, co jest dodatkowym potwierdzeniem naszej hipotezy, ponieważ nutlina-3a, blokując białko MDM2, jest swoistym aktywatorem p53. CHIR-98014 blokuje akumulację TREM2 indukowaną przez samą nutlinę-3a. Fizjologiczne znaczenie aktywacji TREM2 przez p53 w etiologii choroby Alzheimera pozostaje do wyjaśnienia.

Kiedy należy wykorzystać CT/PET⁶⁸Ga-DOTATATE dla konturowania GTV oponiaków w planowaniu Stereotaktycznej Hipofrakcjonowanej Radiochirurgii z użyciem CyberKnife?

M. Stąpór-Fudzińska, B. Maciejewski,
L. Miszczyk

Cel pracy: Wykorzystanie CT/NMR vs. CT/PET⁶⁸Ga-DOTATATE w celu konturowania obszaru GTV oponiaków jest poddawane często krytycznej i niejednoznacznej dyskusji. Ponieważ jest to kluczowy, wstępny etap planowania Stereotaktycznej Hipofrakcjonowanej Radiochirurgii Cyber Knife, celem badania jest oznaczenie i porównanie precyzji, konturowania i czułości obu metod obrazowania w konturowaniu GTV oponiaków.

Materiał i Metodyka: Przedmiotem badania jest 70 oponiaków (u 55 chorych), których granice GTV w obrazowaniu CT/NMR i PET⁶⁸Ga konturowało niezależnie 4 obserwatorów (2 lekarzy i 2 fizyków). Konformalność (CI) i precyzję konturowania GTV objętości $\leq 10\text{cm}^3$ i $>10\text{cm}^3$ analizowano wykorzystując metodę oznaczania CI i VOR (wskaźnik pokrycia objętości GTV). W analizie uwzględniono ostrość i rozmycie

granic GTV oraz oznaczono ryzyko błędu geograficznego dla $GTV > 25\text{cm}^3$ (pominięcie części GTV poza granicami wyznaczonych konturów). Całość obu metod obrazowania oznaczono wg metody Venn'a i Kapp'a.

Wyniki: Dla $GTV < 5\text{cm}^3$ konformalność konturów wyznaczonych przez 4 obserwatorów CT/NMR i CT/PET⁶⁸Ga była zbliżona (62% vs. 53%). Dla $GTV > 10\text{cm}^3$ wskaźnik konformalności był 3-krotnie wyższy dla CT/PET⁶⁸Ga niż CT/NMR. Wskaźnik czułości CT/NMR i PET⁶⁸Ga dla konturowania $GTV < 10\text{cm}^3$ był porównywalnie wysoki (TP=0.85). natomiast dla $GTV > 10\text{cm}^3$ wskaźnik był fałszywie pozytywny dla CT/NMR i wyniósł FP=0.41, dyskwalifikujący to obrazowanie w celu konturowania oponiaków o zwiększonej objętości. Rozmyte granice GTV występowały 6-krotnie częściej w obrazowaniu CT/NMR ($GTV > 10\text{cm}^3$) niż w CT/PET⁶⁸Ga (35% vs. 6%).

Wnioski: Wykorzystanie CT/NMR jako pierwotnej metody dla konturowania GTV oponiaków jest uzasadnione i precyzyjne, jeżeli GTV nie przekracza 10cm^3 , ale zbyt wysoki FP dla $GTV > 10\text{cm}^3$ dyskwalifikuje użycie tej metody i CT/PET⁶⁸Ga jest w tych przypadkach rekomendowane jako pierwotna, a nawet wyłączna, czuła metoda zapewniająca wysoką precyzję, konformalność konturowania GTV oponiaków.

Pozakomórkowy, krążący DNA HPV16 jako nowe narzędzie oceny skuteczności leczenia chorych na raka gardła środkowego zależnego od HPV.

Tomasz Rutkowski, Agnieszka Mazurek

I Klinika Radioterapii i Chemioterapii, Centrum Badań Translacyjnych
Centrum Onkologii-Instytut im Marii Skłodowskiej-Curie
oddział w Gliwicach

Wstęp: Wirus brodawczaka Ludzkiego (Human Papilloma Virus HR 16-HPV) staje się dominującą przyczyną raka gardła środkowego (RGŚ) na świecie. Celem pracy jest zbadanie czy ocena pozakomórkowego, krążącego DNA HPV w płynnej biopsji może być markerem skuteczności leczenia chorych na HPV zależnego (HPV+) RGŚ.

Materiał Metody: DNA HPV oznaczono u 238 chorych na RGŚ przed radioterapią lub radiochemioterapią (RT, CHRT) prowadzoną w latach

2012-2016 w I Klinice Radioterapii i Chemioterapii COI w Gliwicach. U 94 (39%) chorych stwierdzono obecność HPV DNA. W tej grupie dokonywano następnie oceny HPV DNA po zakończeniu leczenia i podczas wizyt kontrolnych.

Wyniki: U wszystkich wyleczonych HPV DNA był niewykrywalny po zakończeniu RT/CHRT. Ponowne pojawienie się HPV DNA (wznowa HPV, HPVrec) obserwowano u 9 (9,5%) chorych. W badaniu PET potwierdzono wznowę miejscową raka u 1 chorego, wznowę węzłową raka u 4 chorych oraz przerzuty odległe u 4 chorych. U wszystkich tych chorych HPVrec poprzedziła kliniczne i radiologiczne (MR,TK) ujawnienie się wznowy raka, która została potwierdzona histopatologicznie u 8 (89%) chorych. W pozostałej grupie pacjentów nie obserwowano niepowodzenia leczenia.

Wnioski: Wstępne wyniki wskazują, że u chorych na RGS HPV+ ocena HPV DNA po RT lub CHRT może być wczesnym markerem niepowodzenia leczenia. Dalsze badania wskażą czy dzięki wykryciu HPVrec możliwe będzie bardziej skuteczne leczenie ratujące.

Wirus brodawczaka ludzkiego jako czynnik etiologiczny i prognostyczny dla chorych na raka gardła środkowego leczonych z zastosowaniem radioterapii samodzielnej lub w skojarzeniu z chemioterapią.

A. Brewczyński, T. Rutkowski, A. Mazurek, M. Śnietura, A. Wygoda, K. Składowski, A. Celejewska, E. Małusecka, P. Polanowski, U. Dworzecka, M. Kentnowski, B. Pilecki, P. Widłak

Centrum Onkologii-Instytut im Marii Skłodowskiej-Curie
oddział w Gliwicach

Wstęp: Mimo licznych doniesień potwierdzających wyjątkowe znaczenie prognostyczne HPV w leczeniu chorych na raki regionu głowy i szyi (RRGiSz), w szczególności raka gardła środkowego (RGŚ), wyniki badań opartych o rodzimy materiał kliniczny są wyjątkowo nieliczne. Celem pracy była ocena częstości występowania raka HPV-zależnego oraz roli HPV jako czynnika prognostycznego u chorych na raka gardła (RGŚ) z zastosowaniem radioterapii samodzielnej (RT) lub w skojarzeniu z chemioterapią (RTCHT)

w latach 2012- 2015 w Centrum Onkologii-Instytucie, oddział w Gliwicach.

Materiał i Metody: Do badania włączono 322 chorych zakwalifikowanych do RT lub CHRT, w tym chorych na raka nosogardła (RN) 25 (7,8%), RGŚ 125 (38,8%), raka gardła dolnego (RGD) 36 (11,2%), (RK) 132 (41,0%). U 121 (37,6%) chorych zastosowano RT a u 201 (62,4%) chorych CHRT. Potwierdzenie etiologii HPV uzyskiwano z materiału tkankowego i/lub oznaczano pozakomórkowy, krążący DNA HPV. Porównano wskaźniki przeżycia dla chorych na raka HPV zależnego (HPV+) i na raka HPV niezależnego (HPV-).

Wyniki: Mediana czasu obserwacji wyniosła 24 miesiące. HPV stwierdzono u 72 (23%) chorych, odpowiednio u 3 (12%), 58 (46%), 1 (3%), 9 (7%) chorych na RN, RGŚ, RGD i RK. Ze względu na zdecydowaną przewagę guzów HPV zależnych w raku gardła środkowego i niskie odsetki takich rozpoznań dla pozostałych lokalizacji, analizę roli wirusa jako czynnika prognostycznego przeprowadzono dla chorych na raka gardła środkowego.

Chorzy HPV+ mieli znamienne wyższe odsetki 2-letnich wyleczeń miejscowych (91% v 72%, p=0,006) i lokoregionalnych (90% v 70%, p=0,008) niezależnie od stopnia zaawansowania T i N. Odsetki 2-letnich przeżyć bez przerzutów odległych nie różniły się w obu grupach (93% v 94%, p=1,0)

Omówienie: Prawie 50% chorych na RGŚ w Polsce jest HPV+. Wyniki własne potwierdzają że HPV jest silnym, niezależnym, korzystnym czynnikiem prognostycznym w populacji polskich chorych na RRGiSz.

Metody medycyny regeneracyjnej w zastosowaniu do pacjentów onkologicznych - luksus czy konieczność?

Zygmunt Pojda

Zakład Medycyny Regeneracyjnej, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Medycyna regeneracyjna obejmuje metody stymulacji gojenia i regeneracji tkanek które w założeniach mają przewyższać efekty "naturalne", warunkowane współdziałaniem fizjologicznych mechanizmów działających bez ingerencji lekarza. W warunkach naturalnych zaprogramowane biologicznie procesy naprawcze po

uszkodzeniu tkanki w pierwszej fazie eliminują martwą tkankę (odczyn zapalny), w kolejnym etapie aktywowane są tkankowo-specyficzne komórki zapasowe (np. tenocyty ścięgna lub komórki satelitowe mięśnia) które w ograniczonym zakresie odtwarzają uszkodzenie. U człowieka zatracona została możliwość pełnej regeneracji narządów, a naprawa uszkodzenia często nie prowadzi do odtworzenia pierwotnej struktury tkanki (np. blizna pozawałowa w miejscu martwicy mięśnia serca). Pierwszym etapem opracowywania metod medycyny regeneracyjnej jest poznanie struktur komórkowych i mechanizmów naprawczych aktywowanych po uszkodzeniu tkanki, etapem następnym jest poszukiwanie sposobu amplifikacji efektów naprawczych możliwych do uzyskania bez ingerencji zewnętrznej. Możliwe jest zwiększenie liczby elementów naprawy tkanek (np. przeszczepianie komórek macierzystych różnicujących się w uszkodzoną tkankę), dostarczenie sygnałów stymulujących naprawę (np. cytokiny, mezenchymalne komórki macierzyste).

Obecny stan wiedzy pozwala na optymalizację procesów odnowy uszkodzonych tkanek, zaawansowane są też już próby wytwarzania metodami inżynierii komórkowej kompletnych nowych narządów o parametrach indywidualnie dostosowanych do potrzeb pacjenta.

Metody leczenia nowotworów, nawet stosunkowo selektywne, przeważnie prowadzą również do uszkodzenia prawidłowych tkanek, których naprawa może być wspomagana metodami medycyny regeneracyjnej. Warsztat stosowany do regeneracji tkanek może też być wykorzystywany prewencyjnie do minimalizacji uszkodzenia tkanek już na etapie eliminacji tkanki nowotworowej. Istnieje również grupa pacjentów u których zniszczenie tkanek, wywołane procesem nowotworowym (np. brak zajętych nowotworem elementów układu kostnego twarzoczaszki) ogranicza ich możliwości funkcjonowania po wyeliminowaniu nowotworu - w takich przypadkach medycyna regeneracyjna umożliwia przywrócenie funkcji fizjologicznych, a tym samym przywraca komfort życia rekonwalescenta. W podsumowaniu - medycyna regeneracyjna znajduje szczególne zastosowanie w onkologii i powinna być wykorzystywana jako jeden z (na ogół późniejszych) etapów leczenia nowotworów.

Opracowanie i wdrożenie programu krioprezerwacji o niskiej toksyczności dla komórek krwiotwórczych i biorcy szpiku. Od laboratorium do nowego protokołu klinicznego

Andrzej Smagur, Iwona Mitrus, Wojciech Fidyk, Agata Chwieduk, Magdalena Głowala-Kosińska, Tomasz Czerw, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka, Włodzimierz Mendrek, Katarzyna Michalak, Maria Saduś-Wojciechowska, Jacek Najda, Jerzy Hołowiecki, Sebastian Giebel.

Autologiczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych z krwi obwodowej (autoPBSCT) pozwala na zastosowanie mieloablacyjnego leczenia kondycjonującego i jest szeroko stosowane w leczeniu nowotworów hematologicznych. Procedura autoPBSCT wymaga krioprezerwacji komórek z zastosowaniem mieszniny zawierającej dimetylosulfotlenek (DMSO) jako substancji kriochronnej. W literaturze brak jednoznacznych wytycznych dotyczących preparatyki materiału do autoPBSCT. Z danych literaturowych publikowanych przez EBMT wynika że najczęściej stosowanym stężeniem jest 10% DMSO. Jednak DMSO może być toksyczne zarówno dla komórek jak i biorcy przeszczepu.

W pierwszym etapie badania wykonano testy *in vitro*, które wykazały, że zmniejszenie stężenia DMSO do 7,5% nie wpływa na przeżycie i klonogenność komórek. Na podstawie uzyskanych wyników podjęto decyzję o zmniejszeniu stężenia DMSO w mieszaninie kriochronnej. W celu potwierdzenia, że nie miało to negatywnego wpływu na odnowę hematopoezy, zdecydowano się ocenić uzyskane wyniki w badaniu randomizowanym.

Grupę badaną stanowiło 150 pacjentów, których włączono do jednego z trzech ramion badania randomizowanego: produkt leukafezy poddawany krioprezerwacji w mieszaninie zawierającej 10%, 7,5% lub 5% DMSO. Grupy nie różniły się pod względem diagnozy, wieku pacjenta, leczenia kondycjonującego i liczby przeszczepionych komórek krwiotwórczych. Procedurę autoPBSCT przeprowadzono u 143 pacjentów. Częstość wystąpienia powikłań w trakcie i krótko po zakończeniu infuzji PBSC była najniższa w grupie 5% DMSO ($p=0.02$ w porównaniu do 10% DMSO). Czwo-

ro pacjentów zmarło z powodu infekcji przed uzyskaniem wszczepu. Mediana czasu do odtworzenia leukocytów i neutrofilii wynosiła 10 dni we wszystkich grupach ($p=0.36$ i $p=0.2$). Podobnie, mediana czasu do odtworzenia płytek krwi wynosiła 15 dni dla każdego ze stężeń DMSO ($p=0.79$).

W oparciu o uzyskane wyniki od 2017 r. 5% DMSO zostało wprowadzone w KTSiO jako nowy standard w krioprezerwacji krwiotwórczych komórek macierzystych.

SESJA III

Radioterapia hadronowa w Polsce – doświadczenia Centrum Onkologii w Krakowie

Beata Sas-Korczyńska

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Krakowie

W radioterapii hadronowej promieniowanie jonizujące jest dostarczane jako energia kinetyczna cząstek (hadronów), do których zaliczane są m.in. neutrony i protony. Oddziaływanie z materią oparte jest na procesach bezpośredniej jonizacji, co przekłada się na efektywność tego rodzaju promieniowania. Przesłanki uzasadniające kliniczne zastosowanie wynikają z właściwości tego promieniowania. Wiązka neutronowa charakteryzuje się dużą gęstością jonizacji, co skutkuje wysokimi wartościami współczynników: liniowego przekazania energii (LET) i względnej skuteczności biologicznej (RBE). Efekty działania nie zależą tutaj od: utleniania komórek, ich promieniowrażliwości i pozycji w cyklu życiowym oraz sposobu frakcjonowania dawki. Radioterapia neutronowa znalazła zastosowanie w przypadku nowotworów promienioopornych, wolno rosnących, źle utlenianych i wysoko zróżnicowanych. Z kolei wiązka protonowa posiada charakterystyczny sposób depozycji energii (tzw. krzywa Bragga), czego skutkiem jest, w porównaniu z radioterapią fotonową, lepsza ochrona tkanek prawidłowych, szczególnie położonych dystalnie w stosunku do objętości tarczowej. Przekłada się to na zmniejszenie ryzyka rozwoju powikłań. Radioterapia protonowa stosowana jest w przypadku nowotworów zlokalizowanych w pobliżu narządów krytycznych oraz gdy zachodzi

konieczność ograniczenia ryzyka toksyczności leczenia.

Centrum Onkologii w Krakowie (COI-OK) współpracując z Instytutem Fizyki Jądrowej PAN w Krakowie (właścicielem cyklotronów generujących wiązki neutronów szybkich, protonów) uczestniczyło w realizacji radioterapii hadronowej. Radioterapia neutronowa prowadzona była w latach 1978-1995 i stosowana była u chorych na nieoperacyjnego raka obszaru głowy i szyi (439 chorych) i w przypadku nieoperacyjnych wznów raka piersi (37 chorych). Uzyskano 11% trzyletnich przeżyć, a całkowitą remisję u 84%. Tolerancja leczenia zależała od zastosowanego schematu frakcjonowania dawki; powikłania późne wystąpiły u 57% chorych, z czego u 15% były w znacznym stopniu nasilenia (G3- G5). Udział specjalistów radioterapii onkologicznej z COI-OK w realizacji procedury radioterapii protonowej czerniaka błony naczyniowej oka miał miejsce w latach 2011-2016. Analiza wyników wykazała, że regresję guza uzyskano u 73% chorych, a u 93% chorych możliwe było zachowanie gałki ocznej. U 34% stwierdzono rozwój wewnątrzgałkowych powikłań, takich jak: retinopatia, obrzękowa makulopatia, neuropatia nerwu wzrokowego, jaskra, zaćma oraz objawy zespołu suchego oka.

Od 2016 roku Centrum Onkologii realizuje procedurę radioterapii protonowej nowotworów zlokalizowanych poza narządem wzroku (na podstawie wskazań opublikowanych w rozporządzeniu Ministra Zdrowia w Dz. U. 2016, poz. 855). W okresie od 3 listopada 2016 do 29 stycznia 2018 procedurą została wdrożona u 97 chorych, z czego 82 – zakończyło leczenie. Radioterapia protonowa stosowana była u chorych na nowotwory: podstawy czaszki (struniak, chrząstniakomięsak) lub kręgosłupa (50%), glejaki G1-2 (43%), zatok obocznych nosa (7%). W trakcie leczenia u 75 chorych (91%) stwierdzono rozwój 168 objawów ubocznych o nasileniu: G1 (67%), G2 (26%), G3 (7%) i najczęstszą ich lokalizacją były: skóra (u 65% chorych), błona śluzowa (u 34% chorych), ucho środkowe (13%).

Radioterapia hadronowa uzasadniona w określonych sytuacjach klinicznych pozawala na uzyskanie poprawy wyników w zakresie miejscowej odpowiedzi (radioterapia neutronowa) czy też tolerancji leczenia (radioterapia protonowa). Należy nadmienić, że stosowanie

radioterapii neutronowej zostało zakończone w latach 90. XX wieku (w różnych ośrodkach na świecie), co wynikało z nieakceptowalnego poziomu ryzyka powikłań będącego skutkiem zmian różnic parametrów biologicznych odpowiedzi guza i tkanek prawidłowych zachodzących w czasie leczenia. Natomiast radioterapia protonowa jest kontynuowana zarówno w stale wzrastającej liczbie ośrodków, jak i coraz szerszym zastosowaniu klinicznym.

Zastosowanie dodatkowej akwizycji PET-TK o wysokiej rozdzielczości w ocenie nowotworów głowy i szyi.

Chrabanski Olgierd¹, Gorczewska Izabela¹,
Turska-d'Amico Maria², Borys Damian¹,
d'Amico Andrea¹

¹Zakład Diagnostyki PET, Centrum Onkologii- Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach

²Klinika chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej, Centrum Onkologii- Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach

Wstęp

Ogniska nowotworowe pierwotne i przerzutowe w rejonie głowy i szyi zazwyczaj posiadają wysoki poziom gromadzenia fluoroeoksyglukozy (FDG), ale mają często rozmiary na granicy rozdzielczości tomografów PET. To może doprowadzić do ograniczenia czułości badania. Stosowanie dodatkowej akwizycji z mniejszymi rozmiarami voxelu oraz przedłużonym czas akwizycji powinno częściowo zapobiegać tego zjawiska.

Cel pracy

Porównanie obrazów akwizycji PET-TK głowy i szyi wykonanych protokołem standardowym oraz protokołem o wysokiej rozdzielczości.

Materiał i metodyka

U 58 chorych z nowotworami głowy i szyi skierowanych do badania PET-TK wykonano akwizycję standardową (AS) od oczodołów do ud (czas akwizycji 2', voxel size 4x4 mm) oraz dodatkową akwizycję protokołem o wysokiej rozdzielczości (AWR) od oczodołów do szyi (czas akwizycji 5', voxel size 2x2 mm). Dla każdej projekcji wyliczono ilości zmian wykrytych, poziom gromadzenia radioznacznika SULpeak oraz SUVmax oraz stosunek gromadzenia do fizjologicznego gromadzenia w otoczeniu.

Wyniki

Liczba ognisk pierwotnych z gromadzeniem FGD była ta sama w obrazach AS i AWR (58) natomiast liczba zmian przerzutowych była znacznie większa dla AWR (35 vs 28) jak ich poziom gromadzenia SUVmax i SUV średni, odpowiednio 2,6 i 1,7 dla AWR i 2,1 i 1,5 dla AS.

Wnioski

Dodatkowa projekcja z protokołem AWS u chorych z nowotworami płaskonabłonkowymi głowy i szyi umożliwia wykrycie większej liczby ognisk wychwytu poza ogniskiem pierwotnym oraz lepiej określić ich kształt, położenie i topografię.

Radioterapia w leczeniu przyzwojaków głowy i szyi z wykorzystaniem technik stereotaktycznych. Doświadczenia gliwickie.

Paweł Polanowski

Centrum Onkologii- Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Oddział w Gliwicach

Przyzwojaki regionu głowy i szyi to bardzo rzadko występująca grupa nowotworów. Zdecydowaną większość stanowią zmiany łagodne, objawiające się najczęściej szumem usznym, bólami głowy czy zaburzeniami funkcji nerwów czaszkowych. Zdarzają się przypadki posiadające zdolność przerzutowania, a także produkcji katecholamin. Typowy obraz w tomografii komputerowej oraz w rezonansie magnetycznym pozwala na postawienie rozpoznania bez konieczności wykonania biopsji guza, która wiąże się z dużym ryzykiem krwawienia. Postępowanie terapeutyczne daje lekarzowi szeroki wachlarz możliwości od aktywnej obserwacji, poprzez zabieg operacyjny czy radioterapię, aż po leczenie systemowe w przypadku przyzwojaków złośliwych. Obecnie radioterapię uważa się za najlepszą metodę leczenia przyzwojaków bez względu na ocenę resekcyjności guza. Wyniki leczenia za pomocą promieniowania jonizującego z wykorzystaniem technik stereotaktycznych zostaną przedstawione w oparciu o doświadczenia własne Centrum Onkologii - Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach.

Zastosowanie radioterapii mikrowiązkowej jako radioterapii ratującej u chorych na raka regionu głowy i szyi

Kentnowski M.¹, Stąpor-Fudzińska M.²,
Rutkowski T.¹, Dworzecka U.¹, Polanowski P.¹,
Niedziałek J.¹, Wygoda A.¹, Pilecki B.¹, Leś D.¹,
Składowski K.¹

¹I Klinika Radioterapii i Chemioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-100 Gliwice

²Zakład Planowania Radioterapii i Brachyterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-100 Gliwice.

Wstęp: Radioterapia mikrowiązkowa jest użytecznym narzędziem w leczeniu zmian nowotworowych położonych blisko wrażliwych na promieniowanie narządów. Ma to szczególne znaczenie w regionie głowy i szyi, gdzie liczba tych narządów w objętości jest szczególnie duża.

W przypadku konieczności powtórnego napromieniania jako leczenia ratującego radioterapia mikrowiązkowa wydaje się być szczególnie wskazana w związku z tym, że umożliwia bardzo precyzyjne ograniczenie napromienianego obszaru.

Cel: Ocena skuteczności radioterapii mikrowiązkowej jako radioterapii ratującej u chorych na raka narządów regionu głowy i szyi.

Metoda: Retrospektywnie oceniono 65 chorych z rozpoznąwą wznową raka w narządach regionu głowy i szyi, u których w latach 2010-2017 przeprowadzono radioterapię ratującą z zastosowaniem radioterapii mikrowiązkowej. Podzielono pacjentów na grupy zgodnie z pierwotnym i wtórnym rozpoznaniem oraz jego zaawansowaniem. W analizie uwzględniono także inne metody ratujące jakie stosowano u pacjentów. Przeprowadzono analizę czasów: całkowitego przeżycia, bez objawów choroby oraz skuteczności metody w zależności od zaawansowania wznowy, w tym jej objętości i zastosowanego schematu leczenia.

Wstępne wnioski: Radioterapia mikrowiązkowa jest skuteczną i bezpieczną metodą w leczeniu ratującym u chorych na raka narządów regionu głowy i szyi. Jej skuteczność jest skorelowana z lokalizacją, objętością wznowy i sposobem frakcjonowania.

Słowa Klucze: Rak głowy i szyi; radioterapia mikrowiązkowa; powtórne napromienianie.

Metaboliczna odpowiedź na radio-chemioterapię u chorych z nowotworami głowy i szyi - analiza surowicy krwi z wykorzystaniem spektroskopii NMR

Łukasz Boguszewicz, Mateusz Ciszek, Agata Bielań, Andrzej Wygoda, Krzysztof Skłodowski, Jolanta Mrochem-Kwarciak, Maria Sokół

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach.

Protonowa spektroskopia magnetycznego rezonansu jądrowego (^1H NMR) jest uznanym narzędziem do analizy profilu metabolicznego płynów ustrojowych, głównie surowicy krwi. Zarówno sama choroba nowotworowa, jak i zastosowane leczenie radio- (RT) lub chemioradioterapią (CHRT) znajdują odzwierciedlenie w zaburzeniach morfologicznych, funkcjonalnych oraz molekularnych. Naszym celem była identyfikacja i analiza (w czasie rzeczywistym) zaburzeń molekularnych u pacjentów leczonych radykalnie RT/CHRT z powodu nowotworów głowy i szyi (HNSCC).

Badana grupa to 171 pacjentów, 135 mężczyzn, 36 kobiet, mediana wieku 60 lat. Krew żyłną pobierano w odstępach cotygodniowych, od dnia poprzedzającego leczenie do jego zakończenia, uzyskując łącznie 1335 próbek surowicy (od 5 do 10 próbek od każdego pacjenta w zależności od zastosowanej modalności leczenia). Pomiar spektroskopowy wykonano na spektrometrze NMR Bruker 400,13 MHz w temperaturze 310 K, dla każdej próbki zarejestrowano 4 sekwencje pomiarowe (NOESY, CPMG, diffusion edited, J-resolved).

Na podstawie analizy przypadków odstających zidentyfikowano pacjentów, u których wystąpiło istotne nasilenie ostrego odczynu popromiennego (ARS) prowadzące do wystąpienia zaburzeń związanych z połykaniem pokarmów stałych, a nawet przyjmowania płynów. U tych pacjentów zaobserwowano w surowicy krwi podwyższenie stężenia 3-hydroksymaślanu (3HB) – związku uznawanego za marker wygódlenia i ketozy, z poziomu poza progiem detekcji techniką ^1H NMR (kilkanaście μM) do poziomu sygnałów dominujących metabolitów (1,5 – 2 mM). Wzrost ten wykazuje istotną statystycznie korelację dodatnią z procentowym ubytkiem wagi oraz istotną korelację ujemną z poziomem albumin, oraz prealbumin.

Ponieważ w warunkach prawidłowych 3HB nie jest widoczny w widmie ^1H NMR surowicy krwi, a pojawia się dopiero w stanach niedostatecznego odżywienia, można go uznać za wygodny biomarker nasilenia ARS u pacjentów z HNSCC.

Praca sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki, grant nr 2015/17/B/NZ5/01387.

Porównanie proteomu egzosomów uwalnianych przez komórki raka głowy i szyi z różnym statusem HPV

Monika Pietrowska¹, Łukasz Marczak², Agata Abramowicz¹, Marta Gawin¹, Sonja Funk^{3,4}, Priyanka Sharma⁴, Stephan Lang³, Piotr Wiślak¹, Theresa L. Whiteside⁴

¹Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center, Gliwice Branch, Gliwice, Poland

²Institute of Bioorganic Chemistry, Polish Academy of Sciences, Poznan, Poland

³Department of Otorhinolaryngology, Otorhinolaryngology, University of Duisburg-Essen, Germany

⁴Department of Pathology, University of Pittsburgh School of Medicine and University of Pittsburgh Cancer Institute, Pittsburgh, PA 15213, USA

Zakażenie wirusem brodawczaka ludzkiego (HPV) odgrywa istotną rolę jako czynnik etiopatologiczny HNSCC. Można wyodrębnić dwie kategorie HNSCC ze względu na status HPV: raki HPV(+) i HPV(-), które różnią się od siebie biologią i przebiegiem klinicznym. Egzosomy są to pęcherzyki o wielkości wirusów wytwarzane przez wszystkie żywe komórki pośredniczące w komunikacji międzykomórkowej. Wiadomo, że egzozomy mają profil białkowy przypominający profil komórek rodzicielskich oraz mogą modulować funkcje ludzkich komórek odpornościowych. Celem naszych badań było poszukiwanie w profilu białkowym egzosomów receptorowych białek „immunokompetentnych” tj. mogących poprzez swoje oddziaływanie z komórkami układu immunologicznego modulować jego funkcje.

Przedmiotem naszych badań był profil białkowy egzosomów uwalnianych przez komórki HNSCC trzech linii komórkowych HNSCC HPV(+): SCC-2, SCC-47, SCC-90 i dwóch linii komórkowych HNSCC HPV(-): PCI-13 i PCI-30. Egzosomy izolowano stosując chromatografię żelową (mini-SEC), a uzyskane egzozomy oceniano pod kątem: (i) morfologii i wielkości

z wykorzystaniem transmisyjnej mikroskopii elektronowej (TEM), (ii) liczby cząstek z wykorzystaniem urządzenia q-Nano oraz (iii) zawartości białka. Profile molekularne określono za pomocą techniki Western blot (WB) oraz wysokorozdzielczej tandemowej spektrometrii mas (LC-MS/MS). Uzyskane wyniki potwierdziły techniką cytometrii przepływową.

Egzosomy pochodzące z komórek nowotworowych HPV(+) i HPV(-) miały podobną wielkość (30-150 nm) i morfologię. Wyłącznie egzosomy HPV(+) zawierały białka E6/E7, Rb i surwiwinę, natomiast egzosomy HPV(-) były ujemne dla cykliny D1 i miały niski poziom p53. Metodami wysokorozdzielczej spektrometrii mas wykryliśmy białka receptorowe CD47 oraz CD 276 charakterystyczne dla egzosomów pochodzących z linii HPV(+).

Badania zostały sfinansowane w ramach realizacji projektu NCN 2013/11/B/NZ7/01512.

Zastosowanie innowacyjnych technik chirurgii rekonstrukcyjnej po rozległych zabiegach regionu głowy i szyi u dzieci.

Łukasz Krakowczyk

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Analiza wpływu wybranych czynników genetycznych na ostry odczyn popromienny u chorych leczonych na nowotwory głowy i szyi

Łukasz Boguszewicz, Dorota Butkiewicz, Małgorzata Krześniak, Agnieszka Gdowicz-Kłosok, Tomasz Rutkowski, Jolanta Mrochem-Kwarciak, Mateusz Ciszek, Maria Sokół

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Profil genetyczny człowieka pozwala określić nie tylko indywidualne predyspozycje do zachorowania na nowotwory, ale może również wpływać na odpowiedź na leczenie przeciwnowotworowe i jego skuteczność. Celem naszej pracy była analiza związku 21 polimorfizmów w genach naprawy DNA, obrony antyoksydacyjnej i angiogenezy z odpowiedzią na radioterapię

(RT) oraz radiochemioterapię (CHRT) u pacjentów z nowotworami głowy i szyi.

Badaną grupę stanowiło 120 pacjentów, 95 mężczyzn i 25 kobiet, z medianą wieku 58 lat. Odpowiedź na leczenie oceniano na podstawie cotygodniowych (od dnia poprzedzającego leczenie do jego zakończenia) badań lekarskich i laboratoryjnych (ocena ostrego odczynu popromiennego ARS w skali CTCAE) oraz pomiarów profilu metabolicznego surowicy krwi techniką protonowej spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego, ¹H NMR. Polimorfizmy wykrywano za pomocą PCR-RFLP i sond TaqMan MGB.

Analiza zgromadzonych danych wykazała, że polimorfizmy *NBS1* E185Q i *GSTM1* del mają istotny związek z zaburzeniami profilu metabolicznego surowicy krwi oraz nasileniem ARS. Nosiciele *NBS1* 185QQ (wyłączając pacjentów leczonych samodzielnie RT) charakteryzują się niższymi wartościami markerów stanu zapalnego CRP i NAG oraz niższymi stężeniami pirogronianu i mleczanu w surowicy krwi w ostatnich dwóch tygodniach terapii. Nie stwierdzono natomiast istotnych różnic w parametrach skali CTCAE. W surowicy homozygot z delecją *GSTM1* obserwowano wyższe stężenia aminokwasów BCAA Ile i Val oraz 3-hydroksymaślanu (marker wygłodzenia, ketozy) i istotnie obniżone stężenia kreatyny w przypadku leczenia jednoczasową CHRT. Ponadto, u pacjentów tych występuje wyższy procentowy ubytek masy ciała w trakcie leczenia oraz większe nasilenie dolegliwości bólowych i związanych z zakażeniami błony śluzowej.

Uzyskane wyniki wstępne sugerują, że *NBS1* E185Q oraz *GSTM1* del mogą mieć znaczący wpływ na zaburzenia metabolizmu energetycznego oraz nasilenie stanów zapalnych w przebiegu leczenia nowotworów głowy i szyi.

Praca sfinansowana przez Narodowe Centrum Nauki, granty nr 2016/23/B/NZ5/03470 i 2015/17/B/NZ5/01387.

Własne modyfikacje technik mikrochirurgicznych w rekonstrukcjach złożonych, rozległych, trójwymiarowych ubytków regionów głowy i szyi.

Adam Maciejewski, Łukasz Krakowczyk, Ryszard Szumniak, Maciej Grajek, Rafał Ulczok, Dominik Walczak.

Klinika Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach

Wstęp: Zaprezentowanie zmodyfikowanych technik mikrochirurgicznych w oparciu o własne doświadczenia

Opis: Autor przedstawia drogę rozwoju chirurgii rekonstrukcyjnej u chorych po rozległych ubytkach w regionie głowy i szyi. Prezentacja obejmuje szczegóły rekonstrukcji oraz etapy wdrażania na przestrzeni ostatnich kilkunastu lat złożonych technik odtwórczych obejmujących wykorzystanie tkanek lokalnych, regionalnych, odległych a także pozyskanych od dawców.

Wnioski: rozwój chirurgii rekonstrukcyjnej oraz modyfikacja jej technik pozwala na uzyskanie optymalnego efektu funkcjonalnego, estetycznego i społecznego.

Oznaczenie rzeczywistej w porównaniu do przewidywanej szansy miejscowego wyleczenia (TCP) z uwzględnieniem cząstkowych TCP wyznaczonych dla podobieństwa GTV z niejednorodnym rozkładem dawek w planowaniu radioterapii 3D-IMRT dla raka regionu głowy i szyi (dedykowana pamięci Roda Withersa – współautora oryginalnej koncepcji badania).

B. Maciejewski, L. Hawrylewicz, K.R. Trott, A. Tukiendorf, L. Miszczyk

Cel pracy: Celem badania jest test oryginalnej metody oznaczania szacowanej i rzeczywistej szansy miejscowego wyjałowienia guza (TCP) w oparciu o oznaczenie TCP dla podobieństwa guza z niejednorodnym rozkładem dawek w radioterapii 3D-IMRT nowotworów regionu głowy i szyi.

Materiał i Metodyka: Jako model badawczy wybrano 16 przypadków (wystarczająca liczebność grupy) raka j. ustnej i gardła środkowego w stopniu T₁₋₂ N₀M₀ (wymagana jednorodność

kliniczna) uprzednio leczonych radioterapią 3D-IMRT, z 3-letnim okresem obserwacji, u których stwierdzono redukcję dawki (<10%) w części jego podobieństwa. GTV wynosiła od 2.5cm³ do 29.2 cm³, a Dawkę Całkowitą (TD), 60-70 Gy podano w 2.0 Gy frakcjach. Wyznaczono dwie podobieństwa: SVA (z planowaną TD) i SVB (niedodawkową). Dla obu objętości oznaczono TCP posługując się oryginalnym modelem opracowanym przez Withersa i Maciejewskiego. Produkty TCP_A i TCP_B porównano z oczekiwanym TCP i wyznaczono jego wartość rzeczywistą.

Wyniki: TD 60 Gy-70 Gy powinna gwarantować wysokie TCP (~90%) dla niezaawansowanych raków T₁-T₂. Około 70% SVB przekraczało 50% GTV i oznaczone TCP dla tych podobieństwa wyniosło poniżej 60%. W konsekwencji rzeczywista wartość TCP będąca iloczynem TCP_A i TCP_B nie przekroczyła 54% (60% x 90%) i była niższa niż szacowana. Niedodawkanie (<10%) w podobieństwach SVB korelowało z wysokim ryzykiem wznowy miejscowej (~50%).

Wnioski: W radioterapii 3D-IMRT niedodawkana (~10%) objętość "zimna" guza (SVB) większej niż 50% GTV skutkuje znamienym obniżeniem oczekiwanego i szacowanego TCP i skutkuje wysokim ryzykiem wznowy miejscowej. Wysokość deficytu TD i wielkość niedodawkowej podobieństwa GTV są niezależnymi negatywnymi czynnikami decydującymi o obniżeniu rzeczywistej w porównaniu do wstępnie planowanej szansy miejscowego wyleczenia i na etapie planowania bezwzględnie wymagają replanowania radioterapii 3D-IMRT.

SESJA IV

Mechanizm indukcji apoptozy przez stres termiczny

Agnieszka Toma-Jonik, Marek Chadalski,
Joanna Korfanty, Patryk Janus, Natalia Vydra,
Anna Paszek, Wiesława Widłak

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie,
Gliwice

PMAIP1/NOXA jest istotnym genem indukowanym w wyniku aktywacji białka p53. Należy do rodziny białek BCL-2, a jego nadekspresja prowadzi do apoptozy. Stwierdziliśmy, że HSF1 (czynnik transkrypcyjny szoku cieplnego 1) jest również zaangażowany w regulację ekspresji Pmaip1. Opierając się na funkcjonalnej analizie genomu, zidentyfikowaliśmy wiązanie HSF1 do typowych sekwencji konsensus (HSE) umiejscowionych w intronach genu Pmaip1. Stwierdziliśmy, że w jądrach myszy transgenicznych Pmaip1 jest genem najsilniej indukowanym przez konstytutywnie aktywny, zmutowany HSF1. Taki układ prowadzi do niepłodności u samców w wyniku apoptozy spermatocytów. Zaobserwowaliśmy także, że szok termiczny również indukuje transkrypcję genu Pmaip1 w spermatocytach myszy. Następnie stwierdziliśmy wiązanie HSF1 i indukcję transkrypcji genu Pmaip1/PMAIP1 związanej z akumulacją tego białka w pewnych somatycznych liniach i tkankach ludzkich i mysich komórek. Najwyższą indukcję Pmaip1 zaobserwowano w czułych na ciepło mysich komórkach śródbłonna HECa10. Używając komórek HECa10 o obniżonej ekspresji HSF1 (za pomocą shRNA) potwierdziliśmy, że aktywacja transkrypcji Pmaip1 przez szok termiczny jest zahamowana w takich komórkach. Usunięcie HSE w drugim intronie genu Pmaip1 (za pomocą CRISPR/Cas9) również doprowadziło do zmniejszonej aktywacji Pmaip1 przez szok termiczny. Nie możemy jednak wykluczyć efektów selekcji klonów. Co więcej, aktywacja PMAIP1 po szoku cieplnym była mniejsza w komórkach bez p53. Te dane sugerują, że dla najbardziej wydajnej aktywacji PMAIP1 w odpowiedzi na szok termiczny wymagane są zarówno czynniki transkrypcyjne HSF1, jak i p53.

Nasze odkrycie potwierdza pogląd, że HSF1 może odgrywać podwójną rolę w odpowiedzi na

szok termiczny, zarówno cytoprotekcyjny, jak i cytotoksyczny. Poza klasyczną rolę w ochronie komórek za pośrednictwem białek szoku termicznego (HSP), HSF1 może bezpośrednio aktywować ekspresję proapoptotycznego genu PMAIP1. Ostateczna odpowiedź komórki na stres może wynikać z równowagi między czynnikami antyapoptotycznymi i proapoptotycznymi regulowanymi przez HSF1 różnie w komórkach wrażliwych na ciepło i odpornych na ciepło, prawdopodobnie we współpracy z p53.

Projekt ten jest finansowany przez Narodowe Centrum Nauki (grant nr 2014/13/B/NZ3/04650)

Wpływ białek z rodziny HSPA na chemiooporność komórek niedrobnokomórkowego raka płuca

Damian Sojka, Agnieszka Gogler-Pigłowska¹,
Natalia Vydra¹, Katarzyna Klarzyńska¹,
Zdzisław Krawczyk¹, Krystyna Klyszcz¹,
Dorota Ściegłińska¹

¹Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej – Curie, Oddział w Gliwicach

Białka szoku cieplnego (ang. heat shock protein, HSP) należą do grupy białek opiekuńczych. Odpowiadają za utrzymanie proteostazy komórek w warunkach fizjologicznych oraz pełnią funkcje ochronne przed szkodliwym wpływem czynników metabolicznych i środowiskowych. W wielu typach ludzkich nowotworów białka HSP ulegają nadprodukcji i są zaangażowane w promowanie proliferacji oraz inwazyjności. Uważa się również, że wysoki poziom białek może indukować oporność komórek nowotworowych na chemioterapeutyki

Celem niniejszej pracy było zbadanie wpływu białek HSPA1 – głównego indukowalnego białka rodziny HSP70 oraz HSPA2 – słabo scharakteryzowanego przedstawiciela rodziny, na zjawisko chemiooporności komórek niedrobnokomórkowego raka płuca (NSCLC) na leki cytostaticzne z grupy pochodnych platyny oraz inhibitor proteasomu.

Stosując technologię interferencyjnego RNA stabilnie i silnie obniżyliśmy poziom białka HSPA1 lub HSPA2 w liniach komórkowych wywodzących się z NSCLC. Zarówno obniżenie

poziomu HSPA1, jak też HSPA2 nie wpływało na proliferację komórek. Nie obserwowaliśmy wpływu modulacji poziomu białek HSPA1 lub HSPA2 na wrażliwość komórek na pochodne platyny. Zmniejszenie aktywności białek z rodziny HSP70 przy użyciu VER-155088, chemicznego inhibitora aktywności ATP-azowej HSP70, spowodowało zwiększenie wrażliwości komórek raka płuca na cisplatynę oraz bortezomib, klinicznie stosowany inhibitor proteasomu. Nasze wyniki wskazują, że obniżenie poziomu pojedynczego białka rodziny HSPA nie wpływa na zmianę wrażliwości komórek NSCLC na cisplatynę. Natomiast nieselektywne zahamowanie aktywności kilku białek z rodziny HSP70 skutkuje zwiększeniem chemiowrażliwości komórek. Obserwowany efekt może być związany z zahamowaniem aktywności antyapoptotycznych białek z rodziny Bag będących koczaperonami białek HSPA1 oraz HSPA8 (HSC70). Podsumowując, wydaje się, że obniżenie aktywności wielu białek rodziny HSP70 może być obiecującą strategią terapeutyczną w leczeniu niedrobnokomórkowego raka płuca.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr DEC-2013/09/B/NZ5/01815 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauk.

Nowa klasyfikacja TNM raka płuca wobec wyników leczenia chirurgicznego.

Maciej Głogowski

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Klasyfikacja TNM pozwala na dokładne określenie stopnia zaawansowania nowotworu, stając przydatne narzędzie przy wyborze właściwej metody leczenia. W odniesieniu do raka płuca jest najlepiej zdefiniowanym czynnikiem prognostycznym.

W 2017 roku wprowadzono dzięki projektowi Międzynarodowego Stowarzyszenia Badań nad Rakiem Płuca (IASLC) (baza danych 70000 pacjentów leczonych wielośrodkowo w latach 1999-2010) istotne zmiany w VIII-iej edycji klasyfikacji raka płuca, w porównaniu z VII edycją z 2009 roku.

Celem badania jest ocena wpływu dokonanych zmian na wyniki leczenia chirurgicznego raka płuca.

Analizą objęto 329 pacjentów leczonych radykalnie chirurgicznie w latach 2009-2014 z rozpoznaniem niedrobnokomórkowego raka płuca w Klinice Nowotworów Płuca i Klatki Piersiowej Centrum Onkologii w Warszawie. Dane dotyczące chorych pochodzą z prospektywnie prowadzonej bazy danych Rejestru Raka Płuca. Na dzień 31.10.2017 odnotowano w grupie badanej 131 zgonów, 95 nawrotów choroby, w obserwacji pozostaje 198 pacjentów. W analizie przeżycia całkowitego(OS) i przeżycia wolnego od choroby (DFS) zastosowano model estymaty Kaplana-Meiera. Analiza jest próbą zewnętrznej walidacji nowej klasyfikacji TNM dla chorych leczonych chirurgicznie jednośrodkowo.

Dla całej grupy 5-letnie OS wynosiło 59% (mediana 7,38 lat), 5-letnie DFS 67%.

W nowej klasyfikacji TNM 5-letnie odsetki przeżyć całkowitych i przeżyć wolnych od nawrotu dla poszczególnych stopni zaawansowania wynosiły odpowiednio: IA1 – 100% i 100%; IA2-75% i 83%; IA3-71% i 82%; IB-65% i 77%; IIA-85% i 88%, IIB-43% i 48%; IIIA-50% i 55%; IIIB-43% i 34%; IVA-36% i 40%. Analiza przeżycia dla poszczególnych stopni zaawansowania potwierdziła istotne statystycznie różnice między poszczególnymi stopniami zaawansowania i między dwiema edycjami klasyfikacji TNM raka płuca. Analiza potwierdza zasadność wprowadzonych w 2017 zmian dla chorych leczonych chirurgicznie, wykazując większą dyskryminację rokowania między poszczególnymi stopniami zaawansowania.

Związek wybranych polimorfizmów z rakiem brodawkowatym tarczycy

Kula D¹, Kalemba M¹, Puch Z¹, Jarzab M², Kowalska M¹, Handkiewicz-Junak D¹, Halczok M¹, Tyszkiewicz T¹, Cyplińska R¹, Polańska J³, Jarzab B¹

¹Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej – Curie, Oddział Gliwice

²Klinika Onkologii Klinicznej i Doświadczalnej, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej – Curie, Oddział Gliwice

³Zakład Analizy Eksploracyjnej Danych, Instytut Automatyki, Politechnika Śląska w Gliwicach

Rak brodawkowaty tarczycy (PTC) jest chorobą uwarunkowaną wieloczynnikowo, rozwijającą się na skutek współdziałania czynników środowiskowych, somatycznych zmian w guzie oraz zmian germinalnych. Predyspozycja genetyczna ma charakter wielogenowy, przy czym geny odpowiedzialne za rozwój raka brodawkowatego nie są dobrze poznane.

Celem pracy była analiza związku wybranych polimorfizmów z rakiem brodawkowatym tarczycy.

Materiał do badań stanowiło DNA wyizolowane od 2244 osób chorych na PTC i 1168 osób zdrowych, stanowiących grupę kontrolną. W badanym materiale wykonano oznaczenia pięciu polimorfizmów: rs965513 zlokalizowanego w pobliżu genu FOXE1, rs1867277 i rs1443434 znajdujących się w genie FOXE1, rs944289 zlokalizowanego w pobliżu genu NKX2-1 oraz polimorfizmu rs939348 w genie THRA.

Badania wykonano techniką dyskryminacji alleli na aparacie 7900HT Fast Real-Time PCR System firmy Applied Biosystems.

Wykazano znamienne różnice w rozkładzie genotypów w grupie osób chorych i zdrowych oraz podwyższone wartości OR dla polimorfizmów rs965513 (OR=1,43, $p=2,5 \times 10^{-7}$), rs1867277 (OR=1,59, $p=3,4 \times 10^{-7}$), rs1443434 (OR=1,53, $p=4,4 \times 10^{-6}$) oraz rs944289 (OR=1,52, $p=9,6 \times 10^{-6}$). Dla polimorfizmu rs939348 w genie THRA nie wykazano znamienych różnic w grupie osób chorych i zdrowych. Wnioski. Wykazano związek następujących polimorfizmów z rakiem brodawkowatym tarczycy: rs965513 zlokalizowanego w pobliżu genu FOXE1, rs1867277 i rs1443434 znajdujących się w genie FOXE1 oraz rs944289 zlokalizowanego w pobliżu genu NKX2-1. Polimorfizm rs939348 w genie THRA nie wykazywał związku z rakiem brodawkowatym.

zowanego w pobliżu genu NKX2-1. Polimorfizm rs939348 w genie THRA nie wykazywał związku z rakiem brodawkowatym.

Obrazowanie molekularne MALDI-MSI w klasyfikacji raków tarczycy

M. Gawin¹, M. Pietrowska¹, H.C. Diehl², G. Mrukwa³, M. Kalinowska-Herok¹, M. Chekan¹, J. Elm², G. Drążek³, A. Krawczyk³, D. Lange¹, J. Polańska³, C. Henkel^{2,4}, P. Wiślak¹

¹Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach

²Medizinisches Proteom-Center, Ruhr-University Bochum, Bochum, Germany

³Wydział Automatyki, Elektroniki i Informatyki, Politechnika Śląska, Gliwice

⁴Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften - ISAS - e.V., Dortmund, Germany

Od ponad dekady obserwuje się rosnące zainteresowanie zastosowaniem techniki skaningowej spektrometrii mas z desorpcją/ionizacją laserową wspomaganą matrycą (MALDI-MSI) w badaniach nad rakiem. Jako technika obrazowania molekularnego MSI umożliwia analizę rozmieszczenia przestrzennego różnego rodzaju cząsteczek (np. peptydów, białek, lipidów, ksenobiotyków) w skrawku tkanki w oparciu o zarejestrowane widma mas. Dzięki połączeniu informacji molekularnej z informacją przestrzenną technika MSI może być stosowana jako narzędzie pomocnicze w diagnostyce, prognozowaniu i leczeniu raka uzupełniając wyniki oceny histopatologicznej materiału pooperacyjnego.

W niektórych przypadkach wynik klasyfikacji typu nowotworu jedynie na podstawie oceny cech histopatologicznych jest niejednoznaczny i konieczne jest uwzględnienie markerów molekularnych. Rolę znacznika może również pełnić profil molekularny charakterystyczny dla danego typu raka. W przedstawionych badaniach podjęto próbę klasyfikacji typów raka tarczycy w oparciu o profil peptydowy uzyskany dla preparatów pięciu typów raka tarczycy (ATC, MTC, FTC, PTC-CV, PTC-FV) metodą MALDI-MSI. W tym celu opracowano i zastosowano nowe metody nadzorowanej i nienadzorowanej analizy danych MSI.

Przeprowadzona klasyfikacja umożliwiła w pierwszej kolejności wyodrębnienie ze zbioru danych preparatów rdzeniastego raka tarczycy

(MTC) oraz anaplastycznego raka tarczycy (ATC). Ponadto, udało się wykryć cechy molekularne umożliwiające rozróżnienie pomiędzy pęcherzykowym rakiem tarczycy (PTC) oraz dwoma wariantami raka brodawkowatego (klasycznym, PTC-CV, i pęcherzykowym, PTC-FV).

Mutacje promotora genu *TERT* w raku brodawkowatym tarczycy

Dagmara Rusinek¹, Jolanta Krajewska¹, Aleksandra Pfeifer¹, Małgorzata Oczko-Wojciechowska¹, Agnieszka Czarniecka², Daria Handkiewicz-Junak¹, Agnieszka Pawlaczek¹, Jadwiga Żebracka-Gala¹, Małgorzata Kowalska¹, Renata Cyplinska¹, Ewa Zembala-Nozyska³, Mykola Chekan³, Roman Lamch³, Barbara Jarzab¹

¹Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej

²Klinika Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej

³Zakład Patologii Nowotworów
Centrum Onkologii-Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie,
Oddział w Gliwicach

Wstęp. W raku brodawkowatym tarczycy (RBT) częstość mutacji C228T oraz C250T w promotorze genu *TERT* jest zależna od wariantu histopatologicznego RBT i mieści się w zakresie 7.5-25.5%. Dotychczasowe dane wskazują na związek mutacji promotora genu *TERT* z obecnością mutacji *BRAF* V600E w RBT, a ich współwystępowanie z gorszym rokowaniem. Celem pracy jest retrospektywna analiza chorych z RBT pod kątem wpływu wymienionych czynników molekularnych na przebieg kliniczny choroby oraz oceny mutacji *BRAF* i promotora genu *TERT* jako potencjalnych czynników prognostycznych.

Materiał i Metody: Materiał stanowiło 189 chorych z diagnozą RBT oraz znanym statusem mutacyjnym genu *BRAF*. W grupie tej wykonano oznaczenie mutacji promotora genu *TERT* metodą bezpośredniego sekwencjonowania (3130xl Genome Analyser, Life Technologies), a następnie przeprowadzono szereg analiz statystycznych celem oceny zależności badanych mutacji z wybranymi czynnikami klinicznymi oraz odpowiedzią chorych na leczenie (test Fisher'a, test U Manna-Whitney'a).

Wyniki i wnioski: Mutacje promotora genu *TERT* zostały wykryte w 16/189 PTC (8.5%), z których

najczęstszą była mutacja C228T. Wykazano znamienny statystycznie związek między obecnością mutacji promotora genu *TERT* oraz mutacji *BRAF* V600E. Analiza zależności badanych wydarzeń molekularnych z wybranymi czynnikami klinicznymi wykazała, że współwystępowanie mutacji *BRAF* oraz promotora genu *TERT* jest związane w największym stopniu z czynnikami gorszego rokowania oraz może wiązać się z większym ryzykiem nawrotów. Uwzględnienie oznaczeń mutacji promotora genu *TERT* u chorych z RBT może przyczynić się do lepszej stratyfikacji ryzyka chorych i personalizacji postępowania.

Praca realizowana w ramach projektu NCBiR STRATEGMED (STRATEGMED2/267398 /4/NCBR/2015).

Genomika raka rdzeniastego tarczycy

Małgorzata Oczko-Wojciechowska¹, Aleksandra Pfeifer¹, Małgorzata Kowalska¹, Michał Świerniak⁴, Dagmara Rusinek¹, Agnieszka Pawlaczek¹, Tomasz Tyszkiewicz¹, Jadwiga Żebracka-Gala¹, Monika Kowal¹, Tomasz Gawlik¹, Ewa Chmielik², Barbara Nikiel², Agnieszka Czarniecka³, Jolanta Krajewska¹, Barbara Jarzab¹

¹Zakład Medycyny Nuklearnej i Endokrynologii Onkologicznej,

²Zakład Patologii Nowotworów,

³Klinika Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej,

^{1,2,3}Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie,
Oddział w Gliwicach

⁴Pracownia Medycyny Genomowej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wstęp: Rak rdzeniasty tarczycy (RRT) jest neuroendokrynnym nowotworem złośliwym, wywodzącym się z okołopęcherzykowych komórek. RRT występuje jako postać sporadyczna i dziedziczna, za którą odpowiedzialne są mutacje protoonkogenu *RET*. Większość wykrywanych mutacji znajduje się w określonych miejscach genu (mutacje typu hot-spot) i obserwuje się wyraźną zależność między lokalizacją zmiany w obrębie genu a obserwowanym fenotypem klinicznym (Zespół wielogruczołowy typ 2A oraz typ 2B). Równie częstym wydarzeniem, w guzach sporadycznej postaci RRT, są mutacje somatyczne genów *RAS*.

Cel badania: Celem pracy było porównanie profilu ekspresji genów w zależności od typu mutacji proto-onkogenu RET jak również pomiędzy profilem ekspresji genów charakterystycznym dla mutacji RET oraz mutacji genu RAS.

Materiał i Metody: Analizie poddano 111 fragmentów tkankowych raka rdzeniastego tarczycy (78 analizowano z użyciem mikromacierzy HG 1.0 ST oraz 33 przeanalizowano metodą RT-qPCR). Analizę przeprowadzono w środowisku Bioconductor z zastosowaniem testu T Welch oraz poprawki Benjamini-Hochberg.

Wyniki: Metoda analizy nienadzorowanej nie wykazała silnego źródła zmienności w rakach rdzeniastych tarczycy w zależności od lokalizacji mutacji. Jednakże zastosowanie metody nadzorowanej pozwoliło na wyselekcjonowanie 10 genów różnicujących między lokalizacją mutacji w genie *RET*. W analizie dotyczącej porównanie profilu wzoru ekspresji genów próbek z mutacją *RET* oraz próbek z mutacją *RAS* wyselekcjonowano 61 genów różnicujących (FDR<0,05). Dla 11 genów uzyskano różnicującą ekspresję pomiędzy badanymi grupami.

Wnioski: Profil ekspresji genów w raku rdzeniastym tarczycy jest podobny niezależnie od lokalizacji mutacji w genie *RET*. Również wzór ekspresji genów charakterystyczny dla mutacji *RET* jest zbliżony do profilu ekspresji genów charakterystycznego dla mutacji genu *RAS* w RRT.

Praca częściowo realizowana w ramach projektu NCBiR STRATEGMED (STRATEGMED2/267398 /4/NCBR/2015).

Pierwotne nowotwory grasicy – czynniki prognostyczne.

Magdalena Knetki-Wróblewska

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Synthetic lethality between Vps4A and Vps4B in colorectal cancer

Ewelina Szymańska¹, Paulina Nowak¹, Michał Mikula², Monika Prochorec-Sobieszek², Magdalena Cybulska², Krzysztof Goryca², Edyta Derezińska-Wołek², Agnieszka Paziewska², Michalina Dąbrowska², Anna Szumera-Ciećkiewicz², Marta Miączyńska¹

¹ Międzynarodowy Instytut Biologii Molekularnej i Komórkowej, Warszawa

² Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie

Vps4A and Vps4B, members of the AAA AT-Pase family, are the only enzymes of the ESCRT machinery, which mediates membrane remodeling events. By controlling the release of other ESCRT components from cellular membranes, Vps4 paralogs are involved in a series of key cellular processes such as endocytic cargo sorting, autophagy and cytokinesis. Many recent studies have shown that expression of ESCRT proteins is changed in several human pathologies, including cancers.

Colorectal cancer (CRC) results from an accumulation of genetic changes in colon epithelial cells, which transform them into adenocarcinomas. The majority of CRC have allelic deletions, the four most prevalent of which are localized on chromosomes 5q, 8p, 17p and 18q, the latter containing the *VPS4B* locus.

To assess possible genetic alterations in the *VPS4B* gene in CRC, we performed analysis of TCGA dataset that revealed mono- and biallelic deletions of *VPS4B* at a frequency of 67% and 2% of CRC, respectively. Consequently, we observed significant downregulation of Vps4B mRNA during progression from adenoma to adenocarcinoma. Based on this data, we hypothesize that loss or decreased level of Vps4B make CRC cells exquisitely dependent on the Vps4A activity. In our ongoing studies, we aim to confirm synthetic lethal interactions between Vps4A and Vps4B in CRC cells grown *in vitro* and as xenografts in mice. Moreover, we are investigating which cell death pathway is engaged upon Vps4 depletion.

Mezenchymalne komórki zrębu (MSC) jako nośniki genu IL-12 w terapii myszy z czerniakiem B16-F10 i przerzutami

Natalia Kułach^{1,2}, Ryszard Smolarczyk¹,
Magdalena Jarosz-Biej¹, Tomasz Cichoń¹,
Marek Rusin¹, Ewelina Pilny^{1,3}, Stanisław Szala¹

¹Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Centrum Onkologii –Instytut w Gliwicach

²Katedra Fizjologii Zwierząt i Ekotoksykologii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Śląski w Katowicach

³Katedra Chemii Organicznej, Bioorganicznej i Biotechnologii, Wydział chemiczny, Politechnika Śląska w Gliwicach

Mezenchymalne komórki zrębu (MSC) mogą być wykorzystane w terapii przeciwnowotworowej, dzięki następującym cechom: MSC (1) wykazują silny tropizm do komórek nowotworowych oraz (2) są uprzywilejowane immunologicznie, przeszczepione, nie wywołują odpowiedzi immunologicznej w tkance gospodarza (3) podane do krwiobiegu lokalizują się w płucach. Komórki MSC wykorzystano jako nośniki genu przeciwnowotworowego białka interleukiny 12 (IL-12) w terapii myszy obciążonych czerniakiem B16-F10. IL-12 jako mediator stanu zapalnego współdziała z wieloma komórkami układu odpornościowego. Cytokina ta wywołuje silną odpowiedź immunologiczną skierowaną przeciwko komórkom nowotworowym. IL-12 działa również jako czynnik antyangiogeny.

Komórki wyizolowano ze szpiku kostnego myszy, oznaczono ich fenotyp, zbadano potencjał do różnicowania oraz zdolność do migracji. Gen IL-12 wprowadzono do komórek MSC za pomocą wektorów adenowirusowych.

Zaobserwowano (1) zahamowanie wzrostu guzów czerniaka po śródskórnym podaniu modyfikowanych komórek MSC (2) ograniczenie liczby przerzutów w grupie myszy, którym podano modyfikowane komórki MSC (3) zmniejszenie liczby naczyń w guzach po śródskórnym podaniu komórek MSC (4) zwiększenie udziału prozapalnych makrofagów M1 w populacji makrofagów izolowanych z guzów po podaniu modyfikowanych komórek MSC.

Efekty terapeutyczne są więc wynikiem (1) specyficznej migracji komórek MSC do nowotworu i uwalniania białka IL-12, (2) pleiotropowego (prozapalnego i antyangiogenego) działania IL-12 (3) oraz polaryzacji

mikrośrodowiska komórek nowotworowych na prozapalne i antyangiogenne.

SESJA V

Porównanie przewidywania odpowiedzi na chemioterapię neoadjuwantową a priori i a posteriori na podstawie wyników badań molekularnych i obrazowych - projekt NCBiR MILESTONE

Michał Jarzab

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Czynniki prognostyczne w guzach jajnika o granicznej złośliwości i implikacje kliniczne.

Piotr Sobiczewski

The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center, Institute of Oncology, Gynecologic Oncology Department

Borderline ovarian tumors account for about 20% of all ovarian tumors and are a heterogeneous group of neoplasm. Most of them are of serous histology, less common are mucinous tumors, while endometrioid, Brenner or clear cell pattern occurs rarely. The serous tumors are often associated with cystadenoma or adenofibroma, usually are confined to the ovary with mostly indolent course, nevertheless about 6-7% may progress to low grade serous carcinoma.

More aggressive course may be associated with some clinical factors: bilaterality of the tumor, ovarian surface involvement, clinical advanced stage of the disease (FIGO), residual disease due to non radical operation, incomplete staging. Controversies exists about some histologic factors and its prognostic value: micropapillary/ cribriform pattern, the presence of stromal microinvasion, lymph node involvement and endosalpingiosis. The type of extraovarian disease with especially invasive implants are the most important prognostic factors and were confirmed in many papers.

Moreover the fertility sparing surgery in young women is related to elevated risk of local recurrence.

Furthermore, on the basis of morphologic and molecular genetic studies the dualistic model of

ovarian carcinogenesis was proposed. According to this concept, different types of ovarian cancer are grouped into two categories designated type I and II. Type I tumors comprise low grade serous, mucinous, endometrioid and clear cell carcinomas. The molecular analysis of these tumors showed mutation in KRAS, BRAF, PTEN, that may perturb the signaling pathway. These molecular alterations resulting in morphologic changes led to the concept of continuum of carcinogenesis route from cystadenoma through borderline tumors to low grade carcinoma. BRAF mutation is the more common found mutation in ovarian serous borderline tumors and low grade carcinoma with probably important protective role from progression. KRAS mutation are commonly detected in borderline tumors that recurs to low grade serous carcinoma.

In the future, molecular examination may provide additional prognostication for women with borderline tumors.

Zmiany molekularne w morfologicznie prawidłowych komórkach endometrium u chorych na raka trzonu macicy.

Jan Konrad Siwicki

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

W niektórych nowotworach złośliwych wykazano istotne klinicznie zmiany molekularne w morfologicznie prawidłowych komórkach tkanek, które otaczają guz, jednak dane dotyczące raka trzonu macicy są w tym zakresie bardzo ograniczone.

Celem naszych badań była analiza poziomu ekspresji wybranych genów w guzach pierwotnego raka trzonu macicy, w morfologicznie prawidłowym endometrium z okolicy tych guzów oraz w endometrium pacjentek bez nowotworu.

Materiał kliniczny stanowiły pary świeżo mrożonych próbek z guzów pierwotnego raka trzonu macicy i z okolicznego, morfologicznie prawidłowego endometrium oraz próbki endometrium od pacjentek bez nowotworu. Poziom ekspresji genów oceniano za pomocą RT-qPCR. Analizę statystyczną wykonano z użyciem testu rangowanych znaków Wilcoxon'a oraz testu sumy rang Manna-Whitney'a.

Stwierdziliśmy, że poziom ekspresji MYC, NR5A2, CXCR2, TWIST1, STK11 oraz SNAI1 w guzach raka trzonu macicy był znacznie niższy, niż w endometrium z okolicy tych guzów. Ponadto, w endometrium z okolicy guza poziom ekspresji MYC, NR5A2, CXCR2 oraz HMGA2 był znacznie wyższy, niż w endometrium od pacjentek bez nowotworu. Natomiast, zaobserwowaliśmy zbliżony poziom ekspresji TWIST1 i STK11 w endometrium z okolicy guza i w endometrium od pacjentek bez nowotworu oraz zbliżony poziom ekspresji MYC w guzach raka trzonu macicy i w endometrium od pacjentek bez nowotworu.

Nasze dane wskazują, że w raku trzonu macicy: 1/ w morfologicznie prawidłowym endometrium z okolicy guza występują wyraźne zaburzenia ekspresji ważnych regulatorów „macierzystości” i/lub EMT oraz metabolizmu, przy czym w endometrium z okolicy guza poziom ekspresji większości badanych genów był znacznie wyższy, niż w guzach; 2/ nowe terapie przeciwnowotworowe powinny brać pod uwagę zarówno obszar guza, jak i jego okolice; 3/ w raku trzonu macicy morfologicznie prawidłowe endometrium z okolicy guza nie jest właściwym odniesieniem w poszukiwaniu zmian molekularnych w komórkach tego nowotworu.

Poziom wybranych białek w guzie a ryzyko progresji u chorych na płaskonabłonkowego raka sromu

Fatalska A¹, Domański D¹, Olędzki J¹, Goryca K², Kowalski K³, Bakula-Zalewska E⁴, Rusetska N⁵, Misiek M⁶, Wroblewska A⁷, Radziszewski J^{8,9}, Bidzinski M^{10,11}, Kowalik A¹², Zalewski K^{5,6,13}, Kowalewska M^{5,14,@}

¹Środowiskowe Laboratorium Spektrometrii Mas, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa;

²Zakład Genetyki, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa;

³Zakład Cytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa;

⁴Zakład Patologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa;

⁵Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa;

⁶Klinika Ginekologii, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce;

⁷Szpital Specjalistyczny im. Świętej Rodziny, Warszawa;

⁸Wydział Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach;

⁹Oddział Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej i Onkologicznej, Międzyleski Szpital Specjalistyczny, Warszawa;

¹⁰Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa;

¹¹Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Kielce;

¹²Zakład Diagnostyki Molekularnej, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce;

¹³Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej, II Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa;

¹⁴Zakład Immunologii, Biochemii i Żywności, Warszawski Uniwersytet Medyczny.

magdalena.kowalewska@coi.waw.pl

Wstęp. Obecność przerzutów do węzłów chłonnych pachwinowych uznana jest obecnie za najważniejszy czynnik prognostyczny u chorych operowanych z powodu raka sromu (RS) we wczesnych stadiach zaawansowania. Jednakże zarówno kliniczną, jak i histopatologiczną ocenę stanu regionalnych węzłów chłonnych cechuje niska czułość i swoistość. Z tego powodu istnieje pilna potrzeba znalezienia odpowiednich narzędzi do lepszej stratyfikacji chorych na RS. Obecnie próby zastosowania koncepcji markerów nowotworowo swoistych do celów prognostycznych pozostają utrudnione przez słabe poznanie biologii molekularnej RS.

Cel. Celem badania była identyfikacja białek i ścieżek biologicznych odpowiedzialnych za progresję płaskonabłonkowego RS.

Materiały i Metody. Materiał badawczy stanowiły próbki guzów RS we wczesnym stadium zaawansowania uzyskane od chorych, u których odnotowano progresję podczas obserwacji (próbki „progVC”) oraz od chorych z długim, średnio 10-letnim, czasem przeżycia bez choroby (“d-fVC”). Białka różnicujące swoim poziomem próbki guzów progVC od próbek d-fVC wytypowano z zastosowaniem wielkoskalowej proteomicznej metody (iTRAQ). Następnie wyniki walidowano przy użyciu celowanej metody proteomicznej (PRM) oraz immunohistochemii (IHC) w celu precyzyjnej oceny poziomu białek, jako kandydackich markerów progresji, w badanym materiale.

Wyniki. W analizowanych próbkach zidentyfikowano 5510 białek. Analiza *Gene Ontology* (GO) białek różnicujących poziomem ekspresji guzy "progVC" i "d-fVC" wskazała na odpowiedź ze strony układu odpornościowego jako najbardziej nadreprezentowaną kategorię GO. Spośród białek zidentyfikowanych w eksperymencie iTRAQ do walidacji wybrano 47 potencjalnych markerów progresji. Korelacja wyników walidacji metodami PRM oraz IHC z danymi klinicznymi wykazała, że HMGA2, ANO1, PRTN3, UBE2C, ABI3BP i PRELP należy uznać za potencjalne markery białkowe do przewidywania progresji RS.

Wnioski. Deregulacja poziomu sześciu zidentyfikowanych białek w guzie jest związana z agresywnym fenotypem RS. Wyniki wymagają prospektywnej weryfikacji w celu oceny możliwości zastosowania markerów IHC w rutynowej diagnostyce, jako obiecującego narzędzia do optymalizacji leczenia RS. Dalsza analiza ścieżek biologicznych zaangażowanych w progresję RS może dostarczyć nowych celów do chemioterapii w RS.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2013/10/E/NZ5/00663 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Poszukiwanie biomarkerów wrażliwości na nowy inhibitor FGFR

Katarzyna Lisowska, Katarzyna Kujawa,
Magdalena Olbryt, Alexander Cortez,
Patrycja Tudrej

Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej
Nowotworów, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii
Sklódowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Receptor czynnika wzrostu fibroblastów (ang. Fibroblast Growth Factor Receptor, FGFR) ulega dość częstym aberracjom w nowotworach płuca (ok. 20% przypadków), żołądka i pęcherza moczowego. Aberracje mają najczęściej postać amplifikacji genu FGFR, ale występują także przypadki mutacji FGFR czy fuzji FGFR z sekwencjami warunkującymi nieswoistą aktywność jego ekspresji.

Hamowanie aktywności FGFR jest potencjalną strategią terapeutyczną dla tych pacjentów, których nowotwory są zależne od aberracji FGFR. Polska firma farmaceutyczna Celon Pharma SA opracowała nowy, wydajny i swoisty inhibitor FGFR, który jest obecnie przygotowywany do fazy badań klinicznych. Równocześnie, trwają badania mające na celu scharakteryzowanie szlaków sygnałowych indukowanych bądź hamowanych pod wpływem działania inhibitora na komórki nowotworowe. Wśród genów/białek tych szlaków sygnałowych poszukuje się potencjalnych biomarkerów, które mogą posłużyć do identyfikacji podgrupy chorych, którzy odniosą korzyść z terapii anty-FGFR oraz tych chorych, u których terapia nie będzie skuteczna.

Badania są prowadzone w ramach wielośrodkowego projektu finansowanego wspólnie przez Celon Pharma SA i Narodowe Centrum Badań i Rozwoju (projekt Strategmed II).

Oznaczanie profilu mutacji somatycznych w płaskonabłonkowym raku sromu metodą NGS.

Artur Kowalik^{1@}, Sebastian Zięba¹,
Kamil Zalewski^{2,3,4}, Natalia Rusetska⁴, Marcin
Misiek², Elwira Bakula-Zalewska⁵, Janusz
Kopczyński⁶, Kamil Kowalski⁷, Jakub
Radziszewski^{8,9}, Mariusz Bidziński¹⁰, Stanisław
Gózdź^{11,12}, Magdalena Kowalewska^{4,13}.

¹Zakład Diagnostyki Molekularnej, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce

²Klinika Ginekologii, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce

³Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobięcych i Ginekologii Onkologicznej, II Wydział Lekarski, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

⁴Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

⁵Zakład Patologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

⁶Zakład Patologii Nowotworów, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce

⁷Zakład Cytologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Warszawa

⁸Oddział Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej i Onkologicznej, Międzyleski Szpital Specjalistyczny, Warszawa

⁹Wydział Przyrodniczy, Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach

¹⁰Klinika Ginekologii Onkologicznej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

¹¹Klinika Onkologii Klinicznej, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce

¹²Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, Kielce

¹³Zakład Immunologii, Biochemii i Żywienia, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

arturko@onkol.kielce.pl

Wstęp. Rak sromu (RS) jest rzadkim nowotworem złośliwym narządów płciowych kobiecych, stanowiącym 4% zachorowań na nowotwory narządu rodnego. Płaskonabłonkowy rak sromu można podzielić na dwa podtypy: podtyp zależny od infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego (Human Papillomavirus, HPV) stanowiący ponad 30% przypadków oraz HPV-niezależny. Z uwagi na niską zachorowalność oraz brak kompleksowej analizy molekularnej, mechanizm karcynogenezy RS pozostaje słabo poznany.

Cel. Głównym celem niniejszego projektu było zgłębienie wiedzy na temat etiopatogenezy RS poprzez identyfikację zmian genetycznych – mutacji i polimorfizmów – w guzach RS HPV+ oraz HPV-.

Materiał i Metody. Materiał badawczy stanowiło DNA otrzymane z 83 próbek guzów

płaskonabłonkowego RS. Próbkę badano pod kątem obecności onkogennych subtypów HPV (hrHPV). W kolejnym etapie pracy za pomocą metody sekwencjonowania następnej generacji (NGS) i zestawu *Cancer Hotspot Panel v2 Kit* (Thermo Fisher Scientific) badano obecność mutacji w najczęściej zmutowanych w nowotworach 50 onkogenach oraz genach supresorowych,

Wyniki. Obecność hrHPV(+) wykryto w 64% (53/83) badanych próbek. Wykryliśmy mutacje w obu analizowanych grupach, hrHPV(+) and hrHPV(-), najwięcej przypadków zawierało mutacje w genach *TP53* (odpowiednio 45% i 40%) oraz w *CDKN2A* (p16) (odpowiednio 17% i 13%). W pozostałych genach, w których wykryto mutacje w znacznie mniejszym odsetku przypadków to *PIK3CA*, *FBXW7*, *HRAS*, *FGFR3*, *STK11*, *AKT1*, *SMAD4*, *FLT3*, *JAK3*, *GNAQ* i *PTEN*. Profil zidentyfikowanych mutacji wskazuje na aktywację szlaku PI3K/AKT/mTOR w RS. Ekspresję białka mTOR w guzach RS potwierdzono immunohistochemicznie.

Wnioski. Uzyskane wyniki wskazują na wspólny tor mutacyjny w obu podtypach RS, czyli tor wydaje się być niezależny od infekcji hrHPV. Wykazany istotny udział szlaku PI3K/AKT/mTOR w biologii RS, dostarcza przesłanki dla wprowadzenia nowych celów terapeutycznych, sugerując korzyść stosowania obecnie dostępnych inhibitorów kinazy mTOR w leczeniu chorych na ten rzadki nowotwór. Jednocześnie wykrycie mutacji jedynie w 13 spośród 50 badanych genów wskazuje na potrzebę kontynuacji i rozszerzenia badań genetycznych RS.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2013/10/E/NZ5/00663 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki

Kontrola jakości w radioterapii protonowej

Dawid Krzempek, Barbara Michalec, Tomasz Kajdrowicz, Renata Kopec

Instytut Fizyki Jądrowej PAN, Kraków

Radioterapia protonowa jest obecnie jedną z najbardziej precyzyjnych technik radioterapii wykorzystujących promieniowanie jonizujące. Główną zaletą radioterapii protonowej jest

możliwość precyzyjnego dostarczenia wysokich dawek promieniowania do zmian nowotworowych przy jednoczesnym oszczędzeniu tkanek zdrowych.

W Instytucie Fizyki Jądrowej PAN w Krakowie wybudowane zostało pierwsze w Polsce stanowisko do radioterapii protonowej nowotworów oka, na którym rozpoczęto terapię w 2011 roku. Od listopada 2016 roku pacjenci napromieniani są na dwóch stanowiskach gantry, dedykowanych do leczenia nowotworów zlokalizowanych również poza narządem wzroku (przy cyklotronie Proteus C-235, IBA). Pacjenci napromieniani są zgodnie ze wskazaniami Ministra Zdrowia.

Na stanowiskach gantry możliwe jest wykorzystanie skanującej wiązki protonowej do radioterapii nowotworów zarówno u dorosłych pacjentów, jak i u dzieci. Radioterapia protonowa odbywa się we współpracy z Centrum Onkologii - Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddziału w Krakowie. Proces napromieniania rozpoczyna się po wykonaniu unieruchomień, skanów tomograficznych, planów leczenia oraz weryfikacji dozymetrycznej (kontroli jakości) planu terapeutycznego. Rutynowym testom kontroli jakości poddawane są również stanowiska gantry, ich podzespoły oraz sprzęt dozymetryczny.

Powikłania sercowo-naczyniowe związane z zastosowaniem nowych leków w immunoterapii

Przemysław Leszek

Instytut Kardiologii im. Prymasa Tysiąclecia Stefana Kardynała Wyszyńskiego

Terapie immunologiczne stanowią milowy krok w walce z nowotworami. Preparaty modyfikujące działanie receptorów (CTLA-4; PD-1; PD-L1) w komórkach odpornościowych, włączonych w niszczenie komórek rakowych, o silnej aktywności przeciwnowotworowej, są coraz częściej stosowane w leczeniu nowotworów. W efekcie ich działania obserwujemy zwiększoną aktywację układu odpornościowego, która poza pożądanymi efektami terapeutycznymi, może zwiększyć ryzyko wystąpienia działań niepożądanych. Opierając się na dostępnych danych medycznych zgłaszanych w badaniach klinicznych wiemy, że leki z tej grupy mogą powodować efekty

kardiotoksyczne pod postacią zapalenia mięśnia sercowego, niewydolności serca i zaburzeń przewodzenia. Wczesne postawienie rozpoznania, przeprowadzenie adekwatnej diagnostyki i włączenie skutecznego leczenia stanowi poważne wyzwanie kliniczne. Stąd też istnieje potrzeba długotrwałego monitorowania toksyczności sercowo-naczyniowej w tej grupie chorych. W prezentacji przedstawione zostaną możliwości i ograniczenia diagnostyki i leczenia kardiologicznego powikłań sercowo-naczyniowych, powstałych w trakcie stosowania nowych rodzajów immunoterapii.

Zastosowanie technik chirurgii rekonstrukcyjnej w leczeniu operacyjnym miejscowo zaawansowanych mięsaków tkanek miękkich i kości.

Maciej Grajek

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie,
Oddział w Gliwicach

SESJA VI

The SNF5-type subunit of SWI/SNF chromatin remodeling complex as a potential therapeutic target

Elzbieta Sarnowska¹, Jaroslaw Steciuk², Michal Szymanski³, Nataliia Rusetska¹, Marcin Ligaj⁴, Iga Jancewicz¹, Pawel Cwiek², Marta Skrodzka⁵, Marcin Leszczynski¹, Joanna Szarkowska¹, Monika Ciesla², Anna Rolicka², Alicja Chrzan⁴, Malgorzata Stachowiak¹, Anna Maassen², Lech Galek⁵, Tomasz Demkow³, Janusz A Siedlecki¹, Tomasz J Sarnowski²

¹Department of Molecular and Translational Oncology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland;

²Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland;

³Department of Uro-oncology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland;

⁴Department of Pathology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland;

⁵Department of Urology, Hospital of Ministry of Interior, Białystok, Poland.

The SWI/SNF- type ATP-dependent chromatin remodeling complexes (CRCs) are conserved from fungi to mammals and plants. SWI/SNF

CRCs regulate the DNA accessibility by control of chromatin structure, activity and organization. The SWI/SNF impairment causes embryo lethality or severe defects in development, including carcinogenesis in animals. Recent study indicated that SWI/SNF complexes play important role in control of various regulatory processes like i.e. hormone signaling pathways and their crosstalk in both human and *Arabidopsis*. Furthermore, it has been reported that different classes of SWI/SNF complexes are involved in regulation of specific processes.

In yeast, the core of the SWI/SNF complex consists of SWI2/SNF2 subunit with ATPase activity, two SWI3-type proteins and one SNF5 protein. In humans, mutations in *SMARCB1*, the gene coding for SNF5/INI1/BAF47 homologue lead to the formation of extremely aggressive rhabdoid tumors. As both human and *Arabidopsis* SNF5 type proteins are encoded by a single gene this subunit is likely the ideal marker of any SWI/SNF complex, however there are reports suggesting the existence of SWI/SNF complexes without INI1 in some types of cancer. Here we show, using combined multidirectional approach, including molecular biology and cytology methods, classical genetics approaches and two models-*Arabidopsis* and human that the role of SNF5-type subunit is far more complicated as it was believed. We found that the loss of INI1 protein may be one of primary reasons for clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) development but not for rhabdoid ccRCC. Furthermore, our genetic approaches demonstrated that indeed the *Arabidopsis* SNF5-type is not an essential subunit of SWI/SNF complex. Summarizing, our results show not only an important role of SNF5 protein in carcinogenesis but also indicate this subunit as a perfect potential therapeutic target for approaches based on i.e. synthetic lethality.

This project was supported by the National Science Center grant No.

UMO-2014/13/B/NZ2/01187

BRCA1 w jasnokomórkowym raku nerki

Sarnowska E.¹, Rusetska N.¹, Szymanski M.²,
Leszczynski M.¹, Szarkowska J.¹,
Stachowiak M.¹, Jancewicz I.¹,
Chmielarczyk M.¹, Konopinski R.¹, Chrzan A.³,
Ligaj M.³, Demkow T.², Maassen A.⁴, Zieba S.⁵,
Kalisz J.⁵, Kowalik A.⁵, Skrodzka M.⁶,
Sarnowski T.J.⁴, Siedlecki J.A.¹

¹Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

²Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

³Zakład Patologii, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

⁴Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

⁵Zakład Diagnostyki Molekularnej, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce

⁶Samodzielny Publiczny Zakład Opieki Zdrowotnej Ministerstwa Spraw Wewnętrznych i Administracji, Białystok

Jasnokomórkowy rak nerki (ccRCC) stanowi około 75% przypadków nowotworów nerki u osób dorosłych. Charakteryzuje się on akumulacją lipidów, mutacją w genach *VHL*, *BAP1* i *PBRM1* jak również stabilizacją czynnika transkrypcyjnego indukowanego hipoksją HIF1. Dodatkowo w ccRCC obserwuje się przełączenie metaboliczne w kierunku glikolizy tlenowej, rozregulowanie cyklu Krebsa, hiperaktywację szlaku mTOR oraz obniżenie aktywności AMPK, która jest głównym kontrolerem stanu metabolicznego komórki. Ten typ nowotworu jest oporny na klasyczną chemioterapię.

BRCA1 jest supresorem procesu nowotworzenia, a mutacje w genie *BRCA1* są zasocjowane z podwyższonym ryzykiem zachorowania na raka piersi i jajnika. Ponadto BRCA1 jest zaangażowany w proces naprawy DNA jak również oddziałuje z podjednostką ATPazową kompleksu SWI/SNF - białkiem BRG1. Z genem *BRCA1* sąsiaduje *NBR2*, kodujący długi niekodujący RNA (lncNBR2). Geny te mają wspólny, dwukierunkowy promotor. Co ciekawe, lncNBR2 oddziałuje z AMPK a jego ilość jest znacząco obniżona w komórkach jasnokomórkowego raku nerki. W naprawę DNA zależną od szlaku BRCA1 zaangażowane jest również białko CTCF, które jest białkiem insulatorowym utrzymującym tzw. Topologicznie Asojujące Domeny.

Metody

Immunohistochemiczna ocena ilości białek CTCF, BRCA1 oraz BRG1 w próbkach klinicznych ccRCC. Ocena pozycjonowania nukleosomów na promotorze BRCA1/NBR2 za pomocą trawienia nukleazą z *Micrococcus* i PCR.

Wyniki

Nasze badania wykazały znacząco obniżoną ilość białek BRCA1, CTCF i BRG1 w komórkach jasnokomórkowego raku nerki w porównaniu z tkanką zdrową. Zaobserwowano, że utrata BRG1 była silniejsza w próbkach o wyższym stopniu złośliwości. Wykazano również, że ekspresja *BRG1* mierzona ilością transkryptu była obniżona w ccRCC, natomiast ilość transkryptu *BRCA1* nie uległa zaburzeniu w tym typie raka. Co ciekawe, nadekspresja BRG1 powodowała zwiększenie ilości białka CTCF, co może świadczyć o bezpośredniej regulacji ekspresji genu CTCF przez kompleks SWI/SNF.

Wnioski

Białka BRCA1, BRG1 i CTCF współdziałają ze sobą a ich funkcja jest rozregulowana w jasnokomórkowym raku nerki. Rozregulowanie to może powodować szereg zaburzeń takich jak zmiany w strukturze 3D chromatyny, zmiany transkryptomocne oraz epigenetyczne.

Projekt finansowany przez narodowe Centrum Nauki (NCN) 2013/11/B/NZ2/00132 JAS.

mikroRNA w raku nerkowokomórkowym typu jasnokomórkowego: wpływ na progresję choroby

Agnieszka Piekietko-Witkowska

Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej
Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego
Email: apiekietko@cmkp.edu.pl

Renal cell cancer (RCC) is the most frequent subtype of renal tumours affecting nearly 300,000 patients worldwide. Most of RCC cases (80-90%) are classified as clear cell RCC (ccRCC). 25%-30% ccRCC patients present metastasis at the time of diagnosis. Metastatic ccRCC is highly resistant to chemo- and radiotherapy. Targeted therapies involving inhibitors of key molecular pathways involved in angiogenesis prolong patients life by only median of 30 months.

microRNAs are short, non-coding RNAs that bind to complementary (or partially complementary) sites in target transcripts to attenuate translation or induce mRNA degradation. By affecting the expression of tumour suppressors and oncogenes, microRNAs can contribute to the process of carcinogenesis and influence cancerous proliferation, migration, invasion, and resistance to chemotherapy. According to several studies, the expressions of multiple microRNAs are dysregulated in ccRCC. The most frequently studied include miR-21, miR-200 or miR-210 of which altered expressions correlate with poor survival of ccRCC patients. Mechanistically, microRNAs can affect progression of ccRCC by robust regulation of genes involved in cellular adhesion: an important processes involved in all key steps of metastatic cascade. microRNAs involved in the regulation of adhesion of ccRCC cells include miR-25-3p, miR-30a-5p, miR-328 and miR-363-3p that are capable of direct targeting of COL5A1, COL11A1, ITGA5, MMP16 and THBS2. microRNAs aberrantly expressed in ccRCC contribute also to the functioning TGF- β 1, a key cytokine that contributes to cancer progression. In summary, microRNAs should be taken into consideration as potential prognostic markers in progression of ccRCC. The result of functional in vitro and in vivo studies suggest that microRNAs present also potential as possible targets of future anti-cancer therapies.

Szczególne problemy w leczeniu celowanym raka nerki

Paweł Wiechno

Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Rak nerki jest pod względem zapadalności 14. najczęstszym nowotworem na świecie. W Polsce wśród nowotworów złośliwych rak nerki stanowi u mężczyzn około 4% zachorowań i 3% zgonów, u kobiet - odpowiednio -3% i 2%. Od lat trwa debata na temat znaczenia leczenia chirurgicznego guza pierwotnego u chorych, u których wszystkie zmiany nowotworowe nie mogą być usunięte. Znaczenie nefrektomii cytoredukcyjnej w dobie nowoczesnych terapii jest niepewne.

Istnieją sytuacje kliniczne, kiedy istnieją wątpliwości co do skuteczności leczenia systemowego. Pacjenci z nowotworem o innej histologii niż rak jasnokomórkowy należą do mniejszości chorych z rakiem nerkowokomórkowym. Nieliczne dane pochodzą z badań III fazy. Dodatkowe informacje dotyczące leczenia tych chorych płyną jednak z badań szerokiego dostępu. Potwierdzają one efektywność leczenia systemowego w tej grupie chorych. Obecność przerzutów do mózgu pogarsza rokowanie. Leki przenikają barierę krew-mózg w ograniczonym zakresie. Jednak leczenie systemowe chroni częściowo populację pacjentów z przerzutowym rakiem nerkowokomórkowym przed pojawieniem się zmian w ośrodkowym układzie nerwowym a badania szerokiego dostępu potwierdzają korzyści kliniczne u chorych z już obecnymi przerzutami do mózgu.

Badania dotyczące znaczenia leczenia uzupełniającego nefrektomię przynoszą rozbieżne rezultaty, trudne do interpretacji. Przyczyną tego są przede wszystkim różne kryteria kwalifikacji do leczenia.

Lekarz leczący pacjentów z rakiem nerkowokomórkowym powinien doskonale znać działania niepożądane, które mogą wystąpić w trakcie leczenia. Konieczna jest także znajomość środków zapobiegawczych oraz właściwego postępowania w razie ich wystąpienia, gdyż redukcja dawek leków oraz przerywanie leczenia może być pomocne u chorych, u których pojawiły się działania niepożądane, jednakże liczni autorzy donoszą o związku pomiędzy intensywnością dawki a odpowiedzią na leczenie. Zatem zmniejszanie intensywności leczenia u chorych z uogólnionym rakiem nerkowokomórkowym nie powinno być postrzegane jako pierwsze z działań, które należy podjąć.

Profil ekspresji wybranych genów w zaawansowanym raku pęcherza.

Szymański M.^{1*}, Sarnowska E.^{2*}, Ornoch A.², Rusetska N.², Zdanovich A.², Abramowicz S.², Chrzan A.³, Ligaj M.³, Maassen A.⁴, Demkow T.¹, Siedlecki J.A.², Sarnowski T.J.⁴

¹Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

²Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

³Zakład Patologii, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁴Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk w Warszawie

Wstęp

Rak pęcherza moczowego pochodzący z nabłonka wyściełającego pęcherz jest jednym z częstszych nowotworów. W Polsce u mężczyzn zajmuje on trzecie miejsce pod względem występowania. Różne czynniki, takie jak defekty genetyczne i molekularne, pojawianie się różnych nowotworów w rodzinie, wcześniejsze zaburzenia układu moczowo-płciowego i ekspozycja na związki chemiczne są potencjalnymi przyczynami wystąpienia tego typu nowotworów.

Materiały i metody

Do badania włączono 25 pacjentów z zaawansowanym nowotworem pęcherza moczowego poddanych cystektomii radykalnej w Klinice Nowotworów Układu Moczowego w Centrum Onkologii w Warszawie. Za pomocą metody immunohistochemii przeprowadzono badanie ilości białek BRCA1, CTCF oraz podjednostek kompleksu SWI/SNF w próbkach pochodzących z nowotworu w porównaniu do zdrowego urotelium.

Wyniki

Analiza ekspresji podjednostek kompleksu SWI/SNF wykazała znaczne zmniejszenie ilości podjednostek rdzeniowych (INI1, BRM oraz BAF155) w próbkach klinicznych raka pęcherza moczowego. Co ciekawe, ilość białek BRCA1 i CTCF była znacząco podwyższona w komórkach raka w porównaniu do tkanki zdrowej. W związku z wcześniejszymi obserwacjami wskazującymi na to, że kompleks SWI/SNF oddziałuje w komórkach ludzkich z kluczowymi białkami zaangażowanymi w kontrolę stanu energetycznego i metabolizmu glukozy

przeprowadzono ocenę ilości tych enzymów w komórkach nowotworowych za pomocą IHC. Analiza ta wykazała zaburzenia w ilości tych enzymów w komórkach nowotworowych w porównaniu do prawidłowego nabłonka pęcherza moczowego.

Wnioski

W zaawansowanym raku pęcherza moczowego następuje znaczące zmniejszenie ilości podjednostek rdzeniowych kompleksu SWI/SNF, który m.in. bierze udział w naprawie DNA, natomiast białka BRCA1 i CTCF zaangażowane w ten proces są nadreprezentowane w komórkach guza. Dalsze analizy wykazały, że zaburzenia ekspresji genów kodujących podjednostki kompleksu SWI/SNF mają znamienny wpływ na czas przeżycia chorych z nowotworem pęcherza moczowego naciekającym mięśniówkę w porównaniu z nowotworem nienaciekającym mięśniówki.

Finansowanie: Narodowe Centrum Nauki (NCN) UMO-2014/13/B/NZ2/01187 (TJS)

Dawki ablacyjne w miejscowym leczeniu raka stercza.

Piotr Wojcieszek

Zakład Brachyterapii, COI Gliwice

Rozwój technik radioterapii w ostatnich latach pozwolił na wprowadzenie do postępowania terapeutycznego dawek ablacyjnych. Zarówno w brachyterapii, jak i radioterapii wykorzystuje się dawki frakcyjne przekraczające 7 Gy. Dzięki temu leczenie jest krótkie, a jednocześnie bezpieczne. W Centrum Onkologii – Instytucie w Gliwicach wykorzystuje się schematy ablacyjne zarówno przy użyciu technik stereotaktycznych, jak i w brachyterapii śródkankowej.

Materiał i metoda:

Do analizy wybrano pacjentów z histopatologicznie potwierdzonym rakiem stercza leczonych z wykorzystaniem dawek ablacyjnych w CO-I Gliwice. Włączono chorych z perspektywnych badań klinicznych. Dodatkowo analizie poddano chorych ze wznową po niepowodzeniu radykalnej radioterapii (3x10 Gy). Do określenia wznowy biochemicznej użyto kryterium Phoenix. Zastosowano testy Wilcozona oraz Kruskal-Wallis w celu ustalenia różnic pomiędzy podgrupami. Wykonano również analizę Kaplana-

Meiera oraz test log-rank celem estymacji wyleczeń biochemicznych.

Wyniki:

Mediana obserwacji dla CyberKnife, brachyterapii samodzielnej oraz boost wyniosła odpowiednio 19, 16 oraz 36 miesięcy. Ostry odczyn ze strony przewodu pokarmowego był obserwowany znamienne częściej w podgrupach chorych leczonych przy użyciu CyberKnife oraz brachyterapii boost (p-.02). Dwuletni odsetek chorych bez wznowy biochemicznej był nieco wyższy w podgrupach wykorzystujących brachyterapię, jednak bez statystycznej znamienności.

Mediana obserwacji dla brachyterapii ratującej wynosiła 52 miesiące. Trzy- i pięcioletnie przeżycia całkowite wyniosły odpowiednio 93% i 86%. Trzy- i pięcioletnie wyleczenia biochemiczne wyniosły odpowiednio 78% i 53%. Późny odczyn popromienny ze strony układu moczowego wymagający interwencji urologicznej był obserwowany u około 13% chorych. Poza tym większych powikłań nie obserwowano.

Wnioski:

Zastosowanie dawek ablacyjnych w leczeniu raka stercza jest leczeniem skutecznym i bezpiecznym, zarówno w przypadku chorych z pierwotnym rozpoznaniem oraz ze wznową.

of own and collaborative scientific research.

Implementation of next generation sequencing from a perspective of basic science research laboratory

Michal Mikula¹

¹Laboratory of Highthroughput Technologies, Department of Genetics, Maria Sklodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw branch

The introduction of next generation sequencing (NGS) a decade ago is continuously changing the landscape of biomedical research and diagnostics. This impact appears certain to increase further as many biomedical institutions are now acquiring this technology to keep the pace with scientific progress and molecular diagnostics needs. The NGS has been applied in a variety of applications including whole-genome and whole-exome sequencing, targeted re-sequencing, the discovery of chromatin associated protein binding sites and RNA expression profiling to name few. This presentation discusses these applications in the context

POSTERY

Nr 1

Występowanie wybranych mutacji w genach *BRCA1* i *BRCA2* u kobiet chorych na genetycznie uwarunkowanego raka piersi lub jajnika.

Aneta Janiec-Jankowska¹, Ewa Kwiatkowska¹,
Dorota Nowakowska², Andrzej Tysarowski¹

¹Laboratorium Badań Predyspozycji Genetycznych Pracowni Diagnostyki Genetycznej i Molekularnej Nowotworów Zakładu Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej Centrum Onkologii-Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

²Poradnia Genetyczna Zakładu Profilaktyki Nowotworów Centrum Onkologii-Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Wstęp: W 2015 roku w Polsce odnotowano około 17 tys. zachorowań na raka piersi i 3,5 tys. zachorowań na raka jajnika; prawie 6 tys. kobiet zmarło z powodu raka piersi i 2,4 tys. z powodu raka jajnika. Szacuje się, że około 3-5% raków piersi i około 10% raków jajnika jest związanych z nosicielstwem mutacji w genach *BRCA1* i *BRCA2*. Geny te należą do genów supresorowych, kodujących białka biorące udział w naprawie DNA.

Celem pracy było porównanie częstości występowania wybranych mutacji genów *BRCA1/2* u kobiet chorych na raka piersi i raka jajnika, które zgłosiły się do Poradni Genetycznej Centrum Onkologii w Warszawie w latach 2013-2017.

Materiał i metody: Analizę molekularną w kierunku obecności ośmiu mutacji genu *BRCA1*, nazwy zwyczajowe mutacji: 185delAG, 300T>G, Q563X, 3819del5, 3875del4, 4153delA, 5370C>T, 5382insC oraz mutacji 6174delT genu *BRCA2*, wykonano u 1001 kobiet chorych na raka piersi (mediana 60 lat, przedział 20–89 lat) i 311 chorych na raka jajnika (mediana 62 lata, przedział 15–78 lat).

Genotypowanie wykonano metodą qPCR z użyciem sond TaqMan® lub metodą PCR-dHPLC. Obecność mutacji potwierdzano sekwencjonowaniem metodą Sanger.

Wyniki: W grupie kobiet chorych na raka piersi stwierdzono 48 nosicielek mutacji *BRCA1/2* (48/1001; 4,8%), natomiast w grupie kobiet z rakiem jajnika 42 nosicielki (42/311; 13,5%). Mutacje genów *BRCA1/2* istotnie statystycznie częściej występują u kobiet z rakiem jajnika ($\chi^2 = 31,6273$; $p < 0,05$) niż w grupie chorych na

raka piersi. W obu grupach najczęściej występowała mutacja 5382insC *BRCA1*, przy czym w grupie z rakiem piersi obecność mutacji stwierdzono u 50% badanych (24/48), natomiast w grupie z rakiem jajnika u 36% (15/42) badanych. Z dużą częstością występowała także mutacja 300T>G - w grupie chorych z rakiem piersi stwierdzono ją u 7 nosicielek (15%), a w grupie z rakiem jajnika u 11 nosicielek (26,2%). Mutacja 4153delA występowała rzadko w obu badanych grupach, stwierdzono ją u 1 nosicielki z rakiem piersi i u 3 nosicielek z rakiem jajnika.

Wnioski: Powyższe wyniki sugerują, że wśród kobiet z rakiem jajnika ze względu na dużą częstość występowania mutacji w genie *BRCA1* wskazane jest wykonanie przesiewowego badania genetycznego. Wyniki takiego badania mogą stanowić podstawę do wyboru odpowiedniej terapii, ale także stanowić podstawę profilaktyki pierwotnej w rodzinie pacjentki. W przypadku negatywnego wyniku należałoby rozważyć zbadanie statusu całego genu *BRCA1* i *BRCA2* metodą sekwencjonowania następnej generacji.

Nr 2

Biologiczna rola mikropęcherzyków jako nośników sygnałowych w progresji nowotworów złośliwych tarczycy i sutka – charakterystyka wstępna.

Małgorzata Grzanka, Anna Stachurska, Zofia Grzywocz, Barbara Czarnocka

Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Wstęp: Większość komórek organizmu (prawidłowych i nowotworowych) ma zdolność uwalniania mikropęcherzyków. Ich skład i ilość zależą w dużej mierze od właściwości komórek, z których się wywodzą, a cechą wspólną, ułatwiającą identyfikację, są tetraspaniny: CD9, CD63, CD81, CD82 i CD151. Mikropęcherzyki odgrywają rolę w komunikacji międzykomórkowej, z tego też względu stanowią obiekt zainteresowań w badaniach nad nowotworami. Jak pokazują liczne prace naukowe, mikropęcherzyki komórek nowotworowych (onkosomy) mogą modulować fenotyp sąsiednich komórek, powodować lekooporność, a także wpływać na inicjację, proliferację i metastazę nowotworów.

Celem niniejszej pracy była wstępna charakterystyka linii komórek prawidłowych

i nowotworowych tarczycy i sutka oraz wydzielanych przez nie mikropęcherzyków.

Materiały i metody: W badaniu wykorzystano linie komórek tarczycowych: prawidłowych (NTHY, T-NT2 – linia pierwotna), oraz nowotworowych (CGTH, FTC-133, 8505c, TPC-1, BcPAP), a także linię komórek prawidłowych sutka (184A1) oraz komórek nowotworowych sutka (MCF-7 i MDA-MB-231). Przeprowadzono analizę morfologiczną komórek obrazując występowanie tetraspanin (ICC/IF) oraz ilościową ocenę poziomu ich transkryptomów (RT-PCR), dokonano również pomiaru tempa migracji komórek prawidłowych hodowanych z onkosomami (test zarastania rany). Zobrazowano mikropęcherzyki (ICC/IF), a także dokonano pomiaru ich ilości i wielkości (FCM, rejestracja przyżyciowa).

Wyniki: Analizowane linie komórkowe różniły się znacznie ilością badanych tetraspanin, co może być skorelowane z poziomem agresywności nowotworów. Poszczególne linie różniły się również ilością uwalnianych mikropęcherzyków, a badania mikroskopowe pozwoliły zaobserwować występowanie pojedynczych mikropęcherzyków oraz ich nieregularnych skupisk. Obecność onkosomów miała jedynie niewielki wpływ na tempo migracji komórek prawidłowych. Rejestracja przyżyciowa pozwoliła uchwycić moment uwalniania pęcherzyków przez komórkę i przemieszczania się ich do komórek docelowych.

Wnioski: Zaprezentowana charakterystyka linii komórkowych i wydzielanych przez nie mikropęcherzyków stanowi wstęp do badań nad biologiczną rolą mikropęcherzyków w progresji nowotworów tarczycy i sutka.

*Grant Narodowego Centrum Nauki nr
UMO-2016/21/B/NZ5/00063*

Nr 3

Jedenastoletnie obserwacje chorych na wczesnego raka piersi leczonych techniką APBI-BT przy użyciu implantów wielodrenowych.

Sylwia Kellas-Ślęczka, Brygida Białas, Piotr Wojcieszek, Marta Szlag, Agnieszka Cholewka, Marek Fijałkowski, Tomasz Krzysztofiak, Magdalena Stankiewicz

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, Zakład Brachyterapii

U chorych na wczesnego raka piersi po leczeniu oszczędzającym (BCT) standardem jest uzupełniająca radioterapia. U wybranych chorych możliwe jest częściowe napromienianie piersi, w tym przy użyciu wyłącznej brachyterapii (APBI–BT) techniką implantów wielodrenowych. Od 2006 w Zakładzie Brachyterapii Instytutu Onkologii w Gliwicach, u wybranych chorych na raka piersi prowadzone jest leczenie uzupełniające APBI-BT.

Cel:

Ocenie poddano tolerancję i skuteczność APBI-BT u chorych na raka piersi po BCT.

Materiał i metody:

Od 07.2006-02.2018 leczono 453 chore na wczesnego raka piersi po BCT spełniające następujące kryteria: ZUBROD 0/1, wiek ≥ 50 lat, T1-2aN0M0, T ≤ 3 cm, zmiana jednoogniskowa, rak przewodowy naciekający bez angio- i neuroinwazji, bez EIC, z marginesem chirurgicznym ≥ 2 mm lub DCIS ≥ 5 mm. Leczenie prowadzono przy użyciu brachyterapii HDR Ir¹⁹² techniką wielodrenowego implantu śródtkankowego: Dc 32Gy, 8 frakcji po 4Gy, 2 x dziennie, > 6h między frakcjami.

Wyniki:

Średnia wieku 61 lata (47-86). Podczas wykonywania zabiegu nie wystąpiły poważne powikłania zagrażające życiu bądź zdrowiu chorych. Wszystkie pacjentki ukończyły zaplanowane leczenie. W badanej grupie 232 chore miały czas obserwacji >5 lat. Po wykonaniu implantu u 19% chorych w miejscach wkłuc wystąpiły wylewy krwawe, u 2.9% wystąpił miejscowy stan zapalny wymagający włączenia antybiotykoterapii a u 20% zastosowano profilaktyczną antybiotykoterapię.

Średnie PTV wynosiło 72cm³, a średnie PTV100 94% , DHI 0.67, COIN 0.69. D10 i D2 dla płuca

średnio 32.1% i 40% dawki referencyjnej. Średnia dawka na powierzchni skóry wynosiła 42.5% dawki referencyjnej. Średni okres obserwacji w analizowanej grupie wynosił 55 miesięcy (2-135). Nie obserwowano poważnych późnych powikłań po APBI-BT. U 6 chorych wystąpił nawrót (1.32%): u 3 wznowa miejscowa, u pozostałych 3 przerzuty odległe.

Wnioski:

Technika APBI z użyciem implantów wielodrewnych pozwala na utrzymanie bezpiecznych dawek w narządach krytycznych.

W analizowanej grupie uzyskane parametry oceny jakości implantów przekładają się na bardzo dobrą tolerancję i skuteczność leczenia.

Nr 4

Identification of interdependences between the ATP - dependent SWI/SNF- type chromatin remodeling complex and BRCA1 in *Arabidopsis thaliana*

Paulina Kondrak¹, Sebastian Sacharowski¹, Tomasz J. Sarnowski¹

¹Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences, Department of Protein Biosynthesis, Poland

Within the nucleus of all eukaryotes, DNA is tightly packaged into a nucleoprotein complex called chromatin. This compaction allows the storage of large amount of DNA, but on the other hand nucleosomes inhibit transcription, DNA repair, and other chromosome transactions. One of the best studied complexes, responsible for chromatin structure changes is evolutionary conserved, multiprotein SWI/SNF complex, able to relieve this inhibition by sliding or disassembling nucleosomes, substituting histones with histone variants, or interactions with transcription factors. It is known that hSWI/SNF subunits, with the ATPase activity (BRG1, hBRM), directly interact with BRCA1 protein. The BRCA1 protein is a product of the suppressor gene, that is involved in genome stability maintenance by e.g. participating in DNA double strand breaks repair (DSB), cell cycle control, regulation of genes involved in DSB response as well as control of higher chromatin structure. The aim of presented study was to check, whether interactions between BRCA1 and SWI/SNF complex are evolutionarily conserved in *Arabidopsis thaliana* model plant and

assess how the aberration of BRCA1 influence the SWI/SNF complex function. In this order we identified Arabidopsis mutant lines carrying T-DNA insertions in the *BRCA1* gene and line with overexpression of *BRCA1*, respectively. Subsequently we constructed double Arabidopsis lines carrying mutations in genes coding for SWI/SNF subunits and BRCA1 protein. These lines were subjected for detailed phenotypic analyses including assessment of their response to the treatment with various hormones and abiotic stresses.

This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education (MNiSW) Diamond Grant project No. DI 2014 007044

Nr 5

Ekspresja *SOX11* jako marker molekularny MRD dla MCL w porównaniu z t(11; 14) i rearanżacją IGH.

Szostakowska Małgorzata^{1,2}, Szymczyk Michał³, Badowska Kalina^{1,2}, Tudek Barbara^{1,4}, Fabisiwicz Anna²

¹Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Miecznikowa 1, 02-096, Warszawa

²Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Roentgena 5, 02-781 Warszawa

³Klinika nowotworów układu chłonnego, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Roentgena 5, 02-781 Warszawa

⁴Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, Pawińskiego 5A, 02-106, Warszawa

Główną przyczyną śmierci u chorych na chłoniaka z komórek płaszczka (MCL) jest nawrót z powodu minimalnej choroby resztkowej (MRD), dlatego monitorowanie MRD ma kluczowe znaczenie dla podejmowania najlepszych decyzji dotyczących leczenia. Standardową metodą analizy MRD jest ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy (qPCR). Najczęściej stosowanymi markerami molekularnymi do pomiaru MRD w MCL są: translokacja t(11; 14) (q13; p32) lub ekspresja *CCND1* i rearanżacja łańcucha ciężkiego IGH. Te markery można jednak stosować również w innych chłoniakach niezłośliwych limfocytów B. Najnowsze badania pokazują, że ekspresja *SOX11* jest bardzo specyficzna dla MCL i może być wykorzystana jako marker molekularny do pomiaru MRD. Co więcej, poziom ekspresji *SOX11* może mieć

wartość predykcyjną dla całkowitego przeżycia (OS) i przeżycia wolnego od progresji (PFS).

W naszej pracy ustalaliśmy poziom MRD w materiale (krew obwodowa i szpik) pochodzącym od 27 pacjentów ze zdiagnozowanym MCL, stosując następujące markery molekularne: t(11; 14), rearanżację IGH i ekspresję *SOX11*. Porównaliśmy wszystkie markery molekularne pod względem ich czułości, specyficzności i zakresu ilościowego. Przeanalizowaliśmy również wartość predykcyjną poziomu ekspresji *SOX11* dla OS i PFS. Ekspresja *SOX11* posiada większą swoistość, zakres ilościowy i użyteczność niż translokacja t(11; 14). Wartość predykcyjna ekspresji *SOX11* została potwierdzona. W momencie rozpoznania pacjenci z wysoką ekspresją *SOX11* mieli krótszy PFS niż pacjenci z niską ekspresją *SOX11* ($p = 0,04^*$); nie wykazano różnic dla OS. Według naszej najlepszej wiedzy jest to pierwsze badanie porównujące *SOX11* z t(11; 14) i rearanżacją łańcucha ciężkiego IGH dla wyników poziomu MRD. Ponadto w tym badaniu potwierdziliśmy, że *SOX11* jest użyteczny w przypadkach, w których nie można zastosować innych markerów molekularnych.

Nr 6

Porównanie technik napromieniania stereotaktycznego w przypadku mnogich zmian w mózgowiu

Barbara Bekman, Aleksandra Grządziel,
Jacek Wendykier, Krzysztof Śłosarek,

Zakład Planowania Radioterapii, COI Gliwice

Badanie powstało przy współpracy z ośrodkami: Radiotherapy and Radiosurgery Department, Humanitas Clinical and Research Hospital, Rozzano, oraz Department of Biomedical Sciences Humanitas University, Rozzano, Italy.

Wstęp

Napromienianie stereotaktyczne wielu zmian w mózgowiu zwiększa czas przeżycia chorych w stosunku do napromieniania całego mózgowia. Radiochirurgia może być realizowana przy pomocy różnych urządzeń i technik napromieniania. Rozwój i wprowadzanie nowych rozwiązań pozwala na znalezienie optymalnej metody.

Cel

Celem było zbadanie przydatności nowo opracowanej techniki 4 - HyperArc (HA), przez porównanie rozkładów dawki w zdrowej tkance

mózgowej, z innymi metodami napromieniania stereotaktycznego.

Metody

Wybrano 15 chorych z wieloma przerzutami do mózgu i przeprowadzono badania retrospektywne. Dla wszystkich pacjentów przygotowano i porównano trzy plany leczenia: HyperArc, standardowy VMAT oraz CyberKnife (CK). Ocenie podlegała jednorodność rozkładu dawki oraz wartość dawki minimalnej w objętości tarczowej, a także współczynniki konformalności oraz gradientu dawki. Dla organów krytycznych wyznaczono dawki maksymalne, a dla zdrowej tkanki mózgowej obliczono dawkę średnią oraz objętości izodoz 4 Gy i 12 Gy. Oszacowany został również czas całego seansu terapeutycznego w każdej z technik. Analizę statystyczną wykonano stosując testy nieparametryczne dla grup niezależnych, przyjmując jako stopień istotności 0.05.

Wyniki i wnioski

Analiza statystyczna pokazała, że istnieją znaczące różnice w jednorodności rozkładu dawki w objętościach tarczowych pomiędzy CK vs. HA oraz VMAT vs. HA. Dla pozostałych parametrów znacząca statystycznie okazała się objętość dawki 4 Gy, na korzyść techniki HA (najmniejsza objętość). Całkowity czas seansu dla HA oraz VMAT został oszacowany na 10-20 minut, a dla CK – ponad 50 minut, różnice są znaczące statystycznie.

Uzyskane wyniki wskazują na przydatność nowej techniki, która zapewnia porównywalny rozkład dawki w objętościach tarczowych przy jednoczesnym największym oszczędzaniu zdrowej tkanki mózgowej oraz relatywnie krótki czas seansu.

Nr 7

Kliniczne zastosowanie oprogramowania Velocity

Jacek Wendykier, Aleksandra Grządziel,
Barbara Bekman, Krzysztof Śłosarek

Zakład Planowania Radioterapii, COI Gliwice

Wstęp

Velocity (VMS) jest pakietem oprogramowania wspomagającym proces planowania leczenia radioterapią. W Instytucie Onkologii w Gliwicach rutynowo wykorzystywana jest możliwość deformacyjnego przenoszenia rozkładów dawki

z jednego badania CT na inne. Przenoszenie ma zastosowanie w przypadku łączenia technik z różnych aparatów, dostępnych w Oddziale w Gliwicach, takich jak akcelerator typu C-arm, tomoterapia, czy CyberKnife, lub też w przypadku kontynuacji leczenia pacjentów, którzy przeszli już radioterapię w innych ośrodkach onkologicznych.

Cel

Celem pracy jest wskazanie ograniczeń w zastosowaniu oprogramowania Velocity do deformacyjnej transformacji rozkładu dawki z jednego badania CT na inne.

Metody

Przez cały okres użytkowania oprogramowania gromadzono dane dotyczące nieudanych lub wątpliwych deformacji rozkładu dawki. Do oceny jakości fuzji deformacyjnej używano w pierwszym kroku narzędzi kontroli i zapewnienia jakości (QA) dostępnych w pakiecie Velocity, a decyzja ostateczna była konsultowana zarówno w grupie osób planujących, jak i przez lekarzy. Analizowane przypadki niezgodności wykonania fuzji podzielono na dwie grupy:

1. Geometryczno – fizyczne.
2. Biologiczno – medyczne.

Do pierwszej grupy zaliczono przypadki, kiedy pozycja ułożenia pacjenta w czasie badań znacznie się różniła. Druga grupa to przypadki, kiedy wcześniej leczony narząd został usunięty.

Wyniki i wnioski

Prawidłowe wykorzystanie wymaga współpracy osoby planującej z lekarzem, znajomości zasady działania algorytmu i jego ograniczeń oraz każdorazowego przeprowadzenia procesu QA. Szczególną uwagę należy zwrócić w przypadku zmiany masy pacjenta, zmiany objętości poszczególnych organów, innego ułożenia na jednym i drugim badaniu CT, przebyte zabiegi pomiędzy wykonywaniem tych badań (na przykład usunięcie jakiegoś organu). Wydaje się, że metoda ta może być przydatna do oceny rozkładu dawki w rdzeniu oraz mózgowiu nawet po latach i bez względu na zmianę masy pacjenta.

Nr 8

Dermoscopic assessment of skin toxicities in patients with melanoma during treatment with vemurafenib

Marcin Rajczykowski M.D.¹, Grazyna Kaminska-Winciorek M.D. Ph.D.², Elzbieta Nowara M.D. Ph.D., Associate Prof. ³, Marzenna Samborska-Plewicka M.D.¹, Sebastian Giebel M.D. Ph.D., Full. Prof. ²

¹II Clinic of Radiotherapy and Chemotherapy. Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, Gliwice, Poland

²Department of Bone Marrow Transplantation and Onco-Hematology. Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, Gliwice, Poland

³Clinical and Experimental Oncology Department. Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, Gliwice, Poland

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this paper.
No funding sources.

Key words: dermoscopy, vemurafenib, BRAF inhibitor, skin toxicities, nipple hyperkeratosis

Introduction. In recent years there has been tremendous progress in the treatment of patients with inoperable melanoma. The use of targeted therapy has improved the survival of patients; however, on the other hand, it is associated with skin toxicities, which may require treatment discontinuation or dosage reduction.

Aims. The objective of our study was to assess skin toxicities by dermoscopy in patients treated with vemurafenib.

Materials and Methods. Patients with BRAF V600 mutation-positive metastatic melanoma were examined dermoscopically during vemurafenib treatment. All skin lesions occurring during therapy were assessed clinically and dermoscopically using a hand-held dermoscope with polarised and non-polarised light. Skin lesions suspected for malignancy appearing during therapy were totally surgically excised with consecutive histopathological examination.

Results. All eight examined patients developed skin toxicity. The majority of patients (7/8) presented G1 skin toxicity according to CTCAE version 4.3. Only one of them had G2 acneiform rash and palmar-plantar erythrodysesthesia. The most common adverse skin reactions were hyperkeratosis of the nipples (5/8) and skin

dryness (4/8). We also found skin induration (3/8), photosensitivity (3/8), palmar-plantar erythrodysesthesia (3/8), alopecia (2/8), pruritus (2/8), and acneiform rash with comedones (2/8). In hyperkeratosis of the nipples, dermoscopy revealed brownish to yellowish, angular clods with a tendency to be more confluent. Palmar-plantar erythrodysesthesia showed dermoscopically a yellowish, homogeneous pattern. Four melanocytic skin lesions in two patients were surgically excised due to suspected malignant transformation; however, histopathological diagnosis excluded any malignancy.

Conclusions. Adverse skin reactions caused by vemurafenib are quite common. Dermoscopy seems to be an easy-to-perform and valuable method for assessment of skin toxicities during oncological therapy, at any time of the treatment.

Nr 9

Identyfikacja czynnika HIF-1 α w linii jasno-komórkowego raka nerki A498.

Świątek M.^{1,2}, Leszczyński M.², Maassen A.³, Sarnowski TJ.³, Siedlecki JA.², Sarnowska E.²

¹Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

²Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

³Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk, Warszawa

Proces odpowiedzi komórki na warunki hipoksji jest zależny, m.in. od HIF-1 α (Hypoxia Inducible Factor 1 Alpha Subunit) poprzez wpływ na transkrypcję genów biorących udział w procesach, takich jak: metabolizm glukozy, metabolizm żelaza, angiogeneza oraz proliferacja. Gen *HIF-1 α* znajduje się na długim ramieniu chromosomu 14 i składa się z 15 egzonów i 14 intronów. W białku HIF-1 α występuje motyw czynnika transkrypcyjnego bHLH i domeny PAS.

Ilość białka HIF-1 α w komórce regulowana jest przez kompleks VBC, w skład którego wchodzi: VHL, elongina B i C, kullina 2 i Rbx-1. W warunkach normoksji, mRNA podjednostki HIF-1 α ulega translacji, jednakże powstające białko jest niemal natychmiast poddawane ubiquitynacji przez ligazę ubiquitynową E3 związaną z VHL i kierowane do degradacji przez proteasom. Powoduje to brak akumulacji tego białka, a ekspresja genów regulowana przez HIF jest niska. Natomiast w stanie hipoksji blokowana jest

degradacja HIF-1 α prowadząc do jego akumulacji i dimeryzacji z HIF-1 β . Mutacje w genie *VHL* występujące w ok. 80% jasnokomórkowego raka nerki (ccRCC) uniemożliwiają degradację HIF-1 α i prowadzą do akumulacji dużych ilości tego białka.

Analiza sekwencji cDNA HIF-1 α z linii komórkowej A498 odpowiadającej jasnokomórkowemu rakowi nerki, ujawniła brak 733 pz w mRNA tego genu. Region ten odpowiada egzonom od 2 do 6, które kodują motyw bHLH oraz większość domeny PAS. W związku z tym, że delecja ta nie powoduje zaburzenia ramki odczytu w komórkach A498 może powstawać skrócona forma białka HIF-1 α pozbawiona tych domen.

Trawienie chromatyny w linii A498 nukleazą mikrokokalną wykazało brak nukleosomów w obszarze odpowiadającym brakującemu fragmentowi HIF-1 α , co może wskazywać na to, że brak tego fragmentu w mRNA HIF-1 α spowodowany jest delecją obejmującą egzony 2-6 oraz introny 2-5 w *locus* tego genu albo powstaje w wyniku działania jak dotąd nierozpoznanego mechanizmu regulacji ekspresji tego genu. Dalsze badania pozwolą na identyfikację mechanizmu odpowiedzialnego za powstawanie alternatywnej formy transkryptu *HIF-1 α* oraz wyjaśnią jaka jest funkcja skróconej formy białka w patogenezie ccRCC.

Nr 10**Preoperative Hyperfractionated Concurrent Radiochemotherapy for Locally Advanced Rectal Cancers: A Phase II Clinical Study**

Adam Idasiak¹, Katarzyna Galwas-Kliber¹, Katarzyna Behrendt¹, Iwona Wziętek², Marcin Zeman³, Ewa Stobiecka⁴, Ewa Chmielik⁴, Rafał Suwiński¹

¹ Radiotherapy and Chemotherapy Clinic and Teaching Hospital, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, 44-100 Gliwice, Poland

² Radiotherapy Department, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, 44-100 Gliwice Branch, Gliwice, Poland

³ Department of Surgery, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, 44-100 Gliwice, Poland

⁴ Department of Pathology, Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, 44-100 Gliwice, Poland

Objectives: The study was prospectively designed as a single-arm, single institution prospective trial of preoperative concomitant hyperfractionated radiotherapy with co-administration of chemotherapy based on 5FU in patients with T2/N+ or T3/any N resectable mid-low primary rectal cancer. The aim of the study was to assess the safety and efficacy of accelerated hyperfractionated radiotherapy (HART) with concurrent 5FU-based chemotherapy in patients with locally advanced rectal cancer.

Materials and methods: Patients with resectable locally advanced ($\geq T3$ or N+) rectal cancer were eligible. The patients received total dose 42 Gy in 28 fractions of 1.5 Gy, two times daily, with at least 8 hours interval, with concurrent chemotherapy: 5FU-325mg/m² (bolus) on days 1-3 and days 16-18 (except for cN0 patients for whom only one cycle on days 1-3 was prescribed).

The primary endpoint included tolerance, postoperative complication rate and pathological response rate. The secondary endpoints included loco-regional relapse free survival (LRCS), metastasis free survival (MFS) and overall survival (OS).

Results: Out of 53 patients enrolled; two did not undergo surgery. Of the 51 patients evaluable for pathologic response there were 8 (15.6%), 20 (39.3%), 18 (35.3%), and 5 (9.8%) patients with TRG 0, 1, 2 and 3, respectively.

Downstaging of the primary tumor and lymph nodes was observed in 22 (43%) and 25 (49%) patients, respectively. Toxicity included: Grade 3 diarrhea (4/51, 7.8%), Grade 2 diarrhea (22/51, 43.1%), Grade 2 leucopenia (7/51, 13.7%), Grade 2 neutropenia (6/51, 11.7%), Grade 1 thrombocytopenia (3/51, 5.9%). No Grade 4 toxicity was reported. There were 6 loco-regional relapses (11.8%) and distant metastasis occurred in 11 patients (21.6%). The 2-year cumulative loco-regional relapse free survival, MFS and OS was 87%, 79% and 89%, respectively.

Conclusion: The proposed preoperative HART with co-administration of 5FU had acceptable toxicity profile and provided satisfactory rate of ypCR. The results of this research show that responders to preoperative RT-CT have favorable outcome.

This created rationale to initiate a phase III randomized study that was registered under ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01814969.

Nr 11**Tytuł: Codzienne życie po transplantacji komórek krwiotwórczych: fluktuacja nastroju pacjentów i ich partnerów, wymiana wsparcia i zadowolenie z relacji**

Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka¹, Aleksandra Kroemeke², Zuzanna Kwissa-Gajewska², Sebastian Giebel¹

¹Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział Gliwice, Polska

²SWPS Uniwersytet Humanistycznospołeczny, Wydział Psychologii, Warszawa, Polska

Wprowadzenie: Przeszczepienie hematopoetycznych komórek macierzystych (HSCT) to potencjalnie wysoce stresujące wydarzenie, które może wpłynąć na samopoczucie pacjenta na dowolnym etapie procedury. Do tej pory badania koncentrowały się głównie na funkcjonowaniu pacjentów po zabiegu. Prezentowane poniżej badania koncentrują się na podstawowym elemencie dobrostanu pacjenta, którym jest wsparcie opiekuna i relacje między nimi.

Metody: Dwustu dziewięciu pacjentów po pierwszym autologicznym lub allogenicznym HSCT i ich zdrowych partnerów (małżonek lub inna bliska osoba) niezależnie uzupełniało codzienny dziennik nastroju, wzajemnie udzielanego

i otrzymywanego wsparcia oraz zadowolenia ze wzajemnej relacji. Badanie dziennikowe trwało 28 kolejnych dni po wypisaniu pacjenta ze szpitala. Do zbadania fluktuacji zmian w czasie w obojga partnerów wykorzystano modelowanie wielopoziomowe.

Wyniki: Wyniki wykazały, że w ciągu 28 dni objętych badaniem negatywne emocje systematycznie spadały zarówno u pacjentów, jak i zdrowych partnerów. Pozytywny nastrój zwiększył się, a zadowolenie z relacji zmniejszyło, ale tylko u pacjentów; u zdrowych partnerów odnotowano odwrotny kierunek zmian w czasie. Przeciwnostawne trendy zmian wystąpiły również w przypadku wsparcia otrzymywanego i dawanego. Pacjenci deklarowali wzrost dawanego wsparcia i spadek otrzymywanego od partnera oraz zadowolenia z tego wsparcia (przy stałym poziomie zapotrzebowania na wsparcie). Przeciwnie, zdrowie partnerzy coraz mniej dawali w tym okresie, rosło natomiast wsparcie jakie otrzymywali od chorego partnera i zadowolenie z tej pomocy. Wzrastała też u nich potrzeba wsparcia.

Wnioski: Wyniki sugerują pogorszenie wymiany wsparcia (tzw. jego deteriorację) ze szkodą dla pacjenta. Z biegiem czasu pacjent otrzymuje coraz mniej wsparcia od swojego opiekuna, mimo wciąż wysokiego zapotrzebowania na nie, co wpływa na gorszą ocenę związku między nim a opiekunem. Może to być związane z faktem, że pacjent jest w lepszej kondycji, a jego partner stopniowo wycofuje się ze wsparcia, czuje się wyczerpany i oczekuje, że na tym etapie będzie wspierany przez pacjenta. Wyniki wyznaczają kierunki pomocy rodzinom, których członkowie doświadczyli HSCT: przeciwdziałanie deterioracji wsparcia poprzez wspieranie zasób u zdrowych opiekunów.

Nr 12

Dynamika objawów somatycznych po przeszczepieniu hematopoetycznych komórek macierzystych i ich kliniczne predyktory

Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka¹, Aleksandra Kroemeke², Zuzanna Kwissa-Gajewska², Sebastian Giebel¹

¹Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział Gliwice, Polska

²SWPS Uniwersytet Humanistycznospołeczny, Wydział Psychologii, Warszawa, Polska

Wstęp:

Obserwacje pokazują, że objawy somatyczne są powszechne u pacjentów po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych (HSCT) i mogą być związane z różnymi czynnikami. Pomimo tego istnieje niewiele badań dotyczących występowania tych objawów w życiu codziennym pacjentów po HSCT.

Cel:

Niniejsze opracowanie ma na celu uzupełnienie tej luki poprzez zbadanie występowania codziennych dolegliwości fizycznych i ich predyktorów (demograficznych i klinicznych) u pacjentów po HSCT.

Materiał i metody:

Obserwacje prowadzono u 188 chorych (56,9% mężczyzn; w wieku $47,6 \pm 13,4$ lat), którzy przez kolejnych 28 dni po wypisaniu z oddziału transplantacyjnego szacowali liczbę doświadczanych objawów fizycznych. Analizy statystyczne wykonano przy użyciu modelowania wielopoziomowego.

Wyniki:

Wyniki wskazują, iż początkowe nasilenie objawów somatycznych (bezpośrednio po wypisie ze szpitala) systematycznie zmniejszało się w ciągu 28 dni obserwacji.

Objawy depresyjne ($p = 0,06$, $p < 0,01$) oraz toksyczność leczenia ($\beta = 0,09$, $p < 0,01$) wiązały się z początkowym nasileniem objawów somatycznych. Pacjenci z objawami depresyjnymi przed HSCT (skala CES-D) oraz większą toksycznością w skali WHO doświadczali większej liczby objawów somatycznych bezpośrednio po wypisie ze szpitala. Rodzaj przeszczepienia, rozpoznanie oraz leczenie kondycjonujące różnicowały dynamikę objawów somatycznych w czasie. Pacjenci z rozpoznaną białaczką i innymi nowotworami mieloidalnymi ($\beta = 0,05$, $p < 0,01$), pacjenci po allogeniczej transplantacji

komórek krwiotwórczych ($\beta = -0,06$, $p < 0,01$) i poddawani niemieloablacyjnemu kondycjonowaniu ($\beta = -0,09$, $p < 0,01$) wykazywali niższy spadek objawów somatycznych w czasie. Pacjenci ze szpiczakiem plazmocytowym prezentowali

z kolei największą poprawę ($p = -0,03$, $p < 0,05$).

Wnioski:

Wyniki sugerują heterogenną i raczej pozytywną odpowiedź na leczenie z użyciem HSCT. Czynniki związane z leczeniem okazały się być istotnym predyktorem intensywności zmian w codziennym fizycznym funkcjonowaniu pacjentów po przeszczepieniu.

Słowa kluczowe: objawy somatyczne, transplantacja komórek krwiotwórczych, intensywne badania podłużne.

Nr 13

Napromienianie całego ciała w skojarzeniu z fludarabiną jako leczenie kondycjonujące przed allotransplantacją komórek krwiotwórczych u pacjentów z ostrą białaczką szpikową – analiza jednośrodkowa.

Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka¹, Małgorzata Ociepa¹, Tomasz Czerw¹, Włodzimierz Mendrek¹, Jacek Najda¹, Maria Saduś-Wojciechowska¹, Katarzyna Michalak¹, Andrzej Frankiewicz¹, Małgorzata Krawczyk-Kuliś¹, Jerzy Hołowiecki¹, Łukasz Kleszyk², Małgorzata Kraszkiewicz², Bożena Jochymek², Michał Radwan³, Łukasz Dolla³, Sebastian Giebel¹

¹Klinika Transplantacji Szpiku i Onkohematologii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

²Zakład Radioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

³Zakład Planowania Radioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

WSTĘP

Allotransplantacja komórek krwiotwórczych (alloHCT) jest leczeniem z wyboru u pacjentów z ostrą białaczką szpikową pośredniego i wysokiego ryzyka, a także w nawrotowej postaci. Do tej pory nie ustalono jednak optymalnego leczenia kondycjonującego u tych pacjentów. Najczęściej stosowanym leczeniem kondycjonującymi na świecie jest połączenie cyklofosfamidu z napromienianiem całego ciała (TBI) lub z busulfanem; cechuje je jednak znaczna toksyczność.

Skojarzenie TBI 8Gy z fludarabiną było przedmiotem jednego badania prospektywnego. Kondycjonowanie TBI 12Gy z fludarabiną nie było do tej pory raportowane. W tutejszym ośrodku w latach 2012 do 2016r stosowano TBI 8Gy lub 12Gy z fludarabiną. Celem pracy jest ocena wyników leczenia.

MATERIAŁY I METODY

Analiza objęto 54 chorych (kobiety - 31, mężczyźni - 23) w wieku 46 lat (mediana, zakres 20-67 lat) leczonych alloHCT od dawcy rodzinnego (32) lub niespokrewnionego (22). Stadium choroby przed procedurą: CR1-44, CR2-6, CR3-1, PR-1 oraz NR- 2 pacjentów. TBI było stosowane we frakcjach jednorazowo po 4Gy/dobę w dniach (-3), -2, -1. O wielkości dawki łącznej decydował wiek i stan biologiczny pacjenta.

Decyzja o wielkości zastosowanej dawki TBI (8Gy versus 12Gy) zależała od wieku i chorób współistniejących. 27 pacjentów otrzymało dawkę 8Gy, pozostali - 12Gy. W leczeniu immunosupresyjnym stosowano cyklosporynę + metotreksat +/- ATG. Materiałem transplantacyjnym były komórki krwiotwórcze z krwi obwodowej.

WYNIKI

Mediana czasu odnowy neutrofilii (ANC >0,5G/l) wyniosła 17 dni w grupie 8Gy oraz 16 dni w grupie 12Gy.

Występowanie ostrej GvHD w stopniu 2-4 wynosiło 11% oraz 15%, podczas kiedy rozległa postać przewlekłej GvHD odpowiednio 0% i 4%. Toksyczność niehematologiczna w stopniu 3 wg WHO występowała u 11% oraz 18%. Nie odnotowano toksyczności w stopniu 4 wg WHO obydwu grupach.

Prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia (OS) po 2 latach wynosiła 62% (+/- 10%) w grupie leczonej 8Gy oraz 80% (+/- 11%) w grupie leczonej 12Gy ($p=0,14$). Prawdopodobieństwo czasu wolnego od progresji (PFS) wynosiło odpowiednio 58% (+/- 11%) i 77% (+/- 11%) ($p=0,16$). Częstość nawrotu w tych grupach wynosiła odpowiednio 32% oraz 7% ($p=0,11$), podczas kiedy śmiertelność niezależna od nawrotu 10% oraz 13% ($p=NS$).

15 pacjentów zmarło. Najczęstszą przyczyną zgonu były powikłania infekcyjne (9) oraz progresja choroby (5).

WNIOSKI

Połączenie fludarabiny z TBI charakteryzuje się dobrą tolerancją i efektywnością. O ile nie ma

przeciwwskazań preferowaną dawką wydaje się być TBI 12Gy. Skuteczność i bezpieczeństwo schematu leczenia kondycjonującego TBI 12Gy z fludarabiną wymaga jednak weryfikacji w perspektywnych badaniach klinicznych.

No 14

Ponowna radykalna radioterapia stereotaktyczna guzów wątroby

Gabryś Dorota¹, Blamek Sławomir¹, Dolla Łukasz², Trela-Janus Krystyna¹, Wziętek I¹, Kulik Roland²

¹ Zakład Radioterapii,

² Zakład Planowania Radioterapii i Brachyterapii

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej – Curie, Oddział w Gliwicach ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15 Gliwice 44-100

Wątroba może tolerować wysoką dawkę promieniowania, jeżeli zaoszczędzi się wystarczającą objętość zdrowej wątroby. W przedstawionej pracy oceniono bezpieczeństwo oraz tolerancję ponownej radioterapii obszaru wątroby w kontekście danych z histogramów dawka-objętość ze zsumowanych wszystkich planów leczenia.

Z grupy pacjentów, którzy byli co najmniej dwukrotnie napromieniani w obszarze wątroby, wybrano 16 leczonych stereotaktycznie wysokimi dawkami. Dzięki systemowi Velocity możliwa była integracja zarówno obrazów jak i rozkładu dawek z każdego planu leczenia. Oceniano również stan ogólny pacjenta oraz badania krwi. 7 pacjentów było napromienianych więcej niż 2 razy. Zastosowano kilka schematów frakcjonowania. Podczas pierwszej radioterapii mediana dawki wynosiła 45 Gy (36-48) w 3-4 frakcjach, dla drugiej radioterapii 45 Gy (10-50) w 1-5 frakcjach, a trzeciej 30 Gy (15-50) w 1-10 frakcjach.

Mediana zsumowanej dawki przepisanej wszystkich radioterapii wynosiła 92 Gy (72-140), a mediana zsumowanej dawki w jednym obszarze wątroby wynosiła 72 Gy (36-95). U większości (80%) obszarów druga radioterapia była przeprowadzona w innym obszarze niż pierwsza zmiana. Mediana czasu od pierwszej radioterapii do ostatniej wizyty wynosiła 26 miesięcy (8-60). 3 letnia kontrola miejscowa ogniska po pierwszej radioterapii wynosiła 46%. Nie było znamienych różnic pomiędzy objętością wątroby podczas pierwszej radioterapii 1434

cm³ (1100-2875) i ostatniej 1363 (1066-2673). Średnia dawka w obrębie wątroby wynosiła 20,4 Gy (10-30). Mediana objętości otrzymująca 10 Gy wynosiła 67% (25-81), 21 Gy 36% (14-52). Mediana dawki w 700 cm³ wątroby wynosiła 18,4 Gy (3,7-34). W badaniach biochemicznych stwierdzono jedynie wzrost aktywności fosfatazy alkalicznej (p=0,027) oraz aminotransferazy asparaginowej (p=0,043), które u żadnego chorego nie przekraczały 2 stopnia wg skali CTCAE 5.0. Zwiększenie aktywności enzymów wątrobowych było związane z progresją choroby, u badanych chorych nie występowały istotne objawy wczesnej lub późnej toksyczności wątroby związanej z radioterapią.

Ponowne napromienianie wątroby jest bezpieczną i dobrze tolerowaną metodą leczenia. Konieczne jest przeprowadzenie prospektywnego badania klinicznego w celu ustalenia dopuszczalnych dawek w narządach krytycznych.

Nr 15

Analiza cytogenetyczna przypadku złożonej translokacji wariantowej chromosomu Philadelphia w przebiegu klinicznym przewlekłej białaczki szpikowej.

Agnieszka Chudy¹, Aleksandra Kotyl¹, Beata Grygalewicz¹, Renata Woroniecka¹, Jolanta Rygier¹, Katarzyna Wojtkowska¹, Ewa Wasińska², Łukasz Madej³, Renata Chodurska³, Artur Kowalik³, Barbara Pieńkowska-Grela¹

¹Samodzielna Pracownia Cytogenetyki, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Curie-Skłodowskiej w Warszawie

²Ośrodek Hematologii Diennej, Klinika Hematologii i Transplantacji Szpiku, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce

³Zakład Diagnostyki Molekularnej, Świętokrzyskie Centrum Onkologii, Kielce

Przewlekła białaczka szpikowa (CML) jest nowotworem mieloproliferacyjnym, charakteryzującym się obecnością chromosomu Philadelphia (Ph) w ponad 90% przypadków. Chromosom Ph jest produktem wzajemnej translokacji pomiędzy długimi ramionami chromosomów 9 oraz 22. U 5-10% nowo zdiagnozowanych pacjentów dochodzi do powstania złożonych translokacji wariantowych (vPh) z udziałem jednego lub kilku dodatkowych chromosomów. Znaczenie prognostyczne vPh nie jest do końca jasne. Obecnie standardowym leczeniem w przewlekłej fazie CML są inhibitory kinazy tyrozynowej

(TKI), takie jak imatinib (Gleevec), nilotynib (Tasigna) lub dazatinib (Sprycel).

Przedstawiamy przypadek 52-letniego mężczyzny z rozpoznaną w październiku 2015 białaczką szpikową w fazie przewlekłej i nietypowym przebiegiem choroby. Początkowo w morfologii stwierdzono: WBC-176tys., Hb-7,4g%, Ht-23,4, PLT-327tys., WBC-176tys., Hb-7,4g%, Ht-23,4; w rozmazie krwi obwodowej przesunięcie w kierunku mieloblastów i MBL-6%; w badaniu biochemicznych poza wysoką wartością LDH bez odchyień. Obecność transkryptu BCR/ABL zbadano po raz pierwszy po roku leczenia, gdzie stosunek BCR/ABL*100*CF (transkrypt p210) wynosił 1,4467%. Jego poziom pozostawał wysoki aż do stycznia 2018, gdzie odnotowano większą odpowiedź molekularną (poziom transkryptu 0,0871%). W I linii leczenia zastosowano cytoredukcję Hydroxycarbamidem. Leczenie Imatinibem w dawce 400mg/d rozpoczęto 25.11.2015. W związku z brakiem odpowiedzi cytogenetycznej (CyR) od lipca 2016 zastosowano Dazatinib. Nie uzyskano CyR, a po 6 miesiącach leczenia zastosowano Nilotinib. W chwili obecnej uzyskano częściową odpowiedź cytogenetyczną (12.12.2017) i większą odpowiedź molekularną.

Materiał do badań cytogenetycznych stanowił szpik kostny pacjenta po hodowli in vitro. Stosowano analizę kariotypową i technikę fluorescencyjnej hybrydyzacji in situ (FISH) z wykorzystaniem sondy fuzyjnej BCR/ABL, sondy znakującej gen TP53/cen-17 oraz sondy malujące (VYSIS, Abbott). Opis wyniku zgodnie z wytycznymi ISCN 2016.

Pierwsze badanie cytogenetyczne, wykonane w trakcie rozpoznania, wykazało w 100% analizowanych metafaz obecność złożonej translokacji t(9;22;6;17;1)(q34;q11;p11.2;p11.2;q21). W badaniu wykonanym po włączeniu imatynibu aberracja ta była nadal obecna we wszystkich komórkach. Zmiana leczenia na dazatinib spowodowała spadek liczby komórek aberrantnych do 85%. W kolejnych dwóch badaniach liczba komórek z t(9;22;6;17;1) spadła kolejno do 61% (MCyR po 6 miesiącach leczenia), następnie do 4% (PCyR po 12 miesiącach), co świadczy o uzyskaniu częściowej odpowiedzi cytogenetycznej. W trakcie monitorowania w kariotypie pacjenta pojawiły się

nowe zmiany, w postaci dodatkowej kopii chromosomu 15 w klonie Ph+ oraz chromosomu 8 w klonie Ph-, wskazujące na progresję zmian genetycznych. Szczegółowa analiza FISH wykazała, że punkt pęknięcia w krótkim ramieniu chromosomu 17, zaangażowanego w translokację złożoną, doprowadził do zaburzenia struktury jednej z kopii genu TP53. W obrazie FISH zmiana ta ujawniła się jako zmniejszenie sygnału sondy znakującej gen TP53 (dim).

Według danych literaturowych obecność vPh z typową fuzją BCR/ABL nie powinna mieć istotnego wpływu na rokowanie w zakresie odpowiedzi na leczenie TKI. Możliwe jest zatem, że przyczyna słabej odpowiedzi na leczenie imatinibem i dazatinibem była obecność zmian, wynikających z zaburzenia innych obszarów zaangażowanych w translokację złożoną. Najczęściej obserwowanymi zmianami w progresji CML są dodatkowe kopie chromosomu Ph, trisomia 8 i obecność isochromosomu 17q. Wydaje się, że opisana przez nas zmiana, angażująca 17p13 z zaburzeniem struktury genu TP53 może być funkcjonalnie równoważna z utratą jednej kopii tego genu w wyniku utworzenia i(17q).

Obserwacja taka potwierdza konieczność stosowania rozszerzonego badania FISH w przypadku cytogenetycznej detekcji translokacji złożonych vPh lub nietypowych zmian wtórnych podczas diagnostyki CML, szczególnie w przypadkach niepowodzenia leczenia.

Funkcja jądrowa receptora HER2

Roman Dubiański¹, Elżbieta Sarnowska²,
Ryszard Konopiński², Marcin Leszczyński²,
Wojciech Olszewski³, Natalia Rusetska²,
Agnieszka Jagiełło-Grusfeld¹, Janusz
Siedlecki², Zbigniew I. Nowecki¹

¹ Klinika Nowotworów Piersi i Chirurgii Rekonstrukcyjnej, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

² Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

³ Zakład Patologii, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Cel: Receptor ErbB2 (HER2 lub HER2/neu) jest receptorem o aktywności kinazy tyrozynowej należącym do rodziny receptorów naskórkowego czynnika wzrostu (EGFR). Nadmierna ekspresja receptora naskórkowego HER2 określana w rutynowych badaniach histopatologicznych na komórkach raka, występująca u około 20-25% populacji chorych na raka piersi związana jest z gorszym rokowaniem. Wprowadzenie do leczenia raka piersi trastuzumabu, humanizowanego przeciwciała skierowanego przeciwko zewnątrzkomórkowej domenie receptora HER2, znacząco poprawiło wyniki leczenia w tej grupie chorych. Jednak u części chorych zaobserwowano pojawienie się oporności na leczenie. Równolegle zauważono, że u części chorych obserwuje się jądrową lokalizację HER2. Celem tej pracy jest ustalenie czy istnieje zależność pomiędzy jądrową lokalizacją HER2 a opornością na terapię trastuzumabem.

Metody: Spośród 650 pacjentek leczonych trastuzumabem w Klinice Nowotworów Piersi i Chirurgii Rekonstrukcyjnej wybrano 50 chorych, u których wystąpiła oporność na leczenie trastuzumabem oraz 50 chorych, które odpowiedziały na leczenie. W tych grupach policzono procent komórek, w których zaobserwowano lokalizację jądrową HER2.

Wyniki: Ze wstępnych obserwacji wynika, iż w wykonywanych rutynowo preparatach obserwuje się u niektórych pacjentek z nadmierną ekspresją receptora HER2 również wybarwienie jąder komórkowych. Wykonane frakcjonowanie komórek linii SK-BR-3 z nadekspresją receptora HER2 wykazało, że zarówno forma pełna jak i skrócone HER2 znajduje się w jądrze komórkowym. Analiza programem Genespring wykazała,

że w liniach opornych na trastuzumab następuje przeprogramowanie metabolizmu komórek. Występują zaburzenia w ekspresji genów zaangażowanych głównie w metabolizm lipidów oraz metabolizm witaminy A. Metodą koimmunoprecypitacji wyizolowano białka partnerskie dla jądrowego receptora HER2.

Podsumowanie: W przeprowadzonych badaniach potwierdzono obecność białka HER2 w jądrach komórkowych HER2- dodatniego raka piersi. Prowadzone są dalsze badania mające na celu potwierdzenie ewentualnego wpływu jądrowego HER2 na oporność na trastuzumab oraz metabolizm lipidów.

Nr 17**Identification of functional interdependence between SWI/SNF dependent chromatin remodeling and pre-mRNA splicing in Arabidopsis and human.**

Szymon Kubala¹, Elżbieta Sarnowska², Csaba Koncz^{3,4}, Tomasz J. Sarnowski¹

¹Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Science, Pawlowskiego 5A, 02-106 Warsaw, Poland

²Marie Memorial Cancer Center, Roentgenstr. 5, 02-781 Warsaw, Poland

³Max-Planck Institute for Plant Breeding Research, Carl-von-Linné-Weg 10, 50829 Köln, Germany

⁴Institute of Plant Biology, Biological Research Center of Hungarian Academy, Temesvári Körút 62, 6724 Szeged, Hungary

e-mail: szymon.globus@ibb.waw.pl

SWI/SNF type chromatin remodeling complexes (CRCs) are evolutionarily conserved multiprotein machineries controlling DNA accessibility by regulating chromatin structure. The core of Arabidopsis SWI/SNF complex contains one of the four ATPases (BRM, SYD, CHR12, CHR23), two of the four SWI3 type proteins (SWI3A, SWI3B, SWI3C, SWI3D) and one SNF5 type protein (BSH). SWI/SNF CRCs play an important role in the regulation of transcription, cell cycle and DNA replication. Moreover, recent data indicate that the SWI/SNF complex is likely involved in the regulation of pre-mRNA splicing in humans, *Drosophila* and yeast. In eukaryotes, intron sequences from pre-mRNAs transcribed by RNA polymerase II are removed by the spliceosome to produce mature mRNAs. The spliceosome is composed of small nuclear snRNAs and associated proteins. Catalytic activation of the

spliceosome is critically dependent on its association with the evolutionary conserved Nine-Teen Complex (NTC), which among others carries the core PRP19A/B, CDC5 and SPF27 subunits. The aim of our study is to identify a regulatory link between chromatin remodeling and pre-mRNA splicing in Arabidopsis and human. To identify protein-protein interactions of several subunits of SWI/SNF and NTC complexes in Arabidopsis as well as in human, we performed yeast two-hybrid (YTH) and BiFC interaction studies. In addition, using combinations of existing T-DNA insertion Arabidopsis mutants, we identified epistatic genetic interactions between SWI/SNF and NTC, which provide evidence for functional interdependence between chromatin remodeling and pre-mRNA splicing mechanisms in Arabidopsis. Currently, we use highly advanced molecular biology methods to confirm identified interdependencies between SWI/SNF and NTC complexes.

The project was funded by the National Science Centre based on decision number DEC-2015/16/S/NZ2/00042

Nr 18

Korzystny efekt kliniczny przygotowania opartego na napromienianiu całego ciała (TBI) w porównaniu z przygotowaniem opartym na wysokodawkowej chemioterapii przed autotransplantacją komórek krwiotwórczych u chorych na chłoniaki z obwodowych komórek T: analiza Polskiej Grupy Badawczej Chłoniaków (PLRG)

Tomasz Czerw¹, Andrzej Smagur¹, Anna Czyż², Maria Sadus-Wojciechowska¹, Jacek Najda¹, Włodzimierz Mendrek¹, Małgorzata Sobczyk-Kruszelnicka¹, Joanna Romejko-Jarosinska³, Grzegorz Helbig⁴, Agnieszka Piekarska⁵, Lidia Poplawska³, Beata Piatkowska-Jakubas⁶, Dorota Hawrylecka^{6,7}, Barbara Nasilowska-Adamska⁸, Anna Lojko-Dankowska⁹, Anna Kopinska⁴, Jan Walewski³, Mieczysław Komarnicki⁹, Leszek Miszczyk¹⁰, Jerzy Holowiecki¹, Sebastian Giebel¹

¹Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, Department of Bone Marrow Transplantation and Oncohematology, Gliwice, Poland;

²Wrocław Medical University, Wrocław, Poland;

³Maria Skłodowska-Curie Cancer Centre and Institute of Oncology, Warsaw, Poland;

⁴Silesian Medical University, Katowice, Poland;

⁵Medical University of Gdansk, Gdansk, Poland;

⁶Jagiellonian University Medical College, Cracow, Poland;

⁷Oncology Center, Brzozow, Poland;

⁸Institute of Hematology and Blood Transfusion, Warsaw, Poland;

⁹Poznan University of Medical Sciences, Poznan, Poland;

¹⁰Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Gliwice Branch, Radiotherapy Department, Gliwice, Poland

Background: High-dose consolidation therapy with autologous stem cell support (autoSCT) is considered beneficial for transplant-eligible patients with newly diagnosed and relapsed peripheral T-cell lymphomas (PTCL). The evidence is based on retrospective analyses which included heterogeneity of mainly chemotherapy-based conditioning regimens. Achieving complete remission (CR) before autoSCT is one of the strongest predictors of the outcome. There are few data regarding the comparison of Total Body Irradiation (TBI) and non-TBI based approaches, which was the goal of this study.

Methods: The current analysis included patients with PTCL who were autografted in CR. We retrospectively analyzed the outcome of 18 patients conditioned with 12 Gy TBI (given in 3 fractions of 4 Gy on 3 consecutive days) combined with 120mg/kg cyclophosphamide with 35 patients who received high-dose chemotherapy regimens (BEAM (BCNU, etoposide, cytarabine, melphalan), n=25; CBV (BCNU, etoposide, cyclophosphamide), n=8; other, n=2). All patients who received TBI-based regimen were transplanted in a single institution (Department of BMT in Gliwice) whereas the remaining autoSCTs were performed in the other Polish Lymphoma Research Group registered centers. The groups characteristics were as follows (TBI and non-TBI, respectively): the median age at transplantation: 42 years (22-65) and 44 (15-63); PTCL subtype (PTCL NOS-6; AITL-2; ALCL ALK(-)-4, ALK(+)-6 and PTCL NOS-21; AITL-5; ALCL ALK(-)-4, ALK(+)-1, ALK status unknown-4); stage at diagnosis (II-5; III-10; IV-3 and II-5; III-10; IV-20); the median number of pre-transplant chemotherapy lines: 1 (1-2) and 2 (1-3); year of transplantation: 2010-2016 and 1998-2011; the median observation time 43 months (8-85) and 61 (9-199). Patients in the non-TBI group received more

pre-transplant lines of therapy and were transplanted in the earlier years. All the remaining factors were comparable between the studied groups.

Results: All patients in the TBI group engrafted whereas one patient in the chemotherapy group did not engraft. There were no early and late non-relapse mortality cases noted in the TBI group. In the chemotherapy group four patients died due to non-relapse causes (2-sepsis; 1-secondary neoplasm; 1-heart failure). The probability of overall survival at 3 years and 5 years after autoSCT was significantly higher for those conditioned with TBI-based regimen compared with chemotherapy-based approach (100% vs 74% and 100% and 66%; $p=0.025$, respectively). The probability of progression-free-survival at 3 years and 5 years was 94% vs 67% and 81% vs 63%; $p=0.15$, respectively.

Conclusions: TBI seems to be an effective part of conditioning before autoSCT for PTCL allowing potentially to obtain better outcomes compared with high-dose chemotherapy regimens for patients transplanted in CR.

Nr 19

Wpływ czynnika stresu termicznego HSF1 na zmiany indukowane przez estrogen w komórkach nabłonkowych piersi.

Patryk Janus, Agnieszka Toma-Jonik, Tomasz Stokowy, Natalia Vydra, Wiesława Widlak

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej Curie, Oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice

Estrogeny (np. β -estradiol, E2), rozpoznawane przez specyficzne receptory, to kluczowe żeńskie hormony płciowe, które odgrywają istotną rolę w rozwoju seksualnym i reprodukcyjnym. Są również czynnikiem ryzyka rozwoju raka piersi, jajnika i endometrium. HSF1 (ang. Heat Shock Factor 1) jest głównym czynnikiem transkrypcyjnym aktywowanym pod wpływem stresu środowiskowego, odpowiedzialnym za aktywację genów szoku termicznego HSP (ang. Heat Shock Proteins). Dane kliniczne wskazują, że jego wysoki poziom jest związany ze zwiększonym ryzykiem zgonu pacjentów z estrogeno-zależnym rakiem piersi oraz endometrium. Celem prowadzonych badań jest zrozumienie roli HSF1 w transformacji

nowotworowej komórek nabłonkowych piersi indukowanej 17β -estradiolem i progresji nowotworu.

Wykorzystujemy dwie nietumorigenne linie komórkowe wywodzące się z gruczołu piersiowego, MCF10a i MCF12a, oraz komórki nowotworowe MCF7. Wykazaliśmy, że MCF12a mają niektóre cechy komórek mezenchymalnych (ekspresja wimentyny), a w hodowli trójwymiarowej (3D) tworzą bardziej rozproszone struktury niż komórki MCF10a. Natomiast komórki nowotworowe MCF7 tworzą w hodowli 3D struktury nieorganizowane. W liniach tych bądź obniżyliśmy ekspresję HSF1 (za pomocą swoich shRNA lub CRISPR/Cas9) bądź uzyskaliśmy jego nadekspresję (wprowadzając cDNA HSF1 za pomocą systemu lentiwirusowego). W hodowlach 3D komórki MCF10a z obniżoną ekspresją HSF1 tracą zdolność tworzenia zorganizowanych struktur przestrzennych, natomiast komórki MCF12a tworzą bardziej zróżnicowane struktury pęcherzykowe. HSF1 ma również wpływ na wzrost komórek MCF7 w hodowli 3D – po jego wyciszeniu pojawiają się struktury lepiej zorganizowane. Badając wzór ekspresji białek związanych z przejściem nabłonkowo-mezenchymalnym zaobserwowaliśmy, że HSF1 zwiększa ekspresję wimentyny (marker komórek mezenchymalnych), a hamuje ekspresję E-kadheryny (marker komórek nabłonkowych). Uzyskane wyniki sugerują, że HSF1 może wspierać przejście komórek piersi do fenotypu mezenchymalnego ułatwiającego tworzenie przerzutów w nowotworach.

Modyfikowane komórki poddaliśmy również ekspozycji na estrogen i wykonaliśmy szereg testów funkcjonalnych oraz pilotowe oznaczenia zmian w poziomie ekspresji genów metodą RNA-seq. Doświadczenia te wykazały, że HSF1 ma wpływ głównie na ekspresję genów regulowanych przez E2 związanych z adhezją komórek oraz migracją i angiogenezą.

This work was supported by grants no 2014/13/B/NZ7/02341 and 2015/17/B/NZ3/03760 from the Polish National Science Centre.

Nr 20

SWP73A and SWP73B subunits of Arabidopsis SWI/SNF chromatin remodeling complexes play distinct roles during development

Sebastian P. Sacharowski¹, Dominika M. Gratkowska¹, Elzbieta A. Sarnowska², Paulina Kondrak^{1,3}, Iga Jancewicz^{1,3}, Aimone Porri⁴, Ernest Bucior^{1,5}, Anna T. Rolicka^{1,5}, Sara Stolze⁴, Harzen Anna⁴, Rainer Franzen⁴, Justyna Kowalczyk¹, Bruno Huettel⁶, Elmon Schmelzer⁴, George Coupland⁴, Hirofumi Nakagami⁴, Andrzej Jerzmanowski^{1,5}, Csaba Koncz^{4,7}, and Tomasz J. Sarnowski¹

¹Institute of Biochemistry and Biophysics PAS, Pawinskiego 5A, 02-106 Warsaw, Poland;

²Marie Curie Memorial Cancer Center, Roentgena 5, 02-781 Warsaw, Poland;

³Warsaw University of Life Sciences, Nowoursynowska 166 ST, 02-787 Warsaw, Poland

⁴Max-Planck Institut für Pflanzenzüchtungsforschung, Carl-von-Linné-Weg 10, D-50829 Köln, Germany;

⁵University of Warsaw, Faculty of Biology Pawinskiego 5A, 02-106 Warsaw, Poland;

⁶Max Planck Genome Centre Cologne, Carl-von-Linne-Weg 10, D-50820 Köln, Germany

⁷Institute of Plant Biology, Biological Research Center of Hungarian Academy, Temesvári krt. 62, H-6724 Szeged, Hungary

SWP73/BAF60 – accessory subunits of SWI/SNF chromatin remodeling complexes link the core complex and transcription factors in order to control gene expression. Human genome encodes three BAF60 subunits: BAF60a, BAF60b and BAF60c while in Arabidopsis exist two SWP73- type proteins: SWP73A and SWP73B. Many recent papers emphasize diverse roles of human BAF60a, BAF60b and BAF60c proteins in development and tissue differentiation. They seem to be involved in regulation of distinct processes, especially in case of metabolism and hormonal signaling.

Our study performed on Arabidopsis knock-out mutants lines gave us an unique ability to observe shared and unique features of SWP73 subunits at the whole organism level, not only in particular tissues. Using mass-spectrometry we isolated protein partners of both subunits which connect chromatin remodeling done by SWI/SNF with various nuclear processes, like: PolIII and PolIV -dependent transcription or histone deacetylation.

Interestingly, inactivation of either *SWP73A* or *SWP73B* does not affect global nucleosomes occupancy, however the lack of SWP73B alters positioning of particular nucleosomes on *loci* of genes crucial for leaf (e.g. *AS1*, *AS2*, *KAN1*) and flower development (e.g. *AGL24*, *SOC1*, *LFY*, *AP1*, *AP3*). Subsequently, we identified, using chromatin immunoprecipitation approach, that SWP73B directly binds promoter regions of these genes, consistently with observed altered expression of these genes in *swp73b* plants.

During our study we found that SWP73 protein play distinct roles during development. *SWP73A* inactivation does not cause significant morphological defects, while *swp73b* mutants exhibit retarded growth, severe alterations in leaf and flower development, delayed flowering and male sterility. The simultaneous inactivation of both SWP73 protein causes lethality at early stage of embryonic development.

Summarizing, our study showed that SWP73B appears to act as important modulator of major developmental pathways, while SWP73A functions in flowering time control indicating differential contribution of SWP73A and SWP73B containing SWI/SNF complexes to regulation of transcription networks controlling Arabidopsis development.

This work was supported by the National Science Center grants No.

2015/17/N/NZ2/01919 to S.S. and 2014/13/B/NZ2/01187 for T.J.S.

Nr 21

Investigation of SWI/SNF chromatin remodeling complex composition using classical genetic and molecular biology approaches

Jaroslav Steciuk¹, Monika Ciesla¹, Anna Rolicka¹, Sebastian Sacharowski¹, Tomasz J. Sarnowski¹

¹Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

In all eukaryotic organisms nuclear DNA is packed into chromatin. Such packaging imposes serious restrictions on processes such as transcription, DNA repair or replication. This problem can be overcome by chromatin remodeling complexes, including SWI/SNF complex family. SNF5 is one of the core subunits of SWI/SNF

complexes and it plays an essential role in complex formation and function in variety of organisms, from yeast to humans. Inactivation of the human SNF5 homolog results in malignant rhabdoid tumors formation. The only homolog of SNF5 in Arabidopsis is BSH. No mutant lines with complete BSH gene inactivation have been described so far. Here we present the preliminary results of functional BSH characterization, using classical genetics, interactomics and other approaches to show its unexpected roles in plant SWI/SNF complex function.

This project was supported by the National Science Center grant No. UMO-2014/13/B/NZ2/01187

Nr 22

hMTH1 is required for maintaining migration and invasion potential of human thyroid cancer cells

Katarzyna D. Arczewska¹, Anna Stachurska², Maria Wojewódzka³, Marcin Kruszewski^{3,4}, Hilde Nilsen⁵ and Barbara Czarnocka¹

¹Centre of Postgraduate Medical Education, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Marymoncka 99/103, 01-813 Warsaw, Poland

²Centre of Postgraduate Medical Education, Department of Immunohematology, Marymoncka 99/103, 01-813 Warsaw, Poland

³Centre for Radiobiology and Biological Dosimetry, Institute of Nuclear Chemistry and Technology, Dorodna 16, 03-195 Warsaw, Poland

⁴Department of Molecular Biology and Translational Research, Institute of Rural Health, Jaczewskiego 2, 20-090, Lublin, Poland

⁵Department of Clinical Molecular Biology, University of Oslo, and Akershus University Hospital, Norway

Cancer cells, including thyroid cancer cells, suffer from oxidative stress damaging multiple cellular targets, such as DNA and the nucleotide pool. The human MutT homologue 1 (hMTH1) controls the oxidative DNA damage load by sanitizing the nucleotide pool from the oxidized DNA precursor, 8-oxodGTP. It has previously been shown that hMTH1 is essential for cancer cell proliferation and survival, therefore hMTH1 inhibition has been proposed as a novel anticancer therapeutic strategy. Here we show that thyroid cancer cells respond to siRNA mediated hMTH1 depletion with increased DNA damage load and moderately reduced proliferation rates, but without detectable apoptosis or

senescence. Importantly, however, hMTH1 depletion significantly reduced migration and invasion

potential of the thyroid cancer cells. Accordingly, our results allow us to propose that hMTH1 may be a therapeutic target in thyroid malignancy, especially for controlling metastasis.

Presented research was supported by Foundation for Polish Science PARENT/BRIDGE programme co-financed from European Union funds under the Innovative Economy Operational Programme 2007-2013

No 23

“What they do in the shadows”: the evaluation of TRAIL-like molecule apoptotic activity and resistance mechanism in colon cancer

Michał Kopczyński¹, Magdalena Cybulska¹, Katarzyna Unrug-Bielawska¹, Urszula Kuklińska¹, Aleksandra Grochowska¹, Małgorzata Statkiewicz¹, Maria Kulecka¹, Michalina Dąbrowska¹, Agnieszka Paziewska¹, Michał Mikula¹, Jerzy Ostrowski¹

¹Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Department of Genetics, Roentgena 5, 02-781 Warsaw, Poland

TRAIL (TNF-related apoptosis inducing ligand) is a type I transmembrane protein which in its soluble form is capable to selectively induce apoptosis in cells by binding to its cognate receptors. Receptor R1 and R2 are fully operational and by binding their ligand, they can induce DISC formation and caspase cascade activation leading to cell death. Moreover, TRAIL also binds to two other receptors (R3 and R4) called decoy receptors which lack the death signal propagation due to truncated death domain (R4) or its total deficiency (R3).

In this study, we examined AD-054.1 molecule, which is a TRAIL-like protein developed by ADAMED company. We performed a quantitative comparison of apoptotic activity between AD-054.1 and native TRAIL on nine human colon cancer (CC) cell lines and three mouse cancer cell lines. We found that both molecules show promising toxicity profiles towards CC cell lines (7/2 responsive/non-responsive) in a dose-dependent manner. To evaluate the possible

relationship between apoptosis activity and TRAIL receptors we measured their occupancy on the cells surface using immunofluorescence. Unsurprisingly, the receptor abundances correlated with the extent of apoptosis. Interestingly, we found that resistant human CC cell lines (RKO, CACO2) show different receptor abundances what suggested different sources of the resistance. To better understand AD-054.1 resistance mechanisms we applied prolonged culturing on AD-054.1-sensitive SW480 and DLD-1 cell lines with sublethal dose of AD-054.1 what resulted in creating the AD-054.1 and TRAIL resistant versions of these cell lines. The RNA-Seq analysis of primary and resistant SW480 and DLD-1 revealed a cross-talk between caspase cascade and NFkB pathway pointing on possible molecular mechanism of resistance. Additionally, the resistant cell lines, showed a decrease in R1 and R2 occupancy in an immunofluorescence examination. The AD-054.1 is a promising biological therapeutic for further clinical development. Our studies demonstrate the possible mechanism of CC resistance after prolonged exposure to AD-054.1.

Acknowledgements:

This study was supported by grant STRATEG-MED 2/265566/6NCBR/2015 from the National Centre for Research and Development, Poland.

Nr 24

Ocena użyteczności markerów egzozomów oczyszczanych z surowicy oraz z komórek płaskonabłonkowego raka gardła techniką chromatografii żelowej

Mateusz Smolarz¹, Agata Włosowicz¹, Agata Abramowicz¹, Piotr Wiślak¹,
Monika Pietrowska¹

¹Institut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie – Centrum Onkologii, 44-101 Gliwice, Polska

Egzosomy to pęcherzyki o wielkości 30-150 nm, które są uwalniane do przestrzeni międzykomórkowej przez komórki prawidłowe i nowotworowe. Ich właściwości biologiczne w kontekście rozwoju i progresji nowotworów są przedmiotem licznych badań naukowych. Egzosomy mogą zostać wyizolowane z różnego rodzaju materiału biologicznego, np. krwi i jej pochodnych, moczu, śliny, płynu

mózgowo-rdzeniowego, a także z pożywki hodowlanej dla różnych linii komórkowych. Istotnym zagadnieniem

w prowadzeniu badań nad egzozomami jest ich izolacja z materiału badawczego. Dotychczas opracowano kilka technik izolacji i oczyszczania egzozomów, przy czym najczęściej stosowane jest ultrawierowanie. Użycie tej techniki wiąże się z obecnością większych pęcherzyków we frakcji egzozomów, a ponadto powoduje agregację egzozomów. W trakcie wierowania dochodzi również do kontaminacji białkami nie będącymi składową egzozomów, a występującymi w dużych ilościach

w materiale z którego są izolowane. Alternatywą jest zastosowanie techniki chromatografii żelowej (SEC), która polega na rozdzieleniu cząstek według ich wielkości. SEC pozwala na usunięcie kontaminacji białkami występującymi w dużej ilości w materiale z którego izolowane są egzozosomy.

W naszych badaniach zastosowaliśmy cztery warianty izolacji oraz dwa typy materiału badawczego:

(i) surowica zdrowego dawcy oraz (ii) pożywka z hodowli komórek linii płaskonabłonkowego raka gardła (FaDu). Dodatkowo rozdzielono komercyjną surowicę pozbawioną egzozomów (Gibco) zatężoną do stężenia białka całkowitego 62,82 µg/µl. Materiał został naniesiony na kolumny wypełnione złożem komercyjnym (IZON qEV, Labnatek, IGH) i rozdzielony na 24 frakcje. We wszystkich frakcjach wyznaczono stężenie białka całkowitego metodą BCA. Następnie wykonano analizę Western blot na obecność uznanych markerów egzozosomalnych: CD63, CD81, CD9, TSG101.

Badania zostały sfinansowane w ramach realizacji projektu NCN 2013/11/B/NZ7/01512 oraz 2016/22/M/NZ5/00667.

Wykrywanie DNA HPV i białek E6,E7 i p16^{INK4A} w raku odbytu

E. Małusecka¹, A. Mazurek¹, E. Chmielik²,
M. Giglok³, T. Rutkowski⁴, D. Lange²,
R. Suwiński³

¹ Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów,

² Zakład Patologii Nowotworów,

³ II Klinika Radioterapii i Chemioterapii,

⁴ I Klinika Radioterapii i Chemioterapii,

Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Rak odbytu jest nowotworem rzadko występującym, w większości przypadków HPV-pozytywnym. Obecność wirusa HPV uważana jest w przypadku tego nowotworu za korzystny czynnik prognostyczny. Celem badania było oszacowanie zależności pomiędzy obecnością DNA HPV a ekspresją białek wirusowych E6 i E7, oraz białka komórkowego p16^{INK4A}. Grupę badaną stanowiło 34 pacjentów, w tym 23 chorych na raka odbytu, 7 chorych na raka odbytnicy, a w 4 przypadkach wycinki pochodziły od chorych, u których zdiagnozowano łagodne zmiany okolic odbytu. Badanie przeprowadzono na materiale parafinowym, ekspresja białek badana była immunohistochemicznie, genotypowanie wirusa zostało przeprowadzone przy użyciu ilościowej reakcji łańcuchowej polimerazy DNA (qPCR). Do badań zakwalifikowano pacjentów leczonych w COI w Gliwicach w latach 2006 – 2017.

W 88% analizowanych przypadków stwierdzono obecność DNA HPV wysokiego ryzyka. W 76,5% przypadków był to podtyp 16, natomiast w grupie chorych na raka odbytu częstość HPV16 była dużo wyższa (96%).

Pozytywną reakcję immunohistochemiczną na białko E6 obserwowano w 5 przypadkach raka odbytu. Liczba przypadków wykazujących ekspresję białka E7 wyniosła 9, ale jedynie w dwóch przypadkach obserwowano jednoczesną ekspresję białek E6 i E7.

W 63% wszystkich przypadków, a w 73% przypadkach raka odbytu znaleziono pozytywną reakcją na białko p16^{INK4A}. Aż w 91% przypadków raka odbytu stwierdzono jednoczesną obecność DNA HPV i ekspresję białka p16^{INK4A}. Jedynie w dwóch przypadkach stwierdzono

jednoczesne występowanie innych typów HPV wysokiego ryzyka.

Najczęstszym podtypem wirusa HPV znajdującym w raku odbytu jest HPV16. Koinfekcja z innymi typami HPV wysokiego ryzyka.

No 26

Detekcja mutacji somatycznych i germinalnych w genach BRCA1 i BRCA2 w raku jajnika techniką sekwencjonowania nowej generacji

Wojciech Pięłowski^{1,2}, Magdalena Mazur¹,
Bogna Szcześniak-Kłusek², Ewa Stobiecka²,
Artur Zajkowiec¹, Lucyna Ponge¹, Urszula
Bojko¹, Anna Fiszer-Kierzkowska¹

¹Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów, Laboratorium Diagnostyki Molekularnej, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, oddział w Gliwicach

²Zakład Patologii Nowotworów, Centrum Onkologii - Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, oddział w Gliwicach

Wykrycie patogennej mutacji somatycznej lub germinalnej w genach *BRCA1/2* u osób leczonych z powodu raka jajnika umożliwia zastosowanie terapii celowanej - inhibitorów PARP. Wariant patogennej mutacji wykryty w nowotworowym materiale genetycznym techniką NGS (ang. *Next Generation Sequencing*) jest weryfikowany, w celu określenia, czy zmiana jest dziedziczna. W przypadku wykrycia mutacji germinalnej rodzina pacjentki zostaje objęta opieką poradni genetycznej.

Przeprowadziliśmy sekwencjonowanie wszystkich eksonów *BRCA1* i *BRCA2* w grupie 24 pacjentek z rakiem jajnika. Odsetek utkania nowotworowego w badanym materiale wynosił od 50% do 90%. Zastosowaliśmy test *OncoPrint BRCA Research*, sekwencjonowanie wykonaliśmy z użyciem systemu *Ion Torrent PGM*. Dane analizowaliśmy z użyciem systemowego oprogramowania, jak również publicznie dostępnymi narzędziami obliczeniowymi i baz danych. Warianty patogenne zidentyfikowaliśmy w 35% przypadków (7 z 20 analiz diagnostycznych). W genie *BRCA1* wykryliśmy 4 mutacje patogenne powodujące przesunięcie ramki odczytu, w tym dwie mutacje powtarzalne charakterystyczne dla polskiej populacji. W genie *BRCA2* wykryliśmy trzy mutacje patogenne typu *missense*. Średnia częstość alleliczna wariantów patogennych wynosiła 87,66% (69%-100%).

Materiał tkankowy poddany standardowej preparatyce histologicznej (FFPE), oceniany przez doświadczonego patologa stanowi cenne (często również jedyne) źródło nowotworowego DNA/RNA. Możliwość uzyskania danych genetycznych wysokiej jakości jest zależna od prawidłowego przeprowadzenia procedur histopatologicznych. W przypadku materiału tkankowego utrwalanego w jednej z pracowni odnotowaliśmy wysoki odsetek (83,33%, 5 z 6 tkanek dostarczonych do badania) artefaktów w analizowanej sekwencji docelowej (liczne tranzycje C:G>T:A, jako skutek nieprawidłowego utrwalania materiału). Odsetek wyników niediagnostycznych w naszym badaniu to 16,67%. Zastosowana przez nas strategia sekwencjonowania i analizy danych umożliwiła skuteczną analizę obecności wariantów patogennych w genach BRCA1/2 w 83,33% (20 z 24) przeprowadzonych badań.

Nr 27

Baza danych dozymetrycznych akceleratorów Varian Medical Systems zainstalowanych w polskich ośrodkach onkologicznych

P. Paściak, K. Śłosarek, Ł. Dolla, W. Osewski

Centrum Onkologii – Instytut, im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice

Wstęp

Specyfikacje stosowanych obecnie aparatów radioterapeutycznych określają precyzję poziomu dostarczonej dawki na poziomie dziesiątych części Gy przy dokładności przestrzennej rzędu 1 mm. Niemniej różnice w zmierzonych wydajnościach oraz geometriach rozkładów dawek pomiędzy aparatami ustawionymi na te same parametry pracy sugerują, że dla osiągnięcia takiej precyzji podczas leczenia niezbędna jest ścisła kontrola już na etapie wstępnej konfiguracji urządzeń. Dostarczane przez producentów aparatów oprogramowanie nie pozwala jednak na tak pełną analizę.

Cel pracy

Zwiększenie kontroli nad przebiegiem procesu radioterapii poprzez stworzenie niezależnego od producentów aparatów radioterapeutycznych narzędzia do analizy porównawczej wyników pomiarów dozymetrycznych, przystosowanego także do analizy danych pomiarowych

w zestawieniu z generowanymi przez algorytmy obliczeniowe systemów planowania leczenia. Stworzenie bazy danych pomiarów wydajnościowych, tak by ośrodki wdrażające nowe aparaty miały solidny punkt odniesienia dla wstępnej kalibracji swoich urządzeń.

Materiał i metoda

Przy realizacji określonego wyżej zadania wykorzystano język do analizy statystycznej R wraz z frameworkiem Shiny pozwalającym na tworzenie aplikacji webowych. Program został udostępniony przez Internet ośrodkom, które wyraziły chęć udziału w projekcie.

Wyniki i wnioski

Stworzony program pozwala na łatwe porównywanie wszystkich krzywych kalibracyjnych aparatów radioterapeutycznych.

Zarówno w analizie jakościowej, jak i ilościowej użytkownik może dowolnie manipulować zakresem analizy oraz przedstawiać ją w różnych ujęciach. Analiza porównawcza została wzbogacona o obliczenie parametru gamma.

Do programu załączona jest baza danych zbudowana z 9 zestawów danych dozymetrycznych. Użytkownik może również porównać zapisane tam dane z umieszczonymi na lokalnym komputerze lub serwerze.

Słowa kluczowe:

beam configuration, machine QA, gamma coefficient, PDD

Nr 28

Skrypty w systemie Eclipse: nowe możliwości oceny planów leczenia radioterapeutycznego

K. Śłosarek, P. Paściak, Ł. Dolla, W. Osewski

Centrum Onkologii – Instytut, im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice

Wstęp

Oceny planów leczenia, a w szczególności porównywanie rozkładów dawek, zazwyczaj wykonywane są w sposób subiektywny. Literatura dostarcza wielu metod ilościowego porównywania planów, niestety możliwości ich wykorzystania bezpośrednio w systemach planowania – również tak popularnych jak TPS Eclipse – są bardzo ograniczone.

Obliczenie odpowiednich wskaźników poza TPS wymaga natomiast eksportu histogramów DVH

i czasochłonną – oraz narażoną na pomyłki – obróbkę danych, co powoduje, że cały proces staje się nieefektywny w praktyce klinicznej.

Cel pracy

Aby przezwyciężyć opisane trudności postawiono sobie za cel stworzenie zintegrowanego z TPS Eclipse narzędzia do ilościowej analizy porównawczej planów leczenia, którego użycie nie będzie zaburzało cyklu pracy nad planem. Narzędzie powinno pozostawiać użytkownikowi wybór co do wykorzystywanego współczynnika oceny planu oraz umożliwiać uwzględnienie priorytetów leczenia.

Materiał i metoda

Dla realizacji celów wykorzystano narzędzie Eclipse Scripting API (ESAPI), które daje dostęp do wielu parametrów planu leczenia oraz pozwala na tworzenie zintegrowanych z systemem Eclipse aplikacji. Zgodnie z metodologią ESAPI logika programu została przygotowana w C#, graficzny interfejs użytkownika w WPF, wykorzystano też biblioteki przygotowane przez firmę VMS: VMS.TPS.Common.Model.API, VMS.TPS.Common.Model.Types. Do usprawnienia manipulacji kolekcjami wykorzystano komponent Linq to Objects.

Wyniki i wnioski

Przygotowana nakładka (plugin) umożliwia bieżące ilościowe porównywanie planów leczenia poprzez obliczenie kilku wybranych wskaźników oceniających (Radiation Planning Index, Conformity Index, Homogeneity Index) z uwzględnieniem możliwości określenia priorytetów leczenia – struktur anatomicznych i przypisanych im wag.

Zaprezentowany sposób może znacząco ułatwiać ostateczną decyzję o wyborze planu nie powodując wydłużenia całego procesu przygotowania leczenia.

Słowa kluczowe:

Eclipse, ESAPI, treatment planning evaluation, radiation planning index, scripting

Nr 29

REKONSTRUKCJA DAWKI NA BAZIE PLIKÓW LOGOWYCH MLC – TLFs dla techniki SBRT z bramkowaniem oddechowym

Łukasz Dolla, Wojciech Osewski,
Krzysztof Ślosarek

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie
Oddział w Gliwicach, ul. Wybrzeże Armii Krajowej 15,
44-101 Gliwice

Cel pracy: Porównanie rozkładów dawek obliczonych w systemie planowania leczenia i zrealizowanych na akceleratorach biomedycznych w technikach VMAT wykorzystywanych w radiochirurgii pozaczaszkowej z bramkowaniem oddechowym.

Materiał i Metody: Napromienianie chorych w radiochirurgii z bramkowaniem oddechowym realizowane jest na akceleratorach TrueBeam firmy VMS. Rozkłady dawek obliczane są w systemie planowania Eclipse (13.6) oraz weryfikowane dozymetrycznie przy pomocy matrycy ArcCheck firmy Sun Nuclear. Następnie są porównywane z wykorzystaniem współczynnika gamma i DTA oraz własnego oprogramowania dedykowanego do trójwymiarowej rekonstrukcji dawki DDcon.exe. To oprogramowanie korzysta z danych zapisywanych przez akcelerator w czasie ekspozycji promieniowania w plikach logowych kolimatora MLC. W celu porównania obliczonego i zrekonstruowanego rozkładu dawki wykorzystano oprogramowanie STATISTICA.

Wyniki: Wykonano analizę 50 planów leczenia dla raka płuca zaplanowanych techniką dynamiczną VMAT z wykorzystaniem energii promieniowania 10MV-FFF. Przeprowadzono analizę statystyczną przy pomocy oprogramowania STATISTICA z użyciem testów nieparametrycznych. Nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie pomiędzy wynikami analiz parametrów gamma i DTA dla grupy planów dozymetrycznych i grupy planów zrekonstruowanych.

Wnioski: Procedura weryfikacji dozymetrycznej przy pomocy matrycy ArcCheck jest użyteczną i podstawową metodą weryfikacji rozkładu dawki w radiochirurgii z wykorzystaniem techniki VMAT i bramkowania oddechowego. Rekonstrukcja dawki przy użyciu oprogramowania DDCon.exe może być pomocnym narzędziem stosowanym w weryfikacji rozkładu dawki

przed rozpoczęciem leczenia jak również w trakcie jego realizacji.

Nr 30

Czas przeżycia u chorych na raka piersi z mutacjami *BRCA*, *CHEK2*, *NOD2* lub polimorfizmem w genie *TP53* (c. [215G> C]).

Joanna Huszno^{1,2}, Zofia Kołosza³,
Aleksander Zajusz¹

¹Przychodnia Przyklinikczna,

²Poradnia Genetyczna,

³Zakład Fizyki Medycznej,

Centrum Onkologii – Instytut im Marii Skłodowskiej Curie.
Oddział w Gliwicach

Wstęp: Celem pracy było oszacowanie 5-letnich przeżyć chorych na wczesnego raka piersi z obecnością mutacji w genach *BRCA*, *CHEK2*, *NOD2* lub obecnością polimorfizmu w genie *TP53*, a także identyfikacja czynników prognostycznych w badanej grupie.

Materiał: Analizie poddano 613 chorych na raka piersi, w tym 59 kobiet z obecnością mutacji w genie *BRCA*, 47 w genie *CHEK2* (1100delC), 28 w genie *NOD2* (3020insC) i 87 pacjentek z obecnością polimorfizmu genu *TP53* (c. [215G> C]). Oceniano czynniki prognostyczne oraz czas przeżycia całkowitego (OS). Grupę kontrolną wybrano spośród chorych z rakiem piersi bez mutacji i polimorfizmów wyżej wymienionych genów (n = 392).

Wyniki: Pięcioletni OS wynosił 77,7% dla chorych z mutacją w genie *BRCA*, 94,6% dla nosicieli mutacji genu *CHEK2*, 100% dla nosicieli mutacji *NOD2* i 100% dla pacjentek z polimorfizmami *TP53*. Chorzy z mutacją w genie *BRCA* miały nieznacznie gorsze OS w porównaniu do grupy kontrolnej (77,7% vs. 86,5%, p = 0,209). Chorzy z mutacją genu *CHEK2* (p = 0,043) lub mutacją w genie *NOD2* (p = 0,021) mieli istotnie wyższe OS niż grupa kontrolna. Podobnie chorzy z obecnością polimorfizmu genu *TP53* (p = 0,001).

W podgrupie bez przerzutów do węzłów chłonnych, chore z obecnością mutacji genu *BRCA* charakteryzowały się najgorszym OS (80,6%) wśród nosicieli innych mutacji: *CHEK2* (94,7%, P = 0,028), *NOD2* (100%, p = 0,046) i polimorfizmów *TP53* (100%, p = 0,005) a także grupy kontrolnej (94,4%, p = 0,046). Podobną tendencję zaobserwowano w podgrupie

chorych z obecnością przerzutów w węzłach chłonnych i podgrupie z wielkością guza T1-T2. Większa średnica guza (HR = 2,35, p=0,0001), przerzuty do węzłów chłonnych (HR = 2,67, p=0,0001) i stadium zaawansowania klinicznego (HR=1,62, 2,40, 6,00 dla IIa, IIb i III, odpowiednio) były istotnymi negatywnymi czynnikami prognostycznymi. Nadekspresja receptora HER2 (HR = 1,41, p=0,087)- nieistotnie zwiększała ryzyko zgonu. Dodatni status receptorów ER HR = (0,54, p = 0,002) oraz PR (HR=0,60, p=0,012) były związane z lepszym OS.

Wnioski: Chore z obecnością mutacji w genach *CHEK2*, *NOD2* oraz polimorfizmem genu *TP53* miały lepszy 5-letni OS w porównaniu do chorych z mutacją genu *BRCA* i grupą kontrolną. Wielkość guza, przerzuty do węzłów chłonnych, status receptora ER były czynnikami prognostycznymi niezależnie od obecności mutacji i polimorfizmów.

Nr 31

New insights into nuclear function of evolutionarily conserved TOR kinases

Paweł Cwiek¹, Elżbieta Sarnowska², Szymon Kubala¹, Alidair R. Fernie³, Csaba Koncz^{4,5},
Janusz Siedlecki², Tomasz J. Sarnowski¹

¹Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences, Department of Protein Biosynthesis, Poland;

²Marie Curie Memorial Cancer Center, Roentgena 5, 02-781 Warsaw, Poland;

³Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Germany;

⁴Max-Planck Institut für Pflanzenzüchtungsforschung, Carl-von-Linné-Weg 10, D-50829 Köln, Germany;

⁵Institute of Plant Biology, Biological Research Center of Hungarian Academy, Temesvári krt. 62, H-6724 Szeged, Hungary

TOR (Target of Rapamycin) kinase is an enzyme which allows the precise control of cell growth in favourable environmental and nutritional conditions. This enzyme, which is present in all eucaryotes, is a subject of intense study in yeast, animals, human and plants. In mammals TOR is responsible for the maintenance of metabolic balance and cell growth, therefore any impairments in its function lead to such serious metabolic diseases as i.e. type II diabetes. Hyperactivation of this enzyme is frequently observed in other severe diseases like clear cell renal cell carcinoma, a type of kidney cancer. The TOR inhibitors i.e. everolimus, are

frequently used for the treatment of these diseases. Therefore, this enzyme is an important therapeutic target. Also in plants the TOR activity

impairment has dramatic consequences, because it leads to the death at the early stages of embryonic development.

The exact composition of the TOR complex in plants has not yet been characterized. Some components of the TOR complex and TOR complex-dependent proteins have been identified in Arabidopsis by sequence similarity. These are RAPTOR1/RAPTOR2, LST8-1/LST8-2, S6K1/S6K2. Moreover, recent study demonstrated that Arabidopsis TOR responds to rapamycin treatment and regulates endogenous level of phosphorylation of S6 kinase. Also Arabidopsis TOR has the ability to phosphorylate the human 4E-BP1, which strongly suggests an evolutionary conserved function of TOR. It has been recently demonstrated, that TOR kinase localizes also in the cell nucleus but its nuclear function has not been known yet, however study performed by us and others suggest the direct involvement of TOR kinase in transcriptional control of gene expression. Moreover, we found that TOR kinase interacts with SWI/SNF ATP-dependent chromatin remodeling complex. Given the broad effect of TOR pathway on the functioning of the whole organism it is very likely that TOR kinase will be interdependent also with other than SWI/SNF machineries controlling chromatin status and gene expression.

This work was supported by the National Science Center grants No. 2017/25/N/NZ2/01909 and DI2012 021842 'Diamond Grant' program by the Polish Ministry of Science for P.C. and Higher Education and National Science Centre grant No. 2013/11/B/NZ1/02101 for T.J.S..

Nr 32

Wpływ mitochondrialnej i jądrowo-cytoplazmatycznej izoformy O-GlcNAc transferazy na regulację ekspresji składników megakanałów mitochondrialnych w rakach endometrium.

Paweł Józwiak, Olga Kuźmycz, Magdalena Bryś

Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego
ul. Pomorska 141/143, 90-236 Łódź
e-mail: pawel.jozwiak@biol.uni.lodz.pl

Komórki zmienione nowotworowo w odróżnieniu od komórek prawidłowych silnie uzależniają swój metabolizm energetyczny od glukozy. Zmiany te mają związek z zaburzeniem prawidłowej pracy mitochondriów, które stanowią centra energetyczne eukariotycznych komórek. W mitochondriach w wyniku procesu oddychania komórkowego zachodzącego z udziałem kompleksów łańcucha oddechowego powstaje większość energii użytecznej biologicznie zmagazynowanej w postaci ATP. Tempo produkcji ATP w tych organellach jest regulowane aktywnością porów mitochondrialnych tzw. megakanałów powstających na styku zewnętrznej i wewnętrznej błony mitochondrialnej. Obserwowane w nowotworach zaburzenia powodują dysfunkcję mitochondriów i zwiększają produkcję ATP w procesie fermentacji, który zachodzi w cytoplazmie komórek. Niski zysk energetyczny fermentacji prowadzi do wzmożonej konsumpcji glukozy przez komórki nowotworowe z której część jest przekształcana w związek będący substratem dla O-GlcNAc transferazy (OGT). Enzym ten katalizuje przyłączenie pojedynczej reszty N-acetyloglukozaminy (GlcNAc) do białek. Według opublikowanych w ostatnich latach badań dysfunkcja mitochondriów może mieć związek z hiperglikemią, ale molekularne mechanizmy leżące u podstaw tej zależności są wciąż słabo poznane. Zaobserwowany w wielu badaniach silny związek zewnątrzkomórkowego stężenia glukozy z poziomem wewnątrzkomórkowej O-GlcNAcylationi białek, sugeruje, że ta potranslacyjna modyfikacja może stanowić sensor metaboliczny komórki oraz odgrywać istotną rolę w jej adaptacji do zmian statusu energetycznego. W związku z powyższym celem naszych badań było określenie wpływu zależnej od mOGT i ncOGT O-GlcNAcylationi na ekspresję

i lokalizację składników megakanalów mitochondrialnych. Badania zostały przeprowadzone z wykorzystaniem preparatów klinicznych oraz linii komórkowych raków endometrium.

Nr 33

Zmienność w genach komórkowych systemów transportu miedzi i jej wpływ na efektywność terapii cisplatyną

Karolina Tęcza, Jolanta Pamuła-Piłat, Magdalena Mazur, Tomasz Rutkowski, Karolina Gajda, Jolanta Mrochem, Ewa Grzybowska, Krzysztof Składowski

Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Miedź jest niezbędna dla prawidłowego funkcjonowania komórek, pełni rolę kofaktora dla wielu kluczowych metabolicznie enzymów. Utrzymanie właściwego stężenia miedzi w organizmie zapewniają wyspecjalizowane systemy transportu, które przenoszą również platynę oraz jej pochodne, w tym chemoterapeutyk cisplatynę. Uważa się, że zmienność w genach kodujących importer (CTR1) oraz wewnątrzkomórkowe eksporterzy działające poprzez sieć Golgiego (ATP7A i ATP7B), może wpływać na systemową dostępność leku. Konsekwentnie takie modyfikacje mogą prowadzić do wykształcenia fenotypu opornego bądź nadwrażliwego na leczenie. Podobny wpływ mogą wywierać modyfikacje w genach rodziny transporterów MATE (*multidrug and toxin extrusion protein*) odpowiedzialnych za usuwanie m.in. metali ciężkich.

Wpływ polimorfizmów genetycznych na odpowiedź na chemioterapię był analizowany w grupie 129 kobiet ze zdiagnozowanym nabłonkowym rakiem jajnika, otrzymujących chemioterapię pierwszego rzutu według schematu paklitaksel/cisplatyna. Analizie poddano 11 wariantów polimorficznych w genach *CTR1*, *ATP7A*, *ATP7B*, *MATE1*, *MATE2-K* i *TP53*. Dodatkowo prowadzone są analizy weryfikacyjne i testowe dla uzyskanych modeli w grupie 184 chorych na nowotwory rejonu głowy i szyi, leczonych cisplatyną jako chemioterapia indukcyjna lub w skojarzeniu z radioterapią. Wyniki uzyskane w grupie chorych na raka jajnika wskazują, że związane z polimorfizmem rs12686377 w genie *CTR1* obniżenie ekspresji

białka prowadzi do powstania fenotypu platynopornego i podnosi ryzyko zgonu ponad dwukrotnie (HR 2,62; p=0,005). Trzy funkcjonalne warianty w genie *ATP7B* wiążą się z kolei z nadwrażliwością na leczenie i z wysokim ryzykiem ogólnej i wczesnej neutropenii, które drastycznie rośnie wraz z nagromadzeniem niekorzystnych genotypów. Uszkodzenie wątroby po chemioterapii koreluje z wariantem rs2289669 w genie *MATE1*, który w połączeniu z polimorfizmem p.Arg72Pro w genie *TP53* podnosi ryzyko hepatotoksyczności ponad 17-krotnie.

Wyniki wskazują, że właściwy pobór platyny do komórek jest kluczowy dla pozytywnej odpowiedzi na leczenie, a toksyczność chemioterapii jest wynikiem zmian w zarządzaniu wewnątrzkomórkowym stężeniem leku. Wstępne oznaczenia wariantów w grupie HNC pozwoliło na wyselekcjonowanie 50 pacjentów obarczonych wysokim ryzykiem toksyczności. Analizy kliniczne oraz metabolomiczne są w toku.

Praca była finansowana ze środków Centrum Onkologii, oddział Gliwice, w ramach grantu wewnętrznego (2013; analizy C56) oraz środków własnych (2017; HNC)

Nr 34

Choroba oligometastatyczna – doświadczenia Centrum Onkologii w Gliwicach.

A. Napieralska, W. Majewski, L. Miszczyk

Zakład Radioterapii, Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Cel pracy

Ocena wyników radioterapii stereotaktycznej (SBRT) w leczeniu chorych na nowotwory z nielicznymi przerzutami (tzw. oligometastases). Ocena czynników prognostycznych i predykcyjnych.

Materiał i metoda

Kryteria włączenia: histopatologiczne potwierdzenie nowotworu, 1 do 3 przerzutów (z wyjątkiem przerzutów do mózgu), SBRT jako metoda miejscowego leczenia przerzutów. W analizie statystycznej wykorzystano test log rank, metodę Kaplana-Meiera oraz model regresji proporcjonalnej Coxa.

Wyniki

Badaną grupę tworzyło 542 chorych (186 kobiet, 356 mężczyzn; wiek 21-85 lat) leczonych w latach 2004-2017 SBRT z powodu 698 przerzutów, w tym: 241 zlokalizowanych w płucach, 227, w węzłach chłonnych, 106 w kościach, 105 w wątrobie i 19 w nadnerczach/tkanach miękkich. U 120 chorych przerzuty rozpoznano synchronicznie z guzem pierwotnym, u 422 wystąpiły one w okresie po zakończonym leczeniu guza pierwotnego. U większości chorych (91%) guz pierwotny był uprzednio leczony radykalnie. Dawka całkowita SBRT wynosiła od 6 do 60 Gy (mediana 36), a dawka frakcyjna od 5 do 20 Gy (mediana 12). Mediana obserwacji po SBRT wyniosła 5,6 lat, a 5-letnie przeżycie całkowite (OS, overall survival) 54%. Chorzy, z przerzutami synchronicznymi mieli krótsze OS w porównaniu do chorych, u których zmiany przerzutowe wystąpiły po zakończonym leczeniu guza pierwotnego (37% vs 58%, $p=0.0003$). Czynniki, które miały istotny statystycznie wpływ na OS w analizie wielowariantowej były: rodzaj leczenia guza pierwotnego (radykalne vs paliatywne, $p=0,0075$), wiek ($p=0,0047$), rok leczenia SBRT ($p=0,000$) oraz lokalizacja zmian przerzutowych ($p=0,0009$). Odsetek chorych, u których uzyskano odpowiedź miejscową na SBRT wyniósł 91%, a 1-, 2-, i 5-letni odsetek odpowiedzi to: 88%, 74% i 65%. Przerzuty, poza obszarem leczonym, wystąpiły u 51% chorych po zakończeniu SBRT, a 1-, 2-, i 5-letni odsetek przeżyć wolnych od choroby wyniósł 62%, 37% i 27%.

Wnioski

Leczenie radykalne guza pierwotnego u chorych z nielicznymi przerzutami wiąże się z lepszym przeżyciem całkowitym. Chorzy, u których przerzuty są zdiagnozowane synchronicznie z guzem pierwotnym, mają gorsze rokowanie w porównaniu do chorych, u których zmiany przerzutowe rozpoznano po zakończeniu leczenia guza pierwotnego.

Nr 35

Anti-cancer properties of a novel multi-component mixture of medicinal herbs.

Agata Gawel¹, Anna Stachurska³ and Marlena Godlewska¹

¹Department of Biochemistry and Molecular Biology, Centre of Postgraduate Medical

Education, Marymoncka 99/103, 01-813 Warsaw, Poland

²Department of Immunohematology, Centre of Postgraduate Medical Education, Marymoncka 99/103, 01-813 Warsaw, Poland

There is urgent need for the development of novel strategies to fight malignancies. In addition to classic hallmarks of cancerogenesis, the phenomenon of multidrug resistance is currently considered to be one of the most significant therapeutic barriers. Therefore, it is essential to establish new strategies, which will deplete metastasis, proliferation and adhesion and at the same time sensitize cancer cells to the administrated chemotherapeutics. In recent years rising interest in complementary and alternative medicine (CAM) has been observed. CAM treatments include the usage of natural dietary supplements, mainly herbal plants. Here, we report a study on the effect of a combination of natural extracts (MIX2) prepared from fresh fruits of *Prunus spinosa*, *Crataegus monogyna*, *Sorbus aucuparia* and *Euonymus europaeus* on the classic hallmarks of cancer cells, and the expression and activity of the multidrug resistant P-gp glycoprotein.

In the studies, HeLa and T98G cell lines and classic methods of molecular biology including RTqPCR, Western blot, flow cytometry and confocal imaging were used. Additionally, migration, adhesion and proliferation assays were executed.

The results indicate that the tested composition of extracts presents strong anti-cancer properties. MIX2 is not toxic, but at the same time significantly alters the metastasis, proliferation and adhesion of tumor cells. Furthermore, it was found that cells exposed to MIX2 present a significantly reduced expression and activity of P-gp. In the performed in vitro assay it was shown that MIX2 effectively sensitizes HeLa cells to doxorubicin (chemotherapeutic).

We postulate that MIX2 may be considered as a safe and applicable tool in sustaining drug delivery therapies of malignancies.

Nr 36

Powtórna radioterapia z powodu wznowy glejaków mózgu z wykorzystaniem technik modulacji intensywności wiązki w aspekcie bezpieczeństwa, tolerancji wczesnej i późnej oraz skuteczności.

E. Nowicka, M. Gawkowska-Suwińska, H. Grzbiela, M. Jarzab, L. Hawrylewicz, A. Grzadziel, Ł. Zarudzki, G. Stasik-Pres, D. Larysz, B. Bobek-Billewicz, R. Tarnawski.

III Klinika Radioterapii i Chemioterapii Centrum Onkologii Instytut, Oddział w Gliwicach

Cel: Nawrót miejscowy jest najczęstszym i nieuchronnym niepowodzeniem leczenia z powodu glejaków mózgu. Wyniki leczenia nawrotów są złe. Dotychczas nie opracowano standardów postępowania przy nawrotach. Celem projektu jest ocena możliwości zastosowania powtórnej radioterapii mózgowia z wykorzystaniem nowoczesnych technik planowania i napromieniania, oceny tolerancji wczesnej oraz wystąpienia odczynów późnych, u wybranych chorych na nawrotowe glejaki mózgu

Materiał i metody: W okresie od 2011 do 2017 r. w III Klinice Radioterapii i Chemioterapii 34 chorych zakwalifikowano do powtórnej radioterapii z powodu wznowy glejaków mózgu.

Mężczyźni	34
Kobiety	18
	16
Średni wiek	32,8 l
H-P pierwotny LGG	23
HGG	11
H-P wznowy HGG	19
HGG	15
LGG	4
Czas pomiędzy pierwotna RT a RT wznowy	68,5 miesiący (10,3-350,6 m)
LGG	81,9 miesiący (10,3-350,6)
HGG	31,6 miesiący (15,9-108,7)
Dawka powtór- nej RT	38,4Gy/g (12-54Gy/g)

Wyniki: Średni czas obserwacji chorych wyniósł 85,2 miesiący (zakres 22-355 miesiący) od pierwotnego leczenia i 11,4 miesiący od powtórnej radioterapii (zakres, 0,7-65 miesiący). Średni

czas do nawrotu choroby wynosił dla LGG- 90,5 miesiący (zakres 6,4-344) a dla HGG 42,6 miesiący (zakres 9,0 -102,8). U wszystkich chorych nawrót choroby wystąpił w obszarze poprzednio napromienianym. Tylko u jednego chorego z grupy 34 osobowej nie ukończono zaplanowanego leczenia. Odpowiedz na leczenie oceniano w badaniach MR wykonywanych w rytmie co 3 miesiący wg kryteriów RANO: CR stwierdzono u 4 chorych (11,7%), PR u 8 (23,5%) a SD u 11(32,3%). Średnie przeżycie pacjentów po powtórnej radioterapii wyniosło 10,7 miesiący. Nie stwierdzono różnic w przeżyciach po powtórnej radioterapii w zależności od stanu neurologicznego, płci, wieku.

Wnioski: Po analizie przebiegu klinicznego powtórnej radioterapii wznów glejaków u 34 chorych, leczenie to było dobrze tolerowane. Nie obserwowaliśmy nasilonej toksyczności wczesnej i późnej. Planujemy kontynuację projektu ze szczegółową oceną wpływu parametrów kliniczno patologicznych na efekt leczenia oraz korelacji wielkości dawki fizycznej z efektami wczesnymi i późnymi powtórnej radioterapii dla oceny bezpieczeństwa metody.

Nr 37

Monitorowanie całkowitego stężenia cfDNA we krwi chorych na raka głowy i szyi podczas chemioterapii indukcyjnej i następującej radioterapii.

Agnieszka M. Mazurek^{1x}, Natalia Vydra¹, Krzysztof Skłodowski², Tomasz Rutkowski²

¹Centrum Badań Translacyjnych i Biologii Molekularnej Nowotworów

²I Klinika Radioterapii i Chemioterapii

Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach

Wybrzeże Armii Krajowej 15, 44-101 Gliwice, Poland

*e-mail: Agnieszka.Mazurek@io.gliwice.pl

Wprowadzenie

Pozakomórkowy krążący we krwi DNA (cfDNA) powstaje głównie na drodze apoptozy zarówno prawidłowych komórek organizmu w procesie naturalnego obumierania, jak również komórek nowotworowych w przypadku chorych na nowotwory, u których stwierdza się wyższe stężenie cfDNA we krwi w porównaniu do zdrowych osób. Celem badania była obserwacja zmian poziomu stężenia całkowitego cfDNA we krwi podczas chemioterapii indukcyjnej

i następującej radioterapii u chorych na raka gardła środkowego.

Pacjenci i metody

Do badań zakwalifikowano pacjentów leczonych w Instytucie Onkologii w Gliwicach w latach od 2011 do 2017. Krew pobierano przed leczeniem, w trakcie leczenia oraz po leczeniu. Pomiar całkowitej ilości cfDNA wyizolowanego z osocza krwi wykonano z zastosowaniem qPCR (ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy).

Wyniki i wnioski

U chorych na raka gardła środkowego (RGŚ) stwierdzono wyższy poziom ($p=0.01$) całkowitego cfDNA w porównaniu z innymi rakami regionu głowy i szyi. Stężenie cfDNA było znacznie wyższe u chorych, których rak charakteryzował się najwyższym stopniem zaawansowania (IV) w porównaniu do pozostałych chorych (I-III, $p=0.01$). Chorzy powyżej 63 r.ż. mieli wyższe stężenie cfDNA w porównaniu z chorymi młodszymi ($p=0.001$). Podczas leczenia obserwowano znacząco istotny wzrost poziomu cfDNA - szczególnie po drugim cyklu chemioterapii obserwowano wyraźny „skok” stężenia cfDNA ($p=0.02$) - natomiast w końcowej fazie leczenia i po zakończonym leczeniu następował wyraźny spadek stężenia cfDNA. Podsumowując, poziom cfDNA, którego zakres przed leczeniem mieścił się w wąskim zakresie, podczas leczenia wykazywał wyraźne wahania stężeń związane z leczeniem.

Nr 38

The role of SWI/SNF-type chromatin remodeling complex in maintaining the energy homeostasis in *Arabidopsis thaliana* plants

Sebastian Sacharowski¹, Klaudia Kogut¹, [Anna Maassen](#)¹, Paulina Kondrak¹, Elzbieta Sarnowska², Dominika Gratkowska¹, Szymon Kubala¹, Wagner L. Araujo³, Takayuki Tohge⁴, Alisdair Fernie⁴, Csaba Koncz^{5,6}, Tomasz J. Sarnowski¹

¹Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences, Poland;

²Maria Skłodowska - Curie Memorial Cancer Center-Institute of Oncology, Poland,

³Universidade Federal de Viçosa, Brasil,

⁴Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Germany,

⁵Max Planck Institute of Molecular Plant Physiology, Germany;

⁶Institute of Plant Biology, Biological Research Center of Hungarian Academy, Hungary

Chromatin is subjected to dynamic modifications that allow an access to DNA for transcription factors and other regulatory proteins. Part of these modifications is executed by evolutionarily conserved ATP-dependent SWI/SNF chromatin remodeling complexes (CRCs). In *Arabidopsis*, the SWI/SNF complexes are involved in control of various developmental and regulatory processes. Our studies show that SWI/SNF complexes may be involved in the maintenance of energy homeostasis in *Arabidopsis*. Energy homeostasis in Eukaryota is strictly regulated by various factors, one of them is AMPK (AMP-activated protein kinase) - highly conserved heterotrimeric serine-threonine kinase. Homologues of AMPK kinases were among others identified in plants - SnRK1 (SNF1-related kinase 1). Similarly as in mammals SnRK1 appears in cytoplasm and nucleus. Through phosphorylation it regulates activity of key metabolic enzymes. Our previous studies show the existence of functional interdependences between SnRK1 and evolutionary conserved SWI/SNF chromatin remodeling complexes. Mutations in genes encoding subunits of SWI/SNF complex cause aberrations in expression level of key metabolic enzymes which correlates with alterations in glycolysis and TCA cycle. Additionally physical interactions between one of the subunits and SnRK1 were assessed.

Here we show, that SWI/SNF complexes may directly control expression of some genes responding to energy deprivation. Furthermore, our findings indicate that the occupancy of SWI/SNF complexes on these direct target loci alters upon this type of stress. Our study, including metabolome and transcriptome profiling prove that SWI/SNF complexes may be generally involved in the maintenance of energy homeostasis in *Arabidopsis*.

Undertaken studies besides contributing to the enrichment of the knowledge of SWI/SNF role in plants can also help in elucidating the evolutionarily conserved mechanisms of interactions between AMPK and SWI/SNF complex in mammals in which this kind of research is difficult due to the lethality of *swi/snf* mutants and/or ethical issues. Thus *Arabidopsis* can be

proposed as an attractive alternative to other models currently used in human studies.

Financial Support: National Science Centre grant No.2014/13/B/NZ2/01187

Nr 39

Tomoterapia vs RapidArc – ocena porównawcza rozkładu dawek

K. Trela-Janus, D. Gabryś, Ł. Dolla,
W. Leszczyński;

Zakład Radioterapii i Zakład Planowania Radioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach

Cel pracy:

Ocena rozkładu dawek w obszarach tarczowych i narządach krytycznych po zastosowaniu dwóch technik napromieniania – Tomoterapia i RapidArc.

Materiał:

Grupa 20-tu chorych leczonych radykalnie lub paliatywnie (po 10-ciu w każdej grupie) z powodu nowotworów zlokalizowanych w obszarach klatki piersiowej, jamy brzusznej i miednicy, z zastosowaniem techniki Tomoterapii.

Metody:

Dla każdego chorego badanej grupy wykonano dodatkowo plan leczenia z zastosowaniem techniki RapidArc. Przeprowadzono ocenę porównawczą histogramów dawek w obszarach tarczowych i narządach krytycznych (płuca, serce, wątroba i nerki) planów leczenia dla techniki Tomoterapii i RapidArc.

Wyniki:

Rozkłady dawek w obszarach tarczowych dla obu technik napromieniania były zbliżone w grupie leczonych radykalnie i paliatywnie. W grupie leczonych radykalnie, obserwowano korzystniejszy rozkład dawki w narządach krytycznych w zakresie niskich dawek (10-20Gy) dla techniki Tomoterapii (5-20%). W grupie leczonych paliatywnie histogramy dawek w obszarach tarczowych i narządach krytycznych przedstawiały się podobnie dla obu porównywanych technik napromieniania.

Wniosek:

Oceniane techniki Tomoterapii i RapidArc, pozwalają na uzyskanie porównywalnych rozkładów dawek.

Nr 40

Udział RING1B w regulacji proliferacji komórek raka endometrium

Ewa Forma, Magdalena Janicka,
Magdalena Bryś

Katedra Cytobiochemii, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki

Białko RING1B należące do białek Polycomb stanowi podjednostkę katalityczną kompleksu PRC1. Kompleks ten odpowiada za monoubikwitylację lizyny 119 histonu H2A i uczestniczy, wraz z kompleksem PRC2, w epigenetycznej represji ekspresji genów. W przeprowadzonych badaniach wykazaliśmy podwyższony poziom ekspresji *RING1B* na poziomie mRNA i białka w rakach endometrium w porównaniu do tkanki prawidłowej trzonu macicy. Nadekspresja *RING1B* związana była z krótszym czasem przeżycia pacjentek. Ponadto poziom ekspresji *RING1B* wzrastał wraz ze wzrostem stopnia zaawansowania badanych nowotworów. Wykazaliśmy również, że wzrost ekspresji *RING1B* skorelowany był ze spadkiem ekspresji czynnika transkrypcyjnego *KLF4* na skutek metylacji jego regionu promotorowego. W badanych nowotworach endometrium stwierdziliśmy spadek ekspresji inhibitorów kinaz zależnych od cyklin p21 i p57. Wyciszenie ekspresji RING1B przy użyciu siRNA w komórkach raka endometrium linii HEC-1-A i Ishikawa powodowało spadek proliferacji i wzrost ekspresji p21 i p57. Ponadto w badanych liniach komórkowych raka endometrium traktowanych 5-aza-2'-deoksytydyną (inhibitor metylotransferaz DNA) wykazaliśmy skorelowany ze wzrostem ekspresji *KLF4* spadek ekspresji *RING1B*.

Wyniki naszych badań sugerują, że białko RING1B może odgrywać kluczową rolę w regulacji proliferacji komórek raka endometrium i tym samym wpływać na progresję tego nowotworu.

Nr 41**Ocena objętości guza i wskaźników laboratoryjnych jako alternatywa dla systemu TNM w radioterapii nowotworów języka.**

Marcin Miszczyk¹, Aleksandra Napieralska²,
Bogusław Maciejewski²

¹Zakład Planowania Radioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach.

²Zakład Radioterapii, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Oddział w Gliwicach.

Cel:

Ocena korelacji pomiędzy objętością guza, wskaźnikami laboratoryjnymi i zaawansowaniem choroby w skali TNM a wynikami leczenia chorych na raki języka promieniami (RT) i RT w połączeniu z chemioterapią (CTRT).

Materiał i metoda:

Badanie opiera się na retrospektywnej analizie 61 przypadków chorych (47 mężczyzn, 14 kobiet) na raki języka (97% płaskonabłonkowe) w wieku 40 a 83 lat (mediana 59) leczonych za pomocą RT/CTRT. Podstawowym kryterium włączenia do badania było RT lub CTRT jako jedyna metoda leczenia radykalnego. Tylko w 10 przypadkach RT była leczeniem z wyboru, pozostali pacjenci zostali zdyskwalifikowani z leczenia chirurgicznego z powodu chorób towarzyszących (28%), zaawansowania choroby (39%), umiejscowienia guza (10%) lub braku zgody na operację (7%). Pacjenci zostali podzieleni na trzy grupy pod względem całkowitej wielkości guza przyjmując 15 i 70cm³ za wartości odcięcia. Chemioterapia (schematy bazujące na cisplatynie) została zastosowana w 14 przypadkach.

Wyniki:

Długość obserwacji (FU) wynosiła pomiędzy 0 a 130 miesięcy (mediana 14,6, 4 przypadki bez FU). 5-letnie całkowite przeżycie (OS) wyniosło 37,5%. Progresja choroby miała miejsce w 24 przypadkach a roczne przeżycie bez progresji choroby (PFS) definiowane jako brak wznowy lokalnej, węzłowej lub przerzutów zaobserwowano w 48% przypadków. Całkowita wielkość guza (GTV) podzielona na grupy ryzyka korelowała z 1-rocznym PFS, 3- i 5-letnim OS. Wynik stopnia zaawansowania choroby w skali TNM zarówno przedstawiony jako osobne grupy jak i podzielony na dwie grupy (I-III i IVa-IVc) nie wykazał statystycznie znamiennych korelacji z rezultatem leczenia.

Wskaźnik neutrofilii do limfocytów powyżej górnego lub poniżej dolnego kwartyla oraz wysokie wartości stężenia hemoglobiny we krwi korelowały z lepszym 1-rocznym PFS. Zaobserwowaliśmy negatywną korelację pomiędzy poziomem neutrofilów i wynikami leczenia.

Wnioski:

Obecne wyniki sugerują że ocena wielkości guza i wskaźników laboratoryjnych są lepszymi czynnikami prognostycznymi wyników RT chorych na raki języka niż zaawansowania choroby oceniane w skali TNM.

Nr 42**Predykcyjne i prognostyczne znaczenie wskaźnika liczby neutrofilii do limfocytów (NLR) krwi obwodowej dla wyników leczenia skojarzonego inhibitorami BRAF i MEK chorych na przerzutowego czerniaka z obecnością mutacji BRAF - analiza wielośrodkowa chorych leczonych w ramach programów lekowych**

Paweł Teterycz, Paulina Jagodzińska-Mucha, Anna Mariuk, Katarzyna Kozak, Bożena Cybulska-Stopa, Marcin Rajczykowski, Robert Dziura, Łukasz Galus, Jacek Mackiewicz, Iwona Ługowska, Marek Ziobro, Piotr Rutkowski

Z dostępnych danych wynika, że stosunek bezwzględnej liczby neutrofilii do limfocytów (NLR) krwi obwodowej jest czynnikiem rokowniczym w przypadku wielu nowotworów. Brak jest danych co do wartości klinicznej tego wskaźnika w przypadku nowoczesnych terapii czerniaka. Celem pracy jest ocena zależności między NLR a efektem leczenia w grupie chorych na czerniaka BRAF(+) leczonych przy użyciu kombinacji inhibitorów kinaz BRAF i MEK.

Metody: Do analizy włączono 205 chorych (z 6 polskich ośrodków onkologicznych) z nieoperacyjnym/przerzutowym czerniakiem z obecnością mutacji BRAF, którzy rozpoczęli leczenie inhibitorami BRAF+MEK (dabrafenib z trametynibem lub wemurafenib z kobimetynibem) między 10.2015 a 06.2017 w ramach programów lekowych, u których co najmniej raz oceniono odpowiedź na leczenie. U 30% pacjentów stwierdzono przerzuty w mózgu. Dla 181 pacjentów było to leczenie 1.linii. Do analizy statystycznej użyto estymatora Kaplana-Meiera,

testu log-rank oraz modelu proporcjonalnego hazardu Coxa.

Wyniki: Mediana czasu wolnego od progresji (PFS) i odsetek rocznego PFS wynosiły, odpowiednio, 10,0 miesiący i 38% (95%CI: 28,5-50,1%), odsetek rocznych przeżyć całkowitych (OS) wyniósł 68% (95%CI: 58,9-78,3%). Pacjenci z NLR powyżej wartości 3,2 (mediana grupy) w momencie rozpoczęcia leczenia mieli istotnie krótsze PFS ($p=0,01$, odsetek 1-rocznych PFS =43,6% vs 31,2%) i OS ($p=0,03$, odsetek 1-rocznych OS =75,0% vs 60,4%). W analizie wieloczynnikowej PFS uwzględniającej aktywność LDH oraz liczbę przerzutów NLR również był istotny statystycznie (HR:1,07, 95%CI 1,02-1,12; $p=0,006$).

Wnioski: Nasze wyniki wykazały przydatność NLR jako niezależnego czynnika predykcyjnego i prognostycznego wśród chorych na zaawansowane czerniaki leczone inhibitorami BRAF i MEK. Wyniki leczenia skojarzonego inhibitorami BRAF i MEK w praktyce klinicznej są zgodne z danymi z badań klinicznych.

No 43

Role of INI1 SWI/SNF complex subunit in development of Clear Cell Renal Cell Carcinoma

Elzbieta Sarnowska^{1^}, Michal Szymanski^{2^}, Natalia Rusetska¹, Marcin Ligaj³, Iga Jancewicz¹, Pawel Cwiek⁴, Marta Skrodzka⁵, Marcin Leszczynski¹, Joanna Szarkowska¹, Alicja Chrzan³, Malgorzata Stachowiak¹, Jaroslaw Steciuk⁴, Anna Maassen⁴, Lech Galek⁵, Tomasz Demkow², Janusz Aleksander Siedlecki^{1*}, Tomasz Jacek Sarnowski^{4*}

¹Department of Molecular and Translational Oncology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

²Department of Uro-oncology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

³Department of Pathology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

⁴Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences, Pawinskiego 5A Warsaw, Poland

⁵Department of Urology, Hospital of Ministry of Interior, Białystok, Poland

[^] * - equal contribution

Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) is the most common cancer among all kidney cancers (about 80% of cases) linked to patients' poor

prognosis. ccRCC is featured by severe metabolic alterations such as unusual accumulation of lipids and frequent inactivation of the von Hippel-Lindau (VHL) gene. Several other tumor suppressor genes are located near the VHL locus, within a region frequently deleted in ccRCC on chromosome 3p. One of these is *PBRM1* - the auxiliary subunit of SWI/SNF chromatin remodeling complex (CRC).

In general INI1 (also SNF5, BAF47, encoded by *SMARCB1*) core subunit of SWI/SNF chromatin remodeling complex positive staining is found in many kinds of rhabdoid tumors. Lower expression levels of INI1 in various types of sarcomas are used as prognostic marker.

The purpose of our study was to estimate extent to which INI1 is affected in ccRCC samples and whether it has any consequences on the development of this type of cancer. We also checked whether INI1 targeted chemokine axis is affected in ccRCC.

We observed reduced INI1 protein level in all conventional ccRCC cases used in this study. It also correlated with decreased expression of *SMARCB1* gene. Consequently, the reexpression of INI1 protein in A498 ccRCC cell line resulted in the elevation of endogenous *SMARCB1* transcript level indicating that the INI1-dependent regulatory feedback loop controlling expression of this gene is affected in ccRCC. Moreover, the set of INI1 target genes including e.g. CXCL12/CXCR7/CXCR4 chemokine axis was affected in ccRCC.

As INI1 belongs to the core of the SWI/SNF complex, we assume that it plays a crucial role in the pathogenesis of many cancers. Therefore, we believe that further work concerning INI1 is crucial for better understanding of tumor progression.

This work was supported by grant no. UMO-2013/11/B/NZ1/02101 From Polish National Science Center (NCN) for T.J.S. and 0218/DIA/2013/42 Diamond Grant from Polish Ministry of Higher Science and Education for P.C. and 0139/DIA/2017/46 for M.S.

Nr 44**Znaczenie kliniczne ekspresji i polimorfizmów genu *EMSY* w rakach jajnika**

Agnieszka Dansonka-Mieszkowska, Łukasz M. Szafron, Joanna Moes-Sosnowska, Mariusz Kulińczak, Anna Balcerak, Bożena Konopka, Magdalena Kulesza, Agnieszka Budziłowska, Martyna Łukasik, Urszula Piekarska, Iwona K. Rzepecka, Joanna Parada, Renata Zub, Barbara Pieńkowska-Grela, Jan K. Siwicki, Jolanta Kupryjańczyk

EMSY po raz pierwszy zostało odkryte jako białko łączące się z BRCA2 i hamujące jego działanie, co powodowało upośledzenie naprawy DNA. Aczkolwiek ostatnie badania wykazują, że *EMSY* bierze także udział w rearanżacji chromatyny i odpowiedzi immunologicznej. Amplifikacja i/lub nadekspresja *EMSY* jest wykrywana w wielu nowotworach, w tym rakach piersi i jajnika.

Celem badań była analiza polimorfizmów, amplifikacji oraz ekspresji genu *EMSY* w rakach jajnika. Ponadto w badaniach na liniach komórkowych raka jajnika zbadany został wpływ wyciszenia ekspresji *EMSY* na wrażliwość komórek na działanie taksanów.

Badania prowadzono na 134 rakach jajnika leczonych dwoma schematami: pochodne platyny z cyklofosfamidem (PC, n=32) lub taksany z pochodnymi platyny (TP, n=102). Ocenę liczby kopii i ekspresji genu *EMSY* wykonano metodą qRT-PCR z użyciem sond typu TaqMan. Polimorfizmy analizowano metodą PCR/SSCP i sekwencjonowania. Wpływ poziomu mRNA genu *EMSY* na dzianie paklitakselu badano przy użyciu dwóch linii komórkowych raka jajnika A2780 i IGROV1, w których ekspresję genu wyciszono za pomocą shRNA wbudowanego w wektor pGFP-B-RS.

Amplifikacja genu *EMSY* była obecna w 31% guzów. Badania ekspresji *EMSY* wykazały, że poziom mRNA pozytywnie korelował z amplifikacją ($p=0.008$). Ponadto wysoka ekspresja w guzie była związana ze skróceniem czasu całkowitego przeżycia (OS, $p=0.001$) i czasu wolnego od choroby (DFS, $p=0.002$), a także zmniejszała wrażliwość na leczenie (PS, $p=0.010$) w grupie pacjentek leczonych schematem TP. Z powyższymi obserwacjami zgodne były wyniki badań na liniach

komórkowych wykazujące, że wyciszenie ekspresji genu *EMSY* powodowało wzrost wrażliwości komórek na paklitaksel. Ponadto w komórkach, które przeżyły, poziom mRNA dla *EMSY* był porównywalny z poziomem mRNA w komórkach w hodowli kontrolnej. Analizując sekwencję genu *EMSY* wykryto 24 zmiany, z których 4 były nowe. Heterozygotyczny genotyp złożony z 5 polimorfizmów (rs4300410, rs3814711, rs4245443, rs2508740, rs2513523) negatywnie korelował z czasem całkowitego przeżycia ($p=0.009$) w grupie leczonej PC.

Nasze badania pokazują, że wysoka ekspresja *EMSY* może być negatywnym czynnikiem rokowniczym i prognostycznym w rakach jajnika leczonych taksanami. Ponadto niektóre polimorfizmy mogą mieć związek z przebiegiem klinicznym tego nowotworu.

Nr 45**Optymalizacja strategii chirurgicznej w nowotworach tarczycy w oparciu o klasyczne i molekularne czynniki prognostyczne.**

A. Czarniecka, M. Oczko-Wojciechowska, A. Sacher, G. Woźniak, M. Zeman, A. Maciejewski, D. Rusinek, E. Stobiecka, E. Chmielik, E. Zembala-Nożyńska, M. Jarzab, J. Krajewska, A. Król, D. Handkiewicz-Junak, B. Jarzab

Centrum Onkologii Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Oddział Gliwice

Nowoczesna strategia terapeutyczna w nowotworach tarczycy powinna opierać się o analizę kliniczno-patologicznych czynników ryzyka oraz wyników badań molekularnych. W Centrum Onkologii w Gliwicach od ponad 20 lat prowadzone są badania w tym zakresie. Ich celem jest optymalizacja wskazań i zakresu operacji oraz minimalizacja ryzyka powikłań.

Nowotworem tarczycy, w którym badania genetyczne odgrywają istotną rolę jest dziedziczny rak rdzeniasty (DRRT). W latach 1997- 2017 r. leczylimy operacyjnie 200 chorych na DRRT - 62 w okresie bezobjawowym (grupa 1) i 138 w okresie klinicznie jawnym (grupa 2). Prawdopodobieństwo 10-letniego przeżycia całkowitego u chorych z grupy 1 wynosiło 100% , natomiast w grupie 2 70%; $p<0,05$. Aktualnie decyzja o czasie i zakresie operacji w DRRT powinna

być podejmowana na podstawie wyniku badania mutacji protoonkogenu *RET*, stężenia kalcytoniny oraz wywiadu rodzinnego.

Wzrost zachorowalności na niskozaawansowanego raka brodawkowego tarczycy (RBT) jest powodem rewizji strategii terapeutycznej w tym nowotworze. W latach 2011-2015 242 chorych na RBT w stopniu zaawansowania cT1N0M0 było z powodzeniem leczonych mniej radykalnie. Ocenialiśmy także czy na podstawie mutacji *BRAF* można podejmować decyzję o zakresie operacji. Wysoka (56,5%) częstość mutacji, wobec bardzo dobrego rokowania (prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia bezobjawowego >95%) nie pozwala na zastosowanie jej jako samodzielnego czynnika prognostyczno-predykcyjnego.

Należy rozpatrywać ją w kontekście innych czynników w tym molekularnych (TERT).

Kolejnym problemem klinicznym są zmiany ogniskowe tarczycy o niepewnym potencjale złośliwości (Bethesda III-V) stanowiące 15-30% wyników biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej. W tym przypadku operacje są często procedurą diagnostyczną

Obecnie w ramach projektu „Milestone „ opracowywany jest autorski test molekularnym dyskryminującym przedoperacyjnie zmiany łagodne od złośliwych w celu ograniczenia zbędnych interwencji chirurgicznych.

Nr 46

Porównanie profilu ekspresji genów w czynnych i niemych kortykotropowych gruczolakach przysadki, z uwzględnieniem statusu mutacji *USP8*

Mateusz Bujko¹, Paulina Kober¹, Joanna Boresowicz^{1,2,3}, Agnieszka Paziewska⁴, Michalina Dąbrowska⁴, Monika Pękuł⁵, Agata Piaścik⁵, Jacek Kunicki⁶, Wiesław Bonicki⁶, Grzegorz Zieliński⁷, Maria Maksymowicz⁵

¹Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

²Wydział Chemii, Politechnika Warszawska

³Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki, Uniwersytet Warszawski

⁴ Zakład Genetyki, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁵Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁶Klinika Nowotworów Układu Nerwowego, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁷Klinika Neurochirurgii, Wojskowy Instytut Medyczny, Warszawa

Kortykotropowe gruczolaki przysadki najczęściej wywołują ACTH-zależną chorobę Cushinga (CD), ale niektóre z nich, należące do najbardziej agresywnych guzów przysadki, nie powodują objawów endokrynologicznych i określane są jako klinicznie nieczynne (nieme) guzy kortykotropowe (SCA). Nie wyjaśniono dotychczas dlaczego wytwarzanie ACTH prezentowane jest tylko w tkance (co potwierdzają badania immunohistochemiczne i mikroskopowo-elektronowe), bez klinicznych objawów wydzielania i jakie jest tego podłoże molekularne. W przypadku CD najczęściej identyfikowaną zmianą genomową jest mutacja punktowa w genie *USP8*.

Materiał. W oparciu o dostępność materiału archiwalnego zatopionego w bloczkach parafinowych wybrano do badań 28 przypadków CD i 20 SCA.

Wyniki. Mutacje *USP8* stwierdzono w 10/28 gruczolaków CD, ale również w 4/20 SCA.

Określono profil ekspresji genów w wycinkach gruczolaka od 12 chorych z CD i 12 SCA. W analizie typu klastrowania hierarchicznego guzy z mutacją *USP8* grupują się razem niezależnie od statusu endokrynologicznego. Porównanie ekspresji w gruczolakach podzielonych pod względem występowania mutacji *USP8* pokazało 1099 genów o znacząco różnym poziomie ekspresji.

Porównanie guzów czynnych i niemych wskazało 88 genów o różnym poziomie ekspresji w tych dwóch grupach. Wśród genów o najbardziej odmiennym poziomie ekspresji zidentyfikowano *KCNJ5*, który miał podwyższoną ekspresję w SCA.

Ekspresję genów *KCNJ5*, *POMC* i *EGFR* oznaczono na grupie 48 chorych metodą qRT-PCR. Wyniki wskazują na odmienny poziom ekspresji *KCNJ5* w gruczolakach niemych bez mutacji (podwyższona ekspresja) i z mutacją *USP8* (ekspresja na poziomie porównywalnym z gruczolakami czynnymi). Próbkę z podwyższoną ekspresją *KCNJ5* charakteryzowały się jednocześnie obniżonym poziomem ekspresji *POMC*.

Omówienie wyników i wnioski. Analiza ekspresji genów wykazała, że mutacja *USP8* silnie determinuje profil molekularny gruczolaków.

Nie zaobserwowano związku pomiędzy występowaniem mutacji *USP8* ze zmianą ekspresji *EGFR*, co sugerowały wcześniejsze prace. Podwyższona ekspresja *KCNJ5* wydaje się mieć funkcjonalny związek z niską aktywnością sekrecyjną gruczolaków niemych. Gen ten koduje kanał potasowy typu GIRK umożliwiający hiperpolaryzację błony komórkowej. Uważa się, że fizjologiczna aktywność komórek przysadki regulowana jest zmianą potencjału błonowego.

Nr 47

Nadekspresja hsa-mir-184 w gonadotropowych gruczolakach przysadki o inwazyjnym rozroście - wyniki wstępne.

Joanna Boresowicz^{1,2,3}, Paulina Kober¹,
Agnieszka Paziewska⁴, Michalina Dąbrowska⁴,
Maria Maksymowicz⁵, Jacek Kunicki⁶, Wiesław
Bonicki⁶, Janusz Aleksander Siedlecki¹,
Mateusz Bujko¹

¹Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

²Wydział Chemii, Politechnika Warszawska

³Wydział Matematyki, Informatyki i Mechaniki, Uniwersytet Warszawski

⁴ Zakład Genetyki, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁵Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁶Klinika Nowotworów Układu Nerwowego, Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Gruczolaki przysadki należą do najczęstszych guzów śródczaszkowych. Gruczolaki nieczynne hormonalnie, których większość wywodzi się z komórek gonadotropowych, to około 30% guzów przysadki. Stanowią one znaczący problem kliniczny. Inwazyjny rozrost określany w oparciu o diagnostykę obrazową i obserwację śródoperacyjną jest jednym z głównych czynników prognostycznych w tej grupie chorych. Celem pracy było poszukiwanie markerów molekularnych związanych z inwazyjnością tych guzów.

Materiał i metody. Wykorzystując sekwencjonowanie następnej generacji (platforma IonTorrent) określono profil miRNA nieczynnych hormonalnie gonadotropowych gruczolaków przysadki charakteryzujących się inwazyjnym rozrostem (n=9), gruczolaków

nieinwazyjnych (n=11) oraz fragmentów prawidłowej przysadki bez cech nacieku nowotworowego (n=4).

Wyniki. Porównując ekspresję miRNA gruczolaków inwazyjnych i nieinwazyjnych zidentyfikowano hsa-mir-184 jako najlepiej różnicujący te dwie grupy chorych (krotność zmiany = 3,65). Ekspresja hsa-mir-184 była podwyższona w guzach o inwazyjnym wzroście, podczas gdy w pozostałych gruczolakach i wycinkach prawidłowej przysadki pozostawała na zbliżonym poziomie.

Dla próbek włączonych do profilowania ekspresji miRNA dostępne były dane z wcześniejszego badania obejmującego ocenę profilu metylacji DNA z wykorzystaniem mikromacierzy Human-Methylation 450K (Illumina). Mikromacierze te zawierają pojedynczą sondę (cg23121785) w obrębie promotora genu *MIR184*. Zestawienie wyników oceny poziomu hsa-mir-184 oraz metylacji promotora *MIR184* w gruczolakach wykazało ujemną korelację pomiędzy tymi parametrami (R=-0,607). Nadekspresja hsa-mir-184 u pacjentów z inwazyjnymi gruczolakami przysadki wiązała się z nieprawidłową metylacją DNA w promotorze genu.

Wnioski. Wyniki wstępne sugerują, że nieprawidłowe obniżenie metylacji DNA w locus *MIR184* wpływa na wzrost ekspresji hsa-mir-184, co może ułatwiać inwazyjny wzrost guza przysadki.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2016-2019, jako projekt badawczy w ramach program "Diamentowy Grant".

Nr 48**Role of SS18 subunit of SWI/SNF chromatin remodeling complex in clear cell renal cell carcinoma**

Małgorzata Stachowiak¹, Elżbieta A. Sarnowska¹, Nataliia Rusetska¹, Iga Jancewicz¹, Ryszard Konopiński¹, Janusz A. Siedlecki¹

¹The Marie Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center an Institute of Oncology in Warsaw, Department of Molecular and Translational Oncology, Warsaw, Poland

Clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) is the most common type of renal cancer and at the same time the worst prognostic one. It affects almost 80% of patients. In molecular terms, ccRCC is marked by abundant chromosome's aberrations, such as deletions and mutations, located on the short arm of the 3rd chromosome, especially in *VHL* gene. Also, other tumor suppressor genes are situated in the region of *VHL* gene, including SWI/SNF chromatin remodeling complex genes (e.g. Polybromo). Mutations within those genes may lead to cancer progression.

SS18 protein is one of the SWI/SNF complex subunit. Fusion of the *SS18* gene with one of the *SSX* (*SSX1*, *SSX2*, *SSX4*) genes conducts to synovial sarcoma development. It is also known that incorporation of SS18-SSX to SWI/SNF complex displaces wild-type SS18 and other tumor suppressor – INI1 from this complex. Our previous study confirms downregulation of INI1 subunit in clear cell renal cell carcinoma. This time, the expression of SS18 subunit was investigated. Furthermore, we examined the possibility of correlation and potential substitution among those proteins.

Immunohistochemical studies indicated downregulation of SS18 protein expression in all patients with clear cell renal cell carcinoma. However, there was no correlation between abundance of SS18 and INI1 subunits. The potential involvement of SS18 and INI1 in different class of SWI/SNF complex was excluded by coimmunoprecipitation technique.

We have also attempted to clone SS18 from cDNA to trigger overexpression of this protein in ccRCC cell lines. cDNA sequencing showed the possibility of affected alternative mRNA splicing forms. This process may lead to the

formation of non-functional proteins, which may accelerate cancer growth.

As SS18 subunit belongs to the SWI/SNF complex, we imply that it plays a crucial role in pathogenesis of clear cell renal cell carcinoma. We expect that our further work will verify this hypothesis.

Acknowledgments: *This work was supported by grant from Ministry of Science and Higher Education within the Diamond Grant project no. 0139/DIA/2017/46.*

Nr 49**Rola białek HAX1 i MCPIP w regulacji transkryptów zaangażowanych w odpowiedź prozapalną komórek nowotworowych.**

Macech-Klicka E.¹, Sarnowska E.¹, Rusetska N.¹, Chrzan A.², Ligaj M.², Szymański M.³, Demkow T.³, Grzybowska E.¹, Siedlecki JA¹

¹Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

²Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

³Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Najnowsze dane epidemiologiczne i kliniczne wyjaśniają bliski związek między procesami zapalnymi a kancerogenezą. Podczas kancerogenezy mikrośrodowisko wpływa na nowotwór, który ma wpływ na mikrośrodowisko. Komórki otaczające guz, takie jak aktywujące limfocyty, makrofagi lub fibroblasty podścieliska, wytwarzają czynniki prozapalne w celu wspomaganie wzrostu nowotworu. Procesy zapalne są ściśle związane z rozwojem raka, a rosnący rak sprzyja ekspresji czynników prozapalnych.

Białko HAX1 (HCLS1-associated protein X 1) bierze udział w apoptozie, migracji, regulacji homeostazy jonów wapnia i prawdopodobnie odgrywa rolę we wrodzonej odpowiedzi immunologicznej (choroba Kostmanna). HAX1 jest białkiem zaangażowanym w rozwój nowotworów, ale nadal jego rola w kancerogenezie pozostaje nierozwiązana. RNaza MCPIP1 (Monocyte chemoattractant protein-induced protein 1) ma ugruntowaną rolę w procesach zapalnych i pośrednio w powstawaniu nowotworów. MCPIP1 kontroluje odpowiedź odpornościową przez destabilizację mRNA kodującego białka

związane z odpornością, w tym IL-6 i IL-12p40, poprzez ich regiony nieulegające translacji 3' (UTR). MCPIP1 wiąże się z zachowanym elementem pętli macierzystej (~ 30 nt) w obrębie 3' UTR z IL-6. MCPIP1 automatycznie reguluje swój poziom mRNA poprzez interakcję z podobnie zbudowaną pętlą w transkrypcie. Jak dotąd, molekularna podstawa oddziaływania MCPIP1 z RNA pozostaje niejasna, ponieważ nie znaleziono specyficzności sekwencji.

HAX1 zidentyfikowano również jako białko wiążące RNA – opisano interakcje z transkryptami wimentyny (2003) i polimerazy DNA beta (2007). Te oddziaływania sugerują jego potranskrypcyjną funkcję regulacyjną.

Aby zweryfikować hipotezę, że HAX-1 może wchodzić w interakcję z białkiem MCPIP1, przeprowadziliśmy eksperyment ko-immunoprecypitacji i okazało się, że oba białka współstrążają się. Dodatkowo, w eksperymentach Western-blot i IHC zaobserwowaliśmy, że poziom białek HAX-1 oraz MCPIP1 spada w klinicznych próbkach jasnokomórkowego raka nerki (ccRCC).

W zaplanowanych badaniach należy wyjaśnić, czy HAX-1 i MCPIP1 mogą regulować transkrypty zaangażowane w proces zapalny podczas nowotworzenia. Wyniki tego projektu wniosą nową wiedzę o mechanizmach, jak i lokalizacji gdzie białka HAX-1 i MCPIP1 współdziałają w komórkach, aby utrzymać wewnętrzną homeostazę między komórkami i procesami zapalnymi.

Finansowanie

Badania są prowadzone dzięki finansowaniu grantu PRELUDIUM 9, 2015/17/N/NZ1/00668 z Narodowego Centrum Nauki.

Nr 50

Obecność amyloidu w gruczolakach przysadki wytwarzających prolaktynę – opis czterech przypadków

Maria Maksymowicz¹, Monika Pękuł¹, Jacek Kunicki², Grzegorz Zieliński³, Anna Szumera-Ciećkiewicz^{1,4}, Monika Prochorec-Sobieszek^{1,4}, Wiesław Bonicki², Krzysztof Jamrozia⁵

¹Zakład Patologii i Diagnostyki Laboratoryjnej COI, Warszawa

²Klinika Nowotworów Układu Nerwowego COI, Warszawa

³Klinika Neurochirurgii WIM, Warszawa

⁴Zakład Diagnostyki Hematologicznej IHiT, Warszawa

⁵Klinika Hematologii IHiT, Warszawa

Obecność amyloidu w gruczolakach przysadki jest zjawiskiem rzadkim. Znane są dwa typy odkładania amyloidu w tych guzach: 1) gwiaździsty - masy amyloidu układają się wokół naczyń i w przestrzeniach międzykomórkowych oraz 2) bardzo rzadko występujący typ kulisty, ograniczony do gruczolaków wytwarzających prolaktynę (PRL); dotychczas opisano nie więcej niż 30 takich przypadków. Celem pracy jest prezentacja 4 przypadków amyloidozy w materiale własnym.

Materiał. Wśród 5015 guzów przysadki i okolicy siodła tureckiego ocenianych w Zakładzie Patologii COI w latach 2003-2018 kliniczne objawy hiperprolaktynemii prezentowało 368 pacjentów operowanych z powodu nieskutecznego leczenia farmakologicznego lub stanów wymagających szybkiej interwencji neurochirurgicznej (np. udar lub ucisk guza na otaczające struktury). U 284 z 368 (77,1 %) pacjentów rozpoznano gruczolaki laktotropowe lub mieszane z komórek lakto- i somatotropowych. Występowanie amyloidu stwierdzono w 4 przypadkach.

Metody. We wszystkich przypadkach dokonano analizy danych klinicznych oraz oceny histologicznej, immunohistochemicznej i ultrastrukturalnej.

Wyniki. W badaniach MRI nie stwierdzono cech wskazujących na występowanie amyloidu. Wszystkie 4 gruczolaki wykazywały dodatni odczyn na PRL w komórkach oraz w złogach amyloidu. W 2 przypadkach ocena histologiczna wykazała obecność amyloidu w postaci złogów kulistych, potwierdzoną barwieniem czerwienią Kongo. Ocena ultrastrukturalna wykazała w tych gruczolakach znaczne zagęszczenia włókien amyloidu zorganizowane w promieniście

ułożone wiązki. W 2 gruczolakach w badaniu mikroskopowo-elektronowym stwierdzono obecność włókien amyloidu w przestrzeniach międzykomórkowych.

Wnioski. Chociaż złotym standardem diagnostycznym nadal pozostaje klasyczne barwienie preparatów histologicznych czerwienią Kongo i ich ocena w świetle spolaryzowanym, to wydaje się, że badanie ultrastrukturalne jest najbardziej czułą metodą umożliwiającą wykrycie obecności niewielkich ilości amyloidu w leukopornych gruczolakach wytwarzających pro-laktynę.

Nr 51

The stability of low fidelity DNA polymerase iota is regulated by Rad23.

Ewa Grabowska^{1,2} and Roger Woodgate¹

¹Laboratory of Genomic Integrity, National Institutes of Health, Bethesda, USA

²Department of Immunology, „Maria Skłodowska-Curie Institute – Oncology Center”, Warsaw, Poland

Rad23 overexpression by means of a negative feedback loop inhibits p53 transactivation through increased p53 ubiquitination by the Mdm2 ligase [Zhu et al., 2001; Krzeszinski et al., 2014].

McIntyre et al. (2013) previously reported that an interaction Pol iota and Pol eta is mediated by ubiquitin. Thus, we examined the stability of Pol iota upon Rad23A overexpression in human cells. We hypothesized that if Pol iota turnover was affected by Rad23A overexpression, Pol iota polyubiquitination would be enhanced concomitantly similar to p53 ubiquitination in a protein complex with Mdm2 [Hampp et al., 2016].

We confirmed an interaction between Pol iota and Rad23A and Rad23B protein isoforms using a yeast two-hybrid approach. We then evaluated whether the presence of Rad23A would have any impact on Pol iota expression following menadione-induced (ME) oxidative stress. Of note, Rad23A overexpression in Rad23A knock-out HEK293T cells elevates the rate of Pol iota down-regulation after ME treatment by a factor of 2-fold over the time course compared to control counterpart.

Hence, Mdm2 stability seems to be important in the pathway of Pol iota turnover and further we

assumed that when Mdm2 is utilized by p21 accumulation or destabilized through phosphorylation, mediated by ATM kinase, Pol iota turnover after oxidative stress is slower [Gottfredi et al., 2001; Ciznadija et al., 2011]. In agreement, when we assigned the stability of Pol iota in cells overexpressing Rad23A alone after ME treatment, the level of Pol iota down-regulation was about 5-fold higher than in Rad23B proficient cells (higher p21 level in Rad23B proficient cells) [Kaur et al., 2007].

Taken together, our results imply that Pol iota turnover is regulated within the p53/Mdm2 axis, while p21 protein appears to negatively influence Pol iota turnover. It should be added that following treatment with MG-132 inhibitor of the proteasome, Pol iota appreciably accumulates in the cell

Nr 52

Ocena wyników miejscowego leczenia chorych na raka odbytnicy

M. Zeman, M. Czarnecki, A. Chmielarz, M. Strączyński, A. Czarniecka, M. Grajek, D. Walczak, A. Maciejewski

Wstęp: W leczeniu chirurgicznym raka odbytnicy stosuje się trzy główne typy zabiegów: wycięcie miejscowe guza, usunięcie odbytnicy z zaoszczędzeniem zwieraczy oraz brzuszno-kroczone wycięcie odbytnicy. Miejscowe wycięcie jest uznaną metodą leczenia w przypadku guzów T1 spełniających odpowiednie kryteria.

Cel pracy: Celem pracy była ocena wyników leczenia chorych na raka odbytnicy z zastosowaniem miejscowego wycięcia guza.

Materiał: W latach 1999 do 2017 u 39 chorych (22 kobiety, 17 mężczyzn) na raka odbytnicy wykonano zabieg miejscowego wycięcia guza. Wiek chorych wahał się od 36 do 91 lat (średnia 67 lat). Do roku 2012 zabieg wykonywano jedną z metod klasycznych (16 chorych), a następnie techniką Transanal Endoscopic Microsurgery - TEM (24 chorych). We wszystkich przypadkach przedoperacyjnie zaawansowanie guza oceniono na T1N0. Średnica guza wahała się od 1 do 6cm, a odległość dolnego bieguna guza od zwieraczy od 1 do 10cm. W 24 przypadkach stwierdzono stopień zaawansowania T1 bez obecności czynników ryzyka. W 14

		TEM					Metody klasyczne					RAZEM					
		n	LR	LR %			n	LR	LR %			n	LR	LR %			
T1	Obserwacja	15	1	6,7	6,3		9	0	0	0		24	1	4,2	4		
	Radykalizacja	1	0	0			0	0	0			1	0	0			
T2	Obserwacja	RT+	2	1	50	50	42,9	5	1	20	16,7	14,3	7	2	28,6	30	28,6
		RT-	2	1	50			1	0	0			3	1	33,3		
	Radykalizacja	3	1	33			1	0	0			4	1	25			

przypadkach pooperacyjne badanie histopatologiczne ujawniło stopień zaawansowania guza T2, a w 1 przypadku w stopniu zaawansowania T1

stwierdzono czynnik ryzyka pod postacią angioinwazji. Chorym tym zaproponowano radykalny zabieg operacyjny. W 10 przypadkach w zaawansowaniu T2 chorzy nie wyrazili zgody na proponowaną operację. 7 z nich zostało poddanych pooperacyjnej radioterapii. Okres obserwacji wynosił od 4 do 135 miesięcy (średnia 40 miesięcy).

Wyniki: W grupie chorych w stopniu zaawansowania T1 w trakcie obserwacji odnotowano wznowę miejscową w 1 przypadku po 31 miesiącach od zabiegu. W stopniu zaawansowania T2 stwierdzono wznowę miejscową w 4 przypadkach (1 w grupie chorych poddanych radykalizacji i 3 w grupie chorych pozostawionych w obserwacji). Odsetek 5-letnich przeżyć bezobjawowych w grupie z zaawansowaniem T1 i T2 wyniósł odpowiednio 87,5% i 67,3%. Odsetek wznów miejscowych w zależności od stopnia zaawansowania guza i postępowania pooperacyjnego przedstawiono w tabeli poniżej. W 2 przypadkach po operacji sposobem Kraskego stwierdzono rozejście linii szwów wymagających ponownej operacji. W pozostałych przypadkach nie stwierdzono powikłań okołoperacyjnych

Wnioski: Kluczowe znaczenie w kwalifikacji chorych do miejscowego wycięcia guza ma przedoperacyjna ocena zaawansowania. Nasze wyniki potwierdzają skuteczność leczenia miejscowego raka odbytnicy w zaawansowaniu T1 bez dodatkowych czynników ryzyka. Wydaje się, że spośród chorych w stopniu zaawansowania T2

można wyodrębnić grupę chorych, u których można zastosować miejscowe wycięcie guza, jednak wymaga to dalszych badań.

Nr 53

Wpływ endogennej erytropoetyny na skuteczność leczenia chorych na płaskonabłonkowego raka głowy i szyi (HNSCC) poddanych chemioterapii indukcyjnej z udziałem cisplatyny.

D. Leś, J. Mrochem-Kwarciak, A. Wygoda, T. Rutkowski, K. Składowski

I Klinika Radioterapii i Chemioterapii, CO- Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie Gliwice

Wstęp: Erytropoetyna (EPO) jest glikoproteinowym hormonem peptydowym, którego główną funkcją jest stymulacja różnych etapów erytropoezy - procesu wytwarzania krwinek czerwonych (erytrocytów) w szpiku kostnym. Fizjologicznym efektem nasilonej erytropoezy jest retikulocytoza (Riley RS i wsp. J Clin Lab Analysis 2001, 15: 267-294).

Materiał i metody: Kohorta 93 pacjentów z HNSCC przystąpiła do prospektywnej próby monitorowania EPO w okresie od stycznia 2017 do stycznia 2018 roku. Oceniano dynamikę przebiegu stężeń erytropoetyny w trakcie stosowania chemioterapii indukcyjnej w oparciu o cisplatynę u pacjentów z rozpoznaniem HNSCC w IV stopniu zaawansowania klinicznego. Charakterystyka 45 pacjentów, którzy zakończyli monitorowanie EPO w czasie naszej analizy obejmowała: 14 z rakiem ustnej części gardła, 13 z rakiem jamy ustnej, 7 z rakiem nosogardła, 4 z rakiem krtani, 3 z rakiem gardła

dolnego, 3 z rakiem z niewiadomego punktu wyjścia, 1 z rakiem jamy nosowej. Stopień zaawansowania klinicznego: T4- 22, T3- 11, T2- 3, T1- 6, T0-3, N3- 12, N2- 24, N1- 5, N0- 4. Pacjenci otrzymywali od 2 do 3 cykli chemioterapii w oparciu o schemat TPF (docetaxel 75 mg/m² dzień 1, cisplatyna 75 mg/m² dzień 1, 5-Fluorouracyl 750 mg/m² dzień 1-5) lub PF (cisplatyna 100 mg/m² dzień 1, 5-Fluorouracyl 1000 mg/m² dzień 1-4). U 22 pacjentów wystąpiło opóźnienie podania 2 lub 3 cyklu, najczęściej z powodu neutropenii II stopnia wg klasyfikacji CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events). Endogenną EPO mierzono w surowicy krwi za pomocą testu immunochemicznego przy zastosowaniu analizatora Immulite 2000XPi przed podaniem i w 11 dniu każdego podania cyklu chemioterapii. Przyjęto przedział wartości referencyjnych EPO: 4,3-29,0 mIU/ml. Mediana EPO przed 1 cyklem chemioterapii wyniosła 8,4 +/- 12,3 SD, w 11 dniu 1 cyklu 11,85 +/- 7,31 SD (p=0,001), przed 2 cyklem 11,2 +/- 17,15 SD (p=0,611), w 11 dniu 2 cyklu 14,3 +/- 12,99 SD (p=0,001), przed 3 cyklem 15,05 +/- 23,47 SD (p=0,98), w 11 dniu 3 cyklu 16,95 +/- 9,92 SD (p=0,016). Wnioski: Zachowanie EPO po chemioterapii opartej na cisplatynie u pacjentów z zaawansowanym HNSCC jest zmienne. U większości chorych udokumentowano wzrost stężenia EPO w połowie cyklu, a następnie powrót do wartości wyjściowych. Badania wymagają dalszej obserwacji chorych.

Nr 54

The impact of O-GlcNAc transferase and SWI/SNF chromatin remodeling complex on the clear cell renal cell carcinoma development

Joanna Szarkowska¹, Elżbieta A. Sarnowska¹, Natalia Rusetska¹, Michał Szymański², Alicja Chrzan³, Marta Skrodzka⁴, Lech Gałek⁴, Janusz A. Siedlecki¹, Tomasz J. Sarnowski⁵

¹Department of Molecular and Translational Oncology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

²Department of Uro-oncology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

³Department Pathology, M. Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

⁴Department of Urology, Hospital of Ministry of Interior, Białystok, Poland

⁵Institute of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences, Pawlowskiego 5A Warsaw, Poland

Normal cells use glucose in glycolysis pathway as an energy provider. Pyruvate resulting from glucose transformation is later used in tricarboxylic acid cycle (TCA). It has already been discovered that certain tumor cells convert glucose to lactate in the presence of oxygen. This phenomenon, also known as Warburg effect or aerobic glycolysis has been observed i.e. in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC), a type of cancer featured by strong metabolic alterations. It has been shown that the development of ccRCC correlates with mutations in genes coding for subunits of SWI/SNF chromatin remodeling complex (CRC) which is involved in the transcriptional control of genes controlling various important regulatory processes including metabolism. Interestingly, the O-GlcNAc transferase (OGT), a protein modifying enzyme, is tightly controlled by metabolism. Given the fact that glucose is essential to cancer proliferation, OGT is involved in glucose, amino acids, nucleotides and fatty acids metabolism we decided to investigate here the impact of interdependences between SWI/SNF CRC and OGT on the ccRCC development.

Rola podjednostki ATPazowej – BRM – kompleksu SWI/SNF w rozwoju potrójnie ujemnego raka piersi

Iga Jancewicz¹, Natalia Rusetska¹, Alicja Armatowska², Ewelina Macech-Klicka¹, Katarzyna Pogoda³, Anna Niwińska³, Wojciech Olszewski⁴, Zbigniew Nowecki³, Elżbieta A. Sarnowska^{1,*}, Janusz A. Siedlecki^{1,*}

¹Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

²Wydział Chemiczny, Politechnika Warszawska

³Klinika Nowotworów Piersi i Chirurgii Rekonstrukcyjnej, Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

⁴Zakład Patologii, Centrum Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

*equal contribution

Rak piersi jest najczęstszym nowotworem występującym u kobiet. Pomimo postępów w leczeniu tego typu raka wciąż bardzo dużo jest do zrobienia. Najbardziej agresywnym rakiem piersi jest podtyp potrójnie ujemny (TNBC). TNBC charakteryzuje się ujemnym barwieniem IHC dla receptora estrogenowego (ER-), progesteronowego (PgR-) i HER2 (HER2-). Jest to podtyp bardzo agresywny, wykazujący oporność na chemioterapię i dający złe rokowania. Uważa się, że TNBC stanowi 10-20% wszystkich raków piersi, a obecnie nie ma skutecznej formy leczenia.

Okazuje się, że istotną rolę w rozwoju i progresji TNBC może odgrywać białko BRM, będące jedną z podjednostek kompleksu remodelującego chromatynę SWI/SNF. BRM jest podjednostką niezbędną do działania kompleksu, jedną z dwóch mogących występować w kompleksie ATPaz. Umożliwia ona pozyskanie energii z ATP na wykonanie działania przez kompleks.

Nasze dane pokazują, że pacjentki z TNBC można rozróżnić ze względu na poziom białka BRM. Wyróżniliśmy trzy grupy: o niskiej, średniej i wysokiej ekspresji tego białka. Szczególnie interesująca jest grupa o niskiej ekspresji. Analiza danych klinicznych wykazuje, że utrata podjednostki BRM jest skorelowana z utratą innych podjednostek kompleksu SWI/SNF. Co więcej, nowotwory należące do tej grupy charakteryzują się wyższą agresywnością, co demonstruje się nie tylko wyższym w stosunku do innych grup stadium zaawansowania nowotworu, ale także wyższą ekspresją

białek świadczących o agresywności np. wimentyny.

Nasze eksperymenty przeprowadzone *in vitro* na liniach komórkowych raka piersi pokazują, że wywołanie przejścia epitelialno-mezenchymalnego (EMT, proces prowadzący do inwazyjności) w linii raka piersi MCF7 powoduje spadek poziomu BRM. Potwierdziliśmy również interakcje między jednymi z głównych białek inicjujących EMT i podjednostkami kompleksu SWI/SNF, co sugeruje, że mogą one się wzajemnie regulować prowadząc do rozwoju agresywnego podtypu raka piersi.

Podsumowując, nasze badania pokazują, że kompleks SWI/SNF może odgrywać kluczową rolę w regulacji EMT, a tym samym brać udział w inwazyjności TNBC.

Praca naukowa finansowana ze środków budżetowych na naukę w latach 2015-2019 jako projekt badawczy w ramach programu pod nazwą „Diamentowy Grant” nr 0229/DIA/2015/44 oraz w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2016/23/N/NZ1/01138 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

Ocena prognostyczna AR, CD24 i CD44 u chorych na potrójnie ujemnego raka piersi

Katarzyna Pogoda¹, Elżbieta Sarnowska², Natalia Rusetska², Wojciech Olszewski³, Anna Niwińska¹, Agnieszka Jagiełło-Gruszczyńska¹, Janusz Siedlecki², Zbigniew Nowecki¹

¹Klinika Nowotworów Piersi i Chirurgii Rekonstrukcyjnej, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

²Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

³Zakład Patologii, Centrum Onkologii Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie w Warszawie

Cel: Potrójnie ujemny rak piersi jest najbardziej agresywnym podtypem raka piersi. Dotychczas zaproponowane molekularne klasyfikacje tego nowotworu nie znalazły przełożenia na praktykę kliniczną. Dlatego poszukiwane są czynniki pozwalające rokowniczo podzielić tę heterogenną grupę. Celem pracy była ocena prognostyczna ekspresji receptora androgenowego (AR), CD24 i CD44 u chorych na potrójnie ujemnego raka piersi.

Materiał i metody: Analizie poddano 100 chorych na potrójnie ujemnego raka piersi wyjściowo w I-III stopniu zaawansowania, leczonych w Centrum Onkologii w Warszawie w latach 2005-2008. Spośród tej grupy u 87 chorych oznaczono stan ekspresji AR, CD24 i CD44. Oceniono wpływ ekspresji Ki67, wimentyny i wyjściowego stopnia zaawansowania, jak również obliczono mediany DFS i OS w analizowanych grupach.

Wyniki: Na podstawie ekspresji AR, CD24 i CD44 wyłoniono trzy najbardziej liczne grupy: AR-/CD24-/CD44+ (1 grupa - 28 chorych); AR+/CD24-/CD44+ (2 grupa - 39 chorych oraz AR+/CD24+/CD44+ (3 grupa - 10 chorych). Grupy różniły się wyjściowym stopniem zaawansowania – w 3 grupie było więcej chorych w III stopniu zaawansowania ($p < 0,0001$). Stosując podział w zależności od wartości Ki67 (<14% vs 15-29% vs $\geq 30\%$) w 3 grupie stwierdzono częstsze duże nasilenie Ki67 ($p < 0,0001$). Grupy nie różniły się ekspresją wimentyny. W 3 grupie nie stwierdzono przypadków patologicznej odpowiedzi całkowitej. Stan ekspresji AR w całej grupie nie wpłynął na DFS ani OS ($p > 0,05$). Wyodrębnione trzy grupy nie różniły się znacząco medianami DFS ani OS. Niemniej częstość nawrotów była największa w 3 grupie. Stan ekspresji AR nie miał znaczenia rokowniczego w rakach CD24-/CD44+. Analiza występowania przerzutów pozwoliła na zaobserwowanie następujących trendów: 1 grupa – przerzuty najczęściej w płucach, bez wznowy lokoregionalnej; 2 grupa – najczęściej przerzuty w OUN; 3 grupa - przerzuty częściej w wątrobie i wznowy lokoregionalne, bez przerzutów w OUN.

Wnioski: Przeprowadzona analiza pozwoliła na wstępną ocenę rokowniczą ekspresji AR, CD24 i CD44. Obecność AR w analizowanej grupie nie miała wartości prognostycznej, również w dodatkowej analizie dotyczącej grupy nowotworowych komórek macierzystych. Wyodrębnienie trzech grup pozwoliło lepiej scharakteryzować nawrót potrójnie ujemnego raka piersi, w tym ustalić najczęstszą lokalizację w podgrupach. Uzyskane wyniki wymagają potwierdzenia na większej grupie chorych.

Badania realizowane w ramach grantu NCN nr UMO-2014/15/B/NZ5/03532.

Nr 57

EGFR mutations detection in circulating tumor DNA in lung cancer patients treated in Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw.

Tysarowski^{1,2} Andrzej, Seliga¹ Katarzyna A., Knetki-Wróblewska³ Magda, Gos¹ Aleksandra, Zub¹ Renata, Winiarczyk³ Kinga, Kowalski³ Dariusz, Krzakowski³ Maciej, Siedlecki¹ Janusz A.

¹Molecular And Translational Oncology, The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

²Department of Pathology and Laboratory Medicine, The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

³Department of Lung Cancer and Chest Tumor, The Maria Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

Non-small cell lung cancer (NSCLC) is one of the commonest cancers. 10-35% patients have somatic mutations in *EGFR* gene leading to constant activation of its product (epidermal growth factor receptor), which influence sensitivity for tyrosine kinase inhibitors (TKI) treatment. Malignant cells evolve and mutations triggering *EGFR*-resistance TKIs may occur. According to literature data, in 66% of NSCLC patients with disease progresses after TKI, the p.Thr790Met mutation arise. In such cases, osimertinib treatment should be included. Thus, determination of *EGFR* status prior and during therapy is crucial. In standard practice tumor biopsies are used for *EGFR* testing. This has many drawbacks (eg. not accessible or insufficient tumor tissue) and only enable tumor fragment testing. Hence, analysis of circulating tumor DNA (ctDNA) released from malignancy cells seem an alternative method, which also may be used for monitoring therapy response. The aim of the study is to present the results of ctDNA analysis performed on the group of 161 patients: before TKI therapy (93 patients) and during TKI treatment (68 patients). The ctDNA was isolated using Qiagen and Amoy kits. Mutations were detected using qPCR.

In a group of patients before TKI treatment, activating mutations were present in 15/93 (16%) cases, while in the other group in 42/68 (62%) of patients resistance mutation was detected.

Our results are in concordance with literature data and, therefore, we find ctDNA analysis an effective and rapid method for *EGFR* testing and therapy response monitoring.

No 58

Zmiany molekularne jako przyczyna chemiooporności w zaawansowanym raku gruczołowo-torbielowatym (ACC) regionu głowy i szyi.

Jagielska Beata¹, Sarnowska Elzbieta²,
Rusetska Nataliia², Sarnowski Tomasz J^{3*},
Siedlecki Janusz A.^{2,*}

¹Department of Oncology and Internal Medicine, Marie Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

²Department of Molecular and Translational Oncology, Marie Skłodowska-Curie Memorial Cancer Center and Institute of Oncology, Warsaw, Poland

³Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

*pozycja podzielona

Wstęp: Badanie molekularne zaawansowanego raka gruczołowo-torbielowatego (ACC) w połączeniu z retrospektywną oceną wyników leczenia.

Pacjenci i metody: Grupa 36 pacjentów z ACC (19 kobiet i 17 mężczyzn, średni wiek 54 lat, zakres: 25-80 lat). Wszystkich chorych poddano leczeniu chirurgicznemu, u 29 przeprowadzono uzupełniające napromienianie. W trakcie dalszej obserwacji u 21 pacjentów stwierdzono progresję choroby (wznowa miejscowa – 5, przerzuty do płuc - 13, przerzuty do wątroby - 3, przerzuty do kości - 3). 14 chorych zakwalifikowano do leczenia paliatywnego chemioterapią według schematu VAM (winblastyna, doksorubicyna, mitomycyna). Na podstawie ogólnodostępnych danych z bazy GEO przeprowadzono analizę transkryptomoczną próbek od pacjentów z rozpoznaniem ACC w porównaniu do tkanki zdrowej jak również oceniono wariacje pomiędzy pacjentami. Do analizy immunohistochemicznej wytypowano niektóre geny o zaburzonej ekspresji w komórkach ACC.

Wyniki: Analiza transkryptomoczną wykazała zmienioną ekspresję genów kodujących podjednostki kompleksu SWI/SNF w próbkach ACC w porównaniu z tkanką zdrową. Szczegółowa analiza wariacji w ekspresji genów pomiędzy pacjentami wykazała, że szlak sygnałowy receptora androgenowego (AR) jest rozregulowany

w próbkach ACC. Analiza IHC wykazała, że 42% badanych próbek ACC było AR-pozytywnych i wszystkie wykazywały nadekspresję BRM. Obserwacja pacjentów cierpiących na ACC wykazała, że średni czas przeżycia bez progresji wynosił 62 miesiące, a mediana całkowitego przeżycia wynosiła 100 miesięcy. Całkowitą i częściową odpowiedź na chemioterapię obserwowano u 1 i 3 pacjentów (stabilna choroba - 5 pacjentów).

Wnioski: Aberracje w wielu genach kontrolujących stan chromatyny takich jak przebudowa chromatyny, segregacja siostrzanych chromatyd, itp. stwierdzono w komórkach raka w porównaniu z tkanką zdrową. Dodatkowo, zaobserwowano nadekspresję genów związanych z aktywnością receptorów hormonów steroidowych. Szczegółowa analiza wykazała, że gen kodujący główną podjednostkę kompleksu SWI/SNF – BRM ma ponad 3-krotnie wyższą ekspresję w ACC w porównaniu z tkanką zdrową, natomiast ekspresja genów kodujących inne podjednostki kompleksu SWI/SNF była znacząco obniżona. W komórkach raka trzustki wykazano, że nadekspresja BRM jest związana z chemioopornością. Rak gruczołowo-torbielowy charakteryzuje się powolnym wzrostem a metronomiczna chemioterapia może być użyteczna jako forma paliatywnego leczenia, która wyłącznie łagodzi przebieg choroby.

Projekt finansowany przez narodowe Centrum Nauki (NCN) UMO-2013/11/B/NZ1/02101 TJS i UMO-20014/15/B/NZ5/03532 JAS.

Nr 59

Ekspresja genu H19 (lncRNA) jest zależna od silnej aktywacji p53

Zajkowiec Artur, Gdowicz-Kłosok Agnieszka,
Matuszczyk Iwona, Rusin Marek

Centrum Badań Translacyjnych i Zakład Biologii Nowotworów,
Centrum Onkologii – Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie oddział w Gliwicach

Sekwencja genu *H19* kieruje produkcją długiego niekodującego RNA (lncRNA), które ze względu na imprinting w prawidłowych komórkach dorosłych organizmów ulega ekspresji tylko z allelu matczynego. Wysoka ekspresja *H19* jest obserwowana w komórkach

embrionalnych oraz w nowotworach. Niekodująca RNA H19 pełni funkcje pierwotnego transkryptu dla mikroRNA675 (miR675). Ponadto, długa cząsteczka RNA H19 może działać jako gąbka wylapująca inne funkcjonalne cząsteczki mikroRNA. Liczne grupy badawcze korelowały wysoki poziom ekspresji *H19* z wzrostem proliferacji i migracji komórek wielu typów nowotworów. Wyciszenie *H19* indukowało zahamowanie przejścia cyklu komórkowego z fazy G1 do S oraz uwrażliwiało wiele typów komórek nowotworowych na apoptozę. Biorąc pod uwagę właściwości genu *H19* zaczęto nazywać go genem onkoembrionalnym. Dotychczas opisywane związki funkcjonalne genów *H19* i *TP53* wskazywały na hamujący wpływ H19 RNA na aktywność p53 i na osłabianie aktywności promotora genu *H19* przez białko p53.

W naszym układzie eksperymentalnym zaobserwowaliśmy nieoczekiwany związek ekspresji *H19* z aktywnością p53. Mianowicie, wysoki poziom aktywacji p53 wywołany współtraktowaniem komórek A549 aktynomycyną D i nutliną-3a (AN) był związany z wysokim wzrostem ekspresji *H19* (ponad 300-krotnym). Inne metody aktywacji p53 nie wywoływały tak silnej ekspresji *H19*. Doświadczenia z wykorzystaniem komórek z wyciszonym *TP53* wykazały, że aktywacja H19 przez aktynomycynę D i nutlinę-3a jest zależna od białka p53. Poziom ekspresji H19 po traktowaniu AN w komórkach A549 oraz w innych liniach komórkowych korelował z wrażliwością komórek na apoptozę wywołaną działaniem tych substancji. Z danych literaturowych wynika że w rejonie okalającym sekwencją kodującą gen *H19* występuje potencjalne miejsce wiązania p53 w enhancerze. Ta sama grupa badawcza wykazała, że ekspresję *H19* można indukować wprowadzając do komórek pozbawionych p53 wektor produkujący to białko.

Nasze wyniki oraz inny grup badawczych wskazują, że silna aktywacja p53 może prowadzić do znaczącego wzrostu ekspresji *H19*. Biorąc powyższe pod uwagę zaproponowaliśmy hipotezę zgodnie z którą, w pewnych warunkach p53 może blokować apoptozę poprzez zwiększenie ekspresji *H19*.

Nr 60

Zmiany w komórkach towarzyszące nabywaniu oporności na trapie fotodynamiczną

Beata Mossakowska^{1,2}, Anna Fabisiwicz¹, Janusz Siedlecki¹, Barbara Tudek^{2,3}

¹ Zakład Onkologii Molekularnej i Translacyjnej, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, ul. Roentgena 5, 02-781 Warszawa

² Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa

³ Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 00-001 Warszawa

Terapia fotodynamiczna (*ang. Photodynamic therapy, PDT*) jest jedną z metod walki z rakiem, w której fotouczulacz (*ang. photosensitiser, PS*) podawany pacjentowi jest akumulowany w tkance guza, gdzie pod wpływem światła oraz tlenu powoduje liczne uszkodzenia fotoksydacyjne, prowadząc ostatecznie do zniszczenia nowotworu (*Mróz, 2011*). Jednak część komórek może przeżyć terapię i stać się na nią oporna. Jedną z możliwości nabywania oporności komórek nowotworowych na leczenie jest podwyższenie poziomu lub aktywności białka APE1, które uczestniczy w naprawie DNA przez wycinanie zasad (*Dorjsuren, 2012*). Ponadto w opornych komórkach może dojść do reorganizacji cytoszkieletu, prowadzących do zmian w kształcie komórek, adhezji i migracji, co może mieć wpływ na zmiany w zdolnościach do tworzenia przerzutów (*Uzdensky, 2004*).

Moje badania sugerują ważny udział białka APE1 w odpowiedzi na PDT oraz zmiany w ilościach niektórych białek cytoszkieletu przyczyniających się do zmian w adhezji i zdolnościach do migracji na skutek nabywania oporności. Ponadto terapia fotodynamiczna może wpływać na tymczasową przebudowę cytoszkieletu.

Badania były finansowane z grantu Narodowego Centrum Nauki (DEC -2014/15/B/NZ5/01444).

Literatura:

1. Mróz P., Yaroslavsky A., Kharkwal G.B, Hamblin M. R.; "Cell Death Pathways in Photodynamic Therapy of Cancer"; *Cancers* 3, 2011; 2516-2539; doi:10.3390/cancers302251
2. Uzdensky A.B., Juzeniene A., Kolpakova E., Hjortland G.-O., Juzenas P., Moan J.; "Photosensitization with protoporphyrin IX inhibits

attachment of cancer cells to a substratum”;
Biochemical and Biophysical Research Com-
munications 322, 2004; 452–457;
doi:10.1016/j.bbrc.2004.07.132

3. Dorjsuren D., Kim D., Vyjayanti V. D., Maloney
D. J., Jadhav. A. Wilson III D. M., Simeonov A.;
“Diverse Small Molecule Inhibitors of Human
Apurinic/Apyrimidinic Endonuclease APE1
Identified from a Screen of a Large Public Col-
lection”; *PLOS ONE* 7 (10), 2012; e47974;
doi:10.1371/journal.pone.0047974

NOTATKI

NOTATKI

Sponsorzy Platynowi



Sponsorzy Złoci



Sponsorzy Srebrni



Partnerzy



Certyfikat

