

## 01

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

Adam Płuzański, Aleksandra Piórek, Maciej Krzakowski

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

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

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

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

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

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

## 02

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

Tomasz Powrózek<sup>1</sup>, Dariusz M. Kowalski<sup>2</sup>, Paweł Krawczyk<sup>1</sup>, Rodryg Ramlau<sup>3,4</sup>, Tomasz Kucharczyk<sup>1,6</sup>, Marcin Nicoś<sup>1,6</sup>, Ewa Kalinka-Warzocho<sup>5</sup>, Magdalena Knetki-Wróblewska<sup>2</sup>, Kinga Winiarczyk<sup>2</sup>, Wojciech Dyszkiewicz<sup>3,4</sup>, Maciej Krzakowski<sup>2</sup>, Janusz Milanowski<sup>1,7</sup>

<sup>1</sup>Katedra i Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

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

<sup>3</sup>Wielkopolskie Centrum Pulmonologii i Torako chirurgii im. Eugenii i Janusza Zeylandów, Poznań, Poland

<sup>4</sup>Klinika Torako chirurgii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

<sup>5</sup>Regionalne Centrum Onkologii w Łodzi

<sup>6</sup>Stydium Medycyny Molekularnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

<sup>7</sup>Instytut Medycyny Wsi w Lublinie

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

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

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

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

## 03

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

Aleksandra Markiewicz<sup>1, 2</sup>, Barbara Seroczyńska<sup>3</sup>, Jarosław Skokowski<sup>3, 4</sup>, Hanna Majewska<sup>5</sup>, Jolanta Szade<sup>5</sup>, Marzena Welnicka-Jaskiewicz<sup>6</sup>, Anna Żaczek<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Katedra Biotechnologii Medycznej, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Studium Medycyny Molekularnej w Warszawie

<sup>3</sup>Centralny Bank Tkanki i Materiału Genetycznego, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>4</sup>Katedra i Klinika Chirurgii Onkologicznej, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>5</sup>Katedra Patomorfologii, Gdański Uniwersytet Medyczny

<sup>6</sup>Katedra i Klinika Onkologii i Radioterapii, Gdański Uniwersytet Medyczny

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

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

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

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

## 04

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

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

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

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

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

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

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

## 05

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

Magdalena Kędzierska<sup>1</sup>, Urszula Czernek<sup>1</sup>, Ewa Forma<sup>2</sup>, Magdalena Bryś<sup>2</sup>, Monika Wyszczelska-Rokiel<sup>3</sup>, Rafał Głowacki<sup>3</sup>, Katarzyna Wójcik-Krowiranda<sup>4</sup>, Andrzej Bieńkiewicz<sup>4</sup>, Piotr Potemski<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Chemioterapii Nowotworów Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

<sup>2</sup>Katedra Cytobiochemii Uniwersytetu Łódzkiego

<sup>3</sup>Katedra Chemii Środowiska Uniwersytetu Łódzkiego

<sup>4</sup>Oddział Ginekologii Onkologicznej — Oddział Kliniczny Ginekologii Onkologicznej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

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

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

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

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

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