



CENTRUM ONKOLOGII – INSTYTUT
IM. MARII SKŁODOWSKIEJ-CURIE
ODDZIAŁ W GLIWICACH

BIULETYN NAUKOWY

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

Gliwice, 2018 rok

SPIS TREŚCI

	Numer strony
Analiza z wykorzystaniem narzędzi genomiki funkcjonalnej działania szlaków sygnałowych zależnych od HSF1, HIF1, NF- κ B i TP53 w komórkach poddanych stresowi indukowanemu przez czynniki stosowane w terapii przeciwnowotworowej oraz przez czynniki związane z mikrośrodowiskiem nowotworowym (Zadanie 1.1.1.); <i>M. Rusin, D. Butkiewicz, M. Chorąży, A. Gdowicz-Kłosok, A. Gogler-Pigłowska, P. Janus, K. Klyszcz, J. Korfanty, Z. Krawczyk, M. Krześniak, I. Matuszczyk, M. Olbryt, A. Rusin, D. Sojka, K. Szoltysek, D. Ściegłńska, A. Toma-Jonik, N. Vydra, W. Widlak, A. Zajkiewicz, M. Chadalski</i>	9
Wpływ promieniowania jonizującego na profil metabolomu i proteomu surowicy krwi oraz egzosomów uwalnianych z napromienionych komórek (Zadanie 1.1.2.); <i>M. Pietrowska, K. Jelonek, A. Abramowicz, M. Roś-Mazurczyk, M. Gawin, I. Domińczyk</i>	10
Identyfikacja składników proteomu i metabolomu swoistych dla różnych typów raka tarczycy (Zadanie 1.1.3.); <i>A. Wojakowska, M. Pietrowska, M. Gawin, M. Kalinowska-Herok</i>	11
Poszukiwanie nowych biomarkerów wrażliwości i oporności komórek nowotworowych na inhibitory FGFR przy zastosowaniu badań <i>in vitro</i> (Zadanie 1.1.4.); <i>K. Lisowska, A. Cortez, K. Kujawa, M. Olbryt, P. Tudrej, A. Sochanik, J. Jazowiecka-Rakus</i>	11
Wpływ czynników genetycznych, w tym wariantów polimorficznych genów naprawy DNA i transporterów z rodziny ABC, na toksyczność chemioterapii u chorych leczonych z powodu raka piersi oraz raków regionu głowy i szyi (Zadanie 1.1.5.); <i>E. Grzybowska, J. Pamuła-Pilat, K. Tęcza, J. Łanuszewska, M. Mazur, L. Ponge, D. Butkiewicz</i>	11
Opracowanie nowych terapii celowanych hamujących wzrost guzów nowotworowych: wpływ kombinacji czynników antyangiogennych i immunostymulujących na wzrost nowotworów u myszy (Zadanie 1.1.6.); <i>S. Szala, M. Jarosz-Biej, R. Smolarczyk, T. Cichoń, S. Matuszczak, J. Czapla, K. Kulik, N. Kułach, A. Szymańska-Żytecka, A. Zielińska</i>	12
Ocena przydatności układu terapeutycznego: zrekombinowany wirus myksomatozy i mezenchymalne komórki macierzyste do niszczenia guzów nowotworowych (Zadanie 1.1.7.); <i>J. Jazowiecka-Rakus, A. Sochanik, A. Rusin, W. Pigłowski</i>	13
Przeżycia chorych na raka prostaty w województwie śląskim w latach przed i po wprowadzeniu Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych (NPZChN) – badanie populacyjne (Zadanie 2.1.1.); <i>T. Banasik, Z. Kołosa, B. Zemła, E. Czajkowska, E. Garmulewicz, B. Włodarczyk-Marciniec, M. Motnyk, E. Chawińska</i>	13
Przeżycia chorych na raka piersi wśród kobiet w województwie śląskim w latach przed i po wprowadzeniu Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych (NPZChN) – badanie populacyjne (Zadanie 2.1.2.); <i>Z. Kołosa, T. Banasik, B. Zemła, E. Czajkowska, E. Garmulewicz, B. Włodarczyk-Marciniec, M. Motnyk, E. Chawińska</i>	26

Opracowanie polskiego klasyfikatora molekularnego raka tarczycy. (Zadanie 3.1.1. realizowane w ramach projektu NCBiR Strategmed DZP/STRATEGMED2/2554/2014); <i>J. Krajewska, M. Oczko-Wojciechowska, M. Halczok, M. Cieślicka, D. Rusinek, T. Tyszkiewicz, J. Żebracka-Gala, A. Pfeifer, A. Kotecka-Blicharz, A. Kukulska, D. Handkiewicz-Junak, Z. Wygoda, A. Król, M. Kalemba, T. Gawlik, T. Olczyk, E. Paliczka-Cieślik, A. Kropińska, A. Ledwoń, S. Szpak-Ulczoek, B. Michalik, E. Gubała, D. Lange, E. Chmielik, E. Zembala-Nożyńska, A. Stanek-Widera, A. Pawlaczek, R. Cyplińska, A. Czarniecka, A. Sacher</i>	30
Rak rdzeniasty tarczycy – profilowanie genetyczne i genomowe w doborze leczenia operacyjnego, w tym operacji profilaktycznych oraz skojarzonej terapii choroby zaawansowanej (z podzadaniem: genetyczne i genomowe przewidywanie fenotypu zespołu MEN2: ryzyko rozwoju guza chromochłonnego i innych cech klinicznych) (Zadanie 3.1.2.); <i>M. Oczko-Wojciechowska, K. Hasse-Lazar, J. Krajewska, A. Czarniecka, T. Gawlik, E. Paliczka-Cieślik, S. Szpak-Ulczoek, K. Steinhof-Radwańska, J. Szasny, E. Chmielik, M. Zeman, A. Sacher, A. Pawlaczek, J. Żebracka-Gala, R. Cyplińska, A. Pfeifer, D. Rusinek, D. Kula, M. Kowalska, E. Zembala-Nożyńska, E. Gubała, A. Chorąży, D. Lange</i>	33
Wykorzystanie genomowego i proteomicznego profilowania nowotworów tarczycy za pomocą badań wielkoskalowych (sekwencjonowanie genomowe, proteomika guza) dla oceny różnic między podtypami histologicznymi oraz ich kliniczną agresywnością (Zadanie 3.1.3. realizowane w ramach projektu NCBiR Strategmed DZP/STRATEGMED2/2554/2014) <i>J. Krajewska, D. Lange, J. Roskosz, A. Kukulska, D. Handkiewicz -Junak, A. Kotecka-Blicharz, T. Gawlik, E. Paliczka-Cieślik, A. Syska-Bielak, J. Szasny, E. Chmielik, E. Zembala-Nożyńska, A. Pawlaczek, R. Cyplińska, M. Halczok, J. Żebracka-Gala, D. Rusinek, D. Kula, T. Tyszkiewicz, M. Oczko-Wojciechowska, T. Olczyk, A. Kropińska, A. Ledwon, A. Czarniecka, A. Sacher, S. Szpak-Ulczoek, E. Chmielik, E. Gubała, A. Pfeifer, M. Cieślicka, A. Kluczewska-Gałka, K. Szczucka-Borys, A. Wojakowska, M. Gawin, M. Kalinowska-Herok, M. Pietrowska, M. Chekan, P. Widlak, A. Tukiendorf</i>	34
Występowanie mutacji chorobotwórczych w genach SDHC, SDHA, SDHAF2, TMEM 127, MAX, FH, KIF1B, MDH2, MERTK, MET u pacjentów z guzami chromochłonnymi i przyzwojakami, u których nie wykryto mutacji w zakresie genów vHL, RET, SDHB, SDHD (Zadanie 3.2.1.); <i>K. Hasse-Lazar, A. Kotecka-Blicharz, M. Oczko-Wojciechowska, A. Pfeifer, A. Pawlaczek, T. Gawlik, S. Szpak-Ulczoek, J. Krajewska, D. Rusinek, B. Jurecka-Lubieniecka</i>	36
Analiza czynników wpływających na obecność przerzutów do kośćca w badaniu scyntygraficznym 99 mTc-MDP u pacjentów z rakiem stercza pierwotnym, w trakcie leczenia oraz po jego zakończeniu z niskim stężeniem PSA w surowicy krwi (Zadanie 3.2.2.); <i>Z. Wygoda, M. Kalemba, J. Wydmański</i>	37
Raki endokrynne - analiza podłoża genetycznego i fenotypu nowotworów złośliwych gruczołów dokrewnych. Próba standaryzacji postępowania diagnostycznego i terapeutycznego (Zadanie 3.2.3.); <i>B. Jurecka-Lubieniecka, S. Szpak-Ulczoek, B. Michalik, J. Krajewska, A. Ledwon, A. Król, E. Paliczka-Cieślik, K. Hasse-Lazar, E. Zembala-Nożyńska</i>	38

Ocena wpływu uzupełniającej radioterapii na przebieg raka rdzeniastego tarczycy (Zadanie 3.3.1.); A. Kukulska, J. Krajewska, Z. Puch, Z. Wygoda, E. Gubała, D. Syguła, T. Lisik, F. Ficek.....	39
Leczenie jodem promieniotwórczym I-131 zróżnicowanego raka tarczycy – ocena skuteczności leczenia i biokinetyki I-131 (Zadanie 3.3.2.); D. Handkiewicz-Junak, A. Kluczevska-Gałka, A. Kropińska, A. Ledwon, K. Szczucka-Borys, E. Paliczka-Cieślik, J. Roskosz, J. Krajewska, Z. Puch, T. Olczyk.....	41
Synteza i kontrola jakości ⁶⁸ Ga-PSMA - znacznika PET/CT stosowanego w obrazowaniu gruczołów prostaty oraz porównanie otrzymanych obrazów z obrazami uzyskanymi przy użyciu ¹⁸ F-fluorocholiny jako punkt odniesienia (Zadanie 3.5.1.); M. Pocięgiel, D. Pogoda, M. Szydło, T. Kowalski, M. Jadwiński.....	42
Waskulogeneza i komórki macierzyste indukowane środowiskiem guza jako czynniki rokownicze raka jelita grubego w oparciu o wykorzystanie mikromacierzy tkankowych (Zadanie 3.6.1.); A. Stanek-Widera, M. Biskup-Frużyńska, M. Zeman, M. Śmieszek, J. Simek, J. Młynarczyk-Liszka, T. Kącik.....	43
Ekspresja CD133 i ALDH-1 oraz neowaskulogeneza jako czynniki rokownicze w rakach piersi (Zadanie 3.6.2.); A. Stanek-Widera, M. Biskup-Frużyńska, K. Widera, K. Cedor, K. Czyż, M. Wesółowski, J. Młynarczyk-Liszka, M. Środa.....	44
Ocena ekspresji markerów nowotworowych komórek macierzystych: CD44 i ALDH1 w zmianach dysplastycznych błony śluzowej jamy ustnej i gardła środkowego oraz ich korelacja z ryzykiem transformacji złośliwej w zależności od statusu HPV (Zadanie 3.6.3.); M. Biskup-Frużyńska, A. Stanek-Widera, M. Śnietura, A. Kopeć, T. Rutkowski.....	45
Ocena niestabilności mikrosatelitarnej w raku jelita grubego (Zadanie 3.6.4.); E. Zembala-Nożyńska, B. Nikiel, J. Huszno, Z. Kołosza	46
Ocena czynników prognostycznych w czerniakach skóry w oparciu o skanowane preparaty analizowanych przypadków ze szczególnym uwzględnieniem nacieku limfocytów CD3 i CD8 (Zadanie 3.7.1.); A. Stanek-Widera, M. Biskup-Frużyńska, S. Pakuło, M. Śmieszek, J. Simek, M. Jaworska, B. Nikiel.....	48
Ocena „imunoscoringu” w rakach piersi jako czynnik o znaczeniu prognostycznym z zastosowaniem mikromacierzy tkankowych (Zadanie 3.7.2.); A. Stanek-Widera, M. Biskup-Frużyńska, M. Śnietura, M. Turska-d’Amiko, K. Widera, M. Śmieszek, J. Simek, A. Kopeć, R. Lamch.....	49
Ocena wartości prognostycznej nacieków limfocytów T cytotoksycznych (CD3) i limfocytów T pamięci (CD8) w mikrośrodowisku guza z wykorzystaniem metody IMMUNOSCORE w grupie pacjentów leczonych chirurgicznie z powodu raka jelita grubego (Zadanie 3.7.3.); S. Pakuło, E. Stobiecka, B. Nikiel, W. Bal, M. Jaworska, D. Ponikiewska, B. Szcześniak-Khusek, K. Czyż.....	50
Charakterystyka lokalnej odpowiedzi immunologicznej w raku płaskonabłonkowym gardła środkowego z uwzględnieniem statusu HPV guza nowotworowego (Zadanie 3.7.4.); M. Śnietura, A. Kopeć, T. Rutkowski, W. Pigłowski, R. Lamch, A. Stanek-Widera.....	50

Ocena odpowiedzi na leczenie neoadjuwantową chemioterapię w rakach potrójnie ujemnych w korelacji ze statusem TILs w materiale przed i pooperacyjnym wraz z oceną ekspresji PD-L1 (Zadanie 3.7.5.); <i>E. Chmielik, D. Ławniczak-Cielińska, M. Jarzqb, P.J. Paul, J. Simek, K. Czyż, B. Nikiel, J. Liszka</i>	52
1H MRS prawidłowego rdzenia kręgowego i zmian wewnątrzrdzeniowych (Zadanie 3.8.1.); <i>A. Hebda, P. Wawrzyniak, G. Stasik-Pres, M. Maliszewski, K. Majchrzak, H. Majchrzak</i>	53
Zbadanie wartości prognostycznej, predykcyjnej i możliwości automatycznej detekcji granic guza metodą wieloparametrycznego obrazowania NMR metodami PWI, DTI, MRS, oraz PET/CT ze specyficznymi znacznikami u chorych na guzy mózgu (Zadanie 3.9.); <i>E. Nowicka, B. Bobek-Billewicz, Ł. Zarudzki, G. Stasik-Pres, H. Grzbiela, A. Grządziel, L. Hawrylewicz, K. Nowakowski, M. Gawkowska-Suwińska, S. Owczarek, A. d'Amico, M. Jurkowski, A. Hebda, A. Leśniak, K. Raczek-Zwierzycka</i>	53
Wykorzystanie profilu genomycznego, proteomicznego i metabolomicznego nowotworu i surowicy krwi, oceny guza w badaniach obrazowych i stopnia regresji w trakcie chemioterapii neoadjuwantowej jako czynników wspierających decyzje o zakresie i metodach leczenia chirurgicznego i radioterapii. (Zadanie 3.10.1.); <i>M. Jarzqb, B. Lange, E. Nowicka, A. Leśniak, K. Drosik-Rutowicz, M. Mianowska-Malec, B. Grandys, K. Raczek-Zwierzycka, K. Nowakowski, H. Grzbiela, S. Owczarek, K. Widera, M. Kaźmierczak-Maciejewska, W. Bal, J. Nieckula, M. Sikora-Jopek, B. Bobek-Billewicz, J. Rembak-Szynkiewicz, M. Kaszuba, M. Gola, M. Szasny, D. Adamiak, U. Kołtun, A. Dyla, M. Dobrut, A. Czarniecka, M. Turska-d'Amico, R. Szumniak, R. Ulczok, G. Woźniak, W. Turyk, A. Maciejewski, M. Kowalska, M. Halczok, M. Oczko-Wojciechowska, T. Tyszkiewicz, J. Żebracka, A. Pawlaczek, R. Cyplińska, A. Pfeifer, A. Syska-Bielak, A. Kluczevska-Galka, K. Szczucka-Borys, A. d'Amico, K. Gorczewski, I. Gorczewska, D. Borys, J. Szczurek, D. Lange, E. Chmielik, A. Stanek-Widera, E. Stobiecka, D. Ponikiewska, B. Nikiel, D. Gabryś, K. Trela, M. Pietrowska, M. Kalinowska-Herok, A. Walaszczyk, M. Gawin, L. Ponge, P. Widlak, A. Skorupa, Ł. Boguszewicz, M. Gramatyka, M. Sokół</i>	54
Molekularne markery złośliwości i agresywności guzka tarczycy jako narzędzie decyzji o zakresie leczenia operacyjnego i trybie leczenia uzupełniającego – badanie wielośrodkowe (Zadanie 3.10.2.); <i>M. Jarzqb, K. Drosicz-Rutowicz, B. Jarzqb, M. Oczko-Wojciechowska, A. Czarniecka, J. Krajewska, D. Handkiewicz-Junak</i>	55
Wykorzystanie genomycznego profilu raka stercza do oceny agresywności nowotworu i wsparcia decyzji o strategii terapeutycznej leczenia miejscowego (Zadanie 3.10.3.); <i>M. Gawkowska-Suwińska, A. Leśniak, L. Mischczyk, W. Majewski, B. Bobek-Billewicz, J. Rembak-Szynkiewicz, D. Lange</i>	56
Zbudowanie w oparciu o monitoring biomarkerów molekularnych, obrazowych, laboratoryjnych i klinicznych wieloparametrycznego modelu predykcji odpowiedzi guza nowotworowego i zdrowych tkanek na leczenie chorych na raka głowy i szyi (Zadanie 3.11.); <i>A. Wygoda, T. Rutkowski, A. Żyromska, A. Hajduk, A. Heyda, B. Pilecki, M. Kentnowski, P. Polanowski, U. Dworzecka, K. Dębiec, Ł. Boguszewicz, A. Mazurek, M. Śnietura, J. Mrochem-Kwarciak, R. Deja, I. Domińczyk, M. Pietrowska, S. Lukoszek, T. Stępień, M. Sokół, P. Widlak, D. Lange</i>	57
Ocena skuteczności neoadjuwantowej terapii u chorych na raka piersi w zależności od stopnia nacieku limfocytarnego guza (TILs) z uwzględnieniem biologicznych podtypów raka piersi (Zadanie 4.1.1.); <i>J. Huszno, E. Zembala-Nożyńska, A. Stanek-Widera, D. Lange, Z. Kołosza</i>	59

Ocena powikłań i przebiegu leczenia systemowego chorych na nowotwory z wirusowym zapaleniem wątroby typu C (HCV) i B (HBV) (Zadanie 4.1.2.); <i>J. Huszno, Z. Kołosza, B. Masłyk</i>	60
Rak brodawkowy tarczycy i nowotwory o niepewnym potencjale złośliwości – optymalizacja postępowania terapeutycznego w kontekście badań molekularnych (Zadanie 4.2.1.); <i>A. Czarniecka, J. Krajewska, M. Jarząb, D. Rusinek, M. Oczko-Wojciechowska E. Stobiecka, E. Zembala-Nożyńska, A. Sacher, B. Jarząb</i>	61
Rodziny rak rdzeniasty tarczycy – wyniki leczenia operacyjnego u nosicieli mutacji protoonkogenu RET w zależności od typu mutacji, stadium zaawansowania klinicznego choroby, czasu rozpoczęcia leczenia i jego zakresu (Zadanie 4.2.2.); <i>A. Czarniecka, M. Oczko-Wojciechowska, J. Krajewska, E. Stobiecka, M. Jarząb, A. Sacher, B. Jarząb</i>	62
Wartość predykcyjna radioizotopowej lokalizacji niemych klinicznie ognisk (ROLL) wznowy u chorych na raka tarczycy kwalifikowanych do leczenia operacyjnego (Zadanie 4.2.3.); <i>M. Turska-d’Amico, A. Czarniecka, G. Woźniak, A. d’Amico</i>	63
Optymalizacja składu stężenia DMSO w mieszaninie stosowanej podczas krioprezerwacji krwiotwórczych komórek macierzystych (Zadanie 4.5.1.); <i>I. Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, A. Chwieduk, M. Głowala-Kosińska, A. Ciomber, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, K. Soska, W. Mendrek, J. Najda, M. Saduś-Wojciechowska, A. Frankiewicz, M. Ociepa, M. Krawczyk-Kuliś, G. Kamińska- Winciorek, J. Hołowiecki</i>	64
Optymalizacja skuteczności i bezpieczeństwa procedury pobierania komórek krwiotwórczych oraz limfocytów z krwi obwodowej od honorowych dawców z zastosowaniem protokołów MNC oraz CMNC na aparacie Spectra Optia (Zadanie 4.5.2.); <i>I. Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, A. Chwieduk, M. Głowala-Kosińska, A. Ciomber, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, K. Soska, W. Mendrek, J. Najda, M. Saduś-Wojciechowska, A. Frankiewicz, M. Ociepa, M. Krawczyk-Kuliś, G. Kamińska- Winciorek, J. Hołowiecki</i>	65
Odtwarzanie subpopulacji limfocytów T (RTE oraz Treg) po allotransplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC), ze szczególnym uwzględnieniem transplantacji od dawców haploidentycznych (Zadanie 4.6.1.); <i>I. Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, A. Chwieduk, M. Głowala- Kosińska, A. Ciomber, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, K. Soska, W. Mendrek, J. Najda, M. Saduś-Wojciechowska, A. Frankiewicz, M. Ociepa, M. Krawczyk-Kuliś, G. Kamińska- Winciorek, J. Hołowiecki</i>	65
Zastosowanie techniki HR MAS NMR do charakterystyki profili metabolicznych guzów tarczycy oraz komórek serca (Zadanie 4.7.1.) <i>A. Skorupa, Ł. Boguszewicz, M. Ciszek, M. Gramatyka, M. Kijonka</i>	67
Opracowanie wieloparametrycznych protokołów akwizycji obrazów MRI w polu 9.4 T do oceny efektów terapeutycznych u myszy (Zadanie 4.7.2.); <i>A. Skorupa, Ł. Boguszewicz, M. Ciszek, B. Bobek-Billewicz, A. Orlef, Z. Maniakowski</i>	73
Zastosowanie metabolomiki opartej na spektroskopii HR NMR do oceny toksyczności radiochemioterapii u chorych na raka regionu głowy i szyi (Zadanie 4.7.3.); <i>Ł. Boguszewicz, A. Skorupa, M. Ciszek, M. Kijonka</i>	74

Walidacja i wdrożenie prognostyczno-predykcyjnych sygnatur molekularnych dla indywidualizacji i optymalizacji konformalnej radioterapii skojarzonej z chemioterapią u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca w stopniu zaawansowania IIIAN2 i IIIB (Zadanie 4.8.1.); <i>K. Galwas-Kliber, D. Butkiewicz, M. Pietrowska, G. Plewicki, U. Dworzecka, M. Kalinowska-Herok, M. Krześniak, I. Matuszczyk, A. Fiszer-Kierzkowska, A. Mazurek, A. Gdowicz-Kłosok, U. Bojko, E. Małusecka, I. Domińczyk, M. Rusin, M. Gawkowska-Suwińska, A. Idasiak, B. Jochymek, D. Syguła, B. Klusek, R. Deja, J. Gliwińska, A. Zajusz, W. Widlak</i>	80
Porównanie tolerancji i skuteczności miejscowej samodzielnej hiperfrakcjonowanej radioterapii przedoperacyjnej i hiperfrakcjonowanej radioterapii przedoperacyjnej w skojarzeniu z chemioterapią u chorych na raka odbytnicy wraz z oceną możliwości optymalizacji i indywidualizacji leczenia skojarzonego w oparciu o badania markerów biochemicznych (Zadanie 4.8.2.); <i>A. Idasiak, I. Wziętek, T. Dworzecki, M. Giglok, M. Kryj, A. Chmielarz, M. Widel, E. Chmielik, E. Stobiecka, S. Pakuło, D. Butkiewicz, J. Pamuła-Pilat, K. Tęcza, J. Łanuszewska, E. Grzybowska, R. Deja, M. Prokop, J. Wydmański</i>	83
Optymalizacja schematów frakcjonowania radioterapii chorych na raka gruczołu krokowego z wykorzystaniem metod obrazowania funkcjonalnego NMR i markerów biochemicznych (Zadanie 4.8.3.); <i>K. Behrendt, R. Deja, M. Giglok, G. Plewicki, U. Dworzecka, B. Smolska-Ciszewska, K. Galwas, A. Idasiak, B. Białas, K. Lisowska, E. Małysecka, M. Latos, B. Bobek-Billewicz</i>	84
Projekt połączenia dawek generowanych w czasie weryfikacji obrazowej - CBCT z różnymi technikami radioterapii: CRT/ IMRT/VMAT (Zadanie 4.9.1.); <i>A. Grządziel, B. Bekman, Ł. Dolla, W. Osewski</i>	92
Rozkłady dawek w technikach dynamicznych – IMRT/VMAT generowane przez kolimatory HD i Millennium akceleratorów TrueBeam i Clinac firmy VMS (Zadanie 4.9.2.); <i>I. Brąclik, W. Leszczyński, J. Wendykier, J. Kopczyńska</i>	92
Ocena przydatności fuzji obrazowej TK/NMR/PET w definiowaniu obszaru tarczowego w planowaniu zrobotyzowanej stereotaktycznej radiochirurgii CyberKnife (Zadanie 4.9.3.); <i>M. Stąpór-Fudzińska, K. Orzechowska, L. Hawrylewicz, B. Maciejewski</i>	93
Szacowanie szansy miejscowego wyleczenia (TCP) na podstawie estymacji TCP dla częściowych objętości guza (subvolume SVTCP) z niejednorodnie deponowaną dawką IMRT, na modelu regionu głowy i szyi; (Zadanie 4.10.1.); <i>B. Maciejewski, L. Hawrylewicz, M. Stąpór-Fudzińska, K. Szczepanik</i>	94
Wpływ stopni zaawansowania regionalnych węzłów chłonnych szyi na prawdopodobieństwo 3-letniego wyleczenia guza pierwotnego. Częstość i kinetyka wznów miejscowych w samodzielnej radioterapii raków regiony głowy i szyi (Zadanie 4.10.2.); <i>B. Maciejewski, A. Celejewska, D. Gabryś, T. Latusek</i>	95
Optymalizacja i indywidualizacja radioterapii stereotaktycznej guzów i zmian nienowotworowych ośrodkowego układu nerwowego i kręgosłupa (Zadanie 4.11.1.); <i>S. Blamek, D. Książniak-Baran, M. Stankiewicz, D. Larysz, A. Roch-Zniszczoł, K. Ficek, A. Kruczek, Z. Straszak, A. Celejewska, D. Syguła, A. Łuczak, K. Grellier, A. Grządziel, A. Napieralska, B. Bekman, K. Ślosarek</i>	96

Zbadanie wpływu zastosowania nowoczesnych technik radioterapii na funkcjonowanie wszczepialnych urządzeń elektrostymulujących (Zadanie 4.11.2.); S. Blamek, D. Gabryś, B. Niewiadomska, A. Bekman, Ł. Dolla, A. Kruczek, A. Woźnica, M. Stąpór-Fudzińska, D. Larysz, M. Sokół, K. Ślosarek.....	97
Porównanie tolerancji i skuteczności przedoperacyjnej i pooperacyjnej radiochemioterapii u chorych na operacyjnego raka żołądka - badanie kliniczne III fazy. Ocena możliwości indywidualizacji leczenia w oparciu o markery molekularne i immunologiczne (Zadanie 4.12.1.); J. Wydmański, R. Suwiński, S. Półtorak, M. Kryj, D. Lange, A. Chmielarz, E. Nowara, M. Widel, M. Strączyński, M. Samborska-Plewicka, M. Zeman, W. Leszczyński, Ż. Kaniszewska-Dorsz, A. Namysł-Kaletka, E. Zembala-Nożyńska, L. Hawrylewicz, J. Nieckula, W. Bal, M. Kraszkiewicz, W. Majewski, A. Chwieduk, A. Gdowicz-Kłosok, A. Chmura, Ł. Kleszyk, R. Deja, K. Grabińska, G. Woźniak, L. Miszczyk.....	98
Ocena skuteczności trzech różnych metod leczenia oszczędzającego pęcherz moczowy u chorych na raka pęcherza moczowego (Zadanie 4.12.2.); W. Majewski, J. Nieckula, T. Dworzecki, R. Kulik, E. Chawińska, E. Nowara, A. Celejewska.....	100
Ocena wartości prognostycznej wolumetrycznej klasyfikacji płaskonabłonkowego raka gardła i krtani i infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego HPV u chorych poddanych radio- i chemioterapii (Zadanie 4.14.); T. Rutkowski, A. Mazurek, M. Śnietura, A. Hajduk, B. Hejduk, M. Jędrzejewska, W. Pigłowski, E. Malusecka, A. Fiszer-Kierzkowska, R. Rutkowski, A. Wygoda, I. Domińczyk, T. Stepień, A. Tukiendorf, Z. Kołosza, D. Lange, P. Widlak.....	103
Zbadanie skuteczności indukcyjnej chemioterapii (iCHT) u chorych na pierwotnie operacyjnego, zaawansowanego raka zlokalizowanego w jamie ustnej (Zadanie 4.15.); T. Rutkowski, C. Szymczyk, A. Hajduk, A. Wygoda, E. Stobiecka, B. Hejduk, A. Maciejewski, J. Wierzoń, Ł. Krakowczyk, M. Jędrzejewska, P. Zeman, B. Lukaszczyk-Widel, Ł. Michalecki, B. Pilecki, M. Kentnowski, U. Dworzecka, K. Grabińska.....	104

Wyniki prac naukowych wykonanych w ramach Planu Naukowego na rok 2017 w Centrum Onkologii-Instytucie im. Marii Skłodowskiej-Curie Oddział w Gliwicach

1. 1. Biologia molekularna nowotworów i badania translacyjne prowadzone w wybranym obszarze onkologii molekularnej.

1.1.1. Analiza z wykorzystaniem narzędzi genomiki funkcjonalnej działania szlaków sygnałowych zależnych od HSF1, HIF1, NF- κ B i TP53 w komórkach poddanych stresowi indukowanemu przez czynniki stosowane w terapii przeciwnowotworowej oraz przez czynniki związane z mikrośrodowiskiem nowotworowym.

Kierownik: P. Widłak

M. Rusin, D. Butkiewicz, M. Chorąży, A. Gdowicz-Kłosok, A. Gogler-Piğłowska, P. Janus, K. Klyszcz, J. Korfanty, Z. Krawczyk, M. Krześniak, I. Matuszczyk, M. Olbryt, A. Rusin, D. Sojka, K. Szoltysek, D. Ścieglińska, A. Toma-Jonik, N. Vydra, W. Widłak, A. Zajkiewicz, M. Chadalski

W zadaniu badawczym określono mechanizm molekularny, dzięki któremu promieniowanie UV blokuje aktywację klasycznej ścieżki NF-kappaB przez cytokiny. Mechanizm blokady zależny jest od reaktywnych form tlenu indukowanych przez promieniowanie i wymaga aktywacji odpowiedzi antyoksydacyjnej, która z kolei hamuje produkcję wolnych rodników indukowanych przez cytokiny (publikacja 1).

Na panelu dziewięciu linii czerniaka ludzkiego sprawdzono aktywację ścieżki p53 pod wpływem cytotoksycznego związku WP760, który jest pochodną doksorubicyny. WP760 powoduje akumulację i aktywację p53 (wzrost p21) w większości testowanych linii. Jedynie w linii 451Lu, która ma zmutowany gen TP53 nie obserwowano wpływu WP760 na ścieżkę p53. Jednocześnie w traktowanych komórkach obserwowano indukcję apoptozy, co sugeruje, że aktywacja p53 w komórkach czerniaka jest elementem mechanizmu cytotoksycznego działania związku WP760 na komórki czerniaka (publikacja 2).

Stwierdzono, że HSPA2 może kontrolować inicjację różnicowania keratynocytów oraz regulować stabilność i aktywność czynnika transkrypcyjnego HIF-1. Wyniki te pozwoliły nam na sformułowanie projektu grantowego. Propozycja projektu koncentruje się na wyjaśnieniu czy HSPA2 jako białko opiekuńcze może modulować aktywności innych białek (czynników transkrypcyjnych, białek sygnalizacyjnych) o kluczowym znaczeniu dla proliferacji i różnicowania. Sądzymy, że jednym z białek zależnych od HSPA2 jest czynnik transkrypcyjny HIF-1, a wzajemne oddziaływania pomiędzy nimi mogą wpływać na utrzymanie homeostazy naskórka (publikacja 3).

HSF1 ma udokumentowane znaczenie cytoprotekcyjne. W komórkach wrażliwych na stres działa odmiennie – aktywuje ekspresję genu Pmaip1 (poprzez nietypowe wiązanie do sekwencji regulatorowych w intronie), co indukuje apoptozę. W komórkach raka piersi, estradiol (E2) aktywuje HSF1 poprzez receptor ER α oraz szlak sygnałowy PI3K-mTOR. HSF1 wspiera działanie estrogenu modulując ekspresję genów związanych z adhezją komórek, migracją oraz angiogenezą. HSF1 ma również wpływ na ruchliwość komórek nabłonkowych piersi nie posiadających receptorów estrogenu po długoterminowej ekspozycji na E2 (publikacja 4).

Silna aktywacja p53 pod wpływem synergistycznie działających związków, aktynomycyny D i nutliny-3a, powoduje skoordynowane włączenie ekspresji genów kodujących białka szlaku, sygnalizacyjnego rozpoczynającego się od receptora TREM2. Mutacje i polimorfizmy genów tego

szlaku są związane z chorobą Alzheimera i innymi schorzeniami neurodegeneracyjnymi. Stwierdzono, że TREM2 jest genem regulowanym na poziomie transkrypcyjnym przez p53 (publikacja 5).

[Realizacja grantów NCN: 2016/21/N/NZ5/01917, 2015/17/B/NZ3/03760, 2014/15/D/NZ5/03410, 2014/13/B/NZ7/02314, 2014/13/B/NZ3/04650, 2013/11/B/NZ5/03190, 2013/08/M/NZ1/00935]

- Szoltysek K, Walaszczyk A, Janus P, Kimmel M, Widlak P (2017): Irradiation with UV-C inhibits TNF α -dependent activation of the NF- κ B pathway in a mechanism potentially mediated by reactive oxygen species. *Genes Cells*. 22: 45-58.
- Olbryt M, Rusin A, Fokt I, Habryka A, Tudrej P, Student S, Sochanik A, Zieliński R, Priebe W (2017): Bis-anthracycline WP760 abrogates melanoma cell growth by transcription inhibition, p53 activation and IGF1R downregulation. *Invest New Drugs*. 35: 545-555.
- Gogler-Pigłowska A, Klarzyńska K, Sojka DR, Habryka A, Głowala-Kosińska M, Herok M, Kryj M, Halczok M, Krawczyk Z, Scieglinska D. (2018) Novel role for the testis-enriched HSPA2 protein in regulating epidermal keratinocyte differentiation. *J Cell Physiol*. 233: 2629-2644.
- Widlak W, Vydra N (2017): The role of Heat Shock Factors in mammalian spermatogenesis. In: The Role of Heat Shock Proteins in Reproductive System Development and Function, Ed. MacPhee D; Series: Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology, Vol. 222, ISBN 978-3-319-51408-6.
- Krześniak M, Butkiewicz D, Rachtan J, Matuszczyk I, Grzybowska E, Rusin M. (2017) A novel germline TP53 mutation p.Pro190Arg detected in a patient with lung and bilateral breast cancers. *Adv Med Sci*. 62: 207-210.

1.1.2. Wpływ promieniowania jonizującego na profil metabolomu i proteomu surowicy krwi oraz egzosomów uwalnianych z napromienionych komórek.

Kierownik: P. Widlak

M. Pietrowska, K. Jelonek, A. Abramowicz, M. Roś-Mazurczyk, M. Gawin, I. Domińczyk

Scharakteryzowano (metodą GC-MS) profil metabolitów w surowicy krwi pacjentów poddanych radioterapii z powodu raka tarczycy, i określono zestaw metabolitów ulegających zmianom pod wpływem promieniowania; do najbardziej interesujących cech metabolicznej sygnatury promieniowania należy podwyższony poziom beta-hydroksymaślanu (publikacja 1). Przeprowadzono systemową analizę białek i metabolitów surowicy związanych z odpowiedzią na promieniowanie, i wykazano ich związek funkcjonalny z procesami zapalnymi (publikacja 2). Opracowano procedurę izolacji egzosomów na potrzeby analiz proteomicznych i metabolomicznych (publikacja 3).

[Realizacja grantów NCN: 2015/17/B/NZ5/01387, 2013/11/B/NZ7/01512 oraz 7FP EU OPERRA – 604984]

- Roś-Mazurczyk M, Wojakowska A, Marczak Ł, Polański K, Pietrowska M, Jelonek K, Domińczyk I, Hajduk A, Rutkowski T, Składowski K, Widlak P (2017): Ionizing radiation affects profile of serum metabolites: increased level of 3-hydroxybutyric acid in serum of cancer patients treated with radiotherapy. *Acta Biochim Pol*. 64: 189-193.
- Jelonek K, Pietrowska M, Widlak P (2017): Systemic effects of ionizing radiation at the proteome and metabolome levels in the blood of cancer patients treated with radiotherapy: the influence of inflammation and radiation toxicity. *Int J Radiat Biol*. 93: 683-696.
- Pietrowska M, Funk S, Gawin M, Marczak Ł, Abramowicz A, Widlak P, Whiteside T (2017): Isolation of exosomes for the purpose of protein cargo analysis with the use of mass spectrometry. *Methods Mol Biol*. 2017; 1654: 291-307.

1.1.3. Identyfikacja składników proteomu i metabolomu swoistych dla różnych typów raka tarczycy.

Kierownik: P. Widlak

A. Wojakowska, M. Pietrowska, M. Gawin, M. Kalinowska-Herok

Oceniono możliwość wykorzystania metody obrazowania molekularnego MALDI-MSI w klasyfikacji raków tarczycy (publikacja 1). Określono cechy charakterystyczne dla proteomów różnych raków tarczycy (publikacja 2). Określono sygnaturę lipidów różnicujących materiał pochodzący z raka brodawkowego tarczycy od nie-nowotworowych zmian tkanki tarczycy (publikacja 3).

[Realizacja grantów NCN: 2013/08/S/NZ2/00868, 2012/07/B/NZ4/01450]

- Pietrowska M, Diehl HC, Mrukwa G, Kalinowska-Herok M, Gawin M, Chekan M, Elm J, Drazek G, Krawczyk A, Lange D, Meyer HE, Polanska J, Henkel C, Widlak P (2017): Molecular profiles of thyroid cancer subtypes: Classification based on features of tissue revealed by mass spectrometry imaging. *Biochim Biophys Acta*. 1865: 837-845.
- Gawin M, Wojakowska A, Pietrowska M, Marczak Ł, Chekan M, Jelonek K, Lange D, Jaksik R, Gruca A, Widlak P (2017): Proteome profiles of different types of thyroid cancers. *Mol Cell Endocrinol*. Available online 26 November 2017; <https://doi.org/10.1016/j.mce.2017.11.020>
- Wojakowska A, Cole LM, Chekan M, Bednarczyk K, Maksymiak M, Oczko-Wojciechowska M, Jarzab B, Clench MR, Polańska J, Pietrowska M, Widlak P (2017): Discrimination of papillary thyroid cancer from non-cancerous thyroid tissue based on lipid profiling by MALDI-MSI. Praca przyjęta do *Pol J Endocrinol*.

1.1.4. Poszukiwanie nowych biomarkerów wrażliwości i oporności komórek nowotworowych na inhibitory FGFR przy zastosowaniu badań in vitro.

Kierownik: P. Widlak

K. Lisowska, A. Cortez, K. Kujawa, M. Olbryt, P. Tudrej, A. Sochanik, J. Jazowiecka-Rakus

Program realizowany jest w ramach wielośrodkowego projektu CELONKO (Strategmed-2), którego celem jest przygotowanie wdrożenia nowego inhibitora kinaz FGFR: CPL-304-110. Przedmiotem programu jest zbadanie mechanizmów wrażliwości i oporności komórek nowotworowych na ten związek oraz poszukiwanie nowych markerów wrażliwości/oporności. Przeprowadzono porównanie wrażliwości na CPL-304-110 oraz inhibitora „kontrolnego” opatentowanego przez firmę Astra-Zeneca na panelu linii komórkowych pochodzących z raka płuca, raka żołądka, raka pęcherza i raka jajnika. Ponadto, wykorzystując w/w modele komórkowe przygotowano preparaty RNA do analizy wpływu CPL-304-110 na profile ekspresji genów (analiza globalnych profili ekspresji metodą RNA-Seq); analiza zostanie wykonana w roku 2018.

[Realizacja grantu NCBiR: Strategmed-2 CELONKO]

1.1.5. Wpływ czynników genetycznych, w tym wariantów polimorficznych genów naprawy DNA i transporterów z rodziny ABC, na toksyczność chemioterapii u chorych leczonych z powodu raka piersi oraz raków regionu głowy i szyi.

Kierownik: P. Widlak

E. Grzybowska, J. Pamuła-Pilat, K. Tęcza, J. Łanuszewska, M. Mazur, L. Ponge, D. Butkiewicz

Stwierdzono, że oporność pacjentek z rakiem piersi na chemioterapię FAC jest związana z modyfikacjami w systemach usuwających chemioterapeutyki lub ich metabolity z komórek (warianty genów ABCB1 i ABCC2), a także w mechanizmach naprawy DNA (wariant genu ERCC2). Wpływ tych czynników był niezależny od silnych czynników klinicznych (istniejące przerzuty), ponadto jednoczesne wystąpienie dwóch i trzech niekorzystnych genotypów drastycznie podnosiło ryzyko braku odpowiedzi na terapię. W badaniach toksyczności leczenia FAC analizowano objawy hematologiczne,

żołądkowo-jelitowe i związane z pracą nerek, o różnym czasie trwania i nasileniu. Zidentyfikowano 31 genetycznych i klinicznych niezależnych czynników predykcyjnych dla 12 objawów toksyczności. Wyniki wskazują, że ryzyko każdego z badanych objawów jest związanych z modyfikacją przynajmniej dwóch mechanizmów komórkowych uruchamianych po podaniu chemioterapeutyków, a jednocześnie nosicielstwo kilku czynników niekorzystnych umieszcza pacjenta w grupie silnie zagrożonej wystąpieniem objawu toksyczności terapii. Podobne wyniki uzyskano w analizach wariantów w rejonach 3'UTR, gdzie wykazano postępujący wzrost ryzyka nawracającej anemii dla współwystąpienia trzech polimorfizmów w genach ABCB1, ABCC1 i ERCC1. Dalsze analizy dla wariantów 3'UTR oraz w genach miRNA dla genów ADME są w trakcie realizacji. Uzyskane wyniki wskazują na istotność komórkowych systemów transportowych, metabolicznych oraz naprawczych, na poziomie całego organizmu, a nie samego guza nowotworowego, dla wyniku chemioterapii FAC w raku piersi. Skonstruowane w pracy modele umożliwiają wyselekcjonowanie podgrup pacjentek o wysokim ryzyku braku odpowiedzi na leczenie i wystąpienia objawów niepożądanych, jeszcze na etapie planowania leczenia. Potencjalnie zatem opracowane narzędzie selekcyjne może pomóc w doborze optymalnego schematu chemioterapii lub w dostosowaniu premedykacji.

[realizacja grantów NCN 2016/21/D/NZ5/01913, 2012/07/N/NZ5/00026]

- Tęcza K, Pamula-Pilat J, Łanuszewska J, Butkiewicz D, Grzybowska E.: Pharmacogenetics of toxicity of 5-fluorouracil, doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy in breast cancer patients. Praca zgłoszona do *Oncotarget*

1.1.6. Opracowanie nowych terapii celowanych hamujących wzrost guzów nowotworowych: wpływ kombinacji czynników antyangiogennych i immunostymulujących na wzrost nowotworów u myszy.

Kierownik: P. Widlak

S. Szala, M. Jarosz-Biej, R. Smolarczyk, T. Cichoń, S. Matuszczak, J. Czapla, K. Kulik, N. Kułach, A. Szymańska-Żytecka, A. Zielińska

W ramach zadania badawczego analizowano repolaryzację fenotypu makrofagów TAM z M2 do M1 na modelu mysiego czerniaka B16-F10 pod wpływem skonstruowanego przez nasze laboratorium leku: szczepionki DNA skierowanej przeciwko endoglinie (nośnikiem terapeutycznego genu ENG jest atenuowany szczep *Salmonella Typhimurium* SL7207) w połączeniu z IL-12 i efekt tej repolaryzacji na nowotworowe naczynia krwionośne. Zaobserwowaliśmy, że kombinacja szczepionki ENG z IL-12 zmienia poziom i fenotyp infiltrujących guzy komórek linii mieloidalnej, w tym makrofagów TAM, z proangiogennych/ immunosupresyjnych M2 w antyangiogenne/ immunostymulujące M1. Terapia skojarzona zmienia ekspresję genów makrofagów TAM. W guzach nowotworowych myszy leczonych kombinacją leków przeważają makrofagi M1 (przeciwnowotworowe), a w guzach myszy kontrolnych dominują makrofagi M2 (pronowotworowe). Makrofagi odgrywają ważną rolę w zahamowaniu wzrostu guzów przez kombinację leków – usunięcie TAM znosi przeciwnowotworowy efekt terapeutyczny terapii. Ponadto, rewersja makrofagów TAM podczas terapii kombinowanej powoduje zwiększenie infiltracji guzów nowotworowych przez limfocyty CD4+, CD8+ i komórki NK. Usunięcie limfocytów CD8+ lub komórek NK znosi efekt terapeutyczny szczepionki ENG w skojarzeniu z IL-12. Natomiast usunięcie limfocytów CD4+ zwiększa efekt stosowanej terapii. Dodatkowo, terapia skojarzona, która repolaryzuje makrofagi w kierunku M1, wpływa również na nowotworowe naczynia krwionośne, które wykazują zbliżoną do prawidłowej strukturę („normalizacja”). Poprawa perfuzji naczyń i, w konsekwencji, wzrost utlenowania w guzach nowotworowych leczonych myszy terapią kombinowaną, zwiększa efektywność chemioterapii i prowadzi do zahamowania wzrostu guzów.

[Realizacja grantów NCN: 2015/17/N/NZ4/02738, 2014/15/B/NZ4/00696, 2013/11/B/NZ4/04468]

- Jarosz-Biej M, Smolarczyk R, Cichoń T, Szala S: Reprogramming of tumor microenvironment cells in therapy. 2nd edition *Cancer Immunology*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2017/2018 (in progress).

- Jarosz-Biej M, Kamińska N, Matuszczak S, Cichoń T, Pamuła-Piłat J, Czaplą J, Smolarczyk R, Skwarzyńska D, Kulik K, Szala S: M1-like macrophages change tumor blood vessels and microenvironment in murine melanoma. Praca w poprawie w *PlosOne*.

1.1.7. Ocena przydatności układu terapeutycznego: zrekombinowany wirus myksomatozy i mezenchymalne komórki macierzyste do niszczenia guzów nowotworowych.

Kierownik: P. Widlak

J. Jazowiecka-Rakus, A. Sochanik, A. Rusin, W. Pigłowski

W ramach projektu scharakteryzowano zdolność komórek MSC do przekazywania onkolitycznego wirusa myksomatozy (MYXV) do różnych typów komórek czerniaka w warunkach in vitro. Komórki MSC otrzymano od zdrowych dawców szpiku kostnego i potwierdzono ich prawidłowy fenotyp za pomocą cytometrii przepływowej (Human MSC Analysis Kit). Pozwala to stwierdzić, że nadają się one do użycia do dalszych doświadczeń. Konstrukty wirusowe vMyx-GFP or vMyx GFP/TrFP różniące się typem kodowanego białka fluorescencyjnego zostały namnożone w komórkach króliczych RK13 i użyte do zainfekowania mysich (B16-F10) oraz ludzkich (451Lu, WM35, WM793B) komórek czerniaka jak również komórek MSC. Do badań użyto także linie komórek B16-F10 oraz WM793B wykazujących stabilną ekspresję mRFP (stransdukowanych retrowirusowym wektorem pLNCX2). W celu określenia czy w transferze wirusa z komórek MSC do komórek nowotworowych biorą udział cząstki wprowadzonego wirusa czy wirusy potomne wykorzystano cytarabinę (arabinozyd cytozyny, Ara-C), znany inhibitor replikacji wirusowego DNA i ekspresji późnych genów wirusowych. Infekcję wirusową monitorowano za pomocą mikroskopii fluorescencyjnej, mierzenia titracji wirusa oraz cytometrii przepływowej; Dane pokazały, że komórki MSC oraz mysie jak i ludzkie komórki czerniaka są permissive dla wirusa myksomatozy. Ocenę żywotności badanych komórek zainfekowanych wirusem MYXV (MOI=10) testowano za pomocą testu Alamar Blue. Badania żywotności komórek MSC, czerniaka jak i komórek króliczych RK13 wykazało przeżycie komórek MSC na poziomie ok 98% natomiast komórki czerniaka jak i komórki RK13 były niszczone w wyniku infekcji wirusem MYXV. Co więcej, wykazano, że zakażone komórki MSC wirusem MYXV są w stanie przekazać infekcję komórkom nowotworowym zarówno mysiego jak i ludzkiego czerniaka w tzw. kokulturze in vitro. Wykazano, że ekspozycja komórek MSC na działanie wirusa vMyx GFP/TrFP a następnie Ara-C prowadzi do zahamowania późnej ekspresji genu dla białka TrFP (Tomato Red Fluorescence protein). Jednocześnie ekspresja GFP w komórkach czerniaka (zakażonych MYXV przekazanych przez komórki MSC) ulega zmniejszeniu ale nie całkowitej eliminacji w wyniku zastosowania Ara-C. Wyniki te świadczą, że zarówno wirusy potomne (hamowane przez Ara-C) jak i podany wirus (na który Ara-C nie ma wpływu) są w stanie infekować komórki czerniaka. Podsumowując można stwierdzić że produktywna infekcja i niszczenie docelowych komórek czerniaka jest wynikiem przekazania przez komórki MSC zarówno wirusów „wsadowych” oraz wirusów potomnych. Sugeruje to rzeczywistą przydatność komórek MSC („konia trojańskiego”) jako nośnika wirusa myksomatozy do badań in vivo (w toku) w terapii przerzutów czerniaka.

[Realizacja grantu CRP/POL16-02_EC]

2.1. Ocena zmian w przeżyciach na wybrane nowotwory złośliwe w relacji do trendów zachorowalności i umieralności przed i po wprowadzeniu NPZChN (2006-2015) na Śląsku z uwzględnieniem najważniejszych czynników prognostycznych.

2.1.1. Przeżycia chorych na raka prostaty w województwie śląskim w latach przed i po wprowadzeniu Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych (NPZChN) – badanie populacyjne

Kierownik: A. Tukiendorf

T. Banasik, Z. Kołosza, B. Zemła, E. Czajkowska, E. Garmulewicz, B. Włodarczyk-Marciniec, M. Motnyk, E. Chawińska

Badanie oparto o dane chorych na nowotwory złośliwe gruczołu krokowego (C61.9 wg ICD-O-3) w populacji śląskiej zdiagnozowanych w latach 2000-2014 (17 087 przypadków) z zamknięciem obserwacji 31 grudnia 2015 roku. Dodatkowo, dla celów porównawczych, wyniki badania odniesiono do przeżycia chorych zdiagnozowanych w latach 1990-1999 z części populacji byłego województwa katowickiego (2145 przypadków) będącej obecnie częścią populacji województwa śląskiego.

Przeżycia chorych badano w trzech pięcioletnich kalendarzowych okresach diagnozy 2000-2004, 2005-2009 i 2010-2014 z czego dwa ostatnie pokrywają się z czasem realizacji pierwszej edycji Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych (2006-2015) w populacji śląskiej.

Chorych klasyfikowano względem wieku w chwili diagnozy (40-54, 55-64, 65-74 i 75+), stadium zaawansowania nowotworu (miejscowe [T-dowolne, N-dowolne, M-0], uogólnione [T-dowolne, N-dowolne, M-1] i nieokreślone), obszaru administracyjnego zamieszkania chorych (8 podregionów woj. śląskiego), statusu potwierdzenia diagnozy wynikiem mikroskopowym (Tak/Nie) oraz faktu istnienia wcześniej rozpoznanych nowotworów mnogich za wyjątkiem innych nowotworów skóry (C44) i nowotworów insitu D00-D09 wg ICD rew.10 (Tak/Nie) (Tab. 1).

Zbiór danych włączony do analizy przeżycia oparto o kryteria protokołu EURO CARE-6 (z danych wyłączono przypadki DCO i rozpoznane w badaniu autopsyjnym. Nie wyłączano przypadków z zerowym czasem przeżycia).

Badany materiał starzał się nieznacznie wraz ze wzrostem roku diagnozy. W odniesieniu do lat 2000-2004 proporcja chorych w wieku 75 lat i więcej nieznacznie wzrosła w drugim i trzecim okresie diagnozy (Tab. 1). Znalazło to odbicie w nieznacznym wzroście mediany dokładnego wieku kalendarzowego o od 69,3 lat w okresie 2000-2004 do 69,7 lat (2005-2009) i 69,8 lat (2010-2014), jakkolwiek mediana wieku (wyrażonego w latach) nie uległa zmianie względem okresów diagnozy i wynosiła 69,0 lat. Połowę chorych zdiagnozowano w przedziale wieku od 65 do 76 lat, a 10% chorych w wieku 80 lat i więcej. Najstarszych chorych zdiagnozowano w wieku 97 lat (2 przypadki).

W badanym materiale jeden chory z czterech nie posiadał informacji o stadium zaawansowania choroby, ponad 60 % chorych zdiagnozowano w miejscowym stadium zaawansowania, a 13% w uogólnionym stadium zaawansowania choroby.

W badanym materiale wczesne pierwotne mnogie nowotwory złośliwe (tj. poprzedzające nowotwory złośliwe gruczołu krokowego) wystąpiły u 860 (5%) chorych. Proporcja chorych z wczesnymi pierwotnymi mnogimi nowotworami złośliwymi uległa podwojeniu w odstępnie dekady od 3% w latach 2000-2004 do 6% w 2010-2014 (Tabela nr. 1). U 97% chorych zdiagnozowano tylko jeden wczesny pierwotny nowotwór złośliwy, a 3% chorych dwa wczesne pierwotne nowotwory złośliwe. Jeden przypadek zdiagnozowano z trzema pierwotnymi nowotworami: n.zł. żołądka (diagnoza w 1996 r.), pęcherza moczowego (2002) i n.zł. tarczycy (2004). Wśród wczesnych nowotworów mnogich najczęściej występowały nowotwory złośliwe pęcherza moczowego (C67) 26%, jelita grubego (C18) 14% i nerki (C64) 12%. Nowotwory te stanowiły ponad połowę (53%) z ogółu wczesnych pierwotnych nowotworów mnogich w badanym materiale.

Połowę wczesnych nowotworów mnogich rozpoznano nie wcześniej niż 4 lata przed diagnozą nowotworu złośliwego gruczołu krokowego (mediana różnicy czasu diagnozy nowotworu złośliwego gruczołu krokowego i pierwszego pierwotnego nowotworu mnogiego wyniosła 4,1 lat). Ok. 80% chorych z wczesnymi nowotworami mnogimi było mieszkańcami byłego województwa katowickiego (tj. obszaru województwa śląskiego z wyłączeniem podregionów częstochowskiego i bielskiego). Najwcześniej, w 1985 roku, rozpoznano ziarnicę złośliwą (choroba Hodgkina, C81) u chorego zamieszkałego w podregionie sosnowieckim (byłe województwo katowickie). Ponad 20 letni okres ciągłej rejestracji nowotworów w populacji śląskiej jest prawdopodobnie wystarczająco długi by nie musiał być brany pod uwagę w wyjaśnieniu różnic w obserwowanych proporcjach.

W przyjętym do badania materiale 3756 chorych (22%) było mieszkańcami podregionu katowickiego, 2073 (12%) podregionu gliwickiego, 1342 (8%) podregionu bytomskiego, 2172(13%) podregionu rybnickiego, 2697 (16%) podregionu sosnowieckiego, 1461 (9%) podregionu tyskiego. 2265 (13%) podregionu bielskiego i 1321 (8%) podregionu częstochowskiego. Względem 5-letnich okresów diagnozy proporcja chorych wzrosła w podregionie katowickim, bytomskim, sosnowieckim (które graniczyły ze sobą) i rybnickim, a zmalała w podregionie gliwickim, bielskim i częstochowskim. W podregionie tyskim proporcja chorych wahała się w zakresie 1 punktu procentowego.

Dla prawie 15 tys. (87%) chorych diagnozę nowotworu złośliwego gruczołu krokowego potwierdzono wynikiem badania mikroskopowego. Proporcja chorych z pozytywnym wynikiem badania mikroskopowego wykazała trend rosnący względem roku diagnozy: 69% w latach 2000-2004, 89% w 2005-2009 i 96% w 2010-2014 odpowiednio.

Rak gruczolowy (adenocarcinoma) jest dominującym typem histopatologicznym (95%) dla nowotworów złośliwych gruczołu krokowego, zatem zmienna określająca typ histologiczny nie została włączona do badania przeżycia

Trendy zachorowalności i umieralności na nowotwory złośliwe gruczołu krokowego oraz roczny procent zmiany współczynnika standaryzowanego wg ludności świata (APC) oparto o model regresji prostych łamanych (*joinpoint regression*) przyjmując funkcje liniową do opisu zmian logarytmu współczynnika standaryzowanego względem roku kalendarzowego. W każdym roku kalendarzowym dla współczynnika zachorowalności i umieralności obliczono wariancje, przyjmując rozkład poissone'a do opisu liczby zachorowań i zgonów. Trendy zachorowalności w populacji woj. śląskiego badano w latach 1999-2015 według wieku i stadium zaawansowania, a trendy umieralności w latach 1990-2015 według wieku (Tab. 2). Statystyczną istotność APC określono na poziomie ($\alpha=0,05$). Domyślne ustawienia parametrów modelu regresji prostych łamanych zostały zmodyfikowane: ograniczono maksymalną liczbę punktów zmian trendu do trzech oraz nie dopuszczono do potencjalnej zmiany trendu w ostatnich 5 latach poprzedzających rok 2015.

W celu umożliwienia porównania przeżyć z wynikami projektów EUROCARE i CONCORD przeżycia oczekiwane względem badanych czynników szacowano metodą Ederer 2I, a względem roku diagnozy metodą Ederer 2 i Pohar Perme. Względne przeżycia standaryzowano metodą bezpośrednią względem wag Międzynarodowego Systemu Rozkładu Wieków Chorych na Nowotwory (ICSS) nr 1. Względne przeżycia do 10 lat od diagnozy szacowano metodą kohortową w latach 2000-2004, metoda kompletną w latach 2005-2009 i metodą okresową w latach 2010-2014. Dla wartości jednorocznych, pięcioletnich i dziesięcioletnich przeżyć podano 95% przedział ufności będący miarą statystycznej precyzji oszacowania przeżycia (tab.).

Łączny efekt zmiennych na względny wzrost ryzyka zgonu (RER-relative excess risk) badano w oparciu o modele regresji Poissone'a dla przeżyć względnych względem stadiów zaawansowania dla chorych z diagnozą potwierdzoną dodatnim wynikiem badania mikroskopowego (tab.)

Dla trzech pięcioletnich okresów diagnozy przedstawiono krzywe 10 letnich względnych przeżyć względem pozostałych zmiennych. Poddano ocenie 5-letnie warunkowe względne ryzyko (tj. prawdopodobieństwo przeżycia 5-lat od diagnozy pod warunkiem przeżycia pierwszego roku) względem wieku dla chorych w miejscowym i uogólnionym stadium zaawansowania.

Wpływ wieku na względne przeżycia był najsilniej zaznaczony u chorych w wieku 75 lat i więcej (Ryc. 3). Przeżycia chorych starszych ulegały obniżeniu nawet w miejscowym stadium zaawansowania (Ryc. 4). Można spekulować, że tym chorym pomimo miejscowego stadium zaawansowania choroby ze względu na ogólny (nieraz zaawansowany) stan zdrowia i choroby współistniejące nie można zaproponować optymalnej metody leczenia także ze względu na gorszą tolerancję efektów ubocznych leczenia. Starsi mężczyźni są częściej leczeni blokadą androgenową nawet przy braku ognisk przerzutowych. Najnowsze doniesienia (O'Farrel i wsp. 2015) dowodzą, że mężczyźni którzy przed terapią androgenową doświadczyli dwóch lub więcej chorób układu krążenia mają szczególnie wysokie ryzyko wystąpienia nowego epizodu tej choroby w wyniku zastosowanej terapii androgenowej.

Obserwacją budzącą spore kontrowersje związaną z wiekiem chorych jest silniejszy spadek przeżycia u mężczyzn młodszych poniżej 55 lat w stadium miejscowym, czego nie obserwowano u mężczyzn w wieku 55-74 lata. (Ryc. 4). Jedną z możliwych interpretacji jest unikanie przez mężczyzn młodszych zabiegu radykalnej prostatktomi w obawie przed efektami ubocznym, jednakże są doniesienia wskazujące na większy udział proporcji wykonywanych radykalnych prostatektomi u mężczyzn młodszych niż u mężczyzn starszych. Drugim z możliwych wyjaśnień jest hipoteza o większej agresywności biologicznej nowotworów złośliwych gruczołu krokowego rozpoznawanego w wieku młodszym w porównaniu do nowotworów diagnozowanych u chorych w wieku starszym starszych.

W zaawansowanym stadium choroby, chorzy starsi mają gorsze rokowanie niż chorzy najmłodszy. Jednakże, jeżeli chorym starszym (75+) uda się przeżyć pierwszy rok od diagnozy, wówczas różnica w 5 letnich przeżyciu warunkowym (tzn. przeżyciach 5-letnich pod warunkiem przeżycia pierwszego roku od diagnozy) między chorych starszymi i młodszymi zanika. (Ryc. 7).

Względne przeżycia w podregionach województwa śląskiego wykazują zróżnicowanie. Najlepsze rokowanie mają chorzy zamieszkali w podregionie gliwickim, a najgorsze w podregionach bielskim i częstochowskim. 10 letnie względne przeżycie względem okresów diagnozy w podregionie gliwickim wahało się w zakresie 83%-89%, w podregionie bielskim w zakresie 65%-71%, a w podregionie częstochowskim 55%-67% (Ryc. 5). Chorzy w stadium miejscowym i nieokreślonym zamieszkali w podregionie gliwickim doświadczają o połowę niższego wzrostu ryzyka zgonu niż w najludniejszym podregionie katowickim, a chorzy zamieszkali w podregionach bielskim i częstochowskim mają o ok. 70-80% większy wzrost ryzyka zgonu niż w podregionie katowickim (Tab. 5)

Nie uszedł uwadze autorów niniejszego sprawozdania fakt istnienia w Gliwicach Oddziału Centrum Onkologii – Instytutu, co może skłonić do postawienia pytania o zapewnienie równomiernego dostępu chorych na nowotwory złośliwe do wysoko kwalifikowanej opieki onkologicznej.

Chorzy dla których nowotwór złośliwy gruczołu krokowego jest pierwszym pierwotnym nowotworem złośliwym mają zdecydowanie lepsze rokowanie niż chorzy z wcześniej rozpoznanymi dwoma lub więcej nowotworami złośliwymi (Ryc. 6A). Największa różnica w przeżyciu jest widoczna w ostatnim okresie diagnozy 2010-2015: dla przeżyć 5-letnich 84% vs.77%, a dla 10-letnich 77% vs.49%. W stadium zaawansowania miejscowym i uogólnionym chorzy z wczesnymi nowotworami złośliwymi mają 4 krotnie większy przyrost ryzyka zgonu niż chorzy z pierwszym pierwotnym n.zł gruczołu krokowego (Tab. 5)

Zaobserwowano silny efekt diagnozy potwierdzonej badaniem mikroskopowym na względne przeżycie (Ryc. 6A). Np. prognoza chorych z dodatnim wynikiem badania mikroskopowego jest lepsza od chorych bez badania mikroskopowego, przy czym efekt ten jest najsilniej widoczny dla ostatniego okresu diagnozy dla przeżyć 5-letnich 85% vs 33%, a dla przeżyć 10 letnich 76% vs. 31% (Ryc. 6B). Wynik ten jest odbiciem wzrostu proporcji rozpoznań zweryfikowanych histopatologicznie, co wskazuje, że jedynie u chorych najgorzej rokujących, ze względu na stan zdrowia i choroby współistniejące odstępuje się od badania histopatologicznego opierając się na diagnozie klinicznej.

Podsumowanie

Zmiana trendu umieralności z rosnącego na stabilny (w 2001 r.) wystąpiła o rok wcześniej od zapoczątkowanej zmiany w 2002 r. silnie rosnącego trendu zachorowalności na trend umiarkowanie rosnący.

Względne 5-letnie przeżycie jest silnie skorelowane z zachorowalnością ($\rho=0,99$). Największe przeżycie wystąpiło w okresie od końca lat 90. do pierwszej połowy następnej dekady.

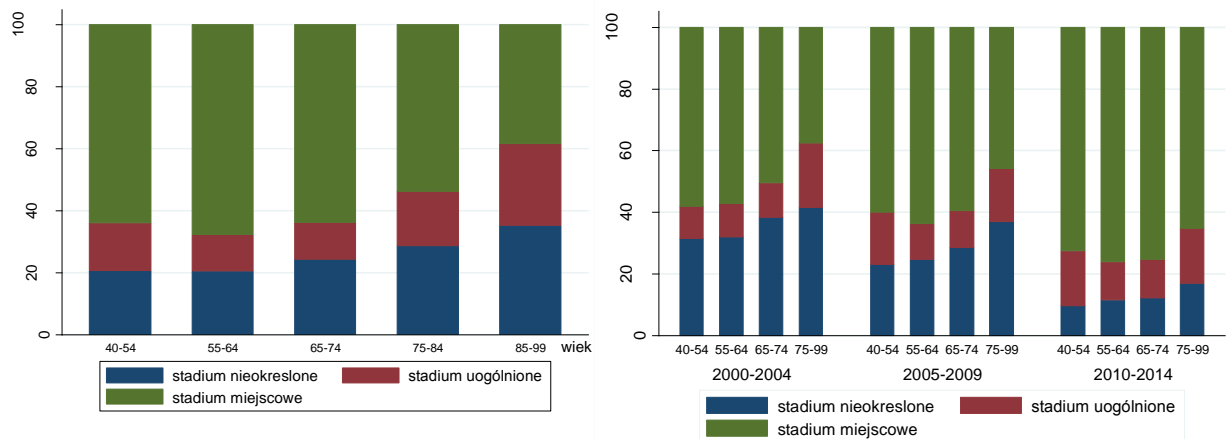
Przeżycie chorych w najmłodszej grupie wieku było niższe od przeżycia w pozostałych grupach wieku za wyjątkiem chorych w najstarszej grupie wieku (75+), jednakże dla chorych o najgorszym rokowaniu (w uogólnionym stadium zaawansowania).

Przedstawione wyniki stanowią podstawę przyszłej publikacji. Dodatkowo do publikacji włączone zostanie porównanie najczęściej używanych metod szacowania względnych przeżyć: Ederer I, Hakulinena, Ederer II i Pohar Perme ze szczególnym naciskiem na omówienie różnic dwóch ostatnich, które zostały użyte przez największe obecnie realizowane projekty badania przeżyć EURO CARE (metoda Ederer 2) i CONCORD (metoda Pohar Perme).

Tabela 1. Charakterystyka chorych na nowotwory złośliwe gruczołu krokowego na Śląsku w zależności od roku diagnozy.

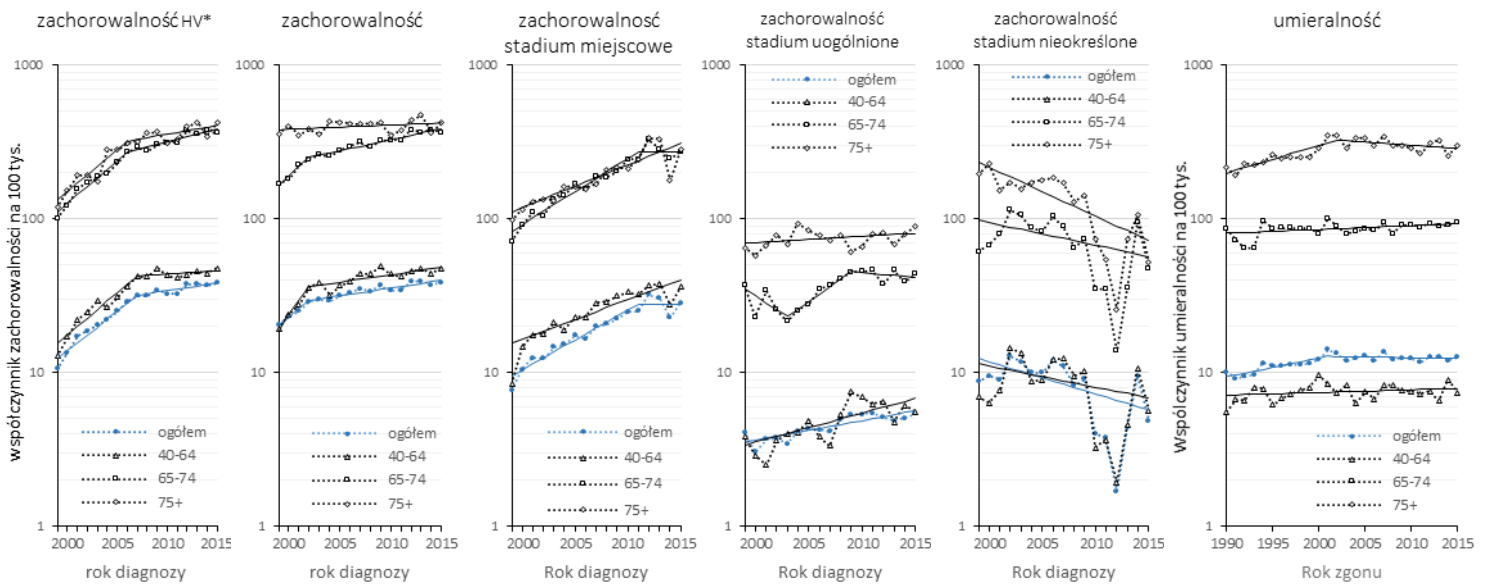
Województwo	Liczba chorych (%)											
	byłe katowickie				śląskie							
	1990-1994		1995-1999		2000-2004		2005-2009		2010-2014			
Wszyscy chorzy (wiek 40-99)	1 057	100,0%	1 705	100,0%	4 157	100,0%	5 879	100,0%	7 170	100,0%		
Wyłączono	DCO		328	31,0%	282	16,5%	94	2,3%	6	0,1%	2	
	Autopsja		2	0,2%	5	0,3%	12	0,2%	4		1	
Chorzy przyjęci do badania	727	100,0%	1418	100,0%	4 051	100,0%	5 869	100,0%	7167	100,0%		
Potw. histopatologiczne	410	56,4%	891	62,8%	2 813	69,4%	5 245	89,4%	6 873	95,9%		
Grupa wieku	<55		43	5,9%	81	5,7%	210	5,2%	278	4,8%	270	3,8%
	55-64		195	26,8%	354	25,0%	1 005	24,8%	1 461	24,9%	1 942	27,1%
	65-74		303	41,7%	633	44,6%	1 812	44,7%	2 534	43,2%	3 043	42,5%
	75+		185	25,6%	350	24,7%	1 024	25,3%	1 596	27,2%	1 912	26,7%
Stadium zaawansowania	miejscowe		256	35,2%	670	47,2%	1 999	49,4%	3 340	56,9%	5 216	72,8%
	uogólnione		210	28,9%	326	23,0%	544	13,4%	797	13,6%	1 011	14,1%
	nieokreślone		261	35,9%	422	29,8%	1 508	37,2%	1732	29,5%	940	13,1%
Podregiony woj. śląskiego	Katowicki		-	-	-	-	759	18,8%	1 373	23,4%	1 624	22,7%
	Gliwicki		-	-	-	-	539	13,3%	810	13,8%	724	10,1%
	Bytomski		-	-	-	-	300	7,4%	452	7,7%	590	8,2%
	Rybnicki		-	-	-	-	499	12,3%	704	12,0%	969	13,5%
	Sosnowiecki		-	-	-	-	561	13,8%	894	15,2%	1 242	17,3%
	Tyski		-	-	-	-	324	8,0%	541	9,2%	596	8,3%
	Bielski		-	-	-	-	682	16,8%	686	11,7%	897	12,5%
	Częstochowski		-	-	-	-	387	9,5%	409	7,0%	525	7,3%
inne pierwotne n.zł*	Tak		16	2,2%	41	2,9%	129	3,2%	293	5,0%	438	6,1%
	Nie		711	97,8%	1 377	97,1%	3 922	96,8%	5 576	95,0%	6 729	93,9%

Tabela 2. Rozkłady stadiów zaawansowania w zależności od wieku i roku diagnozy w latach 2000-2014.



Rycina 1. Trendy czasowe współczynników (standaryzowanych wg populacji świata) zachorowalności (1999-2015) i umieralności (1990-2015) wg wieku, województwo śląskie

*współczynnik zachorowalności dla diagnozy potwierdzonej dodatnim wynikiem badania mikroskopowego



*współczynnik zachorowalności dla diagnozy potwierdzonej dodatnim wynikiem badania mikroskopowego

Tabela 3. Trendy czasowe – roczny procent zmiany APC (%) standaryzowanych (wg ludności świata) współczynników zachorowalności (1999-2015), zachorowalności HV** i umieralności (1990-2015), województwo śląskie

Wiek	Zachorowalność		Zachorowalność Stadium miejscowe		Zachorowalność Stadium uogólnione		Zachorowalność Stadium nieokreślone		Zachorowalność HV**		Umieralność	
	Rok diagnozy	APC(%)	Rok diagnozy	APC(%)	Rok diagnozy	APC(%)	Rok diagnozy	APC(%)	Rok diagnozy	APC(%)	Rok zgonu	APC(%)
Ogółem (40-99)	1999-2002 2002-2015	13,2* 2,3*	1999-2011 2011-2015	9,4* -0,4	1999-2015	3,0*	1999-2015	-4,7*	1999-2007 2007-2015	12,6* 2,4*	1990-2001 2001-2015	2,8* -0,3
40-64	1999-2002 2002-2015	24,0* 2,2*	1999-2015	6,1*	1999-2015	4,5*	1999-2015	-3,1	1999-2007 2007-2015	13,3* 1,0	1990-2015	0,4
65-74	1999-2002 2002-2015	15,0* 3,4*	1999-2011 2011-2015	10,4* 0,1	1999-2003 2003-2009 2009-2015	-9,8 12,0* -1,6	1999-2015	-3,3	1999-2006 2006-2015	13,6* 3,9*	1990-2015	0,6*
75+	1999-2015	0,6	1999-2015	6,6*	1999-2015	0,9	1999-2015	-7,0*	1999-2006 2006-2015	13,4* 2,7	1990-2002 2002-2015	4,2* -1,0

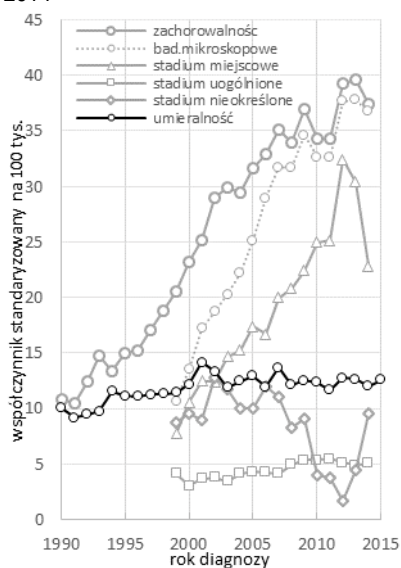
Trendy i APC szacowano w oparciu o model regresji prostych łamanych (*joinpoint regression*).

*Średnia wartość rocznej zmiany procentowej współczynnika standaryzowanego (APC dla danego okresu diagnozy) istotnie statystycznie różna od zera ($\alpha=0,05$).

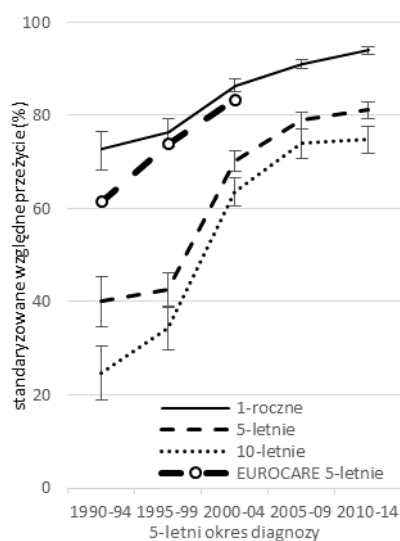
**Diagnoza potwierdzona dodatnim wynikiem badania mikroskopowego (HV)

Rycina 2. Trendy czasowe standaryzowanych współczynników zachorowalności, umieralności i względnego przeżycia

(A) Standaryzowane współczynniki zachorowalności i umieralności 1990-2014



(B) trendy czasowe standaryzowanego względnego przeżycia w latach 1990-2014.



(C) trendy czasowe współczynników zachorowalności i standaryzowanego względnego przeżycia, 2000-2014

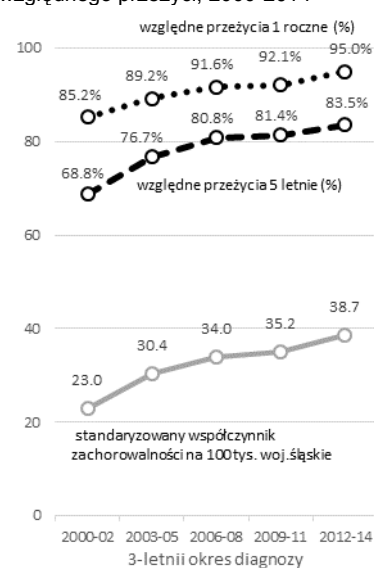


Tabela 4. Względny wzrost ryzyka zgonu w okresie pięciu lat po diagnozie wśród mężczyzn na Śląsku w trzech okresach kalendarzowych: 2000-2004, 2005-2009 i 2010-2014.

		Model 1		Model 2		Model 3		Model 4		Model 4	
Residual df		54		172		1357		2032		3101	
Deviance		488,37		582,20		1657,08		2884,34		4316,87	
(1/df)-Deviance		9,04		1,38		1,22		1,35		1,39	
Badany czynnik	Kategoria	RER	95% CI	RER	95% CI	RER	95% CI	RER	95% CI	RER	95% CI
Rok diagnozy	2000-2004	1		1		1		1		1	
	2005-2009	0,64	0,57-0,71	0,75	0,68-0,84	0,75	0,67-0,83	0,75	0,67-0,84	1,00	0,89-1,12
	2010-2013	0,58	0,52-0,66	0,74	0,67-0,83	0,73	0,65-0,82	0,72	0,65-0,81	1,00	0,88-1,12
Grupa wieku	<55	1,34	1,10-1,64	1,06	0,87-1,29	1,05	0,86-1,28	1,05	0,86-1,27	1,00	0,82-1,22
	55-64	1		1		1		1		1	
	65-74	1,12	0,98-1,27	1,12	1,00-1,25	1,12	1,00-1,25	1,11	0,99-1,24	1,07	0,96-1,20
	75+	2,45	2,16-2,79	1,67	1,48-1,88	1,66	1,47-1,87	1,64	1,45-1,84	1,45	1,29-1,64
Stadium	miejscowe			1		1		1		1	
	uogólnione			26,10	22,24-30,64	25,26	21,55-29,62	24,66	21,10-28,74	20,68	17,80-24,02
	nieokreślone			2,74	2,27-3,32	2,81	2,33-3,38	2,77	2,31-3,33	2,05	1,70-2,46
Podregiony	Katowicki					1		1		1	
	Gliwicki					0,77	0,64-0,92	0,77	0,65-0,92	0,71	0,59-0,85
	Bytomski					1,14	0,96-1,36	1,16	0,97-1,38	1,03	0,86-1,23
	Rybnicki					1,09	0,92-1,29	1,14	0,94-1,31	0,99	0,84-1,16
	Sosnowiecki					1,18	1,02-1,37	1,20	1,03-1,38	1,03	0,89-1,19
	Tyski					0,91	0,75-1,12	0,91	0,74-1,11	0,84	0,69-1,03
	Bielski					1,99	0,84-1,16	1,00	0,85-1,17	0,72	0,61-0,85
	Częstochowski					1,16	0,98-1,37	1,15	0,97-1,36	0,98	0,83-1,16
Inne pierwotne n.zł	Nie							1		1	
	Tak							1,59	1,33-1,91	1,72	1,44-2,06
Potw.mikroskopowe	Tak									1	
	Nie									2,68	2,41-2,99

Tabela 5. Względny wzrost ryzyka zgonu (RER) chorych na nowotwory złośliwe gruczołu krokowego na Śląsku z diagnozą w latach 2000-2014 potwierdzoną badaniem mikroskopowym w zależności od stadium zaawansowania nowotworu.

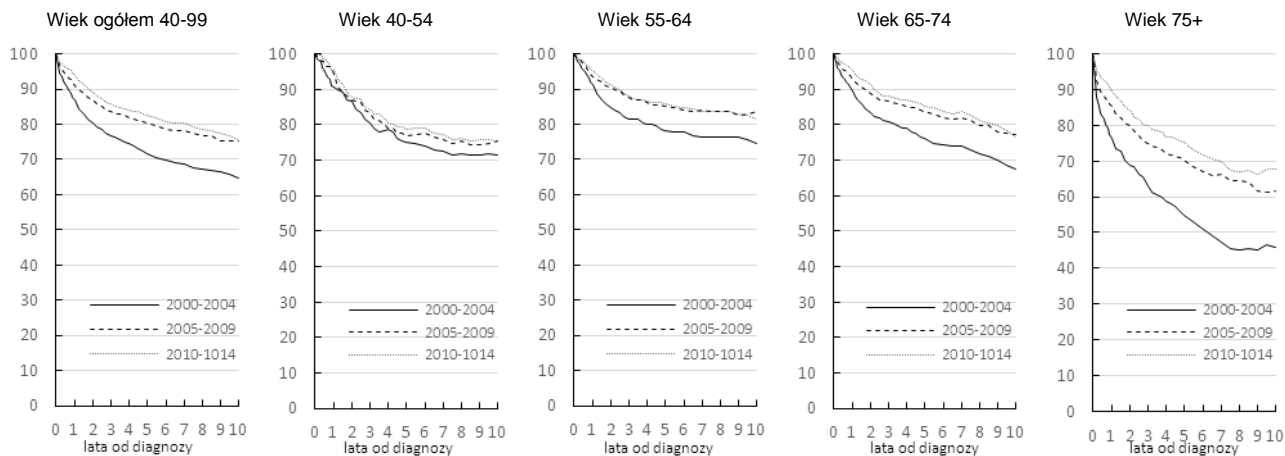
Stadium		miejsce		uogólnione		nieokreślone	
Residual df		845		634		634	
Deviance		872,76		644,68		644,68	
(1/df)Deviance		1,03		1,01		1,01	
Badany czynnik	Kategoria	RER	95% CI	RER	95% CI	RER	95% CI
Rok od diagnozy	1	1		1		1	
	2	1,49	0,93-2,38	1,29	1,12-1,49	0,72	0,52-1,00
	3	1,45	0,88-2,40	1,15	0,96-1,37	0,52	0,34-0,79
	4	1,04	0,58-1,87	0,84	0,65-1,08	0,34	0,19-0,64
	5	1,65	0,99-2,74	0,79	0,58-1,08	0,26	0,11-0,58
Rok diagnozy	2000-2004	1		1		1	
	2005-2009	0,60	0,43-0,85	0,92	0,77-1,10	0,46	0,33-0,62
	2010-2014	0,28	0,18-0,46	0,99	0,83-1,18	0,33	0,21-0,51
Grupa wieku	<55	1,81	1,12-2,94	1,01	0,78-1,30	1,81	1,06-3,08
	55-64	1		1		1	
	65-74	0,91	0,60-1,38	1,01	0,86-1,17	0,98	0,69-1,40
	75+	2,15	1,39-3,33	1,17	0,99-1,38	1,31	0,88-1,95
Podregiony	Katowicki	1		1		1	
	Gliwicki	0,44	0,17-1,14	1,00	0,79-1,27	0,56	0,30-1,05
	Bytomski	1,24	0,68-2,27	1,05	0,82-1,35	0,09	0,56-2,13
	Rybnicki	1,03	0,59-1,81	1,13	0,90-1,43	1,67	0,97-2,87
	Sosnowiecki	1,31	0,78-2,19	1,16	0,94-1,44	1,17	0,74-1,84
	Tyski	0,72	0,31-1,63	1,13	0,84-1,51	0,72	0,41-1,27
	Bielski	1,75	1,05-2,92	1,05	0,83-1,34	1,80	1,21-2,69
	Częstochowski	1,77	1,02-3,07	1,06	0,84-1,36	1,69	1,00-2,86
Inne pierwotne n.zł	Nie	1		1		1	
	Tak	4,18	2,91-6,00	0,97	0,72-1,30	3,98	2,74-5,80

Tabela 6. Względne przeżycia (%) (dla metody Ederer 2) i 95% przedziały ufności względem roku diagnozy.

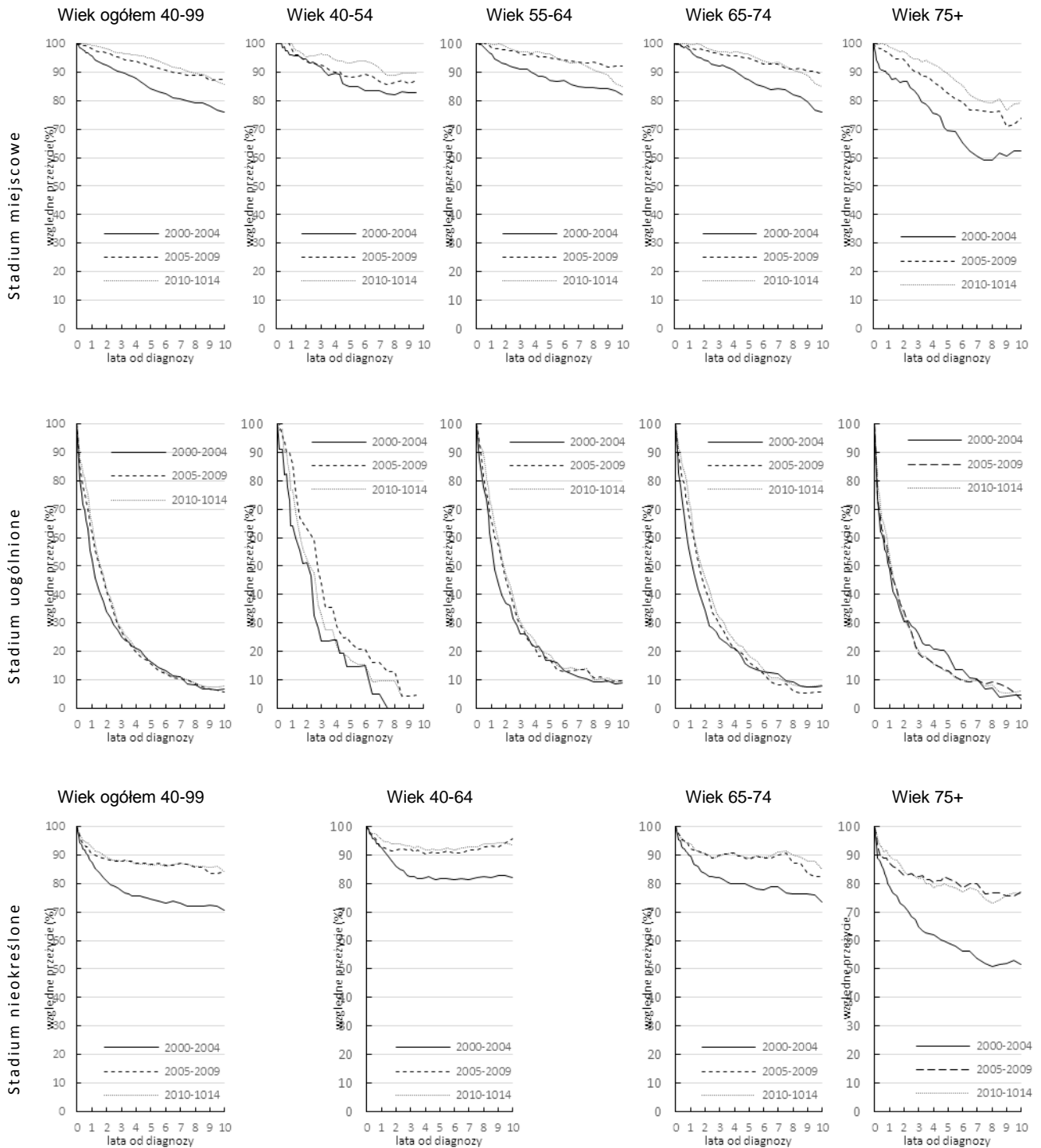
Rok diagnozy	2000-2004			2005-2009			2010-2014		
	1-roczone kohortowe	5-letnie kohortowe	10-letnie kohortowe	1-roczone kohortowe	5-letnie kohortowe	10-letnie kompletne	1-roczone kohortowe	5-letnie okresowe	10-letnie okresowe
Chorzy ogółem (Ederer 2)	87,0 (85,7-88,2)	71,8 (69,8-73,8)	65,0 (62,4-67,6)	91,2 (90,3-92,1)	80,4 (78,8-82,0)	75,5 (72,8-78,2)	94,1 (93,3-94,8)	82,5 (81,0-84,0)	75,6 (73,3-77,9)
Chorzy ogółem (Pohar Perme)	86,8 (85,5-88,0)	71,2 (69,1-73,2)	64,4 (61,3-67,3)	91,0 (90,1-91,9)	79,9 (78,2-81,6)	74,3 (70,7-77,6)	93,9 (93,2-94,6)	82,3 (80,7-83,8)	75,3 (72,3-77,9)
Standaryzowane wg wieku ICSS* (Ederer 2)	86,4 (85,0-87,7)	70,3 (68,0-72,4)	63,6 (60,6-66,5)	91,1 (90,1-92,1)	78,9 (77,0-80,6)	74,1 (70,8-77,0)	93,9 (93,0-94,7)	81,2 (79,4-82,8)	74,8 (71,8-77,5)
Wiek 40-54	90,5 (85,4-94,0)	75,2 (68,1-81,3)	71,4 (63,2-78,7)	94,2 (90,5-96,6)	77,0 (71,0-82,2)	75,3 (67,8-81,9)	95,7 (92,3-97,8)	78,8 (73,0-83,8)	75,6 (68,5-81,8)
	55-64	91,3 (89,1-93,1)	78,2 (74,8-81,4)	74,7 (70,4-78,8)	93,6 (92,0-95,0)	85,1 (82,5-87,5)	83,6 (79,6-87,3)	96,0 (94,8-97,0)	81,4 (83,4-87,9)
	65-74	89,7 (87,9-91,3)	76,2 (73,3-79,1)	67,4 (63,4-71,4)	92,8 (91,5-94,0)	83,7 (81,4-86,0)	77,4 (73,3-81,5)	95,4 (94,3-96,3)	76,5 (83,0-87,4)
	75+	76,7 (73,4-79,7)	54,8 (50,0-59,7)	46,1 (39,3-53,4)	85,5 (83,2-87,6)	70,3 (66,3-74,3)	62,4 (54,4-70,8)	89,5 (87,6-91,3)	67,3 (71,2-78,8)
Zaawansowanie Miejsce	95,8 (94,4-97,0)	84,3 (81,6-86,9)	76,1 (72,4-79,8)	98,3 (97,4-99,1)	92,3 (90,4-94,2)	87,6 (83,9-91,1)	99,7 (99,1-100,2)	94,8 (93,1-96,4)	85,5 (82,4-88,6)

Uogólnione	52,7 (48,1-57,0)	16,3 (12,8-20,3)	6,8 (4,3-10,3)	61,8 (58,1-65,3)	15,8 (13,0-18,9)	5,7 (3,3-9,2)	65,6 (62,4-68,6)	16,6 (13,9-19,5)	7,6 (5,2-10,6)
Nieokreślone	87,5 (85,4-89,4)	74,8 (71,4-78,0)	70,8 (66,3-75,3)	90,8 (89,0-92,4)	86,9 (83,9-89,8)	84,5 (79,3-89,7)	93,3 (91,0-95,2)	86,3 (82,5-89,8)	84,3 (79,3-89,1)
Podregion Katowicki	89,8 (86,9-92,3)	74,7 (69,9-79,2)	64,8 (58,6-71,0)	93,8 (92,0-95,4)	85,1 (81,7-88,3)	78,2 (72,4-84,0)	96,4 (94,9-97,7)	86,4 (83,2-89,4)	73,7 (68,4-78,9)
Gliwicki	92,3 (89,1-94,8)	86,0 (80,9-90,7)	82,7 (75,7-89,4)	94,8 (92,5-96,7)	89,7 (85,6-93,6)	88,9 (81,5-96,0)	93,6 (91,1-95,7)	85,2 (80,8-89,2)	82,7 (76,6-88,7)
Bytomski	87,7 (82,8-91,6)	68,8 (61,4-75,7)	65,4 (56,1-74,7)	90,2 (86,5-93,2)	75,6 (69,7-81,1)	71,5 (62,4-80,2)	92,4 (89,4-94,8)	79,0 (73,6-84,0)	77,2 (69,1-85,1)
Rybnicki	88,0 (84,3-91,0)	67,0 (61,3-72,4)	60,4 (53,4-67,4)	92,6 (90,2-95,1)	82,1 (77,6-86,3)	72,7 (64,7-80,5)	96,6 (94,8-98,2)	87,4 (83,4-91,2)	78,7 (71,8-85,4)
Sosnowiecki	77,5 (73,4-81,1)	60,1 (54,7-65,5)	51,1 (44,4-57,9)	86,8 (84,0-89,2)	73,0 (68,8-77,0)	66,9 (60,2-73,5)	94,3 (92,5-95,9)	80,0 (76,3-83,6)	70,0 (63,6-76,2)
Tyski	89,2 (84,6-92,8)	71,4 (64,2-78,2)	64,3 (55,1-73,4)	95,5 (92,6-97,7)	86,9 (81,5-91,8)	91,9 (83,0-100,5)	94,8 (92,1-97,0)	88,0 (83,0-92,5)	86,0 (77,5-94,1)
Bielski	86,9 (83,7-89,8)	76,9 (71,9-81,6)	70,9 (64,4-77,5)	88,2 (85,1-90,9)	72,6 (67,6-77,3)	65,6 (58,2-73,1)	91,0 (88,5-93,2)	73,7 (68,9-78,2)	67,1 (61,0-73,1)
Częstochowski	84,3 (79,6-88,2)	62,7 (56,0-69,2)	55,8 (47,5-64,2)	82,2 (77,6-86,1)	69,0 (62,6-75,1)	65,4 (55,4-75,3)	88,0 (84,4-91,5)	72,5 (66,5-78,2)	66,8 (58,4-75,1)
Inne pierwotne n.zł** Tak	86,3 (78,1-92,3)	58,7 (47,2-69,7)	44,6 (31,7-58,7)	86,0 (80,9-90,2)	64,8 (57,2-72,1)	47,1 (35,4-59,6)	90,1 (86,3-93,2)	65,0 (58,2-71,4)	48,8 (38,7-59,5)
Nie	87,0 (85,7-88,2)	72,2 (70,2-74,2)	65,7 (63,0-68,3)	91,5 (90,5-92,3)	81,2 (79,6-82,8)	77,0 (74,3-79,8)	94,3 (93,5-95,0)	83,6 (82,1-85,1)	77,0 (74,6-79,4)
HV Tak	93,4 (92,1-94,5)	77,1 (74,8-79,4)	68,0 (64,8-71,1)	94,9 (94,0-95,7)	83,9 (82,3-85,5)	79,3 (76,4-82,1)	96,0 (95,3-96,6)	84,9 (83,4-86,4)	76,3 (73,8-78,9)
Nie	72,3 (69,5-75,0)	59,6 (55,9-63,3)	58,5 (53,8-63,3)	59,5 (55,3-63,6)	50,1 (44,9-55,3)	43,7 (37,1-50,7)	48,0 (41,8-54,0)	29,7 (24,1-35,6)	28,1 (22,6-34,1)

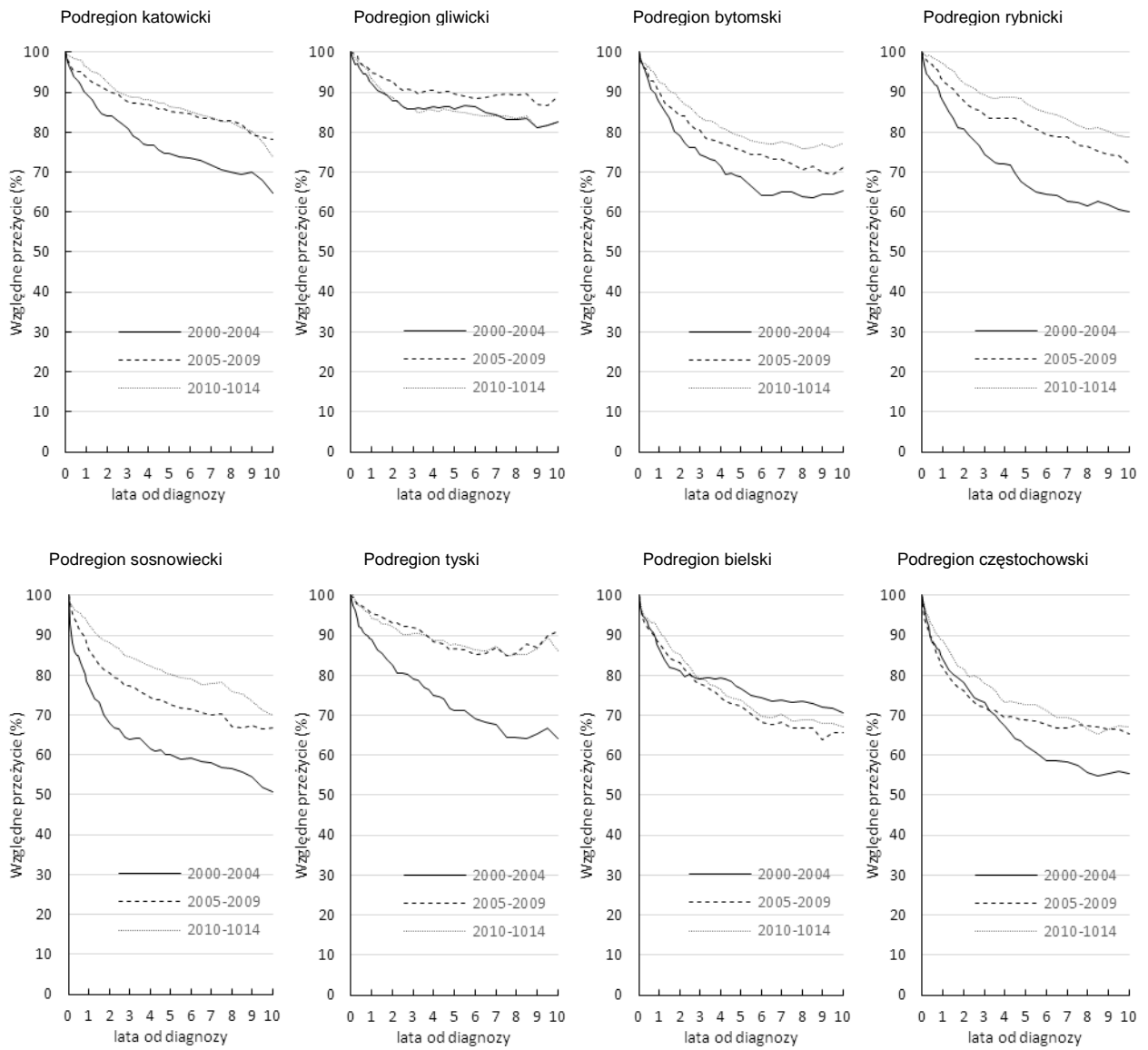
Rycina 3. Krzywe 10-letnich względnych przeżyć (%) względem wieku, województwo śląskie



Rycina 4. Krzywe 10-letnich względnych przeżyć (%) względem wieku i stadium zaawansowania nowotworu



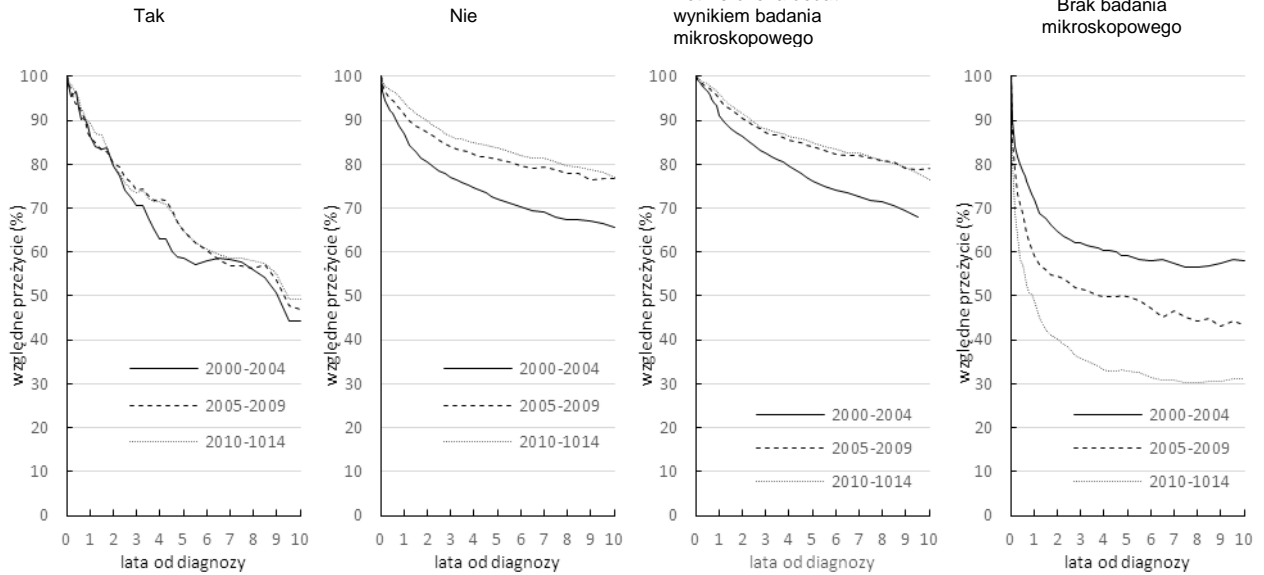
Rycina 5. Krzywe 10-letnich względných przeżyć (%) względem podregionów województwa śląskiego



Rycina 6. Krzywe 10-letnich względnych przeżyć (%) metodą Ederer 2 w województwie śląskim wg występowania (A) innych pierwotnych mnogich nowotworów złośliwych i (B) podstawy rozpoznania n.zł gruczołu krokowego

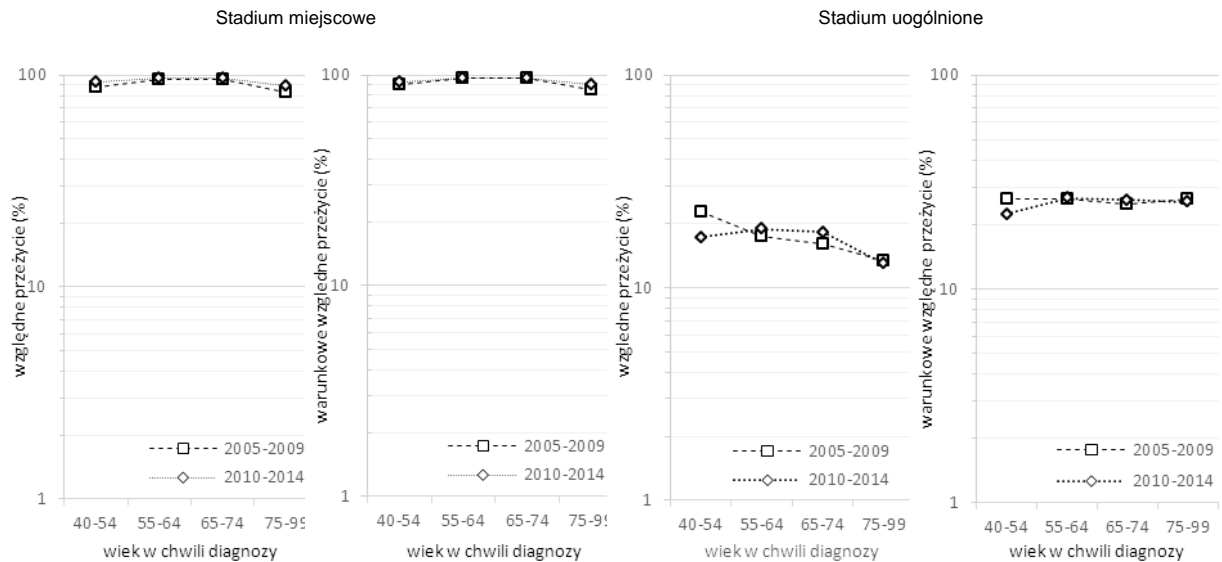
(A) Inne pierwotne n.zł * poprzedzające rozpoznanie n.zł gruczołu krokowego

(B) Podstawa rozpoznania nowotworów złośliwych gruczołu krokowego



*z zakresu C00-C97 wg M.KI.Cj.Z rev.X za wyjątkiem innych nowotworów skóry (C44) i nowotworów złośliwych insitu (D00-D09)

Rycina 7 Względne warunkowe 5 letnie przeżycia chorych w uogólnionym wg stadium zaawansowania w latach 2005-2014, województwo śląskie



2.1.2. Przeżycia chorych na raka piersi wśród kobiet w województwie śląskim w latach przed i po wprowadzeniu Narodowego Programu Zwalczenia Chorób Nowotworowych (NPZChN) – badanie populacyjne

Kierownik: A. Tukiendorf

Z. Kołosza, T. Banasik, B. Zemła, E. Czajkowska, E. Garmulewicz, B. Włodarczyk-Marciniak, M. Motnyk, E. Chawińska

Wg europejskiego projektu badania przeżyć EUROCARE, 5-letnie przeżycia ogólnopolskie należały do najniższych w Europie i różniły się od średniej europejskiej statystycznie istotnie. W 2006 roku wprowadzono w Polsce NPZChN (2006-2015), którego realizacja powinna przyczynić się do poprawy istotnych wskaźników epidemiologicznych, a w szczególności do poprawy wskaźników przeżyć na nowotwory złośliwe.

Poddano ocenie przeżycia chorych kobiet na nowotwory złośliwe piersi (26 771 przypadków) dla lat diagnozy 2000-2014, ze szczególnym uwzględnieniem okresów diagnozy sprzed i po wprowadzeniu NPZChN (2006-2015) w populacji śląskiej. Do badania włączono wiek chorych, stadium zaawansowania i typ histologiczny nowotworu, które są silnymi czynnikami rokowniczymi. Przeżycia względne oszacowano metodą Ederer-2. Łączny efekt zmiennych na względny wzrost ryzyka zgonu (RER – relative excess risk) badano w oparciu o model regresji Poissona dla przeżyć względnych.

Przedstawiona w tab. I charakterystyka kobiet chorych na nowotwory złośliwe piersi w trzech badanych okresach wskazuje na zmiany w rozkładzie analizowanych czynników rokowniczych.

Zwraca uwagę zróżnicowanie rozkładu stopni zaawansowania choroby w badanych okresach, a szczególnie wzrost częstości regionalnego stadium zaawansowania z 27% w latach 2000-2004 do 36% w latach 2010-2014 przy mniejszym wzroście częstości stadium miejscowego odpowiednio z 43% do 48%.

Tabela I. Charakterystyka kobiet chorych na nowotwory złośliwe piersi w województwie śląskim, w zależności od okresu diagnozy 2000-2014.

Rok diagnozy	Liczba chorych %					
	2000-2004		2005-2009		2010-2014	
Wszystkie chore	7845	100%	9071	100%	9855	100%
Grupa wieku						
<40	364	4,6%	407	4,5%	516	5,2%
40-49	1605	20,5%	1396	15,4%	1222	12,4%
50-59	2260	28,8%	2881	31,8%	2777	28,2%
60-69	1892	24,1%	2406	26,5%	3107	31,5%
70+	1724	22,0%	1981	21,8%	2233	22,7%
Stopień zaawansowania						
miejscowe	3359	42,8%	3897	43,0%	4762	48,3%
regionalne	2140	27,3%	3305	36,4%	3578	36,3%
uogólnione	1487	19,0%	1178	13,0%	1008	10,2%
nieokreślone	859	10,9%	691	7,6%	507	5,1%
Zaawansowanie wg TNM						
T1N0M0	1005	12,8%	1546	17,0%	2215	22,5%
T2-3N0M0	773	9,9%	1312	14,5%	1722	17,5%
T1-3N+M0	1556	19,8%	2081	22,9%	2324	23,6%
T4N0+M0	584	7,4%	1224	13,5%	1254	12,7%
M1	1487	19,0%	1178	13,0%	1008	10,2%
nieokreślone	2440	31,1%	1730	19,1%	1332	13,5%
Rozpoznanie histopatologiczne						
Rak przewodowy	4257	54,3%	5258	58,0%	5973	60,6%
Rak zrazikowy	682	8,7%	879	9,7%	1197	12,1%
Rak	1738	22,2%	1915	21,1%	1802	18,3%
Inne	482	6,1%	556	6,1%	643	6,5%
Nieokreślone	686	8,7%	463	5,1%	240	2,4%

Rozkład wg grup wieku też wykazuje istotne zróżnicowanie; zmniejszył się udział chorych w wieku poniżej 50 roku życia w badanych okresach (z 25,1% do 17,6%), a zwiększył w grupie wieku 60-69 lat (z 24,1% do 31,5%).

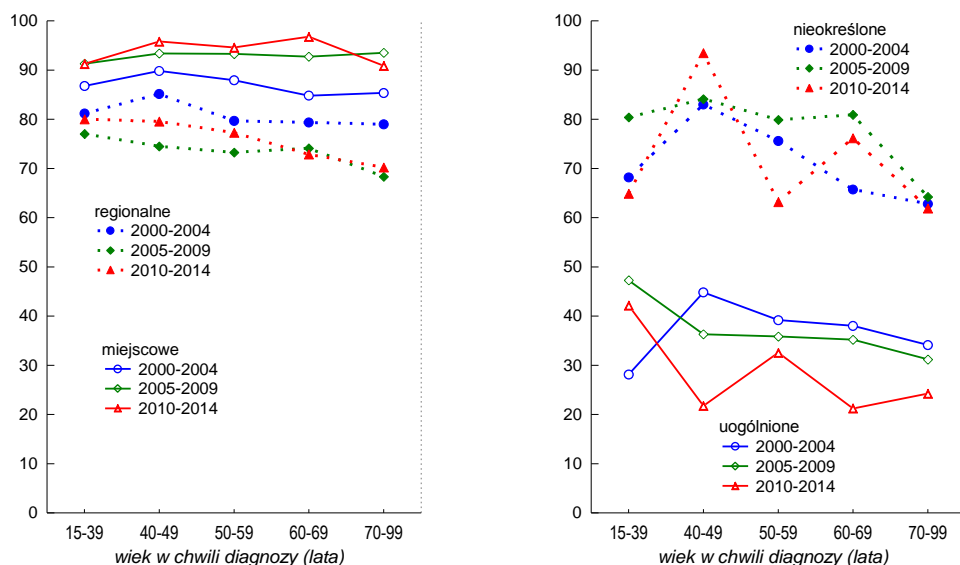
Wyniki względnych przeżyć pięcioletnich kobiet chorych na nowotwory złośliwe piersi w województwie śląskim uwzględniające wybrane czynniki rokownicze przedstawiono w tab.II. Zwracają uwagę wysokie wartości przeżyć wg rozpoznania histopatologicznego dla kategorii "Inne". Aż 77% tej kategorii stanowią raki dobrze rokujące (tj. brodawkowate, rdzeniaste, śluzowe, cewkowe i czopiaste).

Przeżycia kobiet chorych na nowotwory złośliwe piersi diagnozowane w miejscowym stopniu zaawansowania choroby wzrosły w badanych okresach, a w stopniu regionalnym i uogólnionym zmalały (Ryc.1). Zasadniczo przeżycia obniżały się wraz z wiekiem. Jedynie dla chorych diagnozowanych w latach 2000-2004 i w 2010-2014 w wieku poniżej 40 lat pięcioletnie względne przeżycia były nieco niższe niż w grupie chorych w wieku 40-49 lat.

Pięcioletnie względne przeżycia wzrosły z 74% w latach 2000-2004 do 79% w latach 2010-2014. Roczne przeżycie wzrosło z 93,0% dla okresu 2000-2004 do 94,7% w latach 2010-2014, a trzyletnie z 80,7% do 85,3%, odpowiednio.

Tabela II. Względne przeżycia pięcioletnie kobiet chorych na nowotwory złośliwe piersi w województwie śląskim według grup wieku, stopnia zaawansowania i rozpoznania histopatologicznego w trzech okresach kalendarzowych: 2000-2004, 2005-2009, 2010-2014.

Rok diagnozy	Pięcioletnie względne przeżycia (%) i 95% przedziały ufności					
	2000-2004		2005-2009		2010-2014	
Wszystkie chore	74,4	73,2-75,5	77,0	75,9-78,0	79,1	77,8-80,4
Grupa wieku						
<40	75,4	70,6-79,5	81,2	77,0-84,7	80,7	75,6-84,9
40-49	81,8	79,7-83,7	79,3	77,0-81,4	82,9	79,7-85,7
50-59	76,5	74,5-78,3	78,7	77,1-80,3	81,1	79,0-83,1
60-69	72,2	69,8-74,4	78,0	76,0-79,8	81,1	78,8-83,2
70+	66,0	62,8-69,1	70,0	67,1-72,9	70,8	67,1-74,3
Stopień zaawansowania						
miejscowe	87,2	85,7-88,6	93,1	91,9-94,2	94,7	93,2-96,0
regionalne	81,0	9,0-82,9	73,0	71,2-74,7	75,1	72,9-77,2
uogólnione	37,8	35,1-40,5	34,7	31,7-37,6	26,1	22,1-30,3
nieokreślone	69,7	65,9-73,2	75,9	71,8-79,8	68,9	61,6-75,5
Zaawansowanie wg TNM						
T1N0M0	100	91,8-101	99,3	97,8-100	98,5	96,6-100
T2-3N0M0	94,6	91,8-97,0	90,5	88,1-92,5	91,3	88,5-93,7
T1-3N+M0	86,7	84,5-88,6	82,5	80,5-84,4	85,3	82,8-87,6
T4N0+M0	65,8	61,3-70,0	56,4	53,2-59,4	56,8	52,8-60,7
M1	37,8	35,1-40,5	34,7	31,7-37,6	26,1	22,1-30,3
nieokreślone	73,1	71,0-75,2	82,7	80,3-84,9	82,5	78,5-86,0
Rozpoznanie histopatologiczne						
Rak przewodowy	81,6	80,2-83,0	81,9	80,6-83,1	82,6	81,1-84,0
Rak zrazikowy	86,2	82,8-89,2	86,8	83,8-89,5	81,7	77,8-85,1
Rak	56,3	53,6-58,9	60,1	57,6-62,6	65,2	61,0-69,2
Inne	89,6	85,7-92,9	88,1	84,2-91,5	88,7	83,8-92,8
Nieokreślone	50,8	46,4-55,2	57,2	51,8-62,4	36,6	28,4-45,2



Rycina 1. Pięć lat względnych przeżyć kobiet chorych na nowotwory złośliwe piersi w grupach wieku w trzech okresach kalendarzowych w zależności od stopnia zaawansowania nowotworu.

Na ryc.1 przedstawiono zmiany pięcioletnich przeżyć względnych w badanych okresach kalendarzowych w poszczególnych grupach wieku dla różnych stopni zaawansowania nowotworu. Tylko dla chorych w miejscowym stopniu zaawansowania zaobserwowano istotnie statystyczny wzrost przeżyć w badanych 5-letnich okresach.

Analiza wielowymiarowa wykazała, że względny wzrost ryzyka zgonu (RER) w kolejnych okresach kalendarzowych w modelu uwzględniającym wiek chorych (model 1), był istotnie statystycznie niższy niż w latach 2000-2004 i wynosił 0,89 dla okresu 2005-2009 i 0,77 dla 2010-2014 (tab. III). Ryzyko zgonu było istotnie statystycznie większe (o 76%) dla kobiet w wieku 70 i powyżej w porównaniu do kobiet poniżej 40 roku życia.

Tabela III. Względny wzrost ryzyka zgonu w okresie pięciu lat po diagnozie nowotworów złośliwych piersi wśród kobiet w województwie śląskim w trzech okresach kalendarzowych: 2000-2004, 2005-2009, 2010-2014.

Badany czynnik	Kategoria	Model 1		Model 2		Model 3	
		RER	95% CI	RER	95% CI	RER	95% CI
Rok diagnozy	2000-2004	1		1		1	
	2005-2009	0,89	0,83-0,95	1,12	1,04-1,20	1,14	1,06-1,22
	2010-2014	0,77	0,71-0,83	1,13	1,05-1,23	1,22	1,13-1,31
Wiek w chwili diagnozy	<40	1		1		1	
	40-49	0,89	0,76-1,03	0,92	0,79-1,07	0,89	0,77-1,04
	50-59	1,05	0,91-1,21	1,07	0,92-1,23	1,03	0,89-1,18
	60-69	1,12	0,97-1,29	1,09	0,94-1,25	1,03	0,89-1,18
	70+	1,76	1,52-2,04	1,40	1,21-1,62	1,17	1,02-1,36
Stadium zaawansowania nowotworu	miejscowe			1		1	
	regionalne			3,21	2,90-3,55	3,05	2,76-3,37
	uogólnione			14,19	12,83-15,69	11,35	10,26-12,55
	nieokreślone			4,12	3,60-4,71	2,62	2,28-3,02
Rozpoznanie histopatologiczne	Rak przewodowy					1	
	Rak zrazikowy					0,85	0,75-0,97
	Rak					1,90	1,77-2,03
	Inne					0,79	0,66-0,94
	Nieokreślone					2,77	2,48-3,08

RER - Względny wzrost ryzyka
95% CI - 95% przedział ufności

W modelu 2 po uwzględnieniu dodatkowo stadium zaawansowania nowotworu przeżycia względne w okresie 2005-2014 były istotnie statystycznie niższe w porównaniu do przeżyć w latach 2000-2004, co wyrażało się 12-13% wyższym względnym ryzykiem zgonu (RER). Stan zaawansowania choroby to silny i istotnie związany z prognozą czynnik. Kobiety w bardziej zaawansowanych stadiach choroby miały istotnie statystycznie większy RER w porównaniu do kobiet diagnozowanych w stadium miejscowym.

Uwzględnienie rozpoznania histopatologicznego (model 3) prawie nie zmieniło ryzyka zgonu dla oceny przeżyć względem czasu kalendarzowego. Chore diagnozowane w latach 2010-2014 miały 22% większe ryzyko zgonu niż chore diagnozowane w latach 2000-2004. Po uwzględnieniu rozpoznania histopatologicznego, wartości RER zmalały w większości grup wieku jak i w odniesieniu do stadium zaawansowania. Kobiety z rozpoznaniem rakiem zrazikowym charakteryzowały się istotnie statystycznie niższym względnym wzrostem ryzyka zgonu (RER) niż kobiety z rakiem przewodowym, a kobiety z rozpoznaniem rak lub bez określenia nowotworu miały istotnie statystycznie wyższe ryzyko zgonu.

Tabela IV. Względny wzrost ryzyka zgonu w okresie pięciu lat po diagnozie nowotworów złośliwych piersi wśród kobiet w województwie śląskim w trzech okresach kalendarzowych: 2000-2004, 2005-2009, 2010-2014 według stopnia zaawansowania.

Badany czynnik	Kategoria	miejscowe		regionalne		uogólnione	
		RER	p	RER	p	RER	p
Rok diagnozy	2000-2004	1		1		1	
	2005-2009	0,51	0,0001	1,51	0,0001	1,24	0,0001
	2010-2014	0,38	0,0001	1,42	0,0001	1,58	0,0001
Wiek w chwili diagnozy	<40	1		1		1	
	40-49	0,65	0,013	1,01	0,909	0,97	0,802
	50-59	0,71	0,034	0,15	0,234	1,10	0,438
	60-69	0,81	0,196	1,17	0,188	1,08	0,509
	70+	0,83	0,336	1,32	0,028	1,10	0,444
Rozpoznanie histopatologiczne	Rak przewodowy	1		1		1	
	Rak zrazikowy	0,54	0,005	0,83	0,057	0,96	0,722
	Rak	3,08	0,0001	1,79	0,0001	1,76	0,0001
	Inne	0,42	0,003	0,76	0,082	0,95	0,730
	Nieokreślone	1,73	0,048	3,00	0,0001	3,10	0,0001

Przedstawiona ocena trendów przeżycia dla nowotworów złośliwych piersi w latach 2000-2014 wykazała, że po uwzględnieniu czynników prognostycznych (wiek, stadium zaawansowania i typ histologiczny nowotworu) zaobserwowano wzrost ryzyka zgonu względem okresu diagnozy.

Dla nowotworów rozpoznawanych w stadium miejscowym zaawansowania wykazano istotną poprawę przeżyć, natomiast dla n.zł. w stadium regionalnym jak i uogólnionym wykazano istotny wzrost ryzyka zgonu.

3.1. Genomiczne i proteomiczne profilowanie nowotworów tarczycy za pomocą badań wielkoskalowych dla oceny różnic między podtypami histologicznymi oraz ich kliniczną agresywnością.

3.1.1. Opracowanie polskiego klasyfikatora molekularnego raka tarczycy (Zadanie realizowane w ramach projektu NCBiR Strategmed DZP/STRATEGMED2/2554/2014).

Kierownik: B. Jarzqb

J. Krajewska, M. Oczko-Wojciechowska, M. Halczyk, M. Cieřlicka, D. Rusinek, T. Tyszkiewicz, J. Żebracka-Gala, A. Pfeifer, A. Kotecka-Blicharz, A. Kukulska, D. Handkiewicz-Junak, Z. Wygoda, A. Król, M. Kalemba, T. Gawlik, T. Olczyk, E. Paliczka-Cieřlik, A. Kropińska, A. Ledwon, S. Szpak-Ulczyk, B. Michalik, E. Gubała, D. Lange, E. Chmielik, E. Zembala-Nożyńska, A. Stanek-Widera, A. Pawlaczek, R. Cyplińska, A. Czarniecka, A. Sacher

Zadanie to jest częścią większego zadania zawartego w projekcie MILESTONE („Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego”, (nr umowy o wykonanie i finansowanie projektu: STRATEGMED2/267398/4/NCBR/2015) finansowanego ze środków Narodowego Centrum Badań i Rozwoju w ramach programu „Profilaktyka i leczenie chorób cywilizacyjnych” STRATEGMED). Wole guzkowe jest częstą chorobą, rozpoznawaną przeważnie ultrasonograficznie. Szacuje się, że w Polsce, gdzie dotyczy ona około 1 miliona osób wykonuje się rocznie około 20 000 operacji tarczycy i rozpoznaje się około 2500 nowych przypadków raka tarczycy (2% wszystkich zachorowań na nowotwory złośliwe). W zdecydowanej większości guzki tarczycy mają charakter łagodny, ryzyko raka waha się w granicach 1-11%, średnio 5%. Podstawową metodę diagnostyczną stanowi biopsja aspiracyjna cienkoigłowa (BAC) pod kontrolą USG, która, jako badanie cytologiczne, pozwala postawić właściwe rozpoznanie w 62-85% przypadków. Szacuje się, że nawet w około 20-30% przypadków biopsja nie pozwala jednoznacznie zróżnicować zmiany łagodnej i złośliwej, jak w przypadku rozpoznania w BAC „zmiany pęcherzykowej bliżej nieokreślonej“, „podejrzenia nowotworu pęcherzykowego“, „nowotworu pęcherzykowego“ lub „podejrzenia złośliwości“. W chwili obecnej chorzy z powyższymi rozpoznaniem są rutynowo kierowani do leczenia operacyjnego, chociaż u większości z nich, w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym stwierdza się zmiany łagodne. Jednocześnie, jeżeli w pooperacyjnym badaniu histopatologicznym stwierdza się raka tarczycy, to w przypadku znacznego odsetka chorych, u których pierwotnie nie wykonano całkowitego wycięcia tarczycy konieczna jest operacja wtórna. Dlatego uzupełnienie diagnostyki cytologicznej o badania molekularne w tej grupie chorych jest uzasadnione. Pozwoli to z jednej strony uniknąć leczenia operacyjnego i związanych z nim kosztów obciążających znacząco system opieki zdrowotnej jak i jego potencjalnych powikłań w grupie chorych, w których nie jest ono potrzebne, a z drugiej strony skierować tych chorych do operacji, u których może ona przynieść korzyść oraz zdecydować o zakresie leczenia operacyjnego – pierwotne całkowite wycięcie tarczycy zamiast operacji dwuetapowej.

Uważa się, że w 60-70% przypadków raka tarczycy można zidentyfikować znane zmiany ekspresji genów włączonych w proces karcinogenezy. Najnowsze badania potwierdzają korzyści z zastosowania diagnostyki cytologicznej i molekularnej w wątpliwych przypadkach. W 2010 Chudova i wsp. zaproponowali klasyfikator ekspresyjny (*ang. gene expression classifier; GEC*) do przedoperacyjnej diagnostyki guzków tarczycy. Kliniczna użyteczność klasyfikatora ekspresyjnego Afirma, należącego do tzw. testów wykluczających (*ang. rule-out test*) została pozytywnie zwalidowana w licznych niezależnych badaniach (Alexander 2012, Duick 2012, Harrel 2014, McIver 2014). W badaniu opublikowanym przez Alexandra przeanalizowano 265 guzków o „nieokreślonym“ wyniku badania cytologicznego, spośród których u 85 w badaniu pooperacyjnym potwierdzono raka tarczycy. Klasyfikator ekspresyjny właściwie zidentyfikował jako podejrzone (*ang. suspicious*) 78/85 zmian (czułość 92%, swoistość 52%). Co ważniejsze, negatywna wartość predykcyjna dla „zmiany pęcherzykowej bliżej nieokreślonej“, „podejrzenia nowotworu pęcherzykowego“ lub „nowotworu pęcherzykowego“ i „podejrzenia złośliwości“ wyniosła odpowiednio 95%, 94% i 85%. W 2015 Nikoiforov i wsp. zaproponowali kolejny test molekularny Thyroseq oparty a analizę najczęstszych mutacji metodą sekwencjonowania, którego czułość, swoistość, dodatnia wartość

predykcyjna i negatywna wartość predykcyjna w diagnostyce raka tarczycy wynosiła odpowiednio 90,9%, 92,1%, 76,9% i 97,2%. Niemniej, to badanie nie było zwalidowane w niezależnym badaniu.

Na podstawie korzystnych danych wynikających z opublikowanych badań klinicznych najnowsze rekomendacje Amerykańskiego Towarzystwa Tarczycowego, które ukazały się w 2016 roku, odniosły się przyzwalająco do przedoperacyjnej diagnostyki molekularnej guzków tarczycy a klasyfikator ekspresyjny Afirma uzyskał akceptację Amerykańskiej Agencji ds. Żywności i Leków (FDA) i jest refundowany przez amerykańskie towarzystwa ubezpieczeniowe jako element diagnostyki przedoperacyjnej guzków tarczycy, co pozwoliło na istotne ograniczenie liczby chorych kierowanych do operacji i znaczącą redukcję kosztów leczenia. Niestety wysoka cena (Afirma około 3500 \$ za jeden guzek tarczycy) uniemożliwia wprowadzenie tego testu do rutynowej praktyki klinicznej w Polsce.

Cel badania: Ocena diagnostycznej przydatności wieloczynnikowego klasyfikatora molekularnego w rozpoznawaniu ryzyka złośliwości guzków tarczycy na podstawie badania materiału z biopsji cienkoigłowej w porównaniu do standardowej oceny cytologicznej.

Pierwszorzędowy punkt końcowy: poprawa jakości klasyfikacji mierzonej odsetkiem zmian poprawnie zakwalifikowanych jako łagodne lub złośliwe przy wykorzystaniu badania cytologicznego rozszerzonego o wieloparametryczny test molekularny w stosunku do badania cytologicznego samodzielnie o minimum 5 punktów procentowych

Schemat badania: Badanie zaakceptowane przez Komisję Bioetyczną Instytutu jest przeprowadzone z perspektywą i retrospektywną rekrutacją chorych. W pierwszym etapie (retrospektywna faza badania) planowane jest zdefiniowanie algorytmu klasyfikatora molekularnego. Pierwszy etap badania zakończono w 2017 roku. W prowadzonej obecnie fazie prospektywnej klasyfikacja oparta łącznie o wynik testu molekularnego i cytologicznego zostanie porównana z klasyfikacją opartą wyłącznie o wynik badania cytologicznego u wszystkich chorych, poddanych obu testom równocześnie.

KRYTERIA WŁĄCZENIA:

1. Stwierdzenie zmiany ogniskowej w tarczycy
2. Uzasadnione podejrzenie, że chory będzie wymagał leczenia operacyjnego tarczycy
3. Zgoda chorego na pobranie materiału molekularnego przy biopsji cienkoigłowej tarczycy

KRYTERIA WYKLUCZENIA:

1. Wiek poniżej 18 lat
2. Przeciwwskazania uniemożliwiające leczenie operacyjne
3. Wcześniejsze rozpoznanie raka tarczycy
4. Leczenie przeciwnowotworowe za wyjątkiem ASA lub heparyny drobnocząsteczkowej w dawkach profilaktycznych

Tryb rekrutacji chorych: ośrodki uczestniczące w badaniu włączają kolejnych chorych, którzy wyrażą świadomą zgodę na udział w badaniu i u których na podstawie subiektywnej oceny badaczka istnieje uzasadnione prawdopodobieństwo, że po przeprowadzeniu BACC chory będzie poddany leczeniu operacyjnemu. Dotyczy to zarówno chorych, u których wcześniej wykonana BACC dała wynik niejednoznaczny lub podejrzany a także tych, u których kliniczne cechy guzka wskazują na istotne ryzyko złośliwości.

Procedura kliniczna: u każdego chorego przy nakłuciu z pobraniem do badania cytologicznego guzka tarczycy (zwykle 1-2 krotnie) jest pobierany aspirat do badania molekularnego (1-2 krotnie).

Metoda testu: Materiał pobrany drogą aspiracji jest zabezpieczany w buforze konserwującym, zamrażany, a następnie w laboratorium centralnym jest wykonywana izolacja RNA, DNA, badanie ekspresji genów i mikro RNA technikami QPCR i mikromacierzy, sekwencjonowanie techniką Sangera i techniką NGS. Na podstawie klinicznych parametrów guzka, danych z badania cytologicznego, danych o ekspresji transkryptów oraz obecności mutacji przeprowadzany jest test molekularny.

Dotychczas w ZMNIEO wykonano 2236 biopsji molekularnych oraz otrzymano od ośrodków zewnętrznych materiał pochodzący z 119 biopsji molekularnych.

W bieżącym roku zakończono I etap badania (faza retrospektywna): zgromadzono materiał do zbioru uczącego i opracowano algorytm klasyfikatora molekularnego. Zbiór uczący obejmuje 310 guzków poddanych biopsji, w tym 88 guzków z rozpoznaniem cytologicznym zmiany łagodnej (Bethesda II), 60 guzków z rozpoznaniem cytologicznym zmiany pęcherzykowej bliżej nieokreślonej (Bethesda III), 50

guzków z rozpoznaniem cytologicznym „podejrzenie nowotworu pęcherzykowego” (Bethesda IV), 41 guzków z podejrzeniem raka tarczycy (Bethesda V) i 70 guzków z rozpoznaniem cytologicznym raka tarczycy. Wyselekcjonowane biopsje do zbioru uczącego przekazano do izolacji RNA. Biopsje pobierano na specjalny bufor stabilizujący RNA a izolacje wykonano zestawami miRNeasy Mini Kit (Qiagen). Do wykonania mikromacierzy oligonukleotydowych wysokiej gęstości wybrano wszystkie próbki RNA, które charakteryzowały się pomiarem stężenia RNA wyższym niż 2 ng/ul. Pomiar stężenia oceniano fluorometrycznie z użyciem fluorymetru Qubit (ThermoFisher). Do analizy profilu ekspresji genów zastosowano mikromacierze wysokiej gęstości Human Transcriptome 2.0 (Affymetrix). Z 249 próbek wyselekcjonowanych do analizy ekspresji genów 240 nadawały się do hybrydyzacji z mikromacierzą. Dodatkowo wyselekcjonowano 144 próbki, które zostały pobrane jako popłuczyny po biopsji cienkoigłowej do analizy ekspresji genów z zastosowaniem tego samego typu mikromacierzy co w pełnej biopsji z guza. Amplifikację i dobrą jakość mikroamcierzy uzyskano dla 88 próbek. Łącznie, wszystkich mikromacierzy wykonano 328

Obecnie toczy się II etap badania – prospektywna walidacja klasyfikatora.

Formy prezentacji wyników:

Publikacje:

- Rusinek D, Chmielik E, Krajewska J, Jarzab M, Oczko-Wojciechowska M, Czarniecka A, Jarzab B. Current Advances in Thyroid Cancer Management. Are We Ready for the Epidemic Rise of Diagnoses ? *Int J Mol Sci.* 2017;18(8).
- Krajewska J, Chmielik E Jarzab B. Dynamic risk stratification i n the follow-up of thyroid cancer: what is still to be discovered in 2017? *Endocr Relat Cancer.* 2017;24(11):R387-R402.
- Krajewska J, Gawlik T, Jarzab B. Advances in small molecule therapy for treating metastatic thyroid cancer. *Expert Opin Pharmacother.* 2017;18(11):1049-1060.
- Wojtas B, Pfeifer A, Oczko-Wojciechowska M, Krajewska J, Czarniecka A, Kukulska A, Eszlinger M, Musholt T, Stokowy T, Swierniak M, Stobiecka E, Chmielik E, Rusinek D, Tyszkiewicz T, Halczok M, Hauptmann S, Lange D, Jarzab M, Paschke R, Jarzab B. Gene Expression (mRNA) Markers for Differentiating between Malignant and Benign Follicular Thyroid Tumours. *Int J Mol Sci.* 2017 Jun 2;18(6). pii: E1184.
- Krajewska J, Paliczka-Cieslik E, Jarzab B. Managing tyrosine kinase inhibitors side effects in thyroid cancer. *Expert Review of Endocrinology & Metabolism,* 2017; 12 (2), 117-127

Sposób kontynuacji lub wykorzystania wyników zadania: Weryfikacja kliniczna opracowanego klasyfikatora molekularnego w badaniu prospektywnym.

3.1.2. Rak rdzeniasty tarczycy – profilowanie genetyczne i genomiczne w doborze leczenia operacyjnego, w tym operacji profilaktycznych, oraz skojarzonej terapii choroby zaawansowanej (z podzadaniem: genetyczne i genomiczne przewidywanie fenotypu zespołu MEN2: ryzyko rozwoju guza chromochłonnego i innych cech klinicznych).

Kierownik: B. Jarzab

M. Oczko-Wojciechowska, K. Hasse-Lazar, J. Krajewska, A. Czarniecka, T. Gawlik, E. Paliczka-Cieślak, S. Szpak-Ulczok, K. Steinhof-Radwańska, J. Szcasy, E. Chmielik, M. Zeman, A. Sacher, A. Pawlaczek, J. Żebracka-Gala, R. Cyplińska, A. Pfeifer, D. Rusinek, D. Kula, M. Kowalska, E. Zembala-Nożyńska, E. Gubała, A. Chorąży, D. Lange

W dalszej części badań przygotowano analizę metylacji genomu raka rdzeniastego tarczycy. Wyselekcjonowano 60 próbek raka rdzeniastego tarczycy pobranych śródoperacyjnie: 30 próbek z oznaczoną mutacją genu *RET*, 18 próbek z oznaczoną mutacją w genach *RAS*, 2 próbki z mutacją w genie *BRAF*, 3 próbki z oznaczoną mutacją genu *RET* i współwystępującą mutacją genu *RAS* oraz 7 próbek, w których nie wykryto mutacji genu *RET* i *RAS*.

Analizę przeprowadzono z wykorzystaniem miekomacierzy Infinium Human Methylation 450K BeadChip. W pierwszym etapie wykonano analizę bioinformatyczną. W analizie wykorzystano język programowania R oraz biblioteki z Bioconductor. Wszystkie próbki spełniły kryteria jakościowe i zostały wykorzystane w dalszych krokach przetwarzania. Analizę jakości oraz normalizację kwantylową przeprowadzono przy pomocy funkcji pakietu *minfi*. Następnie na etapie filtrowania danych odrzucono sondy słabej jakości, których sygnał nie różnił się w istotny sposób od wartości tła ($p > 0.05$ w przynajmniej jednej z próbek), należące do chromosomów X i Y oraz te, w których obrębie występują znane polimorfizmy pojedynczych nukleotydów. Poziom metylacji wyrażony za pomocą wartości M oraz B (beta) obliczono wykorzystując funkcje pakietu *minfi*. Przy pomocy ścieżki przetwarzania biblioteki *limma* wykryto sondy o istotnej statystycznie ($FDR < 0.05$) różnicy w poziomie metylacji pomiędzy poszczególnymi grupami. Dla każdego porównania wygenerowano listę sond istotnie różnicujących wraz z adnotacjami oraz wykresy czterech sond o najniższej wartości p. W chwili obecnej przeprowadzana jest interpretacja wyników i selekcja genów do walidacji.

Zadanie było częściowo realizowane w ramach grantu NCN nr NN401410639.

Obecnie część badań finansowana jest w ramach: STRATEGMED, projekt MILESTONE „Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego”.

Opublikowane wyniki dotychczasowych badań prowadzonych w ramach w/w projektu badawczego:

- Oczko-Wojciechowska M, Swierniak M, Krajewska J, Kowalska M, Kowal M, Stokowy T, Wojtas B, Rusinek D, Pawlaczek A, Czarniecka A, Szpak-Ulczok S, Gawlik T, Chmielik E, Tyszkiewicz T, Nikiel B, Lange D, Jarzab M, Wiench M, Jarzab B. Differences in the transcriptome of medullary thyroid cancer regarding the status and type of RET gene mutations. *Sci Rep.* 2017 Feb 9;7:42074. doi: 10.1038/srep42074.
- Małgorzata Oczko-Wojciechowska, Michał Swierniak, Aleksandra Pfeifer, Małgorzata Kowalska, Tomasz Tyszkiewicz, Agnieszka Pawlaczek, Agnieszka Czarniecka, Dagmara Rusinek, Ewa Chmielik, Michał Jarzab, Sylwia Szpak-Ulczok, Tomasz Gawlik, Jolanta Krajewska, Barbara Jarzab. Comparison of gene expression profile of medullary thyroid tumors with RET and RAS mutations. *Eur Thyroid J* 2017;6(suppl 1):23–118:47

3.1.3. Wykorzystanie genomycznego i proteomicznego profilowania nowotworów tarczycy za pomocą badań wielkoskalowych (sekwencjonowanie genomowe, proteomika guza) dla oceny różnic między podtypami histologicznymi oraz ich kliniczną agresywnością).

Zadanie realizowane jest w ramach projektu NCBiR Strategmed (DZP/STRATEGMED2/2554/2014).

Kierownik: B. Jarzab

J. Krajewska, D. Lange, J. Roskosz, A. Kukulska, D. Handkiewicz-Junak, A. Kotecka-Blicharz, T. Gawlik, E. Paliczka-Cieślik, A. Syska-Bielak, J. Szasny, E. Chmielik, E. Zembala-Nożyńska, A. Pawlaczek, R. Cyplińska, M. Halczok, J. Żebracka-Gala, D. Rusinek, D. Kula, T. Tyszkiewicz, M. Oczko-Wojciechowska, T. Olczyk, A. Kropińska, A. Ledwon, A. Czarniecka, A. Sacher, S. Szpak-Ulczo, E. Chmielik, E. Gubała, A. Pfeifer, M. Cieślicka, A. Kluczeńska-Gałka, K. Szczucka-Borys, A. Wojakowska, M. Gawin, M. Kalinowska-Herok, M. Pietrowska, M. Chekan, P. Widlak, A. Tukiendorf

Rokowanie w zróżnicowanych rakach tarczycy jest dobre, 10-letnie przeżycie całkowite w raku brodawkowatym, pęcherzykowym i oksyfinym wynosi odpowiednio 93%, 85% i 76%. Pomimo to u 3-15% chorych rozpoznaje się raka tarczycy w stadium przerzutów odległych a w ciągu obserwacji do nawrotu dochodzi u 30% chorych, z czego 2/3 przypadków występuje w ciągu pierwszej dekady od rozpoznania. 79% stanowią wznowy lokoregionalne a u 21 % chorych stwierdza się przerzuty odległe, głównie w płucach (53-63%) i układzie kostnym (19-20%). U 16-19 % chorych przerzuty charakteryzuje mnogie umiejscowienie.

W przypadku występowania choroby uogólnionej lub nieoperacyjnej wznowy miejscowej leczeniem z wyboru jest terapia jodem promieniotwórczym, możliwa u około 2/3 chorych, która prowadzi do wieloletniej stabilizacji choroby – 10 i 20-letnie przeżycie całkowite w tej grupie wynosi odpowiednio 56% i 40%. Jednak, około 30% chorych jest opornych na leczenie jodem 131. Obecnie przyjęte kryteria oporności na jod promieniotwórczy, zaproponowane przez Schlumbergera i Shermana, obejmują brak zdolności gromadzenia 131-I we wszystkich bądź w części ognisk raka, progresja pomimo jodochwytności oraz brak sanacji po podaniu skumulowanej aktywności 131-I 600 mCi. Ta grupa chorych charakteryzuje się zdecydowanie gorszym rokowaniem – 10 i 15-letnie przeżycie całkowite wynosi odpowiednio zaledwie 10% i 6%. Do niedawna opcje terapeutyczne dla tych chorych były bardzo ograniczone i obejmowały jedynie leczenie paliatywne w nielicznych przypadkach. Nowe możliwości pojawiły się dzięki postępom badań molekularnych potwierdzeniu roli kinaz tyrozynowych w patogenezie raka tarczycy. W chwili obecnej prowadzone są liczne badania II i III fazy, między innymi w ZMNIEO, oceniające skuteczność różnych inhibitorów kinaz tyrozynowych a ich wyniki, dotychczas potwierdzające korzystny wpływ głównie na przeżycie bezobjawowe, są obiecujące. Sorafenib jako pierwszy z tej grupy leków został zarejestrowany do leczenia zaawansowanego raka tarczycy w 2013 w USA a w 2014 w Unii Europejskiej.

Cel pracy: Poszukiwanie cech molekularnych, pozwalających na wczesne rozpoznanie postaci zróżnicowanego raka tarczycy charakteryzujących się niekorzystnym rokowaniem, nie odpowiadających na leczenie jodem promieniotwórczym, a tym samym wyselekcjonowanie grupy chorych, którzy wymagają zastosowania bardziej agresywnych metod terapeutycznych w celu poprawy rokowania i przeżycia całkowitego.

Material i metody badawcze.

Grupę badaną oraz grupę kontrolną wyłoniono z populacji 3382 chorych z rozpoznaniem zróżnicowanego raka tarczycy operowanych z tego powodu w Klinice Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej IO Gliwice w latach 2002-2010. Dotychczas przeanalizowano dane kliniczne 1779 chorych. Z tej grupy wyłoniono podgrupę 770 chorych, u których pierwszą operację raka tarczycy przeprowadzono w IO Gliwice (dostępny materiał histopatologiczny z guza pierwotnego), z której losowo wybrano 90 chorych. Do grupy badanej włączono 30 chorych z rozpoznaniem raka tarczycy opornego na leczenie jodem promieniotwórczym, leczonych w ZMNIEO w ramach badań klinicznych II i III fazy inhibitorami kinaz tyrozynowych. Natomiast pozostałe 60 chorych, 30 z rozpoznaniem raka tarczycy, u których uzyskano trwałą remisję po leczeniu pierwotnym (całkowite wycięcie tarczycy i leczenie uzupełniające 131-I) i 30 z rozpoznaniem rozsianego raka tarczycy, który odpowiada na terapię jodem promieniotwórczym, stanowi grupę kontrolną.

Następnie, w celu porównania profilu ekspresji genów w poszczególnych grupach dla poszukiwania ewentualnych markerów związanych z opornością na promieniowanie i wrażliwością na inhibitory kinaz tyrozynowych, wyizolowano RNA z blozków parafinowych zawierających materiał histopatologiczny z guza pierwotnego. W dalszym etapie rozpoczęto opracowywanie metodyki izolacji i przygotowania RNA z blozków parafinowych umożliwiającej ocenę profilu ekspresji genów badanego materiału. W pierwszej próbie wykonano mikromacierze oligonukleotydowe wysokiej gęstości z 14 wyizolowanych próbek z zastosowaniem standardowo wykonywanej procedury w Pracowni, która również jest akceptowana przez producenta mikromacierzy. Jednakże wykonane mikromacierze nie spełniały kryteriów jakości, które umożliwiają analizę profilu ekspresji genów. Ze względu na niską jakość RNA uzyskiwanego z materiału parafinowanego powtórzono analizę z wykorzystaniem znacznie większej ilości materiału wyjściowego, ale również wtedy jakość wykonanych mikromacierzy nie była zadowalająca. Z tego powodu zmodyfikowano procedurę izolacji RNA z blozków parafinowych i wprowadzono nowy odczynnik, który umożliwia deparafinizację bez użycia ksylenu. Tak wyizolowany materiał posłużył do wykonania kolejnych mikromacierzy testowych. Jakość uzyskanych mikromacierzy jest zadowalająca i pozwala na dalszą analizę w celu określenia profilu ekspresji genów badanej próbki. Dlatego w dalszym etapie badania, prowadzonym w 2018 roku, będą przygotowywane kolejne skrawki uzyskane z wyselekcjonowanych blozków parafinowych z zastosowaniem nowej procedury izolacji RNA. Badanie zostanie wykonane na ok. 50 próbkach, ponieważ producent odczynników przeznaczonych do analizy ekspresji genów z podegradowanego RNA uzyskiwanego z materiału archiwalnego i analizowanego metodą mikromacierzy oligonukleotydowych, wycofał się z oferty i w chwili obecnej odczynniki te nie są już dostępne.

Formy prezentacji wyników:

Publikacje:

- 1/ Schlumberger M, Elisei R, Müller S, Schöffski P, Brose M, Shah M, Licitra L, Krajewska J, Kreissl MC, Niederle B, Cohen EEW, Wirth L, Ali H, Clary DO, Yaron Y, Mangeshkar M, Ball D, Nelkin B, Sherman S. Overall survival analysis of EXAM, a phase III trial of cabozantinib in patients with radiographically progressive medullary thyroid carcinoma. *Ann Oncol.* 2017 Nov 1;28(11):2813-2819.

Sposób kontynuacji lub wykorzystania wyników zadania: W kolejnym roku planowana jest ocena profilu ekspresji genów w materiale histopatologicznym uzyskanym po operacji pierwotnej, w opisanej grupie chorych, w celu poszukiwania cech pozwalających na wyselekcjonowanie raków opornych na leczenie jodem promieniotwórczym wymagających bardziej agresywnego postępowania terapeutycznego, w tym zastosowania inhibitorów kinaz tyrozynowych podsumowanie wyników w formie publikacji.

3.2. Molekularne i obrazowe rozpoznanie i monitorowanie nowotworów gruczołów wydzielania wewnętrznego oraz innych nowotworów w ocenie efektywności i toksyczności terapii.

3.2.1. Występowanie mutacji chorobotwórczych w genach SDHC, SDHA, SDHAF2, TMEM 127, MAX, FH, KIF1B, MDH2, MERTK, MET u pacjentów z guzami chromochłonnymi i przyzwojakami, u których nie wykryto mutacji w zakresie genów vHL, RET, SDHB, SDHD.

Kierownik: B. Jarzab

K. Hasse-Lazar, A. Kotecka-Blicharz, M. Oczko-Wojciechowska, A. Pfeifer, A. Pawlaczek, T. Gawlik, S. Szpak-Ulczok, J. Krajewska, D. Rusinek, B. Jurecka-Lubieniecka

Guzy chromochłonne i przyzwojaki są bardzo rzadkimi nowotworami wywodzącymi się z tkanki chromochłonnej rdzenia nadnerczy i/lub zwojów autonomicznego układu nerwowego. Uważane są za najsilniej uwarunkowane dziedzicznie guzy u ludzi a odsetek postaci dziedzicznych sięga 30%. Rozwijają się na tle mutacji germinalnych w jednym z 17 genów predysponujących, podłoże molekularne prowadzące do ich powstania jest więc bardzo heterogenne. Najlepiej poznane i opisane są mutacje w najwcześniej poznanych genach, uważanych dziś za klasyczne - RET, vHL, SDHB, SDHD oraz NF1, wiodąc do zespołów uwarunkowanych dziedzicznie o dość dobrze poznanym obrazie klinicznym. Guzy chromochłonne/ przyzwojaki występują w nich jako jedyny element zespołu lub współwystępują ze zmianami w innych narządach, przede wszystkim z innymi nowotworami. W przypadku później wykrytych genów – takich jak SDHC, SDHA, SDHAF2, TMEM, MAX, FH, KIF1B, MDH2, MERTK, MET dane molekularne oraz obraz fenotypowy mutacji są już znacznie bardziej fragmentaryczne, co wynika ze stosunkowo niskiej częstości ich występowania wśród chorych oraz ze stosunkowo krótkiego okresu gromadzenia danych.

Celem projektu jest analiza częstości występowania zmian germinalnych w wybranych 10 genach - SDHA, SDHC, SDHAF2, TMEM, MAX, FH, KIF1B, MDH2, MERTK, MET. Drugim celem badania jest wyodrębnienie patogennych wariantów DNA oraz ustalenie ekspresji fenotypowej mutacji u chorych oraz u członków ich rodzin, będących nosicielami mutacji.

W trakcie pierwszego etapu trwania zadania badawczego oceniono zmiany germinalne w pięciu pierwszych genach – SDHC, SDHA, SDHAF2, TMEM 127 i MAX – w grupie 101 chorych z PPGL, przy użyciu sekwencjonowania metodą Sangera. Mutacje chorobotwórcze stwierdzono u 5 chorych, co stanowi 5% wszystkich badanych. Odpowiednio u 1 chorego z guzem chromochłonnym stwierdzono mutację genu MAX, u 3 chorych z guzem chromochłonnym stwierdzono mutację genu TMEM 127, u 1 chorej z przyzwojakiem tarczycy stwierdzono mutację genu SDHA. Nie stwierdzono mutacji chorobotwórczych w genach SDHC i SDHAF2. Zmiany polimorficzne występowały u jednego chorego w genie TMEM 127 i aż u 24 chorych w genie SDHA.

W oczekiwaniu na wyniki badań genów FH, KIF1B, MDH2, MERTK, MET. Planowane jest również poszerzenie badanej grupy chorych do 150 a także bardziej systematyczna ocena obrazu fenotypowego mutacji wśród członków ich rodzin – w ramach planowanego projektu grantowego.

W oparciu o wyniki badań we współpracy międzynarodowej przygotowano publikację:

Clinical Characterization of the Pheochromocytoma and Paraganglioma Susceptibility Genes SDHA, TMEM127, MAX, and SDHAF2 for Gene-Informed Prevention. Bausch B, Schiavi F, Ni Y, Welander J, Patocs A, Ngeow J, Wellner U, Malinoc A, Taschin E, Barbon G, Lanza V, Söderkvist P, Stenman A, Larsson C, Svahn F, Chen JL, Marquard J, Fraenkel M, Walter MA, Peczkowska M, Prejbisz A, **Jarzab B, Hasse-Lazar K**, Petersenn S, Moeller LC, Meyer A, Reisch N, Trupka A, Brase C, Galiano M, Preuss SF, Kwok P, Lendvai N, Berisha G, Makay Ö, Boedeker CC, Weryha G, Racz K, Januszewicz A, Walz MK, Gimm O, Opocher G, Eng C, Neumann HPH; European-American-Asian Pheochromocytoma-Paraganglioma Registry Study Group. JAMA Oncol. 2017 Sep 1;3(9):1204-1212

3.2.2. Analiza czynników wpływających na obecność przerzutów do kośćca w badaniu scyntygraficznym ^{99m}Tc -MDP u pacjentów z rakiem stercza pierwotnym, w trakcie leczenia oraz po jego zakończeniu z niskim stężeniem PSA w surowicy krwi.

Kierownik: B. Jarzab

Z. Wygoda, M. Kalemba, J. Wydmański

Prowadzone zadanie badawcze jest zadaniem wieloletnim, polegającym na retrospektywnej, a także prospektywnej analizie materiału opartego o wyniki badań obrazowych scyntygraficznych kośćca chorych na raka stercza wraz z oceną takich parametrów, jak: wiek zachorowania, stopień zaawansowania miejscowego choroby, wyjściowe stężenie PSA w surowicy, a także dynamika zmian jego stężenia, rodzaj zastosowanego leczenia, prowadzenie hormonoterapii.

Autorzy zakładają, że analiza statystyczna szerokiego materiału, opartego finalnie o grupę 200 pacjentów z rozpoznaniem przerzutów do kośćca w badaniu scyntygraficznym pomoże ustalić czynniki mogące mieć wpływ na pojawienie się przerzutów przy niskim stężeniu PSA w surowicy.

Do chwili obecnej dokonano analizy historii choroby u 223 osób. W ocenianej grupie zidentyfikowano 21 pacjentów po zakończeniu leczenia, u których rozpoznano przerzuty choroby nowotworowej do kośćca pomimo prawidłowego stężenia PSA (9 osób) lub nieznacznie podwyższonego (12 osób) stężenia PSA w surowicy krwi. U wszystkich tych pacjentów scyntygrafię kośćca wykonano ze względu na pojawiające się dolegliwości bólowe kości. U żadnego z tych chorych nie wykonywano wcześniej radiologicznych badań obrazowych – pojawiający się ból był pierwszym wskazaniem do wykonania scyntygrafii. Do chwili obecnej 3 spośród tych chorych zmarło z powodu progresji choroby nowotworowej. Wszyscy chorzy, u których stwierdzano przerzuty do kośćca pomimo prawidłowego stężenia PSA ukończyli 70-ty rok życia. Ze względu na stosunkowo jeszcze nieliczną grupę badaną badanie będzie kontynuowane w roku następnym.

Planowana jest publikacja po zakończeniu badania.

3.2.3. Raki endokryne – analiza podłoża genetycznego i fenotypu nowotworów złośliwych gruczołów dokrewnych. Próba standaryzacji postępowania diagnostycznego i terapeutycznego.

Kierownik: B. Jarząb

B. Jurecka-Lubieniecka, S. Szpak-Ulczok, B. Michalik, J. Krajewska, A. Ledwon, A. Król, E. Paliczka-Cieślak, K. Hasse-Lazar, E. Zembala-Nożyńska

a/ Rak przytarczyc

Na podstawie analizy retrospektywnej dokumentacji chorych diagnozowanych i leczonych w ZMNiEO od 2005 r., a także operowanych od 2012 r. w Klinice Chirurgii

UM Katowice w Bytomiu zgromadzono grupę 45 chorych z rozpoznaniem raka przytarczyc. Jest to druga w Europie co do liczebności grupa badana pacjentów z rakiem przytarczyc. Ponownie przeanalizowano również ocenę histopatologiczną materiału pooperacyjnego, co wynika ze zmiany kryteriów histopatologicznego rozpoznania raka przytarczyc. Celem analizy jest próba oceny naturalnej historii choroby, czynników ryzyka progresji oraz ocena skuteczności stosowanej terapii. Ponieważ jest to rzadki rak endokryny, brak jest możliwości przeprowadzenia badań randomizowanych, stąd też brak opracowanych zaleceń dotyczących postępowania z chorymi z tym rozpoznaniem.

Wstępne wyniki badań zaprezentowane zostały na Europejskiej Konferencji Endokrynologicznej ECE 2017 w dn. 20-23.05.2017 r. w Lizbonie.

Niekorzystnym czynnikiem prognostycznym przeżycia była nieradykalność postępowania chirurgicznego. Zgony w trakcie 10-letniej obserwacji występowały tylko wśród chorych nieradykalnie zoperowanych, pomimo przeprowadzenia radio- i chemioterapii. W analizie retrospektywnej radioterapię i chemioterapię włączano u pacjentów z zaawansowaną chorobą nowotworową i ciężką hiperkalcemią PTH-zależną, co mogło być przyczyną nieefektywności tego postępowania.

Od 2016 r. żyjący pacjenci (n=34) poddawani są prospektywnym badaniom diagnostycznym. W analizowanej prospektywnie grupie chorych wykonywane są badania obrazowe – zarówno morfologiczne (TK), jak i funkcjonalne (MIBI-Tc99m), których celem jest rozpoznanie wczesnej progresji w wdrożeniu na tej podstawie właściwej terapii.

Na podstawie analizy przebiegu klinicznego choroby ustalono dwa czynniki ryzyka, które wpływają na skrócenie czasu przeżycia – wystąpienie odległych przerzutów oraz powikłań hiperkalcemii, głównie niewydolności nerek. Analiza retrospektywna wyników badań oraz dwuletnia ocena obserwacji prospektywnej są przedmiotem przygotowywanej publikacji.

b/ Nowotwory neuroendokryne trzustki

Przedmiotem analizy w pierwszym etapie są chorzy z uwarunkowanymi genetycznie nowotworami neuroendokrynnymi trzustki. Od 2010 do 2017 roku zdiagnozowano w ZMNiEO u 94 chorych nowotwór neuroendokryny trzustki. Z tej grupy wydzielono podgrupę pacjentów obciążonych mutacjami w genie MEN1. Na podstawie retrospektywnej analizy dokumentacji medycznej oceniono dotychczas u 23 pacjentów przebieg choroby. W grupie tej dominują kobiety (70%), mediana wieku to 38 lat.

W przebiegu klinicznym choroby dominują nowotwory trzustki nieczynne hormonalnie (n=14). U wszystkich chorych przeprowadzono sekwencjonowanie genu meniny. Stwierdzono duże zróżnicowanie mutacji - tylko u 3 pacjentów występowały te same SNP. Do oceny fenotypu choroby i korelacji z genotypem konieczne jest rozszerzenie grupy badanej, stąd też nawiązano współpracę z Kliniką Endokrynologii Pomorskiego Uniwersytetu Medycznego w Szczecinie i Kliniką Chorób Wewnętrznych i Endokrynologii Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego.

Wstępna analiza została przesłana na 15 Konferencję ENETS w Barcelonie, która odbędzie się 7 – 9.03.2018 r. w Barcelonie.

Temat predyspozycji genetycznej do nowotworów neuroendokrynnych trzustki oraz mutacji somatycznych w guzie był przedmiotem wykładów przeprowadzonych w 2017 roku. Analiza opublikowanych w 2016 i 2017 roku wstępnych wyników badań wykazała korelację mutacji somatycznych w genie meniny i kompleksie ATRX/DAX z przebiegiem klinicznym choroby – długością czasu do progresji choroby (PFS) oraz ekspresją receptorów dla somatostatyny. Wyniki te skłaniają do podjęcia badań molekularnych w ZMNiEO, bowiem nasz Zakład pretenduje do pozycji

jednostki referencyjnej w diagnostyce i leczeniu nowotworów neuroendokrynych a ponadto w Polsce badania te nie są dotąd wykonywane. Wprowadzenie diagnostyki molekularnej będzie możliwe po uzyskaniu środków finansowych w oparciu o grant w konkursie OPUS 12.

c/ Rak kory nadnerczy

Rak kory nadnerczy jest to rzadki rak endokryny o wysoce złośliwym przebiegu. Roczne występowanie to 2 przypadki na 1 milion populacji z preferencją występowania wśród kobiet. Na podstawie analizy chorych diagnozowanych z tym rozpoznaniem w Instytucie Onkologii od 2006 roku tworzona jest baza danych obejmująca 204 pacjentów. Przyjmując 10-letni okres obserwacji oraz ilość wstępnie rozpoznanych chorych zakładamy: analizę epidemiologiczną grupy badanej oraz ocenę naturalnej historii choroby z określeniem czynników prognostycznych przeżycia, wpływ terapii mitotanem na czas przeżycia. Analiza retrospektywna nie wymaga zapewnienia zewnętrznych źródeł finansowania.

3.3. Optymalizacja i indywidualizacja terapii przeciwnowotworowej w nowotworach układu wydzielania wewnętrznego

3.3.1. Ocena wpływu uzupełniającej radioterapii na przebieg raka rdzeniastego tarczycy

Kierownik: B. Jarząb

A. Kukulska, J. Krajewska, Z. Puch, Z. Wygoda, E. Gubała, D. Syguła, T. Lisik, F. Ficek

Planowane jest przygotowanie publikacji w oparciu o przedstawione wyniki.

Ocena skuteczności uzupełniającej radioterapii w zapobieganiu progresji raka rdzeniastego tarczycy.

Celem pracy była ocena wpływu radykalnej radioterapii pooperacyjnej na przebieg raka rdzeniastego tarczycy. W pracy analizowano przebieg raka rdzeniastego tarczycy u 254 chorych. Wszyscy chorzy poddani byli zabiegowi usunięcia tarczycy, z czego u 11 miał on charakter nieradykalny onkologicznie. 125 chorych poddanych było radioterapii, z czego u 120 miała ona charakter pooperacyjnej radioterapii radykalnej. Pacjenci byli obserwowani od 0,5 do 29 lat (mediana i średnia 10 lat), 204 pozostawało w obserwacji ponad 5 lat a 16 ponad 20 lat.

Analizując przebieg choroby u pacjentów leczonych radykalnie promieniami (Tab. 1) widzimy że w niższych stopniach zaawansowania częściej do rozsiewu dochodziło w grupie chorych leczonych promieniami odpowiednio dla pT1, pT2, pT3, pT4 47vs 14%, 42 vs 16%, 50 vs 35%- różnice są znamienne statystycznie dla pT1 i pT2, w grupie chorych leczonych promieniami znaczącą większość (89% dla pT1 i 96%) dla pT2 stanowią chorzy z przerzutami do węzłów chłonnych. Analiza ograniczona jedynie do grupy chorych z przerzutami do węzłów chłonnych nie wykazuje znaczących różnic w występowaniu rozsiewu w grupie chorych leczonych i nie leczonych promieniami.

Tab. 1. Przebieg RRT w grupie chorych leczonych radykalnie

Zaawansowanie miejscowe	Liczba chorych cała grupa	Przebyte leczenie promieniami, cała grupa	rozszew	Liczba chorych z cechą N1	Przebyte leczenie promieniami grupa N1	rozszew
pT1	54	Tak 19	9 47 %	26	Tak 17	9 52%
		Nie 35	5 14%		Nie 9	4 44%
pT2	80	Tak 31	13 42 %	58	Tak 30	13 43%
		Nie 49	8 16%		Nie 28	7 25%
pT3	41	Tak 24	12 50%	37	Tak 23	11 48%
		Nie 17	6 35 %		Nie 14	6 43%
pT4	31	Tak 21	15 71 %	29	Tak 20	14 70%
		Nie 10	7 70%		Nie 9	7 78%
pTx	42	Tak 25	12 48%	31	Tak 24	13 54%
		Nie 17	1 6%		Nie 7	1 14%
Razem	248	Tak 120	61 51 %	181	Tak 114	59 52%
		Nie 128	27 21 %		Nie 67	25 37 %

Analiza grupy chorych operowanych nieradykalnie lub tych u których rak przechodził poza torebkę węzłów wykazała że u 6\19- 32% wystąpiły przerzuty odległe. Wszyscy ci chorzy przebyli uzupełniającą radioterapię dawką wyższą lub równą 60 Gy.

Analizując rozkład stężenia kalcytoniny stwierdzanej w czasie obserwacji chorych w zależności od zaawansowania miejscowego i przebytego leczenia promieniami (Tab. 2) stwierdzono że, w grupie pT1 i pT2 pacjenci po przebytych leczeniu promieniami częściej prezentowali wyższe stężenie CT w surowicy – różnice są znamienne statystycznie – u wszystkich chorych pT1 leczonych radioterapią stwierdzano w materiale pooperacyjnym przerzuty do węzłów. W stopniach zaawansowania pT3-pT4 udział chorych w grupie najwyższego stężenia CT był podobny bez względu na przebytą radioterapię – brak znamienności. Wśród chorych leczonych z powodu przerzutów do węzłów chłonnych nie stwierdzono znamiennych statystycznie różnic między grupami w rozkładzie stężeń CT stwierdzanych w toku obserwacji.

Tab. 2 Maksymalne stężenie kalcytoniny w toku obserwacji

Zaawansowanie miejscowe	Liczba chorych	Przebyte leczenie promieniami	Kalcytonina <10 ng/ml	Kalcytonina 10-500	Kalcytonina >500
pT1	54	Tak 19	0	8	11 58%
		Nie 35	18	14	3 1%
pT2	80	Tak 31	4	9	18 58%
		Nie 49	16	17	16 33%
pT3	41	Tak 24	1	9	14 58%
		Nie 17	3	7	7 41%
pT4	31	Tak 21	0	6	15 71%
		Nie 10	0	2	8 80%
pTx	42	Tak 25	1	9	15 60%
		Nie 17	6	7	4 23%
N1	180	Tak 113	5	38	70 62%
		Nie 67	7	24	36 54%

Wnioski: Uzupełniająca radioterapia ma ograniczone znaczenie w leczeniu chorych na RRT, nie wpływa na przebieg choroby i nie zmniejsza ryzyka progresji.

3.3.2. Leczenie jodem promieniotwórczym I-131 raka tarczycy – ocena skuteczności leczenia i biokinetyki I-131).

Kierownik: B. Jarząb

D. Handkiewicz-Junak, A. Kluczevska-Gałka, A. Kropińska, A. Ledwon, K. Szczucka-Borys, E. Paliczka-Cieślak, J. Roskosz, J. Krajewska, Z. Puch, T. Olczyk

Leczenie jodem promieniotwórczym stanowi podstawową metodę leczenia zaawansowanego, nieoperacyjnego, zróżnicowanego raka tarczycy (ZRT). Jednak nieprzerwanie trwa dyskusja dotycząca optymalizacji leczenia izotopowego, zwłaszcza w odniesieniu do sposobu stymulacji jodochwytności oraz stosowanych aktywności jodu promieniotwórczego 131 (131-I).

Cel zadania:

1. Ocena wyników leczenia jodem promieniotwórczym chorych z zaawansowanym, nieoperacyjnym, zróżnicowanym rakiem tarczycy po stymulacji jodochwytności ludzką rekombinowaną tyreotropiną (rhTSH).

2. Ocena biokinetyki 131-I po stymulacji jodochwytności rhTSH

Retrospektywna analiza kliniczna obejmuje 115 chorych z zaawansowanym, nieoperacyjnym, zróżnicowanym rakiem tarczycy leczonych w latach 2000 do 2010.

Mediana czasu obserwacji w aktualnie ocenionej grupie chorych wynosiła 82 miesiące. Odpowiedź biochemiczną obserwowano u 60 (68%) chorych a częściową remisję radiologiczną u 23 (20%). Czterdziestu dwóch chorych zmarło (36%). Obecnie w trakcie oceny jest końcowy parametr – czas do progresji choroby nowotworowej. Ponadto oceniono leczenie raka tarczycy u dzieci, w załączeniu publikacja i streszczenie doniesienia zjazdowego (Zjazd Europejskiego Towarzystwa Tyreologicznego). W celu realizacji drugiej części badania, do chwili obecnej pobrano próbki krwi dla 52 osób. Analiza

biokinetyki I-131 we krwi pacjenta wykazała, że największy procent aktywności został wydalony przez pacjentów w pierwszych 24 h po podaniu radiofarmaceutyku. Wartości wyznaczonych czasów efektywnych I-131 (T_{eff}) mieściły się w zakresie od 4 do 37 h, przy czym zaobserwowano że u blisko 92 % z populacji badanych próbek, czas zaniku radiofarmaceutyku we krwi odbywał się ze średnim czasem efektywnym równym 11 h (± 3), a w pozostałej części (u 8% pacjentów) z $T_{\text{eff}} = 26 \pm 5$ h. Wartości dawek zaabsorbowanych w szpiku kostnym wynosiły od 20 do 314 m Gy.

Uzyskane dane wskazują, że leczenie jodem 131-I w warunkach stymulacji rhTSH chorych na zaawansowanego, nieoperacyjnego, zróżnicowanego raka tarczycy pozwala na uzyskanie odpowiedzi biochemicznej i radiologicznej odpowiednio u 60% i 20% chorych.

Biokinetyka I-131 u większości pacjentów w populacji ze zdiagnozowanym ZRT przebiegała w określonym tempie, niemniej jednak w pewnej grupie zaobserwowano nieswoisty wolny spadek radioaktywności we krwi pacjentów (blisko trzykrotnie mniejszy). Leczenie jodem promieniotwórczym jest bezpieczne a zaabsorbowane dawki w szpiku kostnym są znacznie poniżej zaleceń Europejskiego Towarzystwa Medycyny Nuklearnej.

3.5. Obrazowanie molekularne w ocenie chorób nowotworowych

3.5.1. Synteza i kontrola jakości ^{68}Ga -PSMA - znacznika PET/CT stosowanego w obrazowaniu gruczołów prostaty oraz porównanie otrzymanych obrazów z obrazami uzyskanymi przy użyciu ^{18}F -fluorocholiny jako punkt odniesienia.

Kierownik: Andrea d'Amico

M. Pocięgiel, D. Pogoda, M. Szydło, T. Kowalski, M. Jadwiński

Realizacja projektu pn. „Obrazowanie molekularne w ocenie chorób nowotworowych” została zakończona, czego wynikiem jest publikacja naukowa wysłana do akceptacji „Letters in Drug Design&Discovery”-aktualnie w trakcie procesu akceptacji.

Kliniczna użyteczność znaczników PET/CT na bazie choliny (^{11}C -cholina i ^{18}F -fluorocholina) w obrazowaniu nawrotu raka prostaty jest dobrze ustalona, jednak wychwyty choliny nie zwiększa się u znacznej liczby pacjentów.

W 2012 r. zaproponowano nowy radioznacznik, będący znakowanym przy użyciu galu-68 peptydem PSMA. ^{68}Ga -PSMA jest specyficzny dla gruczołu krokowego, charakteryzuje się wyższą czułością i swoistością niż znaczniki cholinowe.

Celem niniejszej pracy było opisanie procedur znakowania peptydu PSMA i procedur kontroli jakości tego związku jako produktu leczniczego oraz porównanie ich z procedurami syntezy i kontroli jakości ^{18}F -fluorocholiny. Uwzględniono zarówno ręczne, jak i zautomatyzowane metody syntezy ^{68}Ga -PSMA oraz zestaw metod kontroli jakości opartych głównie na metodach chromatograficznych i spektrometrycznych stosowanych do określenia czystości chemicznej, radiochemicznej i radionuklidowej. Czas syntezy PSMA, narażenie radiologiczne operatorów i protokoły kontroli jakości zostały porównane do choliny.

Na koniec pokazano kilka obrazów PET wykonanych za pomocą ^{18}F -Fluorocholine i ^{68}Ga -PSMA u tych samych pacjentów.

3.6. Mikrośrodowisko guza, komórki macierzyste, waskulogeneza oraz niestabilność genetyczna jako czynniki odpowiadające za heterogenność guzów litych.

3.6.1. Waskulogeneza i komórki macierzyste indukowane środowiskiem guza jako czynniki rokownicze raka jelita grubego w oparciu o wykorzystanie mikromacierzy tkankowych.

Kierownik: D. Lange

A. Stanek-Widera, M. Biskup-Frużyńska, M. Zeman, M. Śmieszek, J. Simek, J. Młynarczyk-Liszka, T. Kącik

Celem badania jest wykazanie zależności między ekspresją komórek macierzystych (CD 133), obecnością komórek inicjujących komórki guza (CXCR-4) i waskulogenezą, a gorszą odpowiedzią na leczenie i złym rokowaniem związanym z wystąpieniem przerzutów.

Heterogenność guzów, w tym także raków jelita grubego sprawia, że zastosowanie tych samych metod leczenia do identycznych guzów pod względem histologicznym, TNM, czy gradingu przynosi różne rezultaty. Możliwość ustalenia czynników warunkujących gorszą odpowiedź na leczenie czy też pojawienie się przerzutów pozwoliłoby na zastosowanie spersonalizowanych metod postępowania. Badania ostatnich lat ujawniły obecność w podścielisku guza komórek macierzystych colorectal cancer stemm cells (CRC) oraz komórek zwanych tumor-initiating cell (Co-TIC), których obecność związana jest z gorszym rokowaniem. W ścianie jelita objętej procesem nowotworowym obserwujemy mikroskopowo włóknienie, stan zapalny oraz często martwicę. Porównanie tkanek guzów jelita grubego poddanych leczeniu jak i tych, u których leczenia nie zastosowano (z podziałem na dwie podgrupy : z przerzutami i bez przerzutów do węzłów chłonnych) wydają się być istotną obserwacją dla ustalenia czynników rokowniczych i prognostycznych.

Badanie ma charakter retrospektywny. Zebraliśmy materiał obejmujący 200 przypadków raka jelita grubego, podzielonych na dwie zasadnicze grupy: pierwszą stanowią pacjenci, którym najpierw usunięto guz, a potem zastosowano leczenie, w tej grupie znajdują się przypadki z przerzutami do węzłów chłonnych i bez, w proporcji po ok. 50%. Druga grupa to pacjenci u których zastosowano leczenie przedoperacyjne, w tej grupie także znajdują się pacjenci podzieleni na dwie podgrupy ze względu na obecność przerzutów do węzłów chłonnych w proporcji 50/50. Zakupione zostały przeciwciała do wykonania badań IHC (CD 133, CXCR-4). Podoplanina i CD34 są rutynowo wykonywane w naszym zakładzie. Przygotowane zostało 200 przypadków raków jelita grubego operowanych i ocenianych w Instytucie Onkologii w latach 2006-2010. Wybrany materiał w postaci bloczków i szkiełek poddany został ponownej ocenie histopatologicznej pod kątem dostępności materiału tkankowego (reprezentatywny fragment guza wraz ze ścianą i otaczającą tkanką tłuszczową). Materiał został ponownie skrojony. Z każdego bloczka tkankowego wykonano jedno barwienie hematoksyliną-eozyną, celem uzyskania świeżego przekroju niezbędnego do oceny dostępnego materiału i wykonania skanów preparatów. Zeskanowaliśmy 100 preparatów jelit, które nie zostały poddane leczeniu przedoperacyjnemu. Po zeskanowaniu wszystkich preparatów zostaną wybrane miejsca do wykonania mikromacierzy tkankowych, a po barwieniu IHC dokonana zostanie ocena obecności komórek macierzystych (CD 133) i komórek inicjujących komórki guza (CXCR-4). Przygotowano z każdego przypadku po dwa przekroje (nie barwione) na barwienie immunohistochemiczne (Podoplanina i CD34). Barwienie naczyń limfatycznych (Podoplanina) oraz krwionośnych (CD34) dokonane zostanie immunohistochemicznie z dużych skrawków tkankowych, ponieważ posiadając doświadczenie własne z przeprowadzonych badań uważamy, że mikromacierze tkankowe są niewystarczające (nowopowstające naczynia krwionośne i limfatyczne mają kręty przebieg i obserwuje się je na dużym obszarze).

Ocena waskulogenezy zostanie dokonana po przygotowaniu wszystkich preparatów, z których część jest na etapie wykonywania skrawków z bloczków tkankowych. Parametry kształtu naczyń zostaną ocenione po obróbce na tablecie graficznym tak przygotowanego materiału skanowanych i wybarwionych w IHC skrawków guza.

Ekspresja komórek macierzystych CD 133 i komórek inicjujących komórki guza (CXCR-4) powinna ujawnić się w przypadkach z przerzutami do węzłów chłonnych w grupie pierwszej (bez leczenia

przedoperacyjnego) co powinno korelować z pojawieniem się „nowotworowych” naczyń chłonnych o określonych parametrach kształtu (nieregularny przebieg, drobne, łukowate, ostro zakończone i liczne naczynia). Podobna obserwacja powinna wystąpić w grupie drugiej, poddanej leczeniu przeoperacyjnemu, gdzie ekspresja komórek macierzystych CD 133 i komórek inicjujących komórki guza (CXCR-4) przetrwałych po leczeniu, powinna pojawić się w podścielisku guza, czemu powinna towarzyszyć wzmożona waskulogeneza.

Uzyskane wyniki będą przedmiotem publikacji.

3.6.2. Ekspresja CD133, ALDH-1 oraz neowaskulogeneza jako czynniki rokownicze w rakach piersi.

Kierownik: D. Lange

A. Stanek-Widera, M. Biskup-Frużyńska K. Widera, K. Cedor, K. Czyż, M. Wesółowski, J. Młynarczyk-Liszka, M. Środa

Ocena zależności obecności komórek macierzystych, ryzyka pojawienia się przerzutów i zjawiska waskulogenezy w guzach piersi i węzłach chłonnych.

Rak piersi jest najczęściej występującym nowotworem u kobiet na całym świecie. Mimo obszernej wiedzy i olbrzymiego doświadczenia w diagnostyce i terapii nadal wskaźniki zapadalności i umieralności są zbyt wysokie. Podejmowane są próby korelacji różnych czynników kliniko-patologicznych, które pozwolą lepiej poznać biologię guzów. Olbrzymia heterogenność guzów, także w obrębie tych samych typów molekularnych sprawia, że stosowanie schematów leczenia nie przynosi oczekiwanych rezultatów. Po nadziejach związanych ze spersonalizowanym leczeniem, nowe, niemal co roku ustalane poziomy ekspresji Ki 67, czy zmiany w interpretacji ekspresji receptorów steroidowych wydają się nie być rozwiązaniem. Badania nad obecnością komórek macierzystych indukowanych przez podścielisko guza wydają się obiecujące. Zagadnienie waskulogenezy i jej związek z przerzutowaniem w raku piersi jest zjawiskiem nadal do końca nie wyjaśnionym. Ciekawe wydaje się powiązanie wzmożonej waskulogenezy z obecnością komórek macierzystych w kontekście czynników złego rokowania związanego z pojawieniem się przerzutów. Jeszcze bardziej interesujący wydaje się fakt zaobserwowania tych zjawisk w materiale z grubej igły, który na obecnym etapie diagnostyki jest podstawowym źródłem informacji o guzie, na którym opiera się rokowanie i leczenie.

Badanie ma charakter retrospektywny i obejmuje 100 przypadków raka piersi.

Zebraliśmy materiał z biopsji gruboigłowej i pooperacyjnej (50 przypadków, które nie zostały poddane terapii przedoperacyjnej i 50 przypadków poddanych terapii neoadjuwantowej) pacjentek operowanych i diagnozowanych w Instytucie Onkologii w Gliwicach, w latach 2006-2012. Każda grupa zawiera część przypadków z przerzutami do węzłów chłonnych. Materiał został wybrany i poddany ponownej ocenie histopatologicznej. Dużą trudnością w skompletowaniu materiału było zebranie jednolitej pod kątem histologicznym grupy pacjentek, które miały w naszym Instytucie zarówno diagnostykę wstępną (gruba igła) jak i zabieg operacyjny po leczeniu lub przed leczeniem. Okazuje się, że migracja pacjentek między ośrodkami jest bardzo duża. Zakupione zostały przeciwciała CD133, ALDH-1.

Obecnie materiał jest na etapie wykonywania skrawków tkankowych :4 skrawki z każdego przypadku (dwa z grubej igły i dwa z guza z materiału pooperacyjnego) na badanie H-E i do barwień IHC: podoplanina, CD34. Po wykonaniu tych barwień materiał w postaci szkiełek H-E zostanie zeskanowany, a pozostałe skrawki zabarwione immunohistochemicznie na obecność naczyń (Podoplanina i CD34). Wykonamy następnie mikromacierze tkankowe oceniając ilość komórek macierzystych w podścielisku guza (CD 133, ALDH-1).

W grupie pacjentek, które nie zostały poddane terapii neoadjuwantowej w przypadkach, w których wystąpiły przerzuty spodziewamy się większej ilości „nowotworowych” naczyń, których obecność będzie korelowała z ekspresją komórek macierzystych, w przeciwieństwie do przypadków bez przerzutów.

W grupie pacjentek poddanych terapii neoadjuwantowej spodziewamy się, że gorszej odpowiedzi na leczenie, w postaci przetrwałych komórek guza, będzie towarzyszyła ekspresja komórek macierzystych,

które powinny ujawnić się w guzie, w zachowanych przerzutach w węzłach chłonnych, czemu powinna towarzyszyć nasilona „nowotworowa” wasculogeneza. Porównanie wartości materiału z grubej igły z materiałem pooperacyjnym będzie bardzo interesujące i takich wniosków w piśmiennictwie nie znalazłam.

3.6.3. Ocena ekspresji markerów nowotworowych komórek macierzystych: CD44 i ALDH1 w zmianach dysplastycznych błony śluzowej jamy ustnej i gardła środkowego oraz ich korelacja z ryzykiem transformacji złośliwej w zależności od statusu HPV

Kierownik: D. Lange

M. Biskup-Frużyńska, A. Stanek-Widera, M. Śnietura, A. Kopeć, T. Rutkowski

Rak płaskonabłonkowy głowy i szyi (Head and Neck Squamous Cell Carcinoma - HNSCC), w tym jamy ustnej i gardła środkowego (Oropharyngeal Squamous Cell Carcinoma - OPSCC) jest 6-tym najczęściej występującym nowotworem złośliwym na świecie. Częstość HNSCC związanego z infekcją wirusem HPV wysokiego ryzyka (HR-HPV (+) HNSCC) znacząco wzrosła w ostatnich 20 latach, podczas gdy częstość występowania HR-HPV(-) HNSCC stale spada. Pacjenci z grupy HR-HPV(+) mają lepsze rokowanie pomimo zwykle większego zaawansowania choroby w momencie diagnozy.

Istnieje coraz więcej dowodów na to, że rozwój, progresja, wznowa i powstawanie przerzutów HNSCC zależy od małej populacji komórek - nowotworowych komórek macierzystych (Cancer Stem Cells - CSC). Po raz pierwszy zostały one zidentyfikowane w ostrych białaczkach szpikowych, w 1997 roku, a w guzach litych w 2003 roku. Udowodniono, że są odporne na radio- i chemioterapię i mogą odtwarzać masę guza z zachowaniem pełnej heterogenności z niewielkiej liczby komórek.

U części pacjentów chorych na HNSCC przebieg jest jednak zaskakująco niepomysłny pomimo dodatniego statusu HR-HPV.

Potrzebne są nowe biomarkery ułatwiające identyfikację zmian o gorszym rokowaniu, aby zoptymalizować postępowanie z pacjentami. CD44 i ALDH1 to badane w nowotworach złośliwych od ponad 20 (CD44), 8 (ALDH1) i 4 lat (CD98) markery CSC.

CSC stanowią również obiecujący potencjalny punkt uchwytu dla nowych terapii lekowych.

Badanie ma charakter retrospektywny. Ze względu na bardzo słabą dostępność dalszych danych klinicznych na temat pacjentów, u których biopsja zmian błony śluzowej jamy ustnej i gardła środkowego wykazała jedynie zmiany dysplastyczne, w porozumieniu z Kierownikiem Programu Badawczego zdecydowano o zmianie obiektu badania na przypadki raka płaskonabłonkowego tej samej okolicy. Materiał stanowią wycinki z biopsji oraz tzw. „duży” materiał pooperacyjny z raków błony śluzowej jamy ustnej i gardła: 50 HPV(+) oraz 50 HPV(-) pacjentów diagnozowanych i leczonych w Instytucie Onkologii w Gliwicach. Zakupione zostały nowe przeciwciała: ALDH1 i CD98. Wykonano testy i kalibracje przeciwciał oraz badanie pilotażowe na mikromacierzy tkankowej zawierającej wycinki z 10 przypadków raków płaskonabłonkowych regionu głowy i szyi. Preparaty będące przedmiotem badania zostały poddane ponownej ocenie histopatologicznej.

Dokonano identyfikacji DNA wirusa HPV wysokiego ryzyka metodą PCR.

Zostaną wykonane i ocenione barwienia immunohistochemiczne: Ki67, CD44, ALDH1, CD98. Oceniony będzie odsetek procentowy komórek wykazujących dodatnią reakcję oraz w miarę możliwości (w zależności od wielkości wycinka) ich dystrybucja w tkance guza. Wyniki zostaną skorelowane z danymi klinicznymi uzyskanymi przed pobraniem wycinków i danymi z badań kontrolnych.

Na podstawie analizy literatury wydaje się, że odsetek procentowy komórek CD44 (+), ALDH1 (+) i CD98 (+) powinien mieć negatywną wartość prognostyczną w rakach jamy ustnej i gardła środkowego. Pacjenci z grupy HR-HPV(+) prawdopodobnie będą mieć niższy odsetek komórek CD44(+), ALDH1 (+) i CD 98(+) niż pacjenci HR-HPV(-). Jeśli badanie wykazałoby, że u części pacjentów HR-HPV(+) z chorobą o niekorzystnym przebiegu odsetek komórek wykazujących dodatnią reakcję byłby niski, mogłoby to sugerować, że istotna jest nie tylko ilość CSC, ale również ich fenotyp - prawdopodobnie odmienny w tej grupie chorych.

Uzyskane wyniki będą przedmiotem pracy doktorskiej i publikacji.

3.6.4. Ocena niestabilności mikrosatelitarnej w raku jelita grubego.

Kierownik: D. Lange

E. Zembala-Nożyńska, B. Nikiel, J. Huszno, Z. Kołosza

Rak jelita grubego, poza tradycyjną drogą rozwoju ze zmiany prekursorowej jaką jest gruczolak z dysplazją, opartej o zaburzenia niestabilności chromosomalnej, powstaje również w mechanizmie zaburzeń genów naprawczych DNA (MMR-mismatch repair) Mikrosatelity jako krótkie powtórzenia DNA (1-6 par nukleotydów) ulegają skróceniu lub wydłużeniu na skutek braku kontroli ich naprawy. Zaburzenie prowadzi do kancerogenezy. Mechanizm obserwowany jest poza rakiem jelita grubego również w nowotworach złośliwych żołądka, endometrium. Najlepiej poznanym zaburzeniem jest zespół Lyncha (ok. 2-4 % raków jelita grubego) na podstawie którego zdefiniowano geny odpowiedzialne za zjawisko określane niestabilnością mikrosatelitarną (MSI-microsatellite instability). Zjawisko to obserwowane jest również w blisko 15 % raków sporadycznych jelita grubego. Może mieć charakter dziedziczny, za który odpowiadają geny niestabilności satelitarnej, takie jak MLH1, MSH2, PMS1, PMS2, MSH6 lub niedziedziczny na zasadzie uszkodzenia somatycznego genów MMR, o charakterze hypermetylacji promotora MLH1. Geny te posiadają swoje odpowiedniki białkowe i mogą być wykrywane metodami immunohistochemicznymi.

Na podstawie obserwacji zauważono, że raki podlegające zaburzeniom niestabilności mikrosatelitarnej charakteryzują się częściowo odmienną histokliniką i lepszym rokowaniem. Ponadto wymagają innego postępowania leczniczego.

Wśród cech klinicznych, są to guzy częściej zlokalizowane po prawej stronie okrężnicy, dotyczą młodszej grupy pacjentów, rzadziej przerzutuują i mają lepsze rokowanie. W obrazie histologicznym są to guzy gorzej zróżnicowane z naciekiem typu rdzeniastego, naciekowi raka często towarzyszy nacieki limfocytarny, łącznie z naciekiem spotykanym w chorobie Crohna, komórki raka wydzielają śluz, mogą zawierać komponent zmiany prekursorowej o charakterze polipa ząbkowanego.

W Amsterdamie w 1998 roku (2 modyfikacja) określono szczegółowe kryteria podejrzenia występowania niestabilności mikrosatelitarnej u pacjenta w oparciu między innymi o dokładny wywiad rodzinny, które następnie poszerzono w Bethesda w 2004 roku (kryteria zmodyfikowane). Obecność niestabilności mikrosatelitarnej wywołuje inną wrażliwość na chemioterapeutyki. Udowodniono brak odpowiedzi na fluorouracyl i wrażliwość na irynotekan.

Celem badania było wyszukanie wśród przypadków jelita grubego, leczonych w I.O w Warszawie, Oddział w Gliwicach, podejrzanych o występowanie niestabilności mikrosatelitarnej.

Materiał i metoda: Analiza kliniczno-morfologiczna miała charakter retrospektywny i opierała się na badaniach immunohistochemicznych z użyciem zestawu badań firmy DAKO (MLH1, MSH6, PMS2) i Roche (MSH2). W doborze przypadków kierowano się uproszczonymi kryteriami potencjalnego ryzyka występowania zaburzeń w zakresie genów naprawczych DNA (przynajmniej jedno kryterium), do których należały: wiek pacjenta (poniżej 50 r. życia), lokalizacja guza w proksymalnym odcinku jelita grubego, cechy histologiczne raka gruczolowego: obfite wydzielanie śluzu, obecność obfitego nacieku limfocytarnego typu Crohna, rak rdzeniasty jelita grubego. Wybrano 45 pacjentów, spełniających minimum jedno z podanych kryteriów. Przeprowadzono badanie immunohistochemiczne z zastosowaniem białek niestabilności mikrosatelitarnej MLH1, MSH2, PMS2, MSH6. Brak reakcji jądrowej z przeciwciałem w nacieku raka sugerował występowanie niestabilności mikrosatelitarnej.

Wyniki: Reakcja negatywna wiązała się z obecnością MSI (18 przypadków, 40%), w tym utrata MLH1 i PMS2 (prawdopodobne uszkodzenie genu MLH1) w 13 przypadkach, utrata MSH2 i MSH6 (prawdopodobne uszkodzenie genu MSH2) w 3 przypadkach, izolowana utrata MSH6 w 1 przypadku i PMS2 w 1 przypadku.

Przeprowadzono analizę kliniczno-morfologiczną. Rak jelita grubego przeważał nieznacznie u kobiet 10/18 w grupie z niestabilnością mikrosatelitarną (MSI) i 14/27 w grupie bez immunohistochemicznej niestabilności (N-MSI). Wiek chorych mieścił się w przedziale od 39 do 88 (mediana 66 lat). W grupie chorych z niestabilnością mikrosatelitarną wynosił: od 50 do 83 a w grupie chorych bez niestabilności: od 39 do 88. Mediana wieku była wyższa u chorych z MSI (69 lat) w porównaniu z grupą bez

niestabilności (63 lat), $p=0.179$. Guz zlokalizowany był u wszystkich pacjentów po prawej stronie w okolicy wstępnicy i w poprzecznicy. Wśród podtypów raka jelita grubego stwierdzono łącznie 5 przypadków raka śluzowego, 1 przypadek raka rdzeniastego i 12 raków cewkowych w grupie z MSI i 6 przypadków raka śluzowego, 2 raki typu rdzeniastego i 19 typu cewkowego w grupie bez niestabilności.

Stopień zróżnicowania raka obejmował stopnie G1-G3. Stopień 2 dominował w obu grupach występował w 31 przypadkach (68%), 11 w grupie MSI (61%) i 20 (74%) w grupie N-MSI. Grading 3 obserwowano łącznie u 11 (24%) chorych, 6 przypadków (33%) w grupie MSI i 5 przypadków (18%) w N-MSI. Nie stwierdzono zależności pomiędzy stopniem zróżnicowania G3 a obecnością MSI (28% vs. 22%, $p=0.466$). Stopień zaawansowania pT obejmował stopnie: T2 (naciekanie warstwy mięśniowej ściany jelita) T3 (naciekanie tkanki tłuszczowej) i T4 (przekraczanie błony surowiczej z naciekiem sąsiadujących narządów). Rak najczęściej naciekał tkankę tłuszczową w 11 przypadkach MSI (61%) i 20 przypadków N-MSI (74%). Obserwowano tendencję do wyższego stopnia zaawansowania miejscowego (T3/T4) u chorych z MSI w porównaniu do chorych bez niestabilności (67% vs. 48%, $p=0.179$). Przerzuty w węzłach chłonnych obserwowano łącznie u 23 chorych (51%), 5 (27%) w grupie MSI i 18 chorych (66%) w grupie N-MSI. Przerzuty występowały nieznamienne częściej u chorych bez niestabilności ($p=0.265$).

Chemioterapię otrzymało 26 (58%) chorych: 61% chorych z MSI i 56% chorych bez niestabilności. Najczęstszym schematem leczenia był LF1 (levofolik) (35%) chorych, z podobną częstością w obu grupach chorych (61% vs. 56%). Schematy z oksaliplatyną otrzymywało 7 (16%) chorych. Całkowitą i częściową remisję (CR+PR) uzyskano u 48% chorych, a progresja (PD) u 6 (13%). PD obserwowana była niezamiennie częściej u chorych bez MSI (19% vs. 6%), $p=0.214$. PR+CR znamienne częściej obserwowano u chorych otrzymujących chemioterapię zawierającą 5 fluorouracyl ($p=0.0001$). Samodzielna chemioterapia z zastosowaniem 5Fu stosowana była niezamiennie częściej u chorych z niestabilnością mikrosatelitarną (50% vs. 25%, $p=0.09$). W analizowanej grupie zaobserwowano tendencję do poprawy przeżycia całkowitego (OS) u chorych z obecnością MSI ($p=0.246$). Nie stwierdzono zależności pomiędzy OS a obecnością MSI u chorych otrzymujących chemioterapię z 5 fluorouracylem ($p=0.822$).

Drugim etapem badania było poszukiwanie wśród operowanych przypadków jelita grubego (w latach 2015-2016) przypadków niestabilności mikrosatelitarnej bez stosowania uproszczonych kryteriów amsterdamskich.

Przebadano immunohistochemicznie 44 przypadki raka jelita grubego, wśród których znaleziono 8 przypadków niestabilności mikrosatelitarnej w zakresie białka PMS2, MLH1, sugerujące niestabilność mikrosatelitarną w zakresie genu MLH1 (18%). Wiek chorych w tej grupie obejmował chorych od 55 do 76 lat. Rak gruczolowy występował w drugim stopniu zróżnicowania (G2) w trzech przypadkach oraz w pięciu w trzecim stopniu zróżnicowania (G3). Stopień zaawansowania pT wynosił 2 w dwóch przypadkach oraz pT 3 w sześciu. Tylko w jednym przypadku stwierdzono przerzuty w regionalnych węzłach chłonnych (stopień zaawansowania pN1b). Tylko jeden z raków prezentował wariant śluzowy oraz w jednym stwierdzono komponent śluzowy (do 15%).

Wprowadzenie w Polsce w lipcu 2017r nowych programów lekowych leczenia raka jelita grubego poszerza możliwość wyboru leczenia. Jeden z programów daje możliwość wyboru irynotekanu do leczenia chorych w stadium III klinicznego zaawansowania.

Badania będą kontynuowane na szerszej grupie pacjentów leczonych z powodu raka jelita grubego.

3.7. Lokalne parametry odpowiedzi immunologicznej oraz ich wpływ na rozwój guza nowotworowego.

3.7.1. Ocena czynników prognostycznych w czerniakach skóry w oparciu o skanowane preparaty analizowanych przypadków ze szczególnym uwzględnieniem nacieku limfocytów CD3 i CD8.

Kierownik: D. Lange

A. Stanek-Widera, M. Biskup-Frużyńska, S. Pakuło, M. Śmieszek, J. Simek, M. Jaworska, B. Nikiel

Celem badania jest wykazanie różnic w ocenie parametrów prognostycznych czerniaków skóry w mikroskopie świetlnym i obrazami skanowanymi. Wykorzystanie skanera umożliwia precyzyjną ocenę (pozbawioną subiektywizmu) zarówno w preparatach barwionych H-E jak i barwionych immunohistochemicznie podstawowych czynników prognostycznych: głębokości nacieku komórek guza, obecności nacieku z limfocytów i oceny indeksu mitotycznego ocenianego w 1 mm^2 .

Ponadto chcemy wykazać znaczenie prognostyczne obecności subpopulacji limfocytów T: CD8 i CD3. Czerniak skóry jest uważany za jeden z najbardziej immunogennych nowotworów. Staranna ocena nacieku limfocytów w zestawieniu z innymi głównymi czynnikami prognostycznymi wydaje się być kluczowa na etapie precyzowania rozpoznania histopatologicznego. Obecność nacieku limfocytów (TILs), jak udowodniły liczne badania na przestrzeni lat, jest ewidentnym, pojedynczym czynnikiem lepszego rokowania. Rozmieszczenie nacieku z limfocytów (brisk/non brisk), proporcja limfocytów T CD3 i CD8 oraz głębokość nacieku guza wyrażona w mm (Breslow) to najważniejsze czynniki rokownicze, których ocena w mikroskopie świetlnym nie jest pozbawiona subiektywizmu. Zastosowanie wiarygodnych i powtarzalnych narzędzi, na które pozwala digitalizacja preparatów zarówno barwionych hematoksyliną-eozyną (barwienie podstawowe) jak i immunohistochemicznych umożliwia precyzyjną ocenę, a co za tym idzie dokładniejsze zaszeregowanie pacjentów do odpowiednich grup ryzyka, indywidualizując terapię. W trakcie przygotowywania materiału do badania postanowiliśmy wzbogacić badanie o ocenę indeksu mitotycznego stosując p-ciało PHH-3, które w wiarygodny sposób zaznacza komórki ulegające podziałom. Pozwoli to na obiektywną ocenę indeksu mitotycznego, który w czerniakach ustalany jest na obszarze 1 mm^2

Badanie ma charakter retrospektywny. Materiał stanowi 89 przypadków czerniaków z lat 2001-2006, wśród których w 49 przypadkach wystąpiły przerzuty do węzłów chłonnych. Preparaty histologiczne z badanych przypadków czerniaków skóry i węzłów chłonnych (zarówno z przerzutami jak i bez przerzutów) zostały skrojone ponownie, celem uzyskania świeżych obrazów, zeskanowane, poddane ocenie podstawowych czynników prognostycznych ze skanów: (głębokość nacieku guza, TIL, indeks mitotyczny - ilość mitoz w 1 mm^2), porównane z pierwotną oceną histopatologiczną. W kolejnym etapie preparaty z guzów i węzłów chłonnych zostały poddane barwieniom immunohistochemicznym CD3 i CD8, PHH-3.

Materiał został pierwotnie zeskanowany, skrojony i zabarwiony. W tej chwili jesteśmy na etapie oceny wymienionych wyżej parametrów z ponownie zeskanowanych po barwieniu preparatów.

Wykonano tabele, w których zebrano dane kliniczne dotyczące pacjentów analizowanych przypadków.

Oczekiwane wyniki:

- wykazanie, że ocena zeskanowanych preparatów umożliwia precyzyjną oceną głębokości nacieku komórek guza wpływając na zmianę wcześniejszego pTNM
- wykazanie, że ocena subpopulacji limfocytów CD3 i CD8 może mieć znaczenie prognostyczne
- poprawa precyzji oceny liczby figur podziału na 1 mm^2 po dokonaniu barwienia PHH-3.

Uzyskane wyniki będą przedmiotem publikacji.

3.7.2 Ocena „imunoscoringu” w rakach piersi jako czynnika o znaczeniu prognostycznym z zastosowaniem mikromacierzy tkankowych.

Kierownik: D. Lange

A. Stanek-Widera, M. Biskup-Frużyńska, M. Śnietura, M. Turska-d'Amico, K. Widera, M. Śmieszek, J. Simek, A. Kopeć, R. Lamch

Celem badania jest wykazanie znaczenia prognostycznego ilości limfocytów CD3 i CD8 w rakach piersi i korelacji ich obecności z innymi ważnymi czynnikami rokowniczymi jak stan węzłów chłonnych czy podtyp molekularny. Ponadto ocena jakościowa i ilościowa nacieku limfocytów po leczeniu w guzach i w dostępnych węzłach chłonnych.

Rak piersi jest głównym nowotworem u kobiet, który mimo programów wczesnego wykrywania nadal nie jest wyleczalny na zadowalającym poziomie. Poszukiwanie czynników, które pozwolą we właściwy sposób dobrać terapię wydają się być kluczowe. Podział raków piersi na typy molekularne spersonalizował leczenie, ale jego rezultatów nadal nie umiemy przewidzieć. Wynika to z dużej heterogenności guzów, również w podgrupach o tym samym modelu molekularnym. Badania ostatnich wykazały istotne znaczenie nacieku z limfocytów jako kolejnego czynnika prognostycznego, zwłaszcza w przypadkach raków o najgorszym rokowaniu (raków trójjemnych). Wykazano, że obecność nacieku powyżej 50% w stosunku do powierzchni guza ma znaczenie rokownicze. Biorąc pod uwagę, że stan węzłów chłonnych jest nadal najważniejszym pojedynczym czynnikiem rokowniczym, wydaje się być słuszne dokonanie analizy obecności nacieku limfocytów w różnych typach molekularnych z uwzględnieniem stanu węzłów chłonnych.

Badanie ma charakter retrospektywny. Materiał stanowiło 120 przypadków raka piersi z uwzględnieniem 60 przypadków raka piersi o lepszym rokowaniu (w tym 30 przypadków podtypu luminalnego A i 30 przypadków raka o podtypie luminalnym B, 30 przypadków o podtypie HER-2 dodatnim nieluminalnym) oraz 30 przypadków raka o złej prognozie (podtyp trójjemny). Analiza obejmuje materiał z grubej igły (przed leczeniem neoadjuwantowym) oraz materiał po leczeniu (HT, CT) z włączeniem węzłów chłonnych oraz węzłów chłonnych wartowniczych. Materiał został wybrany. Dokonano ponownej oceny histopatologicznej materiału. Materiał jest na etapie krojenia pojedynczych skrawków z każdego zakwalifikowanego do analizy przypadku. Z każdego przypadku wykonywane są trzy preparaty H-E (z grubej igły, z materiału operacyjnego w tym guz i węzeł chłonny). Zabarwione H-E preparaty zostaną zeskanowane i posłużą do wykonania mikromacierzy tkankowych. Po ich wykonaniu zostanie przeprowadzone badanie IHC celem oceny ilościowej i jakościowej CD3 i CD8. Ta ocena zostanie dokonana komputerowo na skanowanych, preparatach celem obiektywizacji oceny.

Badaniu zostaną poddane preparaty z grubej igły, z materiału pooperacyjnego i dostępnych węzłów chłonnych, z utworzeniem w miarę jednolitych pod względem histologicznym grup badawczych (wyszukane przypadki to rak przewodowy od G1-G3).

Wykonano tabele, w których zebrano dane kliniczne dotyczące pacjentów analizowanych przypadków.

Dostępne badania wykazują korelację nacieku limfocytów z lepszą prognozą w rakach piersi. Brak w dostępnej literaturze proponowanej przez nas konstrukcji badania.

Oczekuję, że obecny naciek z limfocytów będzie miał znaczenie prognostyczne, inne dla każdego z podtypów molekularnych i powinien mieć związek z obecnością przerzutów i wielkością guza.

Być może istotne okaże się określanie obecności nacieku z limfocytów (TIL) nie tylko w typie trójjemnym

Uzyskane wyniki będą przedmiotem publikacji.

3.7.3 Ocena wartości prognostycznej nacieków limfocytów T cytotoksycznych (CD3) i limfocytów T pamięci (CD8) w mikrośrodowisku guza z wykorzystaniem metody IMMUNOSCORE w grupie pacjentów leczonych chirurgicznie z powodu raka jelita grubego.

Kierownik: D. Lange

S. Pakuło, E. Stobiecka, B. Nikiel, W. Bal, M. Jaworska, D. Ponikiewska, B. Szczęśnik-Khusek, K. Czyż

Do badania włączono 126 pacjentów leczonych chirurgicznie z powodu raka jelita grubego w COI w Gliwicach. Badana grupa charakteryzuje się średnią wieku 62,384 (SD +/- 10,246), podziałem na płeć: kobiety 59 (46,82%), mężczyźni 67 (53,17%), stopniem zaawansowania pT: pT1-2 26 (20,6%), pT3-4 101 (79,4%), stopień zaawansowania pN: pN0 60 (47,62%), pN1-2 66(52,38%), stopień złośliwości G1 20 (15,87%), G2 94 (74,60%), G3 12 (79,52%). Ze zgromadzonego materiału tkankowego znajdującego się w blockach parafinowych wykonano mikromacierze tkankowe za pomocą automatycznego systemu TMA Grand Master. Markery immunohistochemiczne *CD3* oraz *CD8* zostały oznaczone w automatycznym systemie Ventana BenchMark ULTRA. Kolejnym etapem przewidzianym na 2018r jest ocena ekspresji markerów za pomocą dedykowanego oprogramowania QuantCenter zgodnie z protokołem IMMUNOSCORE oraz w sposób tradycyjny. Uzyskane dane doświadczalne zostaną poddane analizie statystycznej razem z dostępnymi danymi klinicznymi oraz raportami histopatologicznymi. Planowana jest publikacja uzyskanych wyników badań.

3.7.4. Charakterystyka lokalnej odpowiedzi immunologicznej w raku płaskonabłonkowym gardła środkowego z uwzględnieniem statusu HPV guza nowotworowego.

Kierownik: D. Lange

M. Śnietura, A. Kopeć, T. Rutkowski, W. Pięłowski, R. Lamch, A. Stanek-Widera

Celem badania jest scharakteryzowanie lokalnej odpowiedzi immunologicznej w rakach płaskonabłonkowych gardła w zależności od obecności genomu HPV w guzie nowotworowym.

W pracy oceniane są lokalne nacieki limfocytarne (TILs) frakcji cytotoksycznej i regulatorowej oraz nacieki z makrofagów fenotypu M2 (TAMs).

Dotychczas zgromadzono materiał histopatologiczny w postaci blocków parafinowych zawierających utkanie guza pierwotnego od 88 chorych leczonych w COI o/w Gliwicach z powodu raka płaskonabłonkowego jamy ustnej lub gardła. U 45 chorych metodą qRT-PCR potwierdzono obecność wirusa brodawczaka ludzkiego wysokiego potencjału onkogenego typu 16 oraz we wszystkich tych przypadkach wykazano jego aktywność biologiczną poprzez wizualizację akumulacji białka P16(INK4A) metodą immunohistochemiczną w skrawkach parafinowych.

W pozostałych 43 przypadkach wykluczono infekcję HPV wysokiego potencjału onkogenego (test PCR na obecność 14 typów HR-HPV) oraz immunohistochemicznie poprzez demonstrację braku charakterystycznej dla infekcji HPV ekspresji markera P16 w komórkach nowotworowych.

Ponadto, w obu grupach metodą qRT-PCR wykluczono infekcję wirusem HPV z grupy typów o niskim potencjale onkogenym (HPV6 oraz HPV11), które mogłyby mieć wpływ na nasilenie i charakter ocenianej odpowiedzi immunologicznej.

Krótką charakterystyką kliniczno – histopatologiczną przedstawioną została w Tabeli 1.

Tabela 1 Charakterystyka kliniczno-histopatologiczna pacjentów zakwalifikowanych do badania

Cecha	Grupa HR HPV(+) n=45	Grupa HR HPV(-) n=43
Wiek (mediana, zakres)	62 (39-81) lat	61 (31-74) lat
Płeć	Kobiety:21 Mężczyźni: 24	Kobiety: 9 Mężczyźni: 34
Lokalizacja	Gardło środkowe: 37 Nosogardło: 3 Gardło dolne: 4	Jama ustna: 10 Gardło środkowe: 25 Gardło dolne: 8
Typ histopatologiczny	Rak płaskonabłonkowy: 45 w tym nisko zróżnicowany: 2	Rak płaskonabłonkowy: 43
Stopień złośliwości	G1: 0 G2: 17 G3: 6 ND: 22	G1: 1 G2: 22 G3: 1 ND: 19

Dla wszystkich 88 przypadków wykonano barwienia immunohistochemiczne na markery makrofagów CD163 oraz limfocytów T cytotoksycznych i regulatorowych (CD8 oraz FoxP3). Barwienia wykonane zostały na standardowych, seryjnych skrawkach parafinowych z zastosowaniem automatycznej linii barwiącej PT-Link/Autostainer (Dako, Denmark). Wizualizacji reakcji antygen-przeciwciała dokonano z użyciem systemu EnVision HRP+ (Dako, Denmark) natomiast charakterystyka i stężenia zastosowanych przeciwciał pierwotnych przedstawione zostały w Tabeli 2

Tabela 2 Charakterystyka zastosowanych przeciwciał pierwotnych

Marker	Typ przeciwciała/klon/producent	Stężenie	Tkanka kontrolna
CD8	monoklonalne/C8/144B/Dako	RTU	migdałek
CD163	monoklonalne/SP96/Zytomed	1:100	migdałek
FoxP3	monoklonalne/SP97/Novus Biologicals	1:100	wyrostek robaczkowy
P16	Monoklonalne/E6H4/Roche Diagnostics	RTU	migdałek

Wszystkie wybarwione preparaty zeskanowane zostały do postaci cyfrowej w skanerze Panoramic Flash III (3DHitech, Węgry) pod powiększeniem obiektywu 40x i przygotowane do dalszej analizy komputerowej w nakładce NuclearQuant i HistoQuant.

W kolejnym roku realizacji zadania wykonane zostaną komputerowo wspomagane analizy uzyskanych odczynów immunohistochemicznych oraz zebrane i opracowane zostaną obserwacje kliniczne oraz dotyczące czasów przeżycia chorych w poszczególnych grupach.

3.7.5. Ocena odpowiedzi na leczenie neoadjuwantową chemioterapię w rakach potrójnie ujemnych w korelacji ze statusem TILs w materiale przed i pooperacyjnym wraz z oceną ekspresją PD-L1.

Kierownik: D. Lange

E. Chmielik, D. Ławniczak-Cielińska, M. Jarzab, P.J. Paul, J. Simek, K. Czyż, B. Nikiel, J. Liszka

Materiał badawczy stanowiło 30 przypadków pierwotnych raków piersi G-3 potrójnie ujemnych (ER-/PR-/HER-2) zdiagnozowanych w biopsji gruboigłowej od pacjentek bez uprzedniej historii nowotworowej, u których następnie zastosowano chemioterapię przedoperacyjną i leczenie operacyjne. Guzy przedoperacyjnie mierzyły od 6 mm do 65 mm (30mm średni rozmiar guza), natomiast pooperacyjnie od 0 mm do 65 mm (mm średni rozmiar guza). Komórkowość badanych guzów oceniana przedoperacyjnie w biopsjach gruboigłowych wynosiła od 20 do 80%, natomiast w materiale pooperacyjnym wahała się od 0 do 75%.

Ocena podścieliskowych TILs przeprowadzono z materiału przedoperacyjnego w biopsjach gruboigłowych metodą półilościową w mikroskopie świetlnym według wytycznych opublikowanych przez międzynarodową grupę roboczą Immuno-oncology Biomarker Working Group.

Ocena TILs przed leczeniem neoadjuwantowym wahała się między 5 a 90 %.

Ocena Stromal TILs w materiale pooperacyjnym opierała się na wytycznych zawartych w publikacji Provenzano i wsp. metodą półilościową w preparatach HE z największego przekroju guza pozostałego po leczeniu przedoperacyjnym i uwzględniała wszystkie komórki jednojądrowe (limfocyty i plazmocyty) w podścielisku guza lub jego łożu w przypadku całkowitej odpowiedzi na leczenie. Ocena Stromal TILs w materiale pooperacyjnym wynosiła od 1 do 80%.

Ocena ekspresji PD-L1 została przeprowadzona na podstawie barwnej, błonowej reakcji immunohistochemicznej (kompletnej bądź częściowej) o jakiegokolwiek intensywności z mysim przeciwciałem PD-L1 clone 22C3 (DAKO). Ekspresja PD-L1 w materiale przedoperacyjnym była obserwowana od 0 do 50% komórek raka (średnia 12%), a w materiale pooperacyjnym wynosiła od 0 do 80 % komórek raka (średnia 7%).

Ocena odpowiedzi na leczenie została przeprowadzona przy zastosowaniu kalkulatora Residual Cancer Burden (RCB) ze strony:

http://www.mdanderson.org/breastcancer_RCB

RCB jest obliczany w oparciu o 6 zmiennych, takich jak dwa największe wymiary łoża guza pierwotnego, wyrażona procentowo średnia komórkowość guza, udział procentowy utkania raka *in situ*, liczba węzłów chłonnych z obecnymi przerzutami raka, oraz średnica największego przerzutu.

Odpowiedź na przeprowadzone leczenie jest klasyfikowana do 4 klas: RCB0, RCBI, RCBII, RCBIII. Wśród badanej grupy 30 pacjentek 6 odpowiedziało całkowitą odpowiedzią na leczenie (RCB=0), odpowiedź częściowa była obserwowana u 4 pacjentek z RCBI, u 18 pacjentek z RCBII i 2 pacjentek z RCBIII.

Guzy z całkowitą remisją na leczenie, przedoperacyjnie charakteryzowały się średnią oceną TILs na poziomie 18%, średnią ekspresją PD-L1 w komórkach raka na poziomie 11% i średnim indeksem Ki-67 84%. W materiale pooperacyjnym średnia ocena TILs wynosiła 12 %. Ekspresja PD-L1 nie została oceniona ze względu na brak komórek raka.

Guzy z częściową remisją RCBI w biopsjach gruboigłowych wykazywały średnią wartość TILs wynoszącą 29% (10-75%), średnią ekspresję PD-L1 28% (10-50%) i średni indeks Ki-67 73 % (60-80%). Raki RCBI posiadały niską komórkowość (średnia 11%), wysokie TILs (średnia 50%) i średnią ekspresję PD-L1 na poziomie 31% komórek (10-80%).

W guzach z częściową odpowiedzią RCBII, przedoperacyjnie i pooperacyjnie średni TILs wynosił 24% i 27%, a średnia ekspresja PD-L1 odpowiednio 9 % i 4 %. Średni indeks Ki-67 wynosił 62 %.

W grupie 2 pacjentek, których raki zakwalifikowano, jako RCBIII, przedoperacyjnie i pooperacyjnie średni TILs wynosił 30% i 15%. Średnia ekspresja PD-L1 była jednakowa i wynosiła 3 %. Średni indeks Ki-67 wynosił 94 %.

Wstępne obserwacje w badanej grupie raków potrójnie ujemnych pozwalają wysunąć następujące wnioski:

-niskie TILs w biopsji gruboigłowej wiązało się z całkowitą odpowiedzią guza na leczenie neoadjuwantowe,

-ekspresja PD-L1 korelowała odwrotnie z klasą odpowiedzi częściowej RCBI-RCBIII (wskaźnik Pearsona $-0,66$).

Wskazana dalsza kontynuacja badań na większej grupie pacjentek.

3.8. Wartość spektroskopii protonowej rezonansu magnetycznego (1H MRS) w diagnostyce różnicowej zmian wewnątrzrdzeniowych.

3.8.1. 1H MRS prawidłowego rdzenia kręgowego i zmian wewnątrzrdzeniowych.

A. Hebda, P. Wawrzyniak, G. Stasik-Pres, M. Maliszewski, K. Majchrzak, H. Majchrzak

Ustalono finalną wersję protokołu badania wg którego zbierane są dane do analizy i pokrywa się on z doniesieniami literaturowymi. Metoda jest trudna w realizacji (jakość około 50% widm pozwala na ich dalszą analizę) zwłaszcza u pacjentów (mają na to wpływ: długi czas akwizycji, duża czułość na ruch, różnorodność zmian śródrdzeniowych). Bieżący rok poświęcono na pozyskiwanie widm zarówno dla grupy kontrolnej jak i dla grupy pacjentów. Ustalona metodyka badań została przedstawiona w postaci plakatu na konferencji European Congress of Radiology w Wiedniu w 2017. Praca na temat doświadczeń w w/w temacie została przyjęta jako prezentacja ustna na tym samym kongresie na 2018 r. Dalsze prace zakładają skompletowanie grupy kontrolnej, której dobra charakterystyka może pomóc we wdrożeniu metody do rutynowej diagnostyki zmian śródrdzeniowych.

Plakaty i prezentacje:

1. Parameters optimization and clinical experience in 1H MRS of spinal cord. Plakat European Congress of Radiology 2017
2. Usefulness of MRS of spinal cord - own experience. Przyjęcie na ustną prezentację European Congress of Radiology 2018

3.9. Zbadanie wartości prognostycznej, predykcyjnej i możliwości automatycznej detekcji granic guza metodą wieloparametrycznego obrazowania NMR metodami PWI, DTI, MRS, oraz PET/CT ze specyficznymi znacznikami u chorych na guzy mózgu.

Kierownik: R. Tarnawski

E. Nowicka, B. Bobek-Billewicz, Ł. Zarudzki, G. Stasik-Pres, H. Grzbiela, A. Grządziel, L. Hawrylewicz, K. Nowakowski, M. Gawkowska, S. Owczarek, A. d'Amico, M. Jurkowski, A. Hebda, A. Leśniak, K. Raczek-Zwierzycza

Celem pracy jest określenie wartości predykcyjnej i prognostycznej wybranych parametrów klinicznych, obrazowych i molekularnych, w tym obrazowania funkcjonalnego MRI i badań DNA/immunohistochemicznych materiału pooperacyjnego u chorych na glejaka wielopostaciowego i wysokozróżnicowane glejaki.

Badanie przeprowadzono na grupie 102 chorych na glejaka wielopostaciowego, leczonych w ramach wieloośrodkowych badań klinicznych. Do analizy cech powiązanych z rokowaniem wybrano podgrupę 62 chorych, których wobec rozpoznania GBM i wystarczającego stanu ogólnego zakwalifikowano do leczenia promieniami. W grupie tej było 53% mężczyzn, zakres wieku 22-78 lat, mediana 57.2 roku,

średni wiek 55.3 roku (95 CI 52.4-58.2 lat). Drugą grupę chorych (51) stanowią chorzy na zróżnicowane glejaki.

W celu analizy danych obrazowych nawiązano współpracę z Politechniką Śląską. W ramach tej współpracy opracowano system do automatycznej analizy widm IHMR. W ramach trójstronnej współpracy z DKFZ w Heidelbergu, na podstawie analizy badań MR od 20 chorych, poddawanych obserwacji przeciętnie przez 10,5 miesięcy od leczenia, opracowano także system wizualizacji obrazów T2w FLAIR, poddawanych ręcznej segmentacji przez radiologa. Stworzono automatyczny system oparty o oprogramowanie MITK. System ten pozwala na wizualizację progresji nowotworu w postaci tzw. map progresji, co może ułatwić znacząco śledzenie odpowiedzi guza na leczenie. W kolejnym kroku planowane jest porównanie wyników leczenia w badanej populacji chorych do szerszej grupy chorych na glejaka wielopostaciowego, celem identyfikacji istotnych czynników wpływających na rokowanie i identyfikacji podgrupy chorych która odnosi największą korzyść z leczenia.

W publikacji Early Detection of Malignant Transformation in Resected WHO II Low-Grade Glioma Using Diffusion Tensor-Derived Quantitative Measures Freitag MT^{1,2}, Maier-Hein KH³, Binczyk F⁴, Laun FB⁵, Weber C³, Bonekamp D², Tarnawski R⁶, Bobek-Billewicz B⁶, Polanska J⁴, Majchrzak H⁷, Stieltjes B^{1,8} PLoS One. 2016 Oct 14;11(10):e0164679. doi: 10.1371/journal.pone.0164679. eCollection 2016 przedstawiono wczesne wykrywanie transformacji anaplastycznej glejaków metodą wieloparametrycznego badania MRI.

W publikacji DALSA: Domain Adaptation for Supervised Learning From Sparsely Annotated MR Images.Goetz M, Weber C, Binczyk F, Polanska J, Tarnawski R, Bobek-Billewicz B, Koethe U, Kleesiek J, Stieltjes B, Maier-Hein KH IEEE Trans Med Imaging. 2016 Jan;35(1):184-96. doi: 10.1109/TMI.2015.2463078 przedstawiono wykorzystanie innowacyjnej metody uczenia maszynowego w ocenie obrazowania MRI.

W opublikowanym w 2017 roku artykule MiMSeg - an algorithm for automated detection of tumor tissue on NMR apparent diffusion coefficient maps. FranciszekBinczyk, Bram Stieltjes, Christian Weber, Michael Goetz, Klaus Meier-Hein, Hans-Peter Meinzer, BarbaraBobek-Billewicz, Rafal Tarnawski, JoannaPolanska INFORMATION SCIENCES Volume: 384 Pages: 235-248 Published: APR 2017

3.10. Nowe narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego (Zadanie realizowane w ramach projektu NCBiR Strategmed DZP/STRATEGMED2/2554/2014).

3.10.1. Wykorzystanie profilu genomycznego, proteomicznego i metabolomicznego nowotworu i surowicy krwi, oceny guza w badaniach obrazowych i stopnia regresji w trakcie chemioterapii neoadjuwantowej jako czynników wspierających decyzje o zakresie i metodach leczenia chirurgicznego i radioterapii.

Kierownik: R. Tarnawski

M. Jarzqb, B. Lange, E. Nowicka, A. Leśniak, K. Drosik-Rutowicz, M. Mianowska-Malec, B. Grandys, K. Raczek-Zwierzycyca, K. Nowakowski, H. Grzbiela, S. Owczarek, K. Widera, M. Kaźmierczak-Maciejewska, W. Bal, J. Nieckula, M. Sikora-Jopek, B. Bobek-Billewicz, J. Rembak-Szynkiewicz, M. Kaszuba, M. Gola, M. Szcasy, D. Adamiak, U. Kołtun, A. Dyla, M. Dobrut, A. Czarniecka, M. Turska-d'Amico, R. Szumniak, R. Ulczok, G. Woźniak, W. Turyk, A. Maciejewski, M. Kowalska, M. Halczok, M. Oczko-Wojciechowska, T. Tyszkiewicz, J. Żebracka, A. Pawlaczek, R. Cyplińska, A. Pfeifer, A. Syska-Bielak, A. Kluczewska-Gałka, K. Szczucka-Borys, A. d'Amico, K. Gorczewski, I. Gorczewska, D. Borys, J. Szczurek, D. Lange, E. Chmielik, A. Stanek-Widera, E. Stobiecka, D. Ponikiewska, B. Nikiel, D. Gabryś, K. Trela, M. Pietrowska, M. Kalinowska-Herok, A. Walaszczyk, M. Gawin, L. Ponge, P. Widlak, A. Skorupa, Ł. Boguszewicz, M. Gramatyka, M. Sokół

W ramach rozpoczętego projektu badawczego NCBIr (MILESTONE) gromadzono materiał do badań molekularnych. Na potrzeby projektu zabezpieczono w trakcie jego trwania próbki od ponad 450 chorych poddanych biopsji gruboigłowej piersi. Prace realizowane są we współpracy z Politechniką Śląską (zespoły prof. A. Świerniaka i prof. Ewy Piętki).

Dokonano szczegółowej analizy bioinformatycznej pierwszej części zbioru uczącego (90 biopsji pochodzących od 30 chorych, z różnymi podtypami raka piersi). Obecnie w toku jest analiza drugiej części zbioru uczącego (materiał od 50 chorych, razem 150 mikromacierzy).

Prowadzona jest szczegółowa analiza badań PET/TK wykonywanych u chorych przed chemioterapią oraz po 1 cyklu leczenia. Jak dotąd wstępnie podsumowano dane dotyczące 117 chorych, porównując parametry predykcyjne oceny odpowiedzi pomiędzy podtypami raka piersi. Stwierdzono istotną moc predykcyjną oceny odpowiedzi w podtypach: potrójnie ujemnym i HER2-dodatnim nieluminalnym, znacznie większa heterogenność odpowiedzi w stosunku do regresji ocenianej w kooperacyjnym badaniu histopatologicznym obserwowano w luminalnych podtypach raka piersi.

Kontynuowano prace związane z systemem dostępu do danych obrazowych raka piersi i systemem gruboigłowej nawigowanej biopsji pod kontrolą USG, z dokumentacją lokalizacji miejsca pobrania przez system śledzący lokalizację pistoletu biopsyjnego. Równocześnie, jako element przygotowania systemu trójwymiarowej rekonstrukcji obrazu guza w piersi prowadzone są badania dotyczące deformacji piersi w badaniach obrazowych wykonywanych w różnych ułożeniach (obecnie głównie na podstawie badania MR – w pozycji na brzuchu, i badania PET/CT - w pozycji na plecach). Przygotowano również założenia funkcjonalne systemu informatycznego dostępu do danych medycznych, kojarzącego prezentację danych obrazowych i danych opisowych oraz numerycznych, obecnie konsorcjum pracuje nad przygotowaniem prototypu systemu.

Zadanie będzie kontynuowane w 2018 r., planowana publikacja wyników dotyczących analizy heterogenności biopsji oraz wyników predykcji odpowiedzi na leczenie w oparciu o badanie PET/TK.

3.10.2. Molekularne markery złośliwości i agresywności guzka tarczycy jako narzędzie decyzji o zakresie leczenia operacyjnego i trybie leczenia uzupełniającego – badanie wielośrodkowe.

Kierownik: R. Tarnawski

M. Jarzqb, K. Drosicz-Rutowicz, B. Jarzqb, M. Oczko-Wojciechowska, A. Czarniecka, J. Krajewska, D. Handkiewicz-Junak

Zespół Kliniki uczestniczył w realizacji zadania 3.1.1. pn.: Opracowanie polskiego klasyfikatora molekularnego raka tarczycy pod kierownictwem dr J. Krajewskiej. Zadanie, realizowane w ramach projektu NCBIr MILESTONE ma prowadzić do opracowania narzędzia genomowego wspomagającego rozróżnienie złośliwych i łagodnych guzków tarczycy. Uważa się, że w 60-70% przypadków raka tarczycy można zidentyfikować znane zmiany ekspresji genów włączonych w proces karcinogenezy. Najnowsze badania potwierdzają korzyści z zastosowania diagnostyki cytologicznej i molekularnej w wątpliwych przypadkach.

Celem badania jest ocena diagnostycznej przydatności wieloczynnikowego klasyfikatora molekularnego w rozpoznawaniu ryzyka złośliwości guzków tarczycy na podstawie badania materiału z biopsji cienkoigłowej w porównaniu do standardowej oceny cytologicznej.

Pierwszorzędowym punktem końcowym jest poprawa jakości klasyfikacji mierzonej odsetkiem zmian poprawnie zakwalifikowanych jako łagodne lub złośliwe przy wykorzystaniu badania cytologicznego rozszerzonego o wieloparametryczny test molekularny w stosunku do badania cytologicznego samodzielnie o minimum 5 punktów procentowych. Badanie zaakceptowane przez Komisję Bioetyczną Instytutu jest przeprowadzone z prospektywną i retrospektywną rekrutacją chorych. W pierwszym etapie (retrospektywna faza badania) planowane jest zdefiniowanie algorytmu klasyfikatora molekularnego. Pierwszy etap badania zakończono w 2017 roku. W prowadzonej obecnie fazie prospektywnej klasyfikacja oparta łącznie o wynik testu molekularnego i cytologicznego zostanie

porównana z klasyfikacją opartą wyłącznie o wynik badania cytologicznego u wszystkich chorych, poddanych obu testom równocześnie. Ośrodki uczestniczące w badaniu włączają kolejnych chorych, którzy wyrażą świadomą zgodę na udział w badaniu i u których na podstawie subiektywnej oceny badaczka istnieje uzasadnione prawdopodobieństwo, że po przeprowadzeniu BACC chory będzie poddany leczeniu operacyjnemu. Dotyczy to zarówno chorych, u których wcześniej wykonana BACC dała wynik niejednoznaczny lub podejrzany a także tych, u których kliniczne cechy guzka wskazują na istotne ryzyko złośliwości.

Dotychczas w IO wykonano 2236 biopsji molekularnych oraz otrzymano od ośrodków zewnętrznych materiał pochodzący z 119 biopsji. W bieżącym roku zakończono I etap badania (faza retrospektywna): zgromadzono materiał do zbioru uczącego i opracowano algorytm klasyfikatora molekularnego. Zbiór uczący obejmuje 310 guzków poddanych biopsji, w tym 88 guzków z rozpoznaniem cytologicznym zmiany łagodnej (Bethesda II), 60 guzków z rozpoznaniem cytologicznym zmiany pęcherzykowej bliżej nieokreślonej (Bethesda III), 50 guzków z rozpoznaniem cytologicznym „podejrzenie nowotworu pęcherzykowego” (Bethesda IV), 41 guzków z podejrzeniem raka tarczycy (Bethesda V) i 70 guzków z rozpoznaniem cytologicznym raka tarczycy. Do analizy profilu ekspresji genów zastosowano mikromacierze wysokiej gęstości Human Transcriptome 2.0 (Affymetrix). Z 249 próbek wyselekcjonowanych do analizy ekspresji genów 240 nadawały się do hybrydyzacji z mikromacierzą. Dodatkowo wyselekcjonowano 144 próbki, które zostały pobrane jako popłuczyny po biopsji cienkoigłowej do analizy ekspresji genów z zastosowaniem tego samego typu mikromacierzy co w pełnej biopsji z guza. Amplifikację i dobrą jakość mikroamcierzy uzyskano dla 88 próbek. Łącznie, wszystkich mikromacierzy wykonano 328. Obecnie toczy się II etap badania – prospektywna walidacja klasyfikatora

Zadanie zostanie scalone z zadaniem 3.1.1 i realizowane w roku 2018 jako jedno zadanie, pod kierownictwem dr J. Krajewskiej (ZMNIEO).

3.10.3. Wykorzystanie genomycznego profilu raka stercza do oceny agresywności nowotworu i wsparcia decyzji o strategii terapeutycznej leczenia miejscowego.

Kierownik: R. Tarnawski

M. Gawkowska, A. Leśniak, L. Miszczyk, W. Majewski, B. Bobek-Billewicz, J. Rembak-Szynkiewicz, D. Lange

W ramach wstępnej części badania przeprowadzono analizę materiału Centrum Onkologii w Gliwicach (wszczęta rozprawa doktorska lek. B. Itrycha, promotor prof. W. Majewski). Oceniano wyniki leczenia radykalnego z zastosowaniem radioterapii radykalnej wśród chorych z rozpoznaniem raka gruczołu krokowego o pośrednim rokowaniu, z granicznymi parametrami w skali złośliwości histologicznej Gleasona (4+3 w porównaniu do 3+4). Biorąc pod uwagę niewielką dostępną literaturę, dotyczącą różnic odległych wyników leczenia radykalnego w zakresie czasu przeżycia wolnego od progresji i przeżycia całkowitego, u chorych z rozpoznaniem raka gruczołu krokowego według złośliwości histologicznej w skali Gleasona 4+3 w porównaniu do 3+4, w planie jest porównanie parametrów klinicznych do ekspresji wybranych genów mogących mieć związek ze stopniem agresywności raka stercza, a także obecności wybranych mutacji w materiale guza.

Materiał kliniczny stanowi łącznie grupa 300 chorych, poddanych radykalnej radioterapii w Oddziale Gliwickim Centrum Onkologii Instytutu w latach 2007-2012. Mediana wieku chorych wyniosła 70 lat (45-85 lat). Średnie, najwyższe PSA przed leczeniem onkologicznym, wyniosło 25,39 +/- 27,97 i wahało się od 1,5 do 240 ng/ml. Pacjenci wykonywali badania obrazowe przed rozpoczęciem leczenia, celem oceny zaawansowania miejscowego i wykluczenia przerzutów odległych. Wykonywano scyntyografię kości, rentgen klatki piersiowej, tomografię komputerową lub badanie ultrasonograficzne (USG) jamy brzusznej. W celu oceny zaawansowania miejscowego wykonywano bad per rectum, transrektalne badanie ultrasonograficzne (TRUS) lub rezonans magnetyczny (MRI) miednicy. W uzasadnionych przypadkach stosowano dodatkowe metody diagnostyczne, na przykład pozytonową tomografię emisyjną (PET-CT). W oparciu o wyżej wymienione badania obrazowe, nie stwierdzono u żadnego chorego przerzutów odległych.

Mediana okresu obserwacji wyniosła 52 miesiące. Odnotowano 34 (11%) biochemiczne niepowodzenia leczenia, a odsetek 5-letnich wyleczeń biochemicznych w całej grupie wyniósł 87%. Natomiast 5-letni odsetek przerzutów odległych wyniósł 9%. Porównana została charakterystyka kliniczna chorych: wiek, schorzenia współistniejące, najwyższe PSA, cecha guza T, grupy ryzyka, stosowanie neoadjuwantowej hormonoterapii pomiędzy grupami. W grupie Gleason 4+3 częściej stosowano neoadjuwantową hormonoterapię ($p=0,02$) Ocenę skuteczności leczenia mierzono aktualizowanym odsetkiem wyleczeń biochemicznych, wyleczeń miejscowych i regionalnych, przeżyć całkowitych i przeżyć bezobjawowych. W Grupie I, 5-letni odsetek wyleczeń biochemicznych wyniósł 84% w porównaniu do 89% w Grupie II i różnice te nie były znamienne ($p=0,51$). Aktualizowany 5-letni odsetek przerzutów odległych w Grupie I wynosił 9% a w Grupie II- 10%. ($p=0,52$). Rokowanie chorych na raka gruczołu krokowego w stopniu zróżnicowania wg Gleasona 7 poddanych radykalnej radioterapii nie różni się znamienne w zależności od dominującej komponenty 3+4 lub 4+3.

W ramach kontynuacji zadania w roku 2018 planowana jest pełna ocena histopatologiczna dostępnego materiału (błoczki parafinowe) oraz rozpoczęcie badań molekularnych, których zakończenie planowane jest na 2019 r.

3.11. Zbudowanie w oparciu o monitoring biomarkerów molekularnych, obrazowych, laboratoryjnych i klinicznych wieloparametrycznego modelu predykcji odpowiedzi guza nowotworowego i zdrowych tkanek na leczenie chorych na raka głowy i szyi.

Kierownik: K. Skłodowski

A. Wygoda, T. Rutkowski, A. Żyromska, A. Hajduk, A. Heyda, B. Pilecki, M. Kentnowski, P. Polanowski, U. Dworzecka, K. Dębiec, Ł. Boguszewicz, A. Mazurek, M. Śnietura, J. Mrochem-Kwarciak, R. Deja, I. Domińczyk, M. Pietrowska, S. Lukoszek, T. Stępień, M. Sokół, P. Widlak, D. Lange

Na podstawie przeprowadzonej analizy danych prospektywnych opartych na grupie 897 pacjentów wykazano, że:

1) Zaawansowanie raka regionu głowy i szyi znajduje odzwierciedlenie w stężeniach Cyfra 21.1 i SCC-Ag, szczególnie w stopniu M+, gdzie obserwuje się kilkakrotnie podwyższone ich stężenia. Oba związki zatem można uznać za markery płaskonabłonkowego raka głowy i szyi. Z obu markerów tylko Cyfra 21.1 ma wartość prognostyczną – wysokie stężenie Cyfra 21.1 po leczeniu z udziałem promieniowania (powyżej 2ng/ml) może być wczesnym objawem niepowodzenia, a w szczególności może wskazywać na obecność guza przetrwałego.

2) Białko ostrej fazy - CRP może być użytecznym parametrem w onkologii raka głowy i szyi – na etapie rozpoznania odzwierciedla nasilenie procesów zapalnych towarzyszącym nowotworzeniu, a na etapie leczenia pozwala monitorować toksyczność radioterapii i/lub chemioterapii. Normalizacja CRP po chemioterapii indukcyjnej u większości chorych może odzwierciedlać, oprócz cytotoksycznego, także jej efekt przeciwzapalny. Podwyższone, porównywalne wartości CRP u chorych poddanych radioterapii samodzielnej i skojarzonej z chemioterapią mogą sugerować, że leczenie promieniami jest zasadniczym czynnikiem prozapalnym.

3) Niskie stężenie albuminy przed leczeniem wiąże się z zaawansowanym rakiem głowy i szyi, i pozostaje w odwrotnym związku ze stężeniem białek ostrej fazy (CRP), co można tłumaczyć kachetycznym wpływem procesów zapalnych i progresji tego nowotworu. Hipoalbuminemia, niedożywienie oraz wyższy wskaźnik stanu zapalnego są niekorzystnymi czynnikami prognostycznymi świadczącymi o podwyższonym ryzyku niewyleczenia lub wznowy.

4) Podwyższone stężenie osteopontyny i obniżone stężenie hemoglobiny przed leczeniem wiąże się z bardziej zaawansowanym nowotworem. Osteopontyna po leczeniu może odgrywać ważną rolę w progresji guza i tworzeniu przerzutów. Wysokie stężenie osteopontyny i niskie stężenie hemoglobiny przed i po leczeniu predysponują do większego ryzyka zgonu.

5) Podwyższony wskaźnik bezwzględnej liczby neutrofilów do limfocytów po leczeniu jest niekorzystnym czynnikiem prognostycznym, świadczącym o podwyższonym ryzyku niewyleczenia, wznowy lub wystąpienia przerzutów odległych. Zmiany wskaźników zapalnych, tj. wzrost liczby leukocytów, neutrofilów, a spadek limfocytów po zastosowanym leczeniu, pozwalają na wyselekcjonowanie grupy chorych o szczególnie złym rokowaniu.

6) W pilotażowej grupie chorych na raka gardła środkowego wzorzec wychwytu 18-FDG w badaniu PET/CT różnił się między podgrupami o odmiennym statusie HPV, natomiast całkowita regresja metaboliczna po indukcyjnym leczeniu chemicznym nie gwarantuje podobnej odpowiedzi na następną, jednoczesną chemio-radioterapię raka głowy i szyi.

Dotychczasowe publikacje z powyższego programu badawczego:

Prezentacje ustne i plakatowe:

- Cyfra 21-1 as an Instant Prognostic Marker of Tumor Response on Radiation with or without Chemotherapy in Patients with Larynx and Hypopharynx Squamous Cell Carcinoma.

J.J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, R. Deja, A. Hajduk, P. Widłak, K.A. Składowski.
2016 Multidisciplinary Head and Neck Cancer Symposium, 18-20 lutego 2016; Scottsdale, Arizona, USA

- C-Reactive Protein as a Biomarker of Radiation Therapy and Chemotherapy Toxicity Monitoring in Patients with Head and Neck Cancer.

A. Wygoda, J.J. Mrochem-Kwarciak, M. Kentnowski, T. Rutkowski, B. Pilecki, A. Heyda, A. Hajduk, U. Dworzecka, I. Gawron, K. Grabińska-Dębiec, Ł. Michalecki, P. Polanowski, K. A. Składowski.
2016 Multidisciplinary Head and Neck Cancer Symposium, 18-20 lutego 2016; Scottsdale, Arizona, USA

- Methodology of Most Significant Cut-Off Level Substantially Improves the Outcome Prognosis in SCCHNC Patients Treated by Radiation with or without Chemotherapy.

K. Składowski, Ł. Boguszewicz, A. Hajduk, A. Heyda, A. Wygoda, T. Rutkowski, M. Sokół.
9th International Conference on Head and Neck Cancer, 16-20 lipca 2016; Seattle, Washington, USA

- Wartość prognostyczna SCC-Ag oraz Cyfra 21.1 jako markera wczesnej oceny skuteczności radioterapii u chorych na raka gardła i krtani.

J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, R. Deja, A. Hajduk, Ł. Boguszewicz, P. Widłak, K. Składowski.
4 Kongres Onkologii Polskiej, 12-15 października 2016; Łódź

- Wpływ chemioterapii i radioterapii na poziom białka C-reaktywnego (CRP) u chorych na raka regionu głowy i szyi.

A. Wygoda, J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, K. Składowski, M. Kentnowski, B. Pilecki, P. Polanowski, I. Gawron, U. Dworzecka
4 Kongres Onkologii Polskiej, 12-15 października 2016; Łódź
XII Śląska Szkoła Onkologii Klinicznej, 21-23 października 2016; Wisła

- Osteopontin (OPN) as an instant, predictive biomarker of tumor hypoxia and distant dissemination of HNSCC in patients treated by radiation and chemotherapy.

J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, R. Deja, Ł. Boguszewicz, P. Widłak, K. Składowski
22nd IFCC-EFLM European Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 11-17 czerwca 2017; Ateny, Grecja

- Prognostyczne znaczenie albuminy i białka C-reaktywnego u chorych na raka regionu głowy i szyi poddanych radioterapii.

D. Nazorek, J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, A. Chmura, D. Leś, Z. Kołosa, K. Składowski
XIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, 3-6 września 2017; Kraków

- Prognostyczne znaczenie osteopontyny (OPN) i hemoglobiny (Hb) u chorych na raka regionu głowy i szyi (RRGiSz) poddanych radio- i radio-chemioterapii.

J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, R. Deja, Ł. Boguszewicz, K. Składowski
XIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, 3-6 września 2017; Kraków

- Przydatność wskaźników stanu zapalnego dla predykcji i prognozy u chorych na raka regionu głowy i szyi.

M. Latos, J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, A. Chmura, Z. Kołosa, A. Celejewska, K. Składowski

XIX Zjazd Polskiego Towarzystwa Diagnostyki Laboratoryjnej, 3-6 września 2017; Kraków

- The Prognostic Value of Osteopontin (OPN) and Hemoglobin (Hb) Levels in Patients with Head and Neck Cancer Treated with Radiation Therapy.

J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, R. Deja, A. Chmura, D. Leś, P. Widlak, K. Składowski

59th ASTRO Annual Meeting, 24-27 września 2017; San Diego, California, USA

- Zastosowanie badania 18-FDG-PE/CT w prognozowaniu i ocenie odpowiedzi na chemio-radioterapię lub samodzielną radioterapię chorych na raka regionu głowy i szyi – obserwacje wstępne.

K. Dębiec, A. d'Amico, I. Gorczewska, T. Rutkowski, U. Dworzecka, P. Polanowski, J. Niedziałek, A. Wygoda, M. Kentnowski, B. Pilecki, D. Łożyńska-Podhrebelna, D. Leś, K. Składowski

VIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Radioterapii Onkologicznej, 70-lecie Centrum Onkologii-Instytutu w Gliwicach, 26-27 października 2017; Gliwice

- Przydatność wskaźników stanu zapalnego dla predykcji u chorych na raka gardła dolnego lub krtani.

M. Latos, J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, A. Chmura, D. Leś, K. Składowski

VIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Radioterapii Onkologicznej, 70-lecie Centrum Onkologii-Instytutu w Gliwicach, 26-27 października 2017; Gliwice

- Porównanie metabolizmu 18-FDG w badaniu PET/CT między grupami chorych na raka gardła środkowego (RGŚ) o odmiennym statusie HPV –obserwacje wstępne.

K. Dębiec, A. d'Amico, I. Gorczewska, T. Rutkowski, K. Składowski

VIII Zjazd Polskiego Towarzystwa Radioterapii Onkologicznej, 70-lecie Centrum Onkologii-Instytutu w Gliwicach, 26-27 października 2017; Gliwice

Publikacje:

- Early diagnosis of radiotherapy failure for patients with head and neck cancer: the role of biochemical markers.

J. Mrochem-Kwarciak, T. Rutkowski, A. Wygoda, R. Deja, A. Hajduk, K. Składowski

Tumori 2017; Jun 2:0. doi: 10.5301/tj.5000639. [Epub ahead of print]

4.1. Wpływ czynników klinicznych i histopatologicznych na odpowiedź na leczenie systemowe u chorych na raka piersi.

4.1.1. Ocena skuteczności neoadjuwantowej terapii u chorych na raka piersi w zależności od stopnia nacieku limfocytarnego guza (TILs) z uwzględnieniem biologicznych podtypów raka piersi.

Kierownik: E. Nowara

J. Huszno, E. Zembala-Nożyńska, A. Stanek-Widera, D. Lange, Z. Kołosa

Celem programu badawczego było przeanalizowanie zależności pomiędzy naciekami limfocytarnymi guza (TILs) (w stopniu od 0-3) a odpowiedzią na leczenie systemowe chorych na raka piersi.

Ocenę opierano na materiale pooperacyjnym składającym się z wycinka z guza z przylegającymi tkankami. Resorpcyjne zmiany po przeprowadzeniu biopsji gruboigłowej zostały odrzucone z procesu oceny. Stopień nacieku limfocytarnego (TILs) określono zgodnie z kryteriami Klintrupa i Mohammeda,

jako: brak nacieku, naciek łagodny, umiarkowany oraz nasilony. TILs został sklasyfikowany, jako: nieobecny (klasa 0), łagodny (klasa 1), umiarkowany (klasa 2) i nasilony (klasa 3). Odpowiedź na leczenie oceniona została na podstawie kryteriów RECIST.

Progresję choroby (PD) zaobserwowano u 5 (8%) chorych. Odpowiedź na leczenie (CR+PR+SD) odnotowano u pozostałych kobiet 55 (92%). Progresję choroby obserwowano u 6/60 (10%) chorych w badanej grupie. Odpowiedź na leczenie u 44 (73%) badanych osób. 16 chorych kontrolowanych było w ośrodkach poza Centrum Onkologii w Gliwicach lub nie zgłosiło się do kontroli. U chorych z guzami o wyższym stopniu nacieków limfocytarnych (TILs 3-4) nie obserwowano progresji choroby w porównaniu do grupy chorych z TILs 1-2 (0 vs. 11%, $p=0.568$). Wtórne nowotwory (rak jelita grubego, rak płaskonabłonkowy skóry, rak odbytu) rozwinęły się u 3 (5%) chorych. Obecność wtórnych nowotworów obserwowano tylko u chorych z guzami o niższym stopniu nacieku limfocytarnego (TILs 1-2). U żadnego chorego nie stwierdzono drugiego nowotworu w wywiadzie (0 vs. 5%, $p=0.762$). Wyższy stopień nacieku limfocytarnego obserwowany był w podtypach z nadekspresją receptora HER2.

Powyższe wyniki wskazują na zależność pomiędzy stopniem nacieku limfocytarnego (TILs 1-2) a progresją choroby oraz obecnością wtórnych nowotworów. U chorych z guzami o wyższym stopniu nacieku limfocytarnego nie obserwowano progresji ani wtórnych nowotworów. Wskazane jest kontynuowanie badań na większej grupie chorych.

Część wyników została przedstawiona w publikacji

Huszno J, Zembala Nożyńska E, Lange D, Kołosza Z, Nowara N. "The association of tumor lymphocyte infiltration with clinicopathological factors and survival in breast cancer". Polish Journal of Pathology. 2017.

4.1.2. Ocena powikłań i przebiegu leczenia systemowego chorych na nowotwory z wirusowym zapaleniem wątroby typu C (HCV) i B (HBV).

Kierownik: E. Nowara

J. Huszno, Z. Kołosza i B. Masłyk

Chorzy z rozpoznaniem raka piersi (BC) i towarzyszącą infekcją wirusem zapalenia wątroby typu B (HBV), typu C (HCV) lub zakażeniem ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV) stanowią dla klinicysty problem. Infekcje wirusowe mogą prowadzić do powikłań wątrobowych, takich jak: marskość wątroby, niewydolność wątroby czy rak wątrobowokomórkowy, ale także do powikłań poza wątrobowych, co może ograniczać możliwość zastosowania cytostatyków oraz zwiększać ryzyko powikłań chemioterapii. Celem pracy była ocena wpływu infekcji wirusowych na skuteczność i bezpieczeństwo chemioterapii u chorych na raka piersi na przykładzie opisu przypadku.

Retrospektywnej analizie poddano historię choroby 219 chorych na raka piersi diagnozowanych i leczonych w Centrum Onkologii – Instytut im M Skłodowskiej Curie w Gliwicach (COI) w 2015 roku. U wszystkich chorych wykonano badania krwi na obecność przeciwciał anti-HCV oraz HBsAg. Infekcję wirusową potwierdzono w badaniach laboratoryjnych u 6% chorych. Chorzy konsultowani byli w Poradni Hematologicznej, gdzie nie stwierdzono przeciwwskazań do leczenia systemowego. Chore zakwalifikowane zostały do chemioterapii. Dane kliniczne chorych, przebiegu leczenia oraz wyniki badań laboratoryjnych uzyskano z historii choroby. Liczba leukocytów, neutrofilii, płytek krwi oraz hemoglobiny oceniana była na początku leczenia systemowego oraz w trakcie chemoterapii w odniesieniu do skali CTCAE wersja 4.0.

Większość doświadczeń dotyczących zastosowania leczenia systemowego u chorych na WZWC dotyczy chorych na rak wątrobowokomórkowy oraz chłoniaków nieziarniczych. W przeprowadzonej analizie u wszystkich chorych otrzymujących chemioterapię zawierającą antracykliny / taxany doszło do wzrostu wartości transaminaz w stopniu G2. U żadnego chorego nie obserwowano powikłań hepatologicznych w stopniu >G3, które wymagałyby zakończenia chemioterapii. Powikłania hepatologiczne występowały w podobnym odsetku jak u chorych bez infekcji WZWC. 8% chorych wymagało redukcji dawki lub przesunięcia terminu kolejnego cyklu chemioterapii. U wszystkich chorych zakończyło leczenie systemowe zgodnie z zaplanowanym schematem. 53% chorych z

obecnością infekcji wirusowej pozostaje w regularnych kontrolach bez nawrotu choroby. Nie zaobserwowano zaostrzenia infekcji HCV pod wpływem chemioterapii. Aktualnie planowane jest poszerzenie grupy chorych o pacjentki, które mają wykonywane badania wirusowe przed kwalifikacją do biopsji gruboigłowej.

Planowane jest przedstawienie uzyskanych wyników w postaci prezentacji posterowej na MASCC/ISOO Annual Meeting on Supportive Care in Cancer 2018 Vienna, Austria, który odbędzie się w dniach 28-30 czerwiec 2018 roku w Wiedniu.

4.2. Nowotwory tarczycy i inne nowotwory układu wydzielania wewnętrznego: indywidualizacja postępowania diagnostyczno-terapeutycznego na podstawie kliniczno-patologicznych i molekularnych czynników prognostycznych.

4.2.1. Rak brodawkowy tarczycy i nowotwory o niepewnym potencjale złośliwości – optymalizacja postępowania terapeutycznego w kontekście badań molekularnych.

Kierownik: A. Maciejewski

A. Czarniecka, J. Krajewska, M. Jarzab, D. Rusinek, M. Oczko-Wojciechowska, E. Stobiecka, E. Zembala-Nożyńska, A. Sacher, B. Jarzab

Zadanie badawcze prowadzone jest w ramach projektu: Nowe molekularne narzędzia diagnostyki molekularnej i obrazowania w indywidualizowanej terapii raka piersi, tarczycy i gruczołu krokowego [Milestone]. STRATEGMED2/267 398/4/NCBR/2015

Podstawowym sposobem leczenia chorych ze zmianami ogniskowymi w tarczycy jest nadal leczenie operacyjne. Zakres operacji uzależniony jest od przedoperacyjnego badania cytologicznego, które niestety w 15-30% przypadków jest niejednoznaczne. Wówczas leczenie operacyjne (nie pozbawione zdarzeń niepożądanych i powikłań) ma charakter diagnostyczny. W 70-85% przypadków pooperacyjnie rozpoznawane są zmiany łagodne i operacji można byłoby uniknąć, dlatego tak ważne jest dokładne przedoperacyjne określenie ryzyka złośliwości i prawidłowy wybór zakresu operacji.

Głównym celem projektu jest opracowanie klasyfikatora molekularnego do diagnostyki zmian ogniskowych tarczycy w biopsji aspiracyjnej cienkoigłowej (BAC).

Obecnie opracowywany jest autorski klasyfikator molekularny na podstawie materiału z BAC oraz materiału z pobranych śródoperacyjnie fragmentów guzów.

Prowadzone jest badanie ekspresji genów metodą mikromacierzy DNA. Do zbioru uczącego wybrano dotychczas 310 biopsji: 88 kat II Bethesda, 60 III, 50 IV, 41V, 70VI. W kolejnym etapie planowana jest walidacja opracowanego klasyfikatora.

Zadanie jest wieloletnim badaniem wielośrodkowym będącym obecnie na etapie zbierania i opracowywania materiału biologicznego.

W ramach projektu od stycznia do września 2017 r wykonano w Klinice Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej 340 operacji tarczycy z pobraniem materiału do badań genetycznych.

Dodatkowo wykonano dalsze 80 oznaczeń mutacji V600E genu BRAF w grupie 265 chorych cT1N0M0 leczonych w ramach prospektywnego, nierandomizowanego badania klinicznego. Aktualnie status mutacji BRAF jest znany u 202 chorych na niskozaawansowanego raka brodawkowego tarczycy.

Obecnie przeprowadzana jest aktualizacja danych klinicznych przed przygotowaniem publikacji dotyczącej wyników leczenia chorych na raka brodawkowego tarczycy w stopniu zaawansowania klinicznego cT1N0M0 leczonych w ramach prospektywnego badania klinicznego prowadzonego w latach 2011-2015.

Dotychczasowe wyniki badań prowadzonych w ramach projektu przedstawiono:

- wykład w ramach Letniej Szkoły Cytologii Tarczycy i Konferencji Naukowej: „Cytologia i biologia molekularna zmian w tarczycy – od wirtualnej diagnostyki cytologicznej do decyzji o deeskalacji modelu terapii Gliwice 24-26.08.2017

A.Czarniecka: „Deeskalacja leczenia operacyjnego tarczycy na podstawie badań cytologicznych i molekularnych – stan dzisiejszy i perspektywy”

Prace opublikowane w ramach projektu:

Current Advances in Thyroid Cancer Management. Are We Ready for the Epidemic Rise of Diagnoses? Rusinek D, Chmielik E, Krajewska J, Jarzab M, Oczko-Wojciechowska M, Czarniecka A, Jarzab B. *Int J Mol Sci.* 2017 Aug 22;18(8)IF 3,25

The Prognostic Value of Tumor Multifocality in Clinical Outcomes of Papillary Thyroid Cancer. Wang F, Yu X, Shen X, Zhu G, Huang Y, Liu R, Viola D, Elisei R, Puxeddu E, Fugazzola L, Colombo C, Jarzab B, Czarniecka A, Lam AK, Mian C, Vianello F, Yip L, Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P, O'Neill CJ, Sywak MS, Clifton-Bligh R, Bendlova B, Sýkorová V, Wang Y, Liu S, Zhao J, Zhao S, Xing MJ *Clin Endocrinol Metab.* 2017 Jun 5. doi: 10.1210/jc.2017-0027IF 5,83

Gene Expression (mRNA) Markers for Differentiating between Malignant and Benign Follicular Thyroid Tumours. Wojtas B, Pfeifer A, Oczko-Wojciechowska M, Krajewska J, Czarniecka A, Kukulska A, Eszlinger M, Musholt T, Stokowy T, Swierniak M, Stobiecka E, Chmielik E, Rusinek D, Tyszkiewicz T, Halczok M, Hauptmann S, Lange D, Jarzab M, Paschke R, Jarzab B. *Int J Mol Sci.* 2017 Jun 2;18(6). pii: E1184. doi: 10.3390/ijms18061184IF 3,25

BRAF V600E Mutation-Assisted Risk Stratification of Solitary Intrathyroidal Papillary Thyroid Cancer for Precision Treatment.

Huang Y, Qu S, Zhu G, Wang F, Liu R, Shen X, Viola D, Elisei R, Puxeddu E, Fugazzola L, Colombo C, Jarzab B, Czarniecka A, Lam AK, Mian C, Vianello F, Yip L, Riesco-Eizaguirre G, Santisteban P, O'Neill CJ, Xing M, Sywak MS, Clifton-Bligh R, Bendlova B, Sýkorová V.

J Natl Cancer Inst. 2017 Nov 18. doi: 10.1093/jnci/djx227. Epub ahead of print IF 12,59

4.2.2 Rodzinny rak rdzeniasty tarczycy – wyniki leczenia operacyjnego u nosicieli mutacji protoonkogenu RET w zależności od typu mutacji, stadium zaawansowania klinicznego choroby, czasu rozpoczęcia leczenia i jego zakresu

Kierownik: A. Maciejewski

A. Czarniecka, M. Oczko-Wojciechowska, J. Krajewska, E. Stobiecka, M. Jarzab, A. Sacher, B. Jarzab

Odkrycie mutacji germinalnej protoonkogenu RET dało podstawy dla podejmowania decyzji o profilaktycznej tyroidektomii uzależniając postępowanie operacyjne od wyniku badania molekularnego. Badania te rozpoczęto w Centrum Onkologii w Gliwicach w 1996r, a w 1997 przeprowadzono pierwszą profilaktyczną tyroidektomię. Cel: Podsumowanie 20-letniego doświadczenia w leczeniu chorych na RRRT w kontekście czasu i zakresu operacji. Materiał i metody: Materiał stanowi 200 chorych na RRRT leczonych w Centrum Onkologii w Gliwicach, podzielonych na dwie grupy: grupa 1- operowani w latach 1997-2006: 105 chorych (podgrupa 1A: 32 leczonych profilaktycznie i podgrupa 1B: 73 operowanych w okresie klinicznie jawnym oraz grupa 2 operowani w latach 2007-2017: 95 chorych (podgrupa 2A: 30 operowanych profilaktycznie (kalcytonina <10pg/ml) i podgrupa 2B: 65 operowanych w okresie klinicznie jawnym). U wszystkich chorych mutację protoonkogenu RET oznaczano dwukrotnie na podstawie analizy DNA z leukocytów krwi obwodowej. Chorych leczonych w okresie klinicznie jawnym operowano zgodnie z zaleceniami Polskich Rekomendacji ds. Leczenia Raka Tarczycy, natomiast chorych z grupy 1A poddano całkowitemu wycięciu tarczycy z układem

chłonny centralnym, w 8 przypadkach rozszerzonym dodatkowo o obustronną, elektywną, boczną limfadenektomię szyjną. W grupie 2 A operację ograniczono jedynie do całkowitego usunięcia tarczycy

Wyniki: Najczęstszą obserwowaną mutacją była mutacja w kodonie 634, a następnie w kodonie 791. Rokowanie chorych operowanych w okresie klinicznie jawnym było gorsze od rokowania chorych poddanych profilaktycznemu wycięciu tarczycy (prawdopodobieństwo 10-letniego przeżycia całkowitego wynosiło 70% w porównaniu do 100%; $p < 0,05$). U żadnego chorego poddanego profilaktycznemu usunięciu tarczycy z układem chłonny centralnym nie stwierdzono przerzutów do węzłów chłonnych. U żadnego chorego z grup 1A i 2A nie odnotowano nawrotu choroby nowotworowej. U wszystkich chorych z grupy 1A i 2A uzyskano normalizację pooperacyjnego stężenia kalcytoniny, podczas gdy w grupie 1B u 31,5%, a w 2B u 63%. Wnioski: Operacje profilaktycznego wycięcia tarczycy są skutecznym, akceptowanym sposobem zapobiegania rozwojowi raka rdzeniastego tarczycy. Decyzja o wieku i zakresie operacji podejmowana być powinna na podstawie typu mutacji protoonkogenu RET, przedoperacyjnego stężenia kalcytoniny oraz wywiadu rodzinnego.

Wyniki częściowo prezentowano na konferencji: „Rak rdzeniasty tarczycy-historia terażniejszość i przyszłość” Warszawa 24.04.2017 w ramach wykładu:

A.Czarniecka, M. Dedecjusz: „Profilaktyczne leczenie operacyjne u nosicieli mutacji protoonkogenu RET: zasady planowania leczenia na podstawie diagnostyki DNA

oraz na VI Zjeździe Polskiego Towarzystwa Tyreologicznego 26-28.10.2017 w Szczecinie.

Tytuł: Rodzinny rak rdzeniasty tarczycy (rrrt) - znaczenie czasu i zakresu leczenia operacyjnego. Autorzy: A. Czarniecka, M. Zeman, M. Oczko-Wojciechowska, E. Stobiecka, M. Jarzab, A. Sacher, J. Krajewska, D. Handkiewicz-Junak, A. Maciejewski, B. Jarzab

Streszczenie w materiałach zjazdowych str. 95

Publikacja oryginalna w trakcie przygotowania.

4.2.3. Wartość predykcyjna radioizotopowej lokalizacji niemych klinicznie ognisk (ROLL) wznowy u chorych na raka tarczycy kwalifikowanych do leczenia operacyjnego

Kierownik: A. Maciejewski

M.Turska-d'Amico, A.Czarniecka, G.Woźniak, A.d'Amico

Biorąc pod uwagę dotychczasowe doniesienia dotyczące zastosowania techniki ROLL tj. 7 prac oryginalnych, w których największa analizowana grupa przypadków wyniosła 42, podjęto próbę oceny powyższej techniki opierając się na materiale Kliniki Chirurgii Onkologicznej i Rekonstrukcyjnej Centrum Onkologii-Instytutu Oddziału w Gliwicach (COIG), który aktualnie obejmuje 430 przypadki i wydaje się być największy na świecie.

Celem pracy jest retrospektywna ocena wartości predykcyjnej metody ROLL (Radioguided Occult Lesion Localisation) tj. radioizotopowego znakowania niepalpacyjnej wznowy lokoregionalnej i jej resekcji u chorych uprzednio wielokrotnie leczonych operacyjnie z powodu raka tarczycy.

Materiał będą stanowią przypadki tj. operacje z użyciem techniki ROLL przeprowadzone w latach 2002 – 2016 z powodu miejscowego lub węzłowego nawrotu raka tarczycy.

Technika ROLL zastosowana w tych zabiegach polega na przedoperacyjnym podawaniu radioznacznika pod kontrolą USG w uprzednio zdiagnozowane badaniem cytologicznym obszary niepalpacyjnej wznowy raka tarczycy, tj. kilku- kilkunastomilimetrowego obszaru. Radioznacznikiem wykorzystywanym w metodzie jest mikroalbumina, która pozostaje w miejscu podania, znakowana promieniotwórczym izotopem technetu. Wyznakowane ogniska raka są następnie śródoperacyjnie, precyzyjnie odnajdywane w polu operacyjnym przy użyciu detektora promieniowania gamma. Należy w tym miejscu zaznaczyć, że każda kolejna interwencja chirurgiczna w obszarze szyi, pokrytym licznymi bliznami po wcześniejszych zabiegach jest niezwykle trudna i wiąże się z coraz większym ryzykiem powikłań.

W chwili obecnej wykonawcy Programu Badawczego są w trakcie tworzenia bazy danych badanej grupy chorych. Uzyskane wyniki będą przedmiotem publikacji przygotowanego projektu

4.5. Optymalizacja metod pobierania i preparatyki krwiotwórczych komórek macierzystych.

Zad. 4.5.1. Optymalizacja składu stężenia DMSO w mieszaninie stosowanej podczas krioprezerwacji krwiotwórczych komórek macierzystych

Kierownik: S. Giebel

I. Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, A. Chwieduk, M. Głowala-Kosińska, A. Ciomber, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, K. Soska, W. Mendrek, J. Najda, M. Sadus-Wojciechowska, A. Frankiewicz, M. Ociepa, M. Krawczyk-Kuliś, G. Kamińska-Winciorek, J. Hołowiecki

Krwiotwórcze komórki macierzyste, pobrane metodą aferezy, często są poddawane krioprezerwacji. Zamrożenie ich w parach ciekłego azotu umożliwia bezpieczne przechowanie, na czas konieczny do przygotowania pacjenta do przeszczepienia. Jednym z głównych składników mieszaniny kriochronnej jest DMSO – związek zapobiegający tworzeniu kryształków lodu podczas zamrażania. Niestety, DMSO jest szkodliwe dla pacjenta i podczas przetaczania rozmrożonych preparatów krwiotwórczych komórek może powodować efekty uboczne (nudności, wymioty, zaburzenia rytmu serca). Obniżenie stężenia DMSO powinno zminimalizować te objawy. Obecnym, światowym standardem jest stosowanie 10% roztworu DMSO.

Celem badań była optymalizacja składu mieszaniny kriochronnej, stosowanej podczas preparatyki i przechowywania krwiotwórczych komórek macierzystych.

Projekt został zrealizowany w ramach badania prospektywnego. Jest on zarejestrowany na stronie ClinicalTrials.gov (numer identyfikacyjny: NCT02452099). Jest to pierwsze w świecie, prospektywne badanie dotyczące tej tematyki.

150 pacjentów zostało losowo przydzielonych do jednej z 3 grup; uzyskana od nich zawiesina krwiotwórczych komórek macierzystych została poddana krioprezerwacji w mieszaninie zawierającej 10%, 7,5% lub 5% DMSO. Poszczególne grupy chorych nie różniły się pod względem diagnozy, wieku, kondycjonowania oraz liczby przeszczepionych komórek krwiotwórczych. 143 pacjentów zostało poddanych przeszczepowi autologicznych komórek krwiotwórczych. Częstotliwość objawów ubocznych podczas transplantacji oraz w ciągu 24 godzin po jej zakończeniu była najniższa w grupie 5% DMSO ($p=0,02$ w porównaniu do 10% DMSO).

Kończym punktem analizy był czas odnowy poszczególnych linii hematopoetycznych u pacjentów po przeszczepieniu (pierwszy dzień, gdy WBC we krwi pacjentów przekroczy 1×10^9 /L; pierwszy dzień, gdy liczba ANC we krwi była wyższa niż $0,5 \times 10^9$ /L; pierwszy dzień, gdy liczba PLT przekroczy 20×10^9 /L, pod warunkiem, że ciągu 7 poprzedzających dni pacjent nie otrzymał KKP). Czas, konieczny do regeneracji WBC i ANC we krwi pacjentów po przeszczepieniu był identyczny we wszystkich grupach (mediana 10 dni, $p=0,36$ dla WBC oraz $p=0,2$ dla ANC). Mediana czasu koniecznego do uzyskania liczby płytek powyżej poziomu 20×10^9 /L wynosiła 16 dni we wszystkich badanych grupach ($p=0,61$).

Zmniejszenie stężenia DMSO w mieszaninie kriochronnej minimalizuje efekty uboczne podczas przeszczepienia, nie wpływając na czas regeneracji. Mieszanina kriochronna zawierająca 5% DMSO jest obecnie standardem stosowanym do krioprezerwacji krwiotwórczych komórek macierzystych w Klinice Transplantacji Szpiku i Onkohematologii.

Wyniki uzyskane podczas realizacji projektu zostały przedstawione w postaci doniesień zjazdowych. Przygotowano publikację, która została przyjęta do czasopisma *Bone Marrow Transplantation*.

Upowszechnienie wyników::

- Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, W. Mendrek, J. Najda, M. Sadus-Wojciechowska, J. Hołowiecki, S. Giebel: *Reduction of DMSO concentration in cryopreservation mixture from 10% to 7,5% and 5% has no impact on*

engraftment after auto-HSC transplantation 42th EBMT Annual Meeting, 3-6 kwietnia 2016, Valencia, Hiszpania (poster)

- Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, J. Najda, K. Soska, W. Mendrek, M. Sadus-Wojciechowska, J. Holowiecki, S. Giebel: *10% DMSO in cryoprotective mixture may be reduced to 5% without negative impact on hematopoietic engraftment. Final results of prospective, randomized trial* 43th EBMT Annual Meeting, 26-29 marca 2017, Marsylia, Francja (poster)
- Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, M. Czech, M. Prokop, A. Chwieduk, M. Glowala-Kosinska, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, W. Mendrek, K. Michalak, M. Sadus-Wojciechowska, J. Najda, J. Holowiecki, S. Giebel: *Reduction of DMSO concentration in cryopreservation mixture from 10% to 7.5% and 5% has no impact on engraftment after autologous peripheral blood stem cell transplantation: results of a prospective, randomized study* – publikacja przyjęta do druku w Bone Marrow Transplantation

4.5.2. Optymalizacja skuteczności i bezpieczeństwa procedury pobierania komórek krwiotwórczych oraz limfocytów z krwi obwodowej od honorowych dawców z zastosowaniem protokołów MNC oraz CMNC na aparacie Spectra Optia

Kierownik: S. Giebel

I. Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, A. Chwieduk, M. Glowala-Kosińska, A. Ciomber, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, K. Soska, W. Mendrek, J. Najda, M. Sadus-Wojciechowska, A. Frankiewicz, M. Ociepa, M. Krawczyk-Kuliś, G. Kamińska-Winciorek, J. Hołowiecki

Celem badania jest ocena skuteczności oraz czynników wpływających na efektywność aferezy komórek krwiotwórczych oraz limfocytów na separatorze komórkowym Spectra Optia w systemach MNC i CMNC. W 2017 r. kontynuowano zbieranie danych dotyczących oceny materiału pozyskanego w trakcie aferez. Pozyskiwanie danych dotyczyło dokończenia bazy separacji w systemie MNC oraz pozyskiwanie danych z aferez w systemie CMNC, który wprowadzono pod koniec 2016r na stałe w tutejszym ośrodku.

Wstępne wyniki efektywności aferezy dawców komórek krwiotwórczych w systemie CMNC były prezentowane w formie ustnej na konferencji poświęconej aferezie komórek jednojądrzastych w dniu 15.03.2017r. Planowane jest zgłoszenie streszczenia na zjazd EBMT 2018r (termin nadsyłania streszczeń 17.12.2017).

Pozostałe wyniki są w trakcie opracowywania.

4.6. Opracowanie i doskonalenie strategii leczenia wykorzystującego transplantację komórek krwiotwórczych.

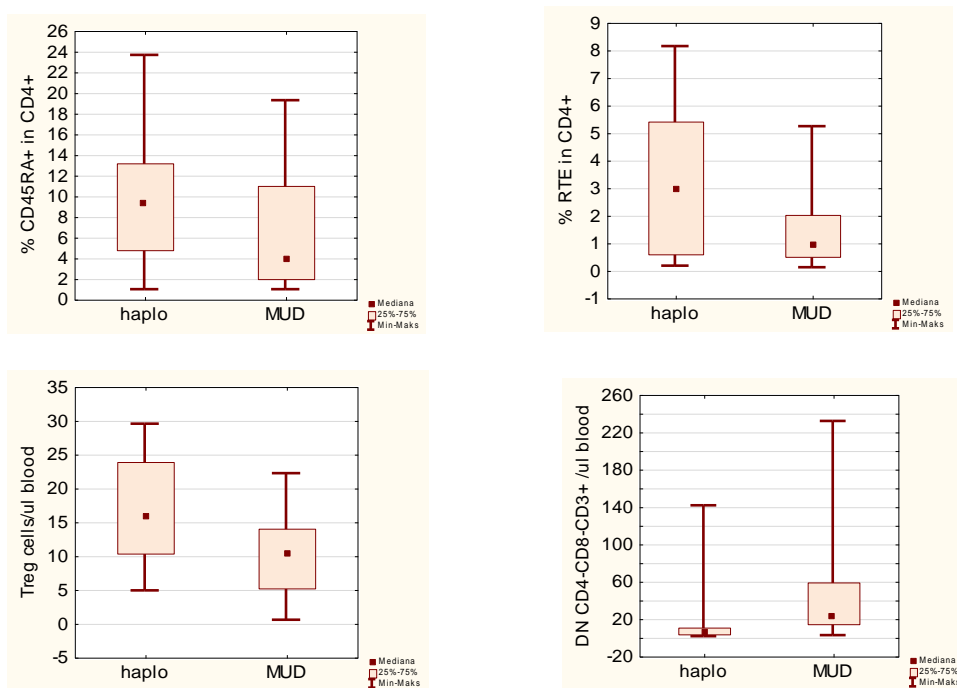
4.6.1. Odtwarzanie subpopulacji limfocytów T (RTE oraz Treg) po allotransplantacji krwiotwórczych komórek macierzystych (HSC), ze szczególnym uwzględnieniem transplantacji od dawców haploidentycznych.

Kierownik: S. Giebel

I. Mitrus, A. Smagur, W. Fidyk, A. Chwieduk, M. Glowala-Kosińska, A. Ciomber, T. Czerw, M. Sobczyk-Kruszelnicka, K. Soska, W. Mendrek, J. Najda, M. Sadus-Wojciechowska, A. Frankiewicz, M. Ociepa, M. Krawczyk-Kuliś, G. Kamińska-Winciorek, J. Hołowiecki

W badaniach wykorzystany został kliniczny model allotransplantacji haplo-HSCT vs matched-HSCT, który pozwala na porównanie po-przeszczepowej rekonstytucji wybranych, rzadkich subpopulacji limfocytów T w warunkach ekspozycji na wybrane immunosupresanty. Wybór modelu badawczego podyktowany był jego unikatowym charakterem, który przy zachowaniu obowiązujących zaleceń

klinicznych pozwala skonfrontować dwa różne typy przeszczepów należących do tzw. alternatywnych alloHSC pod względem potencjału odbudowy odporności. Szczególnie ciekawa jest tu odnowa immunologiczna w do niedawna nie wykonywanych niezmodyfikowanych przeszczepach haplo-HSCT. Wg naszych wstępnych danych uzyskanych na niewielkiej grupie pacjentów (n=12) komórki T naive, RTEs oraz Treg są lepiej odtwarzane po haplo-HSCT, natomiast limfocyty T DN (double negative CD4- CD8-) TCR $\alpha\beta$ T lepiej odtwarzane są w matchedHSCT.



Ryc. 1. Proporcje różnych subpopulacji limfocytów T CD4+ (CD45RA+, RTE, Treg oraz limfocytów DN) u pacjentów haplo-HSCT vs MUD-HSCT w +100 dniu po transplantacji.

Pierwsza część badań została zrealizowana w oparciu o materiał pochodzący od pacjentów przed przeszczepem oraz w dniu +100 po i obejmuje immunofenotypową ocenę następujących subpopulacji: Th (CD4+), Tc (CD8+), w tym limfocytów T naive/memory, limfocytów T o fenotypie DN (CD3+ CD4- CD8-) TCR $\alpha\beta$, limfocytów regulatorowych Treg (CD4+ CD25^{high} CD127-), komórek RTE (ang. recent thymic emigrants) CD4+ CD45RA+ CD62L+CD31+ oraz macierzystych limfocytów T pamięci TSCM (ang. T memory stem cells) CD4+ CD45RA+ CD62L+CD95+. Pozwoliło to nakreślić profil wczesnego odtwarzania interesujących nas limfocytów T w układzie matched oraz haplo-HSCT.

Mając na uwadze ogromną ilość czynników wpływających na przebieg rekonstrukcji limfocytów T w wybranym przez nas modelu badawczym zostały zachowane ujednolicone warunki: w przypadku obydwu badanych grup (haplo vs MUD) kondycjonowanie miało charakter mieloablacyjny, natomiast materiał przeszczepiany pacjentom nie był modyfikowany (bez uprzedniej deplekcji limfocytów CD3+).

Ze względu na niewielką liczbę zbadanych pacjentów uzyskane wyniki mają charakter wstępny. Grupy pacjentów będą systematycznie uzupełniane zgodnie z założonym planem.

Uzyskane wyniki były podstawą zgłoszenia wniosku grantowego „Pod presją immunosupresji. Mechanizmy zaniku oraz regeneracji rzadkich subpopulacji limfocytów T w modelu alogenicznej transplantacji komórek krwiotwórczych przy pełnej oraz połowicznej zgodności w układzie HLA” w konkursie OPUS 14 (grant NCN). Projekt jest w trakcie oceny. Uzyskane wyniki będą przedmiotem publikacji.

4.7. Projektowanie informatycznej platformy opartej o spektroskopię protonową in vivo wspomagającej diagnostykę guzów mózgu i efektów terapeutycznych. Zastosowanie metod ¹H NMR, ¹H HR-MAS i HR-MRI w metabolomicznej detekcji molekularnych śladów procesów nowotworowych i w monitorowaniu terapii.

4.7.1. Zastosowanie techniki HR MAS NMR do charakterystyki profili metabolicznych guzów tarczycy oraz komórek serca.

Kierownik: M. Sokół

A. Skorupa, Ł. Boguszewicz, M. Ciszek, M. Gramatyka, M. Kijonka

W ramach realizacji zadania badawczego oraz grantu NCBiR STRATEGMED opracowano modele matematyczne pozwalające odróżnić zmiany łagodne, złośliwe oraz tkankę tarczycy o prawidłowym utkaniu, na podstawie profilu metabolicznego wyznaczonego z wykorzystaniem techniki HR MAS NMR .

Materiał poddany analizie metabolomicznej stanowiło 130 wycinków tkanek nowotworowych oraz tkanek niezmiennych nowotworowo pobranych podczas operacji usunięcia guza tarczycy u 62 pacjentów. Zarejestrowano dodatkowo widma dla kolejnych 135 wycinków, które będą wykorzystane do walidacji opracowanych modeli.

Analiza PLS-DA 1-wymiarowych projekcji widm J-resolved (pJres) wykazała wyższy poziom tauryny, glicyny, alaniny, mleczanu, bursztynianu, związków zawierających grupę N-acetylową oraz niższy poziom fosfocholiny i mioinozytolu w zmianach złośliwych w porównaniu ze zmianami łagodnymi, tkanką tarczycy o prawidłowym utkaniu i tkanką objętą stanem zapalnym. Wysoki poziom choline charakteryzuje zapalenie tarczycy.

Praca przygotowująca jest do publikacji w *Metabolomics*.

W ramach grantu NCBiR STRATEGMED analizowano również profile metaboliczne raka piersi z wykorzystaniem techniki HR MAS NMR.

Materiał badany stanowiło 60 wycinków pobranych od 15 pacjentek operowanych w Centrum Onkologii Oddział w Gliwicach. Widma ¹H NMR (1D NOESY, 1D CPMG, 2D J-resolved oraz 1D LEDBP z presaturacją wody) zarejestrowano na spektrometrze Bruker Avance III 400 MHz. Tkanka guza wykazuje zaburzenie metabolizmu fosfocholiny i glicerofosfocholiny, wyższy poziom tauryny, glicyny, mleczanu oraz niższy poziom mio-inozytolu oraz scyllo-inozytolu. Profile metaboliczne granicy guza i tkanki zdrowej oraz marginesu wykazują cechy pośrednie między tkanką guza i tkanką prawidłową. Wniosek ten można również wyciągnąć na podstawie analizy wykresu wartości czynnikowych otrzymanych z modelu PCA.

Aktualnie trwa rozbudowywanie bazy danych o kolejne wycinki.

Przewidywane jest opracowanie publikacji.

Elementem punktu 4.7.1. była także charakterystyka wpływu promieniowania jonizującego na profil metaboliczny kardiomiocytów – temat realizowany w ramach grantu wewnętrznego.

Hodowane *in vitro* kardiomiocyty wystawiono na promieniowanie jonizujące (2 Gy), a ich przeżycie oceniono za pomocą testu klonogenego. Zmierzono również intensywność apoptozy i rozkład cyklu komórkowego po napromieniowaniu. Widma NMR kardiomiocytów zarejestrowano stosując techniki ^1H MAS NMR. Przeżywalność kardiomiocytów po eksperymentach NMR oszacowano za pomocą testu z błękitem trypanu.

Ekspozycja kardiomiocytów na małe dawki promieniowania jonizującego nie miała wpływu na potencjał proliferacji komórek i intensywność śmierci komórek. Jednak analiza profili metabolicznych ujawniła istotne zmiany w profilu lipidowym oraz zaburzenia metabolizmu treoniny, glicyny, choliny, waliny, izoleucyny, glutaminy, GSH i tauryny. Wyniki tego badania pokazują, że promieniowanie jonizujące indukuje stres oksydacyjny, wpływa na szlaki energetyczne i uszkadza struktury błonowe kardiomiocytów – wszystkie te procesy mogą ostatecznie doprowadzić do śmierci komórki, nawet przy niskich dawkach, które potencjalnie nie mają wpływu na żywotność komórek.

Praca *HR MAS NMR reveals metabolic changes in cardiomyocytes after low doses of ionizing radiation* została wysłana do Radiation and Environmental Biophysics i jest w recenzji.

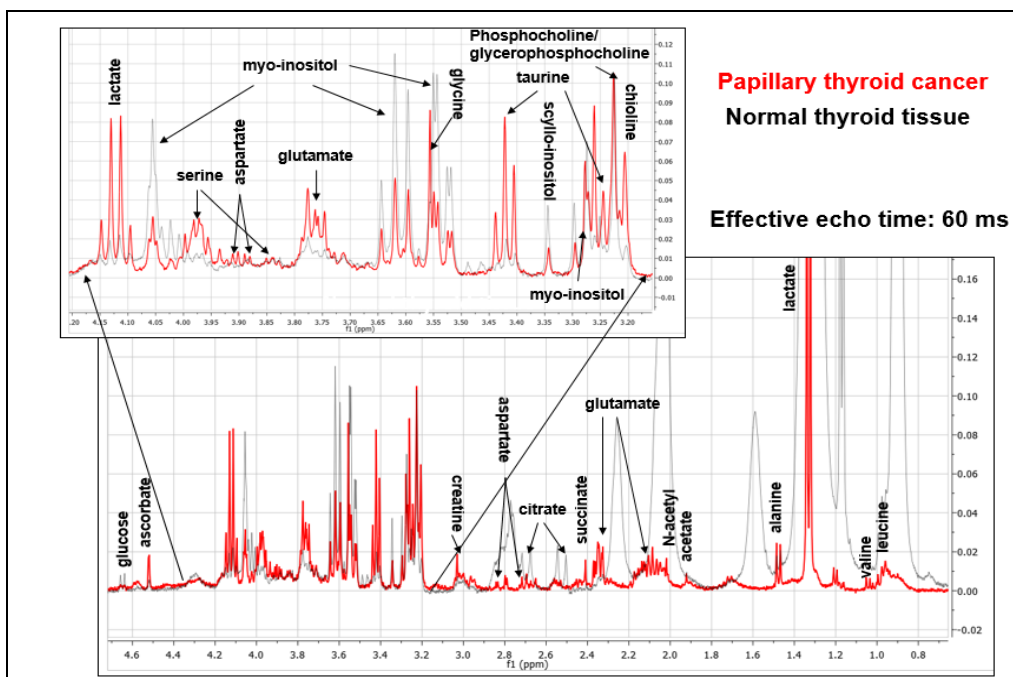
Omówienie wyników:

Ad. Opracowania modeli matematycznych pozwalających odróżnić zmiany łagodne, złośliwe oraz tkankę tarczycy o prawidłowym utkaniu na podstawie profilu metabolicznego wyznaczonego z wykorzystaniem techniki HR MAS NMR.

Materiał badany stanowiło 130 wycinków tkanek nowotworowych oraz tkanek niezmiennych nowotworowo pobranych podczas operacji usunięcia guza tarczycy u 62 pacjentów. Widma ^1H NMR (1D NOESY, 1D CPMG, 2D J-resolved oraz 1D LEDBP z presaturacją wody) zarejestrowano na spektrometrze Bruker Avance III 400 MHz.

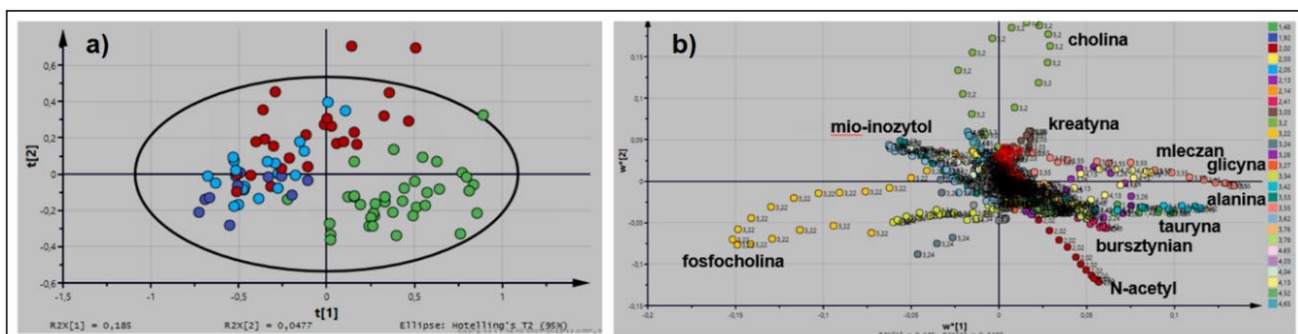
W analizie widm wykorzystano wielowymiarowe metody redukcji wymiaru danych oraz rozpoznawania wzorców (PCA, PLS-DA, O-PLS-DA).

Rysunek 1 przedstawia przykładowe widma CPMG raka brodawkowatego oraz tkanki prawidłowej.



Rysunek 1. Przykładowe widma CPMG raka brodawkowatego oraz tkanki prawidłowej.

Analiza PLS-DA 1-wymiarowych projekcji widm J-resolved (pJres) wykazała wyższy poziom tauryny, glicyny, alaniny, mleczanu, bursztynianu, związków zawierających grupę N-acetylową oraz niższy poziom fosfocholiny i mioinozytolu w zmianach złośliwych w porównaniu ze zmianami łagodnymi, tkanką tarczycy o prawidłowym utkanu i tkanką objętą stanem zapalnym. Wysoki poziom choliny zaobserwowany został w zapaleniu tarczycy. Wykresy wartości czynnikowych oraz ładunków czynnikowych przedstawione zostały na rysunku 2.



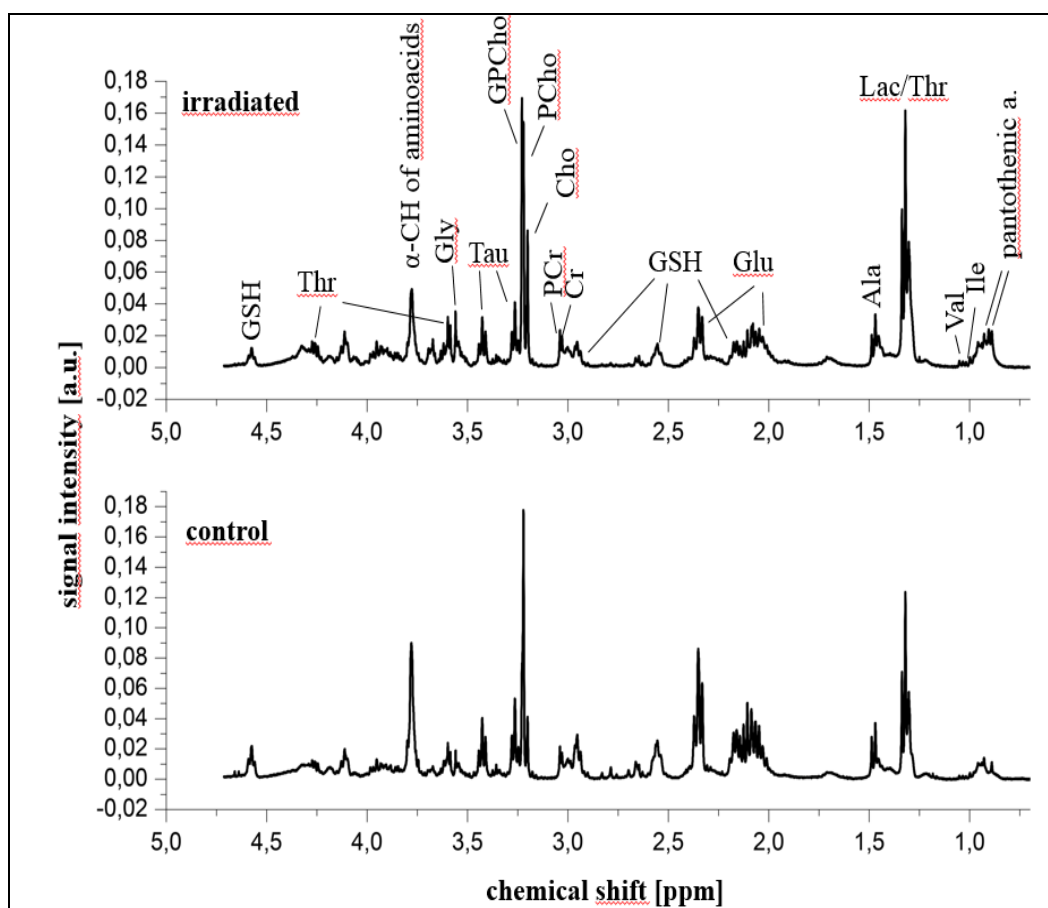
Rysunek 2. Wykres wartości czynnikowych (a) i ładunków czynnikowych (b) uzyskanych z modelu PLS-DA. Oznaczenia na wykresie ładunków czynnikowych: zmiany złośliwe – kolor zielony, zmiany łagodne – kolor jasnoniebieski, tkanka prawidłowa – kolor ciemnoniebieski, zapalenie tarczycy – kolor czerwony.

W roku 2017 zarejestrowano dodatkowo widma 135 wycinków, które będą wykorzystane do walidacji opracowanych modeli.

Praca przygotowana jest do publikacji w *Metabolomics*.

Ad. Zastosowania technik 1H MAS NMR do określenia wpływu promieniowania jonizującego na profil metaboliczny kardiomiocytów.

Wpływ promieniowania jonizującego na status metaboliczny kardiomiocytów określony został z wykorzystaniem techniki HR MAS NMR. 48 h po napromienieniu pojedynczą dawką 2 Gy komórki zostały poddane trypsynizacji, odwirowaniu oraz zawieszeniu w PBS. Widma 1D CPMG, 2D J-resolved i oraz 1D LEDBP zostały zarejestrowane na spektrometrze Bruker Avance III 400 MHz. Rysunek 1 przedstawia przykładowe widmo CPMG komórek napromienionych oraz kontrolnych, a w tabeli 1 przedstawiono różnice w poziomach metabolitów.



Rysunek 1. Przykładowe widmo CPMG komórek napromienionych oraz komórek kontrolnych.

Tabela 1 Różnice w poziomach metabolitów między komórkami napromienionymi i kontrolnymi.

metabolit	przes. chem [ppm]	mapromienione (średnia ± SD)	kontrolne (średnia ± SD)	krotność zmiany	rodzaj widma
walina	1.04 ppm (d)	0.19 ± 0.06	0.064 ± 0.017	2.94	1D p-Jres
izoleucyna	0.99 ppm (d)	0.164 ± 0.004	0.060 ± 0.008	2.74	
kwask pantotenowy	0.93 ppm (s)	0.85 ± 0.07	0.48 ± 0.12	1.76	
glutaminian	2.35 ppm (m)	1.63 ± 0.15	5.31 ± 0.15	0.31	
glutation	2.17 ppm (m)	0.30 ± 0.12	1.01 ± 0.03	0.30	
fosfocholina	3.22 ppm (s)	18.81 ± 0.49	23.81 ± 0.40	0.79	
glicerofosfocholina	3.23 ppm (s)	17.70 ± 2.38	7.20 ± 0.61	2.45	
cholina	3.20 ppm (s)	13.61 ± 0.83	6.34 ± 0.55	2.14	
treonina	3.59 ppm (d)	2.94 ± 0.15	1.87 ± 0.24	1.58	
glicyna	3.56 ppm (s)	2.07 ± 0.18	0.89 ± 0.12	2.32	
tauryna	3.43 ppm (t)	2.37 ± 0.26	3.51 ± 0.07	0.68	
hypotauryna	2.65 ppm (t)	0.32 ± 0.07	0.47 ± 0.02	0.68	
UDP-GlcNAc/UDP-GalNAc	2.08 ppm (s)	1.01 ± 0.04	0.58 ± 0.09	1.75	
fosfatydylocholina	3.27 ppm	2.17 ± 0.10	2.54 ± 0.07	0.85	1D LEDBP
lipid (CH ₃ -CH ₂ -CH ₂)	0.90 ppm	0.031 ± 0.003	0.016 ± 0.001	1.88	

lipid (CH ₂ -CH ₂ -CH ₂)	1.3 ppm	0.050 ± 0.005	0.020 ± 0.001	2.49
lipid (CH ₂ -CH ₂ -COO-)	1.58 ppm	0.0051 ± 0.0004	n.d.	
lipid (-CH=CH-)	5.32 ppm	0.0052 ± 0.0005	n.d.	

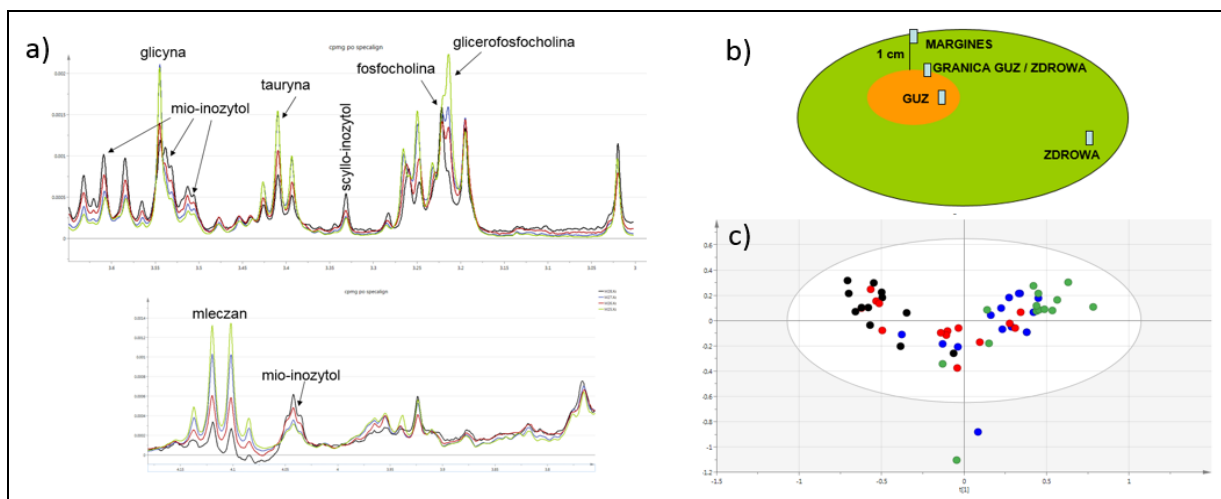
Barwienie z wykorzystaniem błękitu trypanu wykazało wysoką żywotność komórek po badaniu z użyciem techniki HR MAS.

Podsumowując, wyniki tego badania i szczegółowa analiza obserwowanych zmian metabolicznych wydają się sugerować, że program śmierci komórek został zainicjowany przez promieniowanie niskiej dawki, ale nie jest zakończony. Wywołane przez promieniowanie procesy są jednak kardiotoxyczne. Promieniowanie jonizujące indukuje stres oksydacyjny, wpływa na szlaki energetyczne i uszkodza struktury błonowe kardiomiocytów i może ostatecznie prowadzić do śmierci komórki nawet przy niskich dawkach, które potencjalnie nie mają wpływu na żywotność komórek. Problem kardiotoxyczności niskich dawek promieniowania staje się coraz poważniejszy ze względu na wysokie ryzyko narażenia i ze względu na wzrost oczekiwanej długości życia, co pozwala na ujawnienie się długofalowych skutków promieniowania.

Wniosek: Wiedza o indukowanych przez niskie dawki zmianach profilu metabolicznego kardiomiocytów może umożliwić wczesne wykrycie zmian prowadzących do rozwoju chorób sercowo-naczyniowych i podjęcie kroków w celu zapobiegania tym zaburzeniom.

Ad. Określenia profilu metabolicznego raka piersi z wykorzystaniem techniki HR MAS NMR

Materiał badany stanowiło 60 wycinków pobranych od 15 pacjentek operowanych w Centrum Onkologii Oddział w Gliwicach zgodnie ze schematem przedstawionym na rysunku 4b (guz, granica guz/tkanka zdrowa, margines w odległości 1 cm oraz tkanka prawidłowa). Widma ¹H NMR (1D NOESY, 1D CPMG, 2D J-resolved oraz 1D LEDBP z presaturacją wody) zarejestrowano na spektrometrze Bruker Avance III 400 MHz. Średnie widma CPMG (zakres 3.0 – 4.2 ppm) dla poszczególnych lokalizacji przedstawione są na rysunku 4a.



Rysunek 3 (a) Przykładowe widma CPMG zarejestrowane z guza (kolor zielony), z granicy (kolor niebieski), z marginesu (kolor czerwony), z tkanki prawidłowej (kolor czarny). (b) Schemat pobierania materiału tkankowego do badań. (c) Wykres wartości czynnikowych otrzymanych z modelu PCA (oznaczenia takie jak na rysunku 4a).

Tkanka guza wykazuje zaburzenie metabolizmu fosfocholiny i glicerofosfocholiny, wyższy poziom tauryny, glicyny, mleczanu oraz niższy poziom mio-inozytoli oraz scyllo-inozytoli. Profile metaboliczne granicy guza i tkanki zdrowej oraz marginesu wykazują cechy pośrednie między tkanką guza i tkanką prawidłową. Wniosek ten można również wyciągnąć na podstawie analizy wykresu wartości czynnikowych otrzymanych z modelu PCA (rysunek 4c). Badane wycinki zostaną poddane weryfikacji histopatologicznej w celu dokładnego określenia składu tkankowego.

Aktualnie trwa zbieranie materiału badawczego. Przewidywana jest publikacja.

4.7.2. Opracowanie wieloparametrycznych protokołów akwizycji obrazów MRI w polu 9.4 T do oceny efektów terapeutycznych u myszy.

Kierownik: M. Sokół

A. Skorupa, Ł. Boguszewicz, M. Ciszek, B. Bobek-Billewicz, A. Orlef, Z. Maniakowski

W 2017 r. analizowano technikami MRI wpływ podania komórek MSC na właściwości dyfuzyjne i relaksacyjne niedokrwionego mięśnia myszy. Badania obrazowe wykonano na skanerze Bruker 9.4T. Wstrzyknięcie komórek MSC lub PBS do niedokrwionej kończyny zostało przeprowadzone 1h po indukcji niedokrwienia u myszy należących do grupy badanej i grupy kontrolnej. Obrazowanie MRI (angiografia, relaksometria oraz obrazowanie tensora dyfuzji) zostało wykonane dla kilku punktów czasowych po indukcji niedokrwienia. Liczba myszy przypadająca na dany punkt czasowy wynosiła 5.

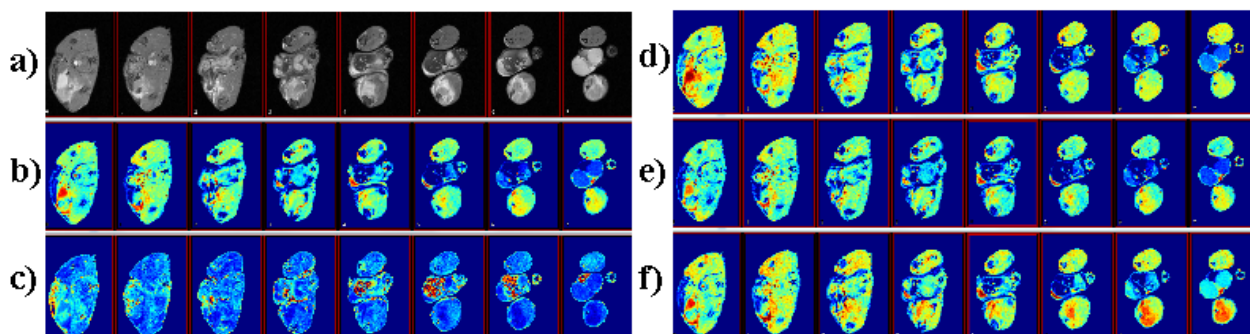
Przygotowywana jest publikacja.

Omówienie wyników:

W 2018 r. przeprowadzono analizę wpływu podania komórek MSC na właściwości dyfuzyjne i relaksacyjne niedokrwionego mięśnia myszy w oparciu o 50 badań MRI wykonanych na skanerze Bruker 9.4T. Wstrzyknięcie komórek MSC lub PBS do niedokrwionej kończyny zostało przeprowadzone 1h po indukcji niedokrwienia u myszy należących do grupy badanej i

grupy kontrolnej. Obrazowanie MRI (obejmujące angiografię, relaksometrię oraz obrazowanie tensora dyfuzji) zostało wykonane dla kilku punktów czasowych po indukcji niedokrwienia (dzień 1, 3, 5, 8, 14). Liczba myszy przypadająca na dany punkt czasowy wynosiła 5.

Zaobserwowano dynamiczną zmianę parametrów T2, FA, ADC, λ_1 , λ_2 i λ_3 po okluzji tętnicy. Analiza histogramów wykazała, że parametr T2 osiągnął maksimum trzeciego dnia, po czym dążył do wartości typowych dla nieuszkodzonego mięśnia. Minimalne wartości FA zaobserwowano pierwszego dnia po okluzji, a badania dla kolejnych punktów czasowych wykazały wzrost tego parametru. Zaobserwowano również wzrost ADC (z jednoczesnym podwyższeniem λ_1 , λ_2 i λ_3) pierwszego dnia po okluzji i bardzo wyraźny spadek ADC (z jednoczesnym spadkiem λ_1 , λ_2 i λ_3) ósmego dnia po okluzji. Porównanie grupy myszy, którym podano komórki, z grupą kontrolną wykazało, że zmiany T2 obejmują większą objętość mięśnia u myszy, u których zastosowano komórki MSC. Efekt ten był najbardziej widoczny dla 1 i 3 dnia po okluzji. Największa różnica parametrów dyfuzyjnych między grupami została zaobserwowana trzeciego dnia: podwyższenie ADC (wraz z λ_1 , λ_2 i λ_3) w grupie myszy, u których zastosowano komórki. Rysunek 1 przedstawia przykładowe obrazy T2-zależne oraz mapy charakteryzujące dyfuzję w kończynie myszy trzeciego dnia po okluzji tętnicy.



Rysunek 1. Przykładowe obrazy T2-zależne (a) oraz mapy współczynników: ADC (b), FA (c), λ_1 (d), λ_2 (e) i λ_3 (f) zmierzone trzeciego dnia po okluzji tętnicy.

Wstrzyknięcie komórek MSC do niedokrwionego mięśnia 1h po okluzji tętnicy powoduje zwiększony obrzęk w porównaniu do grupy kontrolnej. Pooperacyjna reakcja zapalna związana jest najpewniej z napływem komórek układu immunologicznego do niedokrwionej tkanki oraz produkcją wielu czynników wzrostu i proteaz. Chociaż komórki wykazują działanie immunosupresyjne, same są źródłem wielu czynników (np. VEGF czy tlenu azotu), które w nadmiarze mogą prowadzić do zwiększonego obrzęku. Dlatego w kolejnych eksperymentach planujemy wydłużyć czas między okluzją tętnicy a podaniem komórek MSC do 8h.

4.7.3. Zastosowanie metabolomiki opartej na spektroskopii HR NMR do oceny toksyczności radiochemioterapii u chorych na raka regionu głowy i szyi.

Kierownik: M. Sokół

Ł. Boguszewicz, A. Skorupa, M. Ciszek, M. Kijonka

W tej części zadania badawczego dokonano analizy wczesnej odpowiedzi na leczenie z wykorzystaniem metabolomiki opartej na spektroskopii protonowej magnetycznego rezonansu jądrowego (1H NMR) u chorych z nowotworami regionu głowy i szyi – temat realizowany w ramach grantu NCN.

30 pacjentów leczonych w Centrum Onkologii Oddział w Gliwicach z powodu raka regionu głowy i szyi objętych regularnym monitoringiem medycznym (pod kątem wznów w okolicach umiejscowienia i odległych) przez 3 lata monitorowano metabolomicznie. Stosując techniki NMR (widma *diffusion edited*) porównano próbki krwi pobrane przed rozpoczęciem leczenia z próbkami pobranymi w ciągu tygodnia po jego zakończeniu. Zaobserwowano, że utrzymywanie się sygnałów lipidowych na stałym poziomie (grupa ETF – *early treatment failure*) może odzwierciedlać niepełną odpowiedź na leczenie. Lipidogram NMR dostarcza więc wczesnej informacji o odpowiedzi na leczenie. Jest to ważne, bowiem pozwala na wczesną interwencję medyczną.

Publikacja pt. *Early treatment response detection in head and neck cancer patients by means of ¹H NMR based metabolomics* zawierająca opisane wyniki została wysłana do czasopisma *Metabolomics* i jest obecnie recenzowana.

Kolejnym punktem realizacji zadania była metaboliczna odpowiedź na radio-chemioterapię u chorych z nowotworami głowy i szyi - analiza surowicy krwi z wykorzystaniem spektroskopii ¹H NMR – monitorowanie w czasie rzeczywistym (wyniki wstępne) – temat realizowany w ramach grantu NCN.

Do badanej grupy włączono 170 pacjentów leczonych w Centrum Onkologii Oddział w Gliwicach z powodu raka regionu głowy i szyi. Ich wieloparametryczny cotygodniowy monitoring (kliniczny oraz molekularny) prowadzony był od rozpoczęcia leczenia RT/CHRT do ustąpienia ostrego odczynu popromiennego. Pierwszym etapem wielowymiarowych analiz metabolomicznych jest detekcja *przypadków odstających*. Analiza ta została wykonana na jednowymiarowych projekcjach widm J-resolved. Uwzględniając w analizie dane kliniczne ustalono, że pojawienie się i wzrost sygnału 3HB na widmach ¹H NMR jest efektem wejścia pacjenta w stan ketozy i koreluje z nasileniem się ostrego odczynu popromiennego. Obserwacja poziomu 3HB w czasie rzeczywistym może więc być przydatna w wykrywaniu pacjentów wysokiego ryzyka i w zapobieganiu eskalacji ostrego odczynu popromiennego. Kombinacja metod klinicznych i molekularnych może dostarczyć kompleksowych informacji o odpowiedzi na leczenie, umożliwiając monitorowanie terapii i/oraz prognozowanie tolerancji/toksyczności terapii.

Praca jest przygotowywana do publikacji w *Metabolomics*.

Omówienie wyników:

Ad. Analiza wczesnej odpowiedzi na leczenie z wykorzystaniem metabolomiki opartej na spektroskopii protonowej magnetycznego rezonansu jądrowego (¹H NMR) u chorych z nowotworami regionu głowy i szyi.

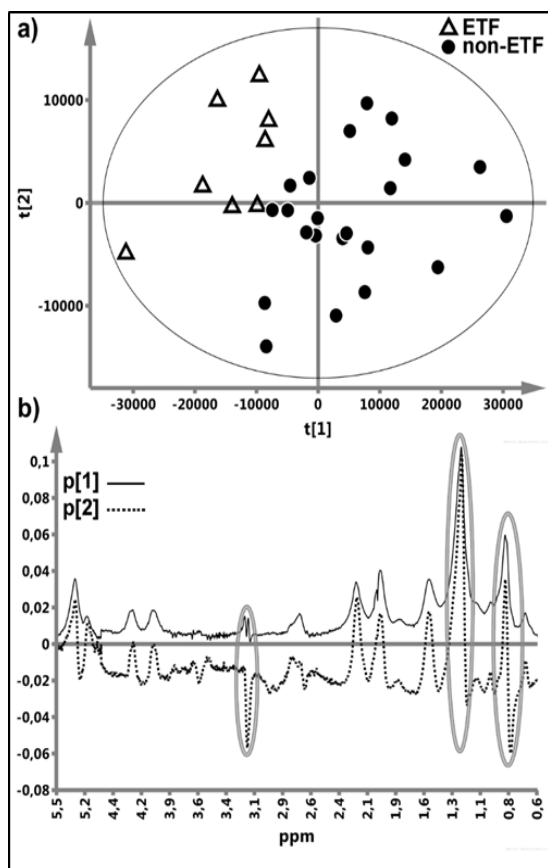
Do badanej grupy włączono 30 pacjentów leczonych w Centrum Onkologii Oddział w Gliwicach z powodu raka regionu głowy i szyi. Pacjenci byli monitorowani pod kątem wyleczenia przez okres co najmniej 3 lat. Na podstawie badań kontrolnych zostali oni podzieleni na dwie grupy:

- **ETF** (*early treatment failure*) – grupa wczesnego niepowodzenia leczenia (miejscowa lub odległa wznowa w przeciągu 180 dni od zakończenia leczenia oraz niecałkowita regresja guza) – 8 pacjentów;

- **non-ETF** – grupa chorych z miejscową lub odległą wznową po upływie 180 dni od zakończenia leczenia oraz chorzy bez symptomów choroby przez okres 3 lat.

Próbki krwi do badań metabolomicznych zostały pobrane zaraz przed rozpoczęciem leczenia oraz w ciągu tygodnia po jego zakończeniu. Pomiar spektroskopowy wykonano na spektrometrze Bruker Avance III 400 MHz z wykorzystaniem 4 sekwencji pomiarowych (NOESY, CPMG, diffusion edited, J-resolved).

Rozróżnienie pomiędzy grupami ETF i non-ETF było możliwe jedynie z wykorzystaniem widm zarejestrowanych w sekwencji *diffusion edited*, co wskazuje na istotną rolę NMR-owego profilu lipidowego jako czynnika predykcyjnego.



Rysunek 1. Analiza PCA różnicowych widm dyfuzyjnych ^1H NMR serum (różnica widm przed leczeniem i po leczeniu).

Rysunek 1. przedstawia wynik analizy z wykorzystaniem nienadzorowanej metody PCA (analiza składowych głównych) przeprowadzonej na różnicowych widmach dyfuzyjnych (różnica widm przed leczeniem i po leczeniu). Na wykresie współrzędnych czynnikowych przypadków (1a) widać wyraźne rozróżnienie grup ETF i non-ETF. Na podstawie wykresu ładunków czynnikowych zmiennych (1b) zidentyfikowano trzy sygnały mające największy wkład w rozróżnienie analizowanych grup: przy 0.9 ppm ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 1.3 ppm ($\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-CH}_2\text{-}$) oraz 3.24 ppm (grupa cholinowa $\text{N-(CH}_3\text{)}_3$). Wykonana dodatkowo klasyczna analiza statystyczna wykazała, że u pacjentów w grupie non-ETF sygnały lipidowe przy 0.9, 1.3 oraz 3.24 ppm ulegają istotnemu statystycznie obniżeniu po zakończeniu leczenia (w porównaniu do poziomu sprzed leczenia). Natomiast w grupie ETF sygnały lipidowe nie ulegają istotnej zmianie (obserwowany jest niewielki wzrost ich intensywności integralnych).

Wniosek: Utrzymanie się sygnałów lipidowych na stałym poziomie (grupa ETF) może odzwierciedlać niepełną odpowiedź na leczenie. Lipidogram NMR dostarcza więc wczesnej informacji o odpowiedzi na leczenie. Jest to ważne, bowiem pozwala na wczesną interwencję medyczną.

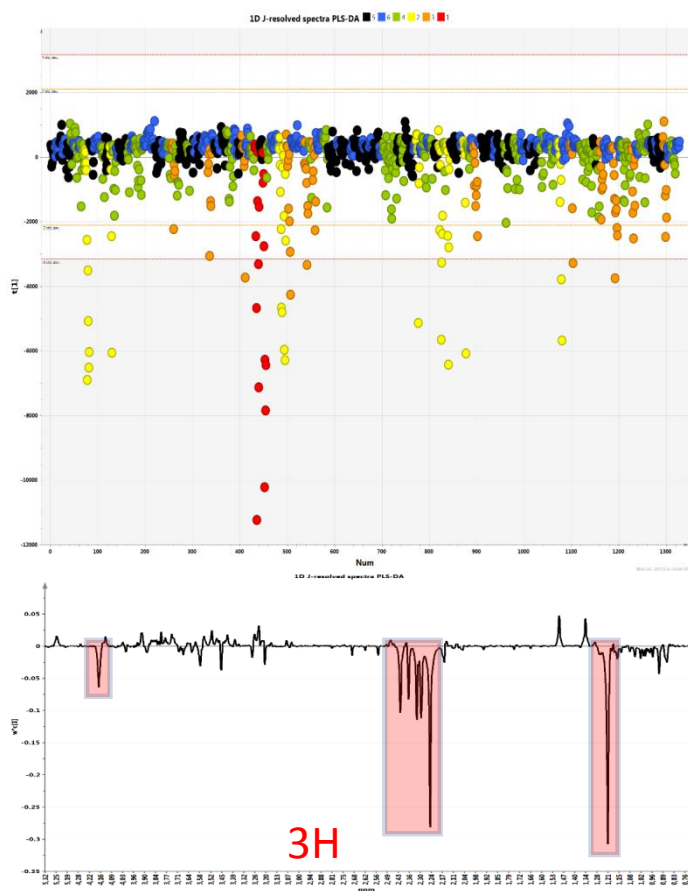
Publikacja wysłana do czasopisma *Metabolomics*, aktualnie w recenzji.

Ad. Metaboliczna odpowiedź na radio-chemioterapię u chorych z nowotworami głowy i szyi - analiza surowicy krwi z wykorzystaniem spektroskopii NMR – monitorowanie w czasie rzeczywistym (wyniki wstępne).

Do badanej grupy włączono 170 pacjentów leczonych w Centrum Onkologii Oddział w Gliwicach z powodu raka regionu głowy i szyi. Pacjenci leczeni byli wg. czterech schematów: (i) samodzielna radioterapia RT, (ii) radiochemioterapia CHRT oraz schematy (i) i (ii) poprzedzone chemioterapią indukcyjną.

W trakcie leczenia, w odstępach tygodniowych, pacjenci mieli wykonywane badania laryngologiczne i endoskopowe celem oceny objętości guza nowotworowego oraz ostrego odczynu popromiennego. W tych samych odstępach czasu wykonane były również badania psychologiczne (ocena dystresu i bólu) oraz pobierana była krew obwodowa do badań laboratoryjnych i metabolomicznych. Opisany powyżej wieloparametryczny monitoring prowadzony był od rozpoczęcia leczenia RT/CHRT do ustąpienia ostrego odczynu popromiennego.

Pierwszym etapem wielowymiarowych analiz metabolomicznych jest detekcja przypadków odstających. Analiza ta została wykonana na jednowymiarowych projekcjach widm *J-resolved*, a jej wynik przedstawia Rysunek 2.



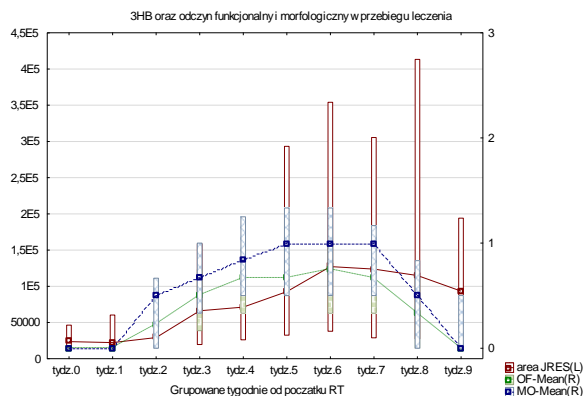
Rysunek 2. PCA – analiza przypadków odstających.

Na rysunku 2. widoczna jest bardzo duża grupa przypadków odstających – widm NMR pacjentów, u których jest istotnie podwyższony sygnał pochodzący od 3-hydroksymaślanu (3HB).

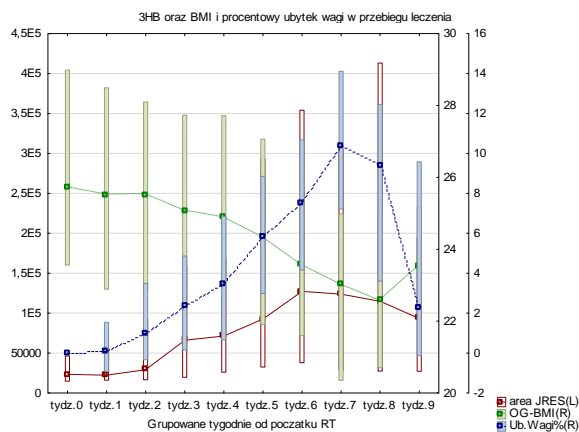
3HB jest nieobecny w widmie protonowym surowicy krwi osoby zdrowej.

Na podstawie analizy danych klinicznych ustalono, że pojawienie się i wzrost sygnału 3HB jest efektem wejścia pacjenta w stan ketozy spowodowanej niedożywieniem w wyniku nasilenia się ostrego odczynu popromiennego.

Zmiany poziomu 3HB korelują z ostrym odczynem popromiennym (Rysunek 3) oraz ze spadkiem BMI i ubytkiem wagi pacjenta (Rysunek 4).



Rysunek 3



Rysunek 4

Rysunki 3 i 4 przedstawiają zmiany sygnału 3HB (pole powierzchni pod pikem przy 1.21 ppm), ostrego odczynu popromiennego (funkcjonalnego i morfologicznego), BMI oraz procentowego ubytku wagi w przebiegu leczenia.

Wniosek: Wsparcie klinicznego monitorowania pacjenta monitoringiem molekularnym może dostarczyć kompleksowych informacji o odpowiedzi na leczenie, umożliwiając monitorowanie terapii i/ oraz prognozowanie tolerancji/toksyczności terapii.

Lista publikacji:

1. **Agnieszka Skorupa, Łukasz Boguszewicz, Marek Kijonka, Maria Sokół.** Metabolic heterogeneity of the normal human brain - multivariate analysis of 1H MRS in vivo spectra acquired at 3T. *Metabolomics* 13(36), 2017. IF : 3.66.
2. Ewelina Bzymek, Adam Konefał, **Andrzej Orlef, Zbigniew Maniakowski, Maria Sokół;** TEST OF PRODUCTION OF 198Au RADIOISOTOPE BY MEANS OF TYPICAL MEDICAL LINEAR ACCELERATORS USED IN TELERADIOETHERAPY; *ACTA PHYSICA POLONICA B* No 3 (2017); (Received December 14, 2016); Vol. 48; 671-674; 10.5506/APhysPolB.48.671
3. Justyna Paprocka, **Marek Kijonka, Łukasz Boguszewicz, Maria Sokół;** Melatonin in Tuberous Sclerosis Complex Analysis Using Modern Mathematical Modeling Methods; *International Journal of Endocrinology*; 2017; Volume 2017 (2017), Article ID 8234502, <https://doi.org/10.1155/2017/8234502>; IF = 2,510
4. **Mateusz Cizek, Łukasz Boguszewicz, Maria Sokół;** Badania surowicy krwi techniką 1 H NMR: podstawowe procedury pomiarowe; *Inżynier i Fyzyk Medyczny*; 2017; Vol. 6 nr 2; 115-123
5. Justyna Paprocka, **Marek Kijonka, Piotr Wojcieszek, Marcin Pęcka, Ewa Emich Widera, Maria Sokół;** Melatonin and Angelman Syndrome: Implications and Mathematical Model of Diurnal Secretion; *International Journal of Endocrinology*; 2017;

Konferencje:

1. **Agnieszka Skorupa, Mateusz Ciszek, Łukasz Boguszewicz, Maria Sokół.** Zastosowanie techniki HR MAS NMR w badaniach guzów tarczycy, YUPPAS NMR, Centrum Badań Molekularnych i Makromolekularnych PAN, 21-22.06.2017, Łódź
2. **Agnieszka Skorupa.** Profile metaboliczne guzów tarczycy określone z wykorzystaniem techniki HR MAS NMR. Perspektywy w onkologii molekularnej – II zjazd Centrum Onkologii – Instytutu im. Marii Skłodowskiej-Curie, 4-5.04.2017, Warszawa
3. **Agnieszka Skorupa.** NMR eksperymentalny – czyli mikroobrazowanie MR w projektowaniu nowych technik leczenia. X Śląskie Seminarium Fizyki Medycznej, 17-19.02.2017, Lipowa, Polska
4. **Marek Kijonka;** Subpopulacyjny polski atlas MRI jako narzędzie do normalizacji w analizach badań Firm, w morfometrii, algorytmach klasyfikacyjnych z wykorzystaniem wzorca oraz innych narzędziach do przetwarzania i analizy obrazu X Śląskie Seminarium Fizyki Medycznej, 17-19.02.2017, Lipowa, Polska
5. **Łukasz Boguszewicz;** Metabolomika wsparta o techniki NMR: zastosowania w onkologii, zastosowania w neurologii; X Śląskie Seminarium Fizyki Medycznej, 17-19.02.2017, Lipowa
6. **Łukasz Boguszewicz, Mateusz Ciszek, Krzysztof Skłodowski, Agata Bieleń, Agnieszka Skorupa, Jolanta Mrochem-Kwarciak, Maria Sokół;** 1H NMR metabolomics of serum for the real-time monitoring of response to chemoradiotherapy in head and neck cancer patients – preliminary results; EUROMAR, WARSAW 2017, Warszawa, 2-6.07.2017
7. Michał Staniszewski, **Agnieszka Skorupa, Łukasz Boguszewicz,** Agnieszka Michalczuk, Kamil Wereszczyński, Magdalena Wicher, Marek Konopka, **Maria Sokół,** Andrzej Polański; Application of reiteration of Hankel singular value decomposition in quality control; AIP Conference Proceedings; 2017; 1863 400006; <http://dx.doi.org/10.1063/1.4992575>
8. **Łukasz Boguszewicz, Mateusz Ciszek,** Krzysztof Skłodowski, Agata Bieleń, **Agnieszka Skorupa,** Jolanta Mrochem-Kwarciak, **Maria Sokół;** 1H NMR metabolomics of serum for the real-time monitoring of response to chemoradiotherapy in head and neck cancer patients preliminary results; 2017; European Congress On Magnetic Resonance EUROMAR 2017, 02-06.07.2017
Prezentacja plakatowa

9. A. Konefał, **A. Orlef**; INVESTIGATION OF NEUTRON RADIATION AND INDUCED RADIOACTIVITY FOR THE NEW MEDICAL LINEAR ACCELERATOR – THE VARIAN TRUEBEAM, 2017; NUTECH-2017 International Conference on Developments and Applications of Nuclear Technologies, Kraków, 10-13 września 2017
10. **Maria Sokół**; ¹H NMR – and – ¹H MAS NMR – based metabolomics in head and neck squamous cell carcinoma and in thyroid cancer; 2017; 9th Kraków Workshop on Novel Applications of Imaging and in Medicine, Biology and Material Sciences, 21-23 September 2017, Kraków, Poland

Wykłady:

1. **Sokół M.** *Spektroskopia NMR i metabolomika w diagnostyce neurologicznej: od analizy widm NMR do biomarkera diagnostycznego*; w ramach kursu specjalizacyjnego z neurologii dziecięcej organizowanym przez CMKP, 16.11.2017 r. Śląski Uniwersytet Medyczny; Katowice.
2. **Sokół M.** *Oddziaływanie różnych rodzajów promieniowania na materię żywą*; w ramach kursu CMKP pt.: Radiobiologia doświadczalna i kliniczna, sposoby frakcjonowania dawki promieniowania; 20.11.2017 r.; Centrum Onkologii-Instytut oddział w Gliwicach.
3. **Sokół M.**, cykl wykładów prowadzonych w roku akadem. 2017/2018 z zakresu tematycznego *Zaawansowane techniki obrazowania przy pomocy rezonansu magnetycznego* (wykłady i ćwiczenia autorskie), Uniwersytet Śląski w Katowicach.

4.8. Indywidualizacja i optymalizacja metod skojarzonego leczenia chorych na raka płuca, odbytnicy i gruczołu krokowego przy wykorzystaniu molekularnych, proteomicznych i biochemicznych markerów prognostycznych i predykcyjnych

4.8.1. Walidacja i wdrożenie prognostyczno-predykcyjnych sygnatur molekularnych dla indywidualizacji i optymalizacji konformalnej radioterapii skojarzonej z chemioterapią u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca w stopniu zaawansowania IIIA2 i IIIB.

Kierownik: R. Suwiński

*K. Galwas-Kliber, D. Butkiewicz, M. Pietrowska, G. Plewicki,
U. Dworzecka, M. Kalinowska-Herok, M. Krześniak, I. Matuszczyk, A. Fiszer-Kierzkowska, A. Mazurek, A. Gdowicz-Kłosok, U. Bojko, E. Małusecka,
I. Domińczyk, M. Rusin, M. Gawkowska-Suwińska, A. Idasiak, B. Jochymek,
D. Syguła, B. Kłusek, R. Deja, J. Gliwińska, A. Zajusz, W. Widlak*

Cel pracy

Wyniki leczenia chorych na miejscowo zaawansowanego raka płuca są niezadowalające, choć w ostatnich latach odnotowano, dzięki nowym metodom obrazowania i nowym technikom radioterapii, istotny postęp. W populacji śląskiej tylko nieliczni chorzy na raka niedrobnokomórkowego w stopniu zaawansowania IIIAN2 i IIIB są kwalifikowani do jednoczesowej radio-chemioterapii, gdyż większość z nich obciążona jest obciążeniami internistycznymi (głównie schorzenia kardiologiczne), lub kwalifikację do jednoczesowego leczenia ogranicza stan ogólny chorych. Chorzy ci leczeni są sekwencyjnie: stosowana jest indukcyjna chemioterapia z następową radioterapią. Istnieje szereg przesłanek biologicznych i klinicznych, które sugerują, że skuteczność leczenia sekwencyjnego można istotnie poprawić stosując po indukcyjnej chemioterapii przyspieszoną radioterapię. Sugerują to m. inn. wyniki badań CHART-WELL [1] i ECOG 2597 [2], lecz ograniczona liczebność badanych grup nie pozwoliła na jednoznaczne wnioski. Uważa się, że zysk z przyspieszonej radioterapii odnosi tylko część chorych (szacuje się, że jest to około 30-40%), u których guz nowotworowy cechuje potencjał do przyspieszonej repopulacji w trakcie frakcjonowanego leczenia, lub zysk ze skrócenia całkowitego czasu radioterapii warunkują inne cechy kliniczne [3]. Celem tego zadania jest wyłonienie klinicznych, molekularnych, proteomicznych i biochemicznych markerów prognostycznych i predykcyjnych dla skuteczności przyspieszonej radioterapii. Pozwoli to na optymalizację stosowanych schematów leczenia. Trzon kliniczny projektu i przedmiot aktualnego sprawozdania stanowi grupa chorych włączonych do realizowanego przez zespół badawczy eksperymentu medycznego, w którym porównywana jest tolerancja i skuteczność konwencjonalnej versus przyspieszonej radioterapii konformalnej z planowaniem PET/CT u chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca (NDRP) w stopniu zaawansowania IIIAN2 lub IIIB. Dane dotyczące badań proteomu surowicy krwi, polimorfizmów genów naprawy komórkowej oraz badań markerów biochemicznych przedstawiono w sprawozdaniach z wcześniejszych lat.

Materiał i metody badacze

W 2017 roku podsumowano w formie maszynopisu w języku angielskim (w załączeniu) wyniki badań dotyczących prognostycznego znaczenia wybranych markerów biochemicznych w surowicy krwi chorych na raka niedrobnokomórkowego. Materiał obejmował grupę 337 chorych. Szczegółową charakterystykę grupy chorych przedstawiono w maszynopisie pracy.

Wyniki

Analiza wieloczynnikowa wykazała wysoce znamienne statystycznie niezależny wpływ następujących zmiennych na przeżycia całkowite w grupie 337 chorych na raka niedrobnokomórkowego (poniżej):

Zmienna	RR (95% CI)	Wartość p
Palący vs niepalący	3.62 (1.69-7.76)	0.000955
Chemioterapia vs. bez chemioterapii	2.03 (1.53-2.70)	0.000001
Paliatywna radioterapia vs. radykalna radioterapia	2.00 (1.49-2.68)	0.000004
Osteopontyna ≥ 104 vs. osteopontyna < 104	1.67 (1.27-2.20)	0.000285
T 3-4 vs. T1-2	1.52 (1.15-2.00)	0.003362
VEGF1 ≥ 362 vs. VEGF < 362	1.51 (1.11-2.05)	0.007952

Stężenie osteopontyny (OPN) i VEGF okazało się, zatem, mieć podobną (lub większą) niezależną siłę prognostyczną co powszechnie uznane czynniki kliniczne (zaawansowanie kliniczne, intencja leczenia, palenie).

Interesującym wynikiem realizacji tego elementu zadania badawczego jest też wykazanie heterogenicznego wpływu prognostycznego stężenia osteopontyny u chorych na miejscowo zaawansowanego niedrobnokomórkowego raka płuca poddanych radykalnej radio-chemioterapii w zależności od typu mikroskopowego guza. W całej badanej grupie chorych prognostyczny wpływ stężenia osteopontyny na przeżycia nie przekroczył progu znamienności statystycznej ($p=0.05$). Jednak w podgrupie chorych na raka płaskonabłonkowego wpływ ten okazał się wysoce znamienny, podczas gdy w grupie chorych na raka gruczołowego stężenie osteopontyny nie miało wpływu na przeżycia. Jest to interesująca, oryginalna obserwacja, gdyż dotychczas osteopontyna była uważana za marker prognostyczny w radioterapii, niezależnie od typu mikroskopowego raka płuca.

Szczegółowe wyniki przedstawia maszynopis pracy pełnotekstowej w języku angielskim:

- Rafał Suwiński, Monika Giglok, Katarzyna Galwas-Kliber, Bożena Jochymek, Regina Deja, Barbara Masłyk, Jolanta Mrochem-Kwarciak, Dorota Butkiewicz. *Blood serum proteins as biomarkers for prediction of survival, locoregional control and distant metastases rate in radiotherapy and radio-chemotherapy for non-small cell lung cancer.*

Prace opublikowane w formie streszczeń:

- Czech M., Giglok M., Jochymek B., Deja R., Masłyk B., Mrochem-Kwarciak J., Suwiński R. „Ocena przydatności klinicznej markera neoangiogenezy – VEGF u chorych na płaskonabłonkowego raka płuca” *Diagn Lab* 2017; 53 Supl (1):49-88
- Czech M., Mrochem-Kwarciak J., Masłyk B., Deja R., Giglok M., Butkiewicz D., Smolska-Ciszewska B., Suwiński R. „Prognostyczne znaczenie ProGRP u chorych na drobnokomórkowego raka płuca (DRP) *Onkologia w praktyce – edukacja*, 2017, tom 3 suplement C
- Mrochem-Kwarciak J., Masłyk B., Chmura A., Deja R., Giglok M., Butkiewicz D., Smolska-Ciszewska B., Suwiński R. „Ocena wartości prognostycznej i predykcyjnej wskaźników czerwonekwinowych i białek hipoksji u chorych na nie drobnokomórkowego raka płuca (NDRP)” *Onkologia w praktyce – edukacja*, 2017, tom 3 suplement C
- Suwiński R., Mrochem-Kwarciak J., Giglok M., Butkiewicz D., Galwas-Kliber K., Jochymek B., Wziętek I., Deja R., Masłyk B. „Markery biochemiczne jako czynnik prognostyczny w radioterapii i radiochemioterapii chorych na nie drobnokomórkowego raka płuca” *Onkologia w praktyce – edukacja*, 2017, tom 3 suplement C
- Giglok M., Suwiński R., Galwas-Kliber K., Jochymek B., Butkiewicz D. „Palenie tytoniu jako czynnik prognostyczny w radioterapii chorych na nie drobnokomórkowego raka płuca” *Onkologia w praktyce – edukacja*, 2017, tom 3 suplement C
- J. Mrochem-Kwarciak, A. Chmura, R. Deja, B. Smolska-Ciszewska, M. Giglok, D. Butkiewicz, T. Rutkowski, B. Masłyk, R. Suwiński. Erytropoetyna oraz wskaźniki czerwonekwinowe w ocenie rokowania chorych na niedrobnokomórkowego raka płuca. *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2017,3 supl E,
- M. Czech, J. Mrochem-Kwarciak, R. Deja, B. Masłyk, B. Smolska-Ciszewska, M. Giglok, D. Butkiewicz, T. Rutkowski, R. Suwiński Prognostyczna wartość VEGF i OPN u chorych na płaskonabłonkowego raka płuca leczonych z zastosowaniem radioterapii samodzielnej lub w skojarzeniu z chemioterapią. *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2017,3 supl E.

4.8.2. Porównanie tolerancji i skuteczności miejscowej samodzielnej hiperfrakcjonowanej radioterapii przedoperacyjnej i hiperfrakcjonowanej radioterapii przedoperacyjnej w skojarzeniu z chemioterapią u chorych na raka odbytnicy wraz z oceną możliwości optymalizacji i indywidualizacji leczenia skojarzonego w oparciu o badania markerów biochemicznych

Kierownik: R. Suwiński

A. Idasiak, I. Wziętek, T. Dworzecki, M. Giglok, M. Kryj, A. Chmielarz, M. Wideł, E. Chmielik, E. Stobiecka, S. Pakuło, D. Butkiewicz, J. Pamuła-Pilat, K. Tęcza, J. Łanuszewska, E. Grzybowska, R. Deja, M. Prokop, J. Wydmański

Material i metody

W roku 2017 dokonano oceny wyników leczenia na miejscowo zaawansowanego raka odbytnicy w ramach grupy pilotowej poddanej przedoperacyjnej radiochemioterapii hiperfrakcjonowanej. U wszystkich przeprowadzono radioterapię przedoperacyjną frakcjonowaną 2 razy dziennie do dawki całkowitej 42 Gy w dawkach frakcyjnych 1.5 Gy. W analizowanej grupie chorych jednocześnie prowadzono leczenie systemowe w oparciu o fluoropirymidyny podając 1-2 trzydniowe cykle chemioterapii 5-Fu (325mg/m²). U chorych, u których potwierdzono rozsiew choroby do węzłów chłonnych miednicy w badaniu histopatologicznym przeprowadzono uzupełniające leczenie systemowe wg schematu LF1 (5-Fu i Levefolic) do łącznej liczby 6 cykli. Po zakończonym leczeniu chorzy podlegali okresowym kontrolom IO Gliwice.

Pierwszoplanowe punkty badania obejmowały ocenę wczesnej toksyczności wg RTOG/EORTC, odsetka zachowanych zwieraczy, odsetka powikłań okołoperacyjnych oraz ocenę odpowiedzi na leczenie w materiale pooperacyjnym. Ocena odsetka wyleczeń miejscowych (LRC), przeżycia wolnego od przerzutów (MFS) oraz przeżyć całkowitych (OS) stanowiła drugoplanowy cel badania.

Wnioski

Analiza wyników badania w grupie pilotowej wykazała akceptowalny profil toksyczności zaproponowanego schematu leczenia bez istotnego wpływu na częstość powikłań okołoperacyjnych, u chorych na miejscowo zaawansowanego raka odbytnicy.

Wysoki odsetek zachowanych zwieraczy w analizowanej grupie chorych oraz znaczny odsetek odpowiedzi całkowitych oraz dużego stopnia stwierdzony w badaniu histopatologicznym umożliwiający w wielu przypadkach odstępnie od adjuwantowej pooperacyjnej chemioterapii uzasadniał rozpoczęcie rekrutacji do badania III fazy (z randomizacją).

W związku z powyższym w bazie Clinical Trials uaktualniony został szczegółowy protokół terapeutyczny badania (nr identyfikacyjny NCT01814969) porównującego przedoperacyjną hiperfrakcjonowaną radioterapię i jednoczasową hiperfrakcjonowaną radiochemioterapię przedoperacyjną. W latach 2016 - 2017 zgodnie z w/w protokołem zrandomizowanych zostało łącznie 148 chorych leczonych w II Klinice Radioterapii i Chemioterapii IO Gliwice.

Formy prezentacji wyników

Wyniki badań związanych z realizacją projektu przygotowano w formie publikacji pełnotekstowej w czasopiśmie o zasięgu światowym - The British Journal of Radiology (publikacja pełnotekstowa w załączeniu). Ponadto wyniki badań związanych z realizacją projektu - praca pt. „*Preoperative hyperfractionated concurrent radiochemotherapy for locally advanced rectal cancers: A phase II clinical study*” została zakwalifikowana do prezentacji plakatowej podczas międzynarodowej konferencji naukowej – ECCO 2017 Congress w Amsterdamie, Holandii w dniach 27-30.01.2017. Streszczenie opublikowano w European Journal of Cancer, Volume 72, Supplement 1, February 2017. Dodatkowo wyniki przedstawiono w formie prezentacji ustnej w trakcie VIII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Radioterapii Onkologicznej – 70-lecia Centrum Onkologii –Instytutu w Gliwicach, w dniu

27.10.2017. Streszczenie wystąpienia opublikowano w periodyku Onkologia w Praktyce Klinicznej, 2017, tom3, suplement C.

Sposób kontynuacji lub wykorzystania wyników zadania

W 2018 roku planowana jest dalsza kontynuacja rekrutacji chorych do III fazy badania oraz analiza wyników leczenia uzyskanych dla każdej randomizowanej grupy chorych. Bankowany jest również materiał tkankowy (błoczki parafinowe, surowica krwi) do planowanych badań markerów patologicznych i molekularnych. Wstępne wyniki badań badań związanych z realizacją projektu pod kątem wykorzystania markerów biologicznych mogących mieć znaczenie w optymalizacji leczenia chorych na miejscowo zaawansowanego raka odbytnicy w analizowanej grupie chorych przygotowano w formie maszynopisu (publikacja pełnotekstowa w załączeniu). W roku 2018 planowane jest złożenie w/w maszynopisu do recenzji i ewentualnej publikacji w czasopiśmie o zasięgu światowym.

4.8.3. Optymalizacja schematów frakcjonowania radioterapii chorych na raka gruczołu krokowego z wykorzystaniem metod obrazowania funkcjonalnego NMR i markerów biochemicznych

Kierownik: R. Suwiński

K. Behrendt, R. Deja, M. Giglok, G. Plewicki, U. Dworzecka,

B. Smolska-Ciszewska, K. Galwas, A. Idasiak, B. Białas, K. Lisowska,

E. Mahusecka, M. Latos, B. Bobek-Billewicz

Cel:

Optymalizacja schematu leczenia promieniami chorych na raka stercza o pośrednim lub wysokim ryzyku nawrotu choroby, w szczególności metody podwyższenia dawki promieniowania w obszarze stercza z zastosowaniem radioterapii stereotaktycznej (SRT), brachyterapii śródmiąższowej HDR bądź radioterapii frakcjonowanej konwencjonalnie (RT-FK). Próba zdefiniowania grup chorych na raka stercza o potencjalnie większej biologicznej agresywności i oporności na napromienianie konwencjonalnie frakcjonowane przy użyciu markerów molekularnych oraz metod obrazowania funkcjonalnego NMR.

Cele szczegółowe:

1. Ocena wyników leczenia chorych na raka stercza z udziałem boost'ów z radioterapii stereotaktycznej, w szczególności porównanie toksyczności i skuteczności leczenia chorych w dwóch grupach: z udziałem dwóch boost'ów z radioterapii stereotaktycznej (2xSBRT) oraz trzech boost'ów z SRT (3xSBRT).
2. Kontynuacja rekrutacji do randomizowanego projektu medycznego 3-ej fazy, którego celem jest prospektywne porównanie teleradioterapii z dawką uzupełniającą wg schematu hipofrakcjonowanego -SRT, realizowanego przy użyciu przyspieszacza liniowego lub RT-FK.
3. Retrospektywna analiza wyników leczenia chorych na raka stercza z udziałem brachyterapii śródmiąższowej HDR oraz z zastosowaniem hipofrakcjonowanej teleradioterapii – na podstawie obrazów dyfuzji NMR wykonanych przed radioterapią w odniesieniu do rozpoznania histopatologicznego, a w następnej kolejności - do skuteczności miejscowej leczenia.

4. Wdrożenie oznaczania i ocena wartości nowych markerów molekularnych i biochemicznych (m.in. EN2, PSP, E-cadherin, Il6, EPCA, OPN, uPA/uPAR, PTEN, Ki67, PCA3, TMRSS) w optymalizacji leczenia chorych na raka stercza.

Material i metody:

Kwalifikacja do leczenia chorych w ramach projektu medycznego zatytułowanego „Ocena skuteczności miejscowej oraz wczesnej i późnej tolerancji radykalnej radioterapii konformalnej IMRT w połączeniu z hipofrakcjonowanym boost'em stereotaktycznym u chorych na raka prostaty w grupie średniego i wysokiego ryzyka” rozpoczęła się w czerwcu 2012. Do września 2013 włączono czterdziestu chorych. Chorzy byli napromieniani z wykorzystaniem dynamicznych technik konformalnych, niemal wyłącznie VMAT, pod kontrolą obrazowania. U wszystkich chorych zakładano znaczniki złota do stercza i przed rozpoczęciem napromieniania kontrolowano położenie stercza w oparciu o fuzję obrazów 2D/2D KV. Protokół przewidywał konwencjonalnie frakcjonowaną radioterapię z w obszarze gruczołu krokowego z marginesem (grupa pośredniego ryzyka) lub gruczołu krokowego z marginesem i węzłów chłonnych miednicy (grupa wysokiego ryzyka), do dawki całkowitej 50 Gy w dawkach frakcyjnych 2 Gy przez 5 dni w tygodniu przez okres 5 tygodni. Ponadto zaplanowano dwa boost'y stereotaktyczne w obszarze gruczołu krokowego, po 10Gy/frakcję - podane w 5-7 dni przed rozpoczęciem konwencjonalnej radioterapii oraz 5-7 dni po jej zakończeniu.

W poprzednich latach przedstawiono charakterystykę cech kliniczno-patologicznych badanej grupy chorych oraz wczesne wyniki obserwacji, w szczególności odsetek objawów ostrego odczynu popromiennego, który nie odbiegał od obserwacji w grupach chorych napromienianych konwencjonalnie. W kolejnym roku obserwacji podsumowano wczesne wyniki leczenia mierzone odpowiedzią markerową - dynamikę spadku stężenia PSA i odsetki powikłań późnych ze strony przewodu pokarmowego i pęcherza moczowego, które wskazywały na niesatysfakcjonującą późną tolerancję radioterapii.

Z tego powodu zmodyfikowano wcześniejszy sposób kontroli ułożenia chorych, obecnie odbywa się on przy zastosowaniu 2 znaczników złota zakładanych do gruczołu krokowego. Ponadto dokonano zmian w schemacie leczenia.

Wprowadzono trzy boosty stereotaktyczne w obszarze gruczołu krokowego (PTV BOOST) z wykorzystaniem technik dynamicznych (IMRT, RapidArc™) po 6,67 Gy/frakcję - podane w 5-7 dni przed rozpoczęciem konwencjonalnej radioterapii, 5-7 oraz 10-14 dni po jej zakończeniu. Leczenie zgodne z powyższym schematem zostało od marca 2014 do sierpnia 2015 przeprowadzone u 26 -iu chorych. Charakterystykę kliniczno- patologiczną badanej grupy chorych przedstawiono w sprawozdaniu za rok 2016.

Wyniki:

1. W pierwszej grupie pilotowej, tj. 2xSBRT stężenie PSA przy rozpoczęciu radioterapii wyniosło średnio 1,6ng/ml (zakres 0,008-19,5), oznaczone przy pierwszej kontroli po zakończeniu leczenia 0,24ng/ml (zakres 0,008-3,77), po 2 latach 12,36ng/ml, mediana 0,012 (zakres 0,008-308). Za wysoką wartość średniej stężenia PSA po 2 latach odpowiada obecność dynamicznej progresji biochemicznej u jednego chorego, u którego rozpoznano rozsiew choroby do kości, jednak mediana stężenia PSA w tej grupie chorych wykazuje dalszy spadek jego wartości w czasie obserwacji.

Nawrót biochemiczny stwierdzono u dwóch chorych w trakcie niemal czteroletniej obserwacji (mediana follow up 45 miesięcy), a przeprowadzona diagnostyka wykazała u jednego z nich rozsiew odległy, zastosowano hormonoterapię. Analiza przebiegu klinicznego choroby u tego chorego wskazuje na dużą dynamikę. Rozpoznanie raka stercza postawiono w wieku 75 lat, wyjściowe PSA 24,6ng/ml, PSA 3+3, zaawansowanie kliniczne T2cN0M0, nawrót biochemiczny stwierdzono już po 15-tu miesiącach. Badania obrazowe, w tym PET CT wykazały przerzuty do kości, bez przerzutów mięszkowych, węzłowych. Mimo to, zastosowana hormonoterapia I-iej i II-iej linii oraz terapia bisfosfonianami okazały się nieskuteczne i przy ostatniej wizycie stwierdzono dalszą progresję markerową (PSA 1449ng/ml), wówczas chory w zanemizowany, wyniszczony, nie kwalifikował się do chemioterapii. Losy drugiego

chorego ze wznową biochemiczną pozostają nieznaną z powodu zaprzestania kontroli i leczenia w naszym ośrodku (chory po amputacji kończyny dolnej).

Jeden chory nie ukończył planowanego leczenia (czynny alkoholik) i nie zgłosił się do badań kontrolnych. Pozostałych 37-iu chorych żyje bez nawrotu raka stercza. Ponadto u dwóch chorych rozpoznano drugi niezależny nowotwór: raka dna jamy ustnej i raka odbytnicy, obaj chorzy zostali poddani leczeniu onkologicznemu o założeniu radykalnym.

Kontynuacja obserwacji pozostałych chorych tej grupy wskazuje na brak nawrotu klinicznego i biochemicznego, mediana stężenia PSA chorych badanych w trakcie ostatniej wizyty w Instytucie Onkologii w Gliwicach wynosi 0,021ng/ml, (zakres: 0,003-1449ng/ml).

Nasilenie objawów późnego odczynu popromiennego przedstawiono w Tabeli I. Odnotowywano maksymalny późny odczyn oceniony zgodnie z kryteriami klasyfikacji EORTC/RTOG.

Tabela I. Późna toksyczność leczenia wg klasyfikacji EORTC/RTOG.

	GI	GU
0°	18 (45%)	28 (70%)
1°	7 (17,5%)	3 (7,5%)
2°	10 (25%)	6 (20%)
3°	4 (10%)	3 (7,5%)
4°	0	0
BD	1 (2,5%)	1 (2,5%)

Mediana czasu do wystąpienia objawów późnego odczynu popromiennego ze strony odbytnicy oraz pęcherza moczowego to 16 miesięcy (zakres 6-58 miesięcy).

Kontynuacja obserwacji badanej grupy 2xSBRT potwierdza wcześniej wysunięte wnioski.

Wczesna tolerancja leczenia promieniami z zastosowaniem radioterapii stereotaktycznej dla podwyższenia dawki całkowitej w sterczu była dobra. Większość leczonych chorych nie miała objawów ostrej reakcji popromiennej: 75% i 57,5% -dla toksyczności ze strony układu pokarmowego i moczowego, odpowiednio. Tylko jeden chory wymagał leczenia zachowawczego, w tym sterydoterapii z powodu nasilenia dolegliwości dyzurycznych (reakcja 3 stopnia wg klasyfikacji EORTC/RTOG). Chory ten prezentował objawy dyzuryczne przed rozpoczęciem leczenia – suma punktów ocenionych w kwestionariuszu IPSS – 17. Obserwuje się spadek PSA w dalszych kontrolach po leczeniu, jakkolwiek hormonoterapię uzupełniającą zalecano u większości chorych (64%). Kontrolne stężenia PSA pozostają niskie, poza dwoma chorymi u których rozpoznano wznowę biochemiczną.

Późna tolerancja radioterapii jest niesatysfakcjonująca. Objawy późnego odczynu popromiennego w stopniu 2-im lub 3-im wystąpiły w dotychczasowej obserwacji u 35% chorych ze strony odbytnicy i 27,5% ze strony pęcherza moczowego.

Czteroletnie przeżycie wolne od nawrotu klinicznego i biochemicznego choroby pozostaje wysokie - bDFS wyniosło 83%.

W drugiej grupie pilotowej, tj. 3xSBRT mediana stężenia PSA przy rozpoczęciu radioterapii wyniosła 0,47ng/ml, oznaczona przy pierwszej kontroli po zakończeniu leczenia 0,08ng/ml (zakres 0,00-21,6), przy ostatniej wizycie kontrolnej 0,04 ng/ml (zakres 0,008-310).

Chory u którego stwierdzono progresję biochemiczną przy pierwszej kontroli - PSA 21,61ng/ml - miał przeprowadzoną diagnostykę, w wyniku której wykryto przerzuty do kości, włączono leczenie hormonalne: analog LH-RH i bicalutamid, wartość PSA przy ostatniej kontroli 310,76 ng/ml, z uwagi na niewydolność nerek nie podjęto chemioterapii. U pozostałych chorych, w trakcie niemal trzyletniej obserwacji (mediana follow up 30 miesięcy, zakres 8,8-41,5 miesiąca), brak cech nawrotu klinicznego, biochemicznego.

Wyjściowe stężenia PSA, oznaczone przed leczeniem wyniosło średnio 45,6 ng/ml (4,66-452), mediana - 15,7 ng/ml, wyniki nie różniły się od mediany wyjściowego PSA w grupie pilotowej 2xSBRT. Losy dwóch chorych z PSA wyjściowym przekraczającym 100 ng/ml (odpowiednio 220 i 452 ng/ml) wskazują na słusność kwalifikacji do radykalnego leczenia. Chorzy ci żyją bez nawrotu klinicznego, biochemicznego.

Częstość wystąpienia objawów wczesnego odczynu popromiennego ze strony jelit i pęcherza moczowego wg klasyfikacji EORTC/RTOG jest niska. Odnotowano objawy w stopniu I-ym u 5 i 30% chorych, odpowiednio. Częstość wystąpienia objawów późnego odczynu popromiennego ze strony jelit i pęcherza moczowego zestawiono w Tabeli II.

Tabela II. Częstość wystąpienia objawów późnego odczynu popromiennego ze strony jelit i pęcherza moczowego wg klasyfikacji EORTC/RTOG w drugiej grupie pilotowej - 3xSBRT

	GI	GU
0°	21 (80%)	25 (96%)
1°	2 (8%)	
2°	1 (4%)	1 (4%)
3°	2 (8%)	

Porównanie danych zebranych w Tabeli I-ej i II ej wskazuje na 4-ro krotnie niższą częstość powikłań w stopniu 2-im i 3-im ze strony pęcherza moczowego w grupie chorych, u których zastosowano trzy w miejsce dwóch boost'ów stereotaktycznych: 4 vs 27,5%. Odpowiednie wartości odnoszące się do późnego odczynu popromiennego ze strony odbytnicy (krwawień z kiszki stolcowej) to 12 vs 35 %, czyli około 3-krotnie rzadziej.

Różnice dotyczą również czasu do wystąpienia objawów późnego odczynu popromiennego w stopniu 2-im, 3-im, zarówno GI jak i GU, i wynoszą: 29 miesięcy, mediana (zakres: 9-41 miesięcy) wobec wartości mediany 16 miesięcy (zakres: 6-58 miesięcy), odpowiednio dla grup 3xSBRT vs 2xSBRT.

Chorzy pozostają w obserwacji celem dalszej oceny toksyczności i skuteczności zastosowanych metod leczenia promieniami.

2. Projekt medyczny badania z randomizacją, porównujący konwencjonalnie frakcjonowaną konformalną radioterapię (CF-CRT) versus CF-CRT skojarzoną z śródmiaższową brachyterapią HDR lub z hipofrakcjonowanym boostem stereotaktycznym u chorych na raka stercza o pośrednim lub wysokim ryzyku nawrotu choroby w kwietniu 2013 roku został zarejestrowany w Clinical Trials Gov. pod numerem NCT 01839994. Tytuł badania: „Phase III clinical trial on conventionally fractionated conformal radiotherapy (CF-CRT) versus CF-CRT combined with high-dose-rate brachytherapy or stereotactic body radiotherapy for intermediate and high-risk prostate cancer”.

Od marca 2016 rozpoczęto randomizację do badania. Wobec ograniczeń w dostępie do brachyterapii, obecnie chorzy randomizowani są do wyłącznej teleradioterapii bądź do radioterapii z trzema boost'ami stereotaktycznymi. Do grudnia 2017 włączono do badania 36-u chorych. Chorzy w tej grupie są na różnym etapie planowania leczenia, realizacji leczenia bądź obserwacji.

3. Dotychczas opublikowano trzy prace podsumowujące doświadczenia z niekonwencjonalnie frakcjonowaną radioterapią oraz z zastosowaniem boost'u z brachyterapii.

- Praca zatytułowana “The early closure of a pilot study on acute and late tolerance of hypofractionated radiotherapy in low-risk prostate cancer patients.” została opublikowana przed rokiem w czasopiśmie „Reports of Practical Oncology and Radiotherapy” 19 (2014) 337–342

Autorzy: Katarzyna Behrendt, Elżbieta Nowicka, Marzena Gawkowska-Suwińska, Grzegorz Plewicki, Beata Smolska-Ciszewska, Monika Giglok, Rafał Suwiński, Aleksander Zajusz.

- Praca zatytułowana „The effectiveness and side effects of conformal external beam radiotherapy combined with high-dose-rate brachytherapy boost compared to conformal external beam radiotherapy alone in patients with prostate cancer.” została opublikowana w czasopiśmie Radiation Oncology (2015) 5Mar 7;10:60. Autorzy: Beata Smolska-Ciszewska, Leszek Miszczyk, Brygida Białas, Marek Fijałkowski, Grzegorz Plewicki, Marzena Gawkowska-Suwińska, Monika Giglok, Katarzyna Behrendt, Elżbieta Nowicka, Sebastian Ciszewski, Aleksander Zajusz, Rafał Suwiński
 - Praca zatytułowana: “Alpha/beta (α/β) ratio for prostate cancer derived from external beam radiotherapy and brachytherapy boost.” została opublikowana w British Journal of Radiology. 2016; 89 (1061):20150957. Autorzy: Boonstra PS, Taylor JM, Smolska-Ciszewska B, Behrendt K, Dworzecki T, Gawkowska-Suwinska M, Bialas B, Suwinski R
4. Wstępną analizą objęto 52 chorych na raka gruczołu krokowego, u których w roku 2007 wykonano badanie MRI stercza (T2WI, DWI, MRS), a następnie przeprowadzono radykalną radioterapię. Przeanalizowano retrospektywnie dokumentację medyczną, natomiast badania radiologiczne oceniono ponownie pod kątem lokalizacji nacieku nowotworowego. W analizowanej grupie chorych biopsja stercza wykazała raka gruczołowego w materiale pobranych z lewego płata (67% badań) lub z prawego płata stercza (58% badań). Planowana jest próba korelacji obrazu radiologicznego, wyników badań mikroskopowych z przebiegiem klinicznym i wynikami leczenia w dłuższym okresie obserwacji.
 5. Do października 2012 włączono do prospektywnej obserwacji 124 chorych na raka stercza, u których przed rozpoczęciem radykalnej radioterapii pobrano krew na badania molekularne. Oznaczono stężenie osteopontyny, planowane są dalsze badania. U części z nich wykonywano również powtórny analizę przy pierwszej kontroli po leczeniu napromienianiem. Planowana jest dalsza obserwacja w okresie: 1 rok, 2 lata i 3 lata po leczeniu w Instytucie Onkologii w Gliwicach oraz w przypadku stwierdzenia nawrotu. Ocena kliniczna obejmuje czynniki rokownicze, t.j. wyjściowe PSA, stopień zaawansowania klinicznego choroby, stopień zróżnicowania wg klasyfikacji Gleasona, rodzaj leczenia: zastosowanie hormonoterapii jako leczenia neo+/-adjuwantowego, dawki radioterapii, ewentualne zastosowanie brachyterapii śródmiąższowej HDR, jak również parametry morfologii krwi obwodowej. W okresie obserwacji odnotowane będą natomiast stężenia PSA, a w dłuższym czasie wyniki leczenia mierzone powszechnie stosowanymi parametrami.

Sposób kontynuacji lub wykorzystania wyników zadania

1. W kolejnym roku planowana jest kontynuacja naboru chorych do projektu z randomizacją oraz dalsze monitorowanie wyników leczenia i jego toksyczności u chorych na raka stercza z udziałem boost'ów z radioterapii stereotaktycznej.
2. Dane dotyczące wyników leczenia chorych w grupach pilotowych będą analizowane i opisane celem przygotowania publikacji.

Tabela I. Późna toksyczność leczenia wg klasyfikacji EORTC/RTOG.

	GI	GU
0°	18 (45%)	28 (70%)
1°	7 (17,5%)	3 (7,5%)
2°	10 (25%)	6 (20%)
3°	4 (10%)	3 (7,5%)
4°	0	0
BD	1 (2,5%)	1 (2,5%)

Mediana czasu do wystąpienia objawów późnego odczynu popromiennego ze strony odbytnicy oraz pęcherza moczowego to 16 miesięcy (zakres 6-58 miesięcy).

Kontynuacja obserwacji badanej grupy 2xSBRT potwierdza wcześniej wysunięte wnioski.

Wczesna tolerancja leczenia promieniami z zastosowaniem radioterapii stereotaktycznej dla podwyższenia dawki całkowitej w sterczu była dobra. Większość leczonych chorych nie miała objawów ostrej reakcji popromiennej: 75% i 57,5% -dla toksyczności ze strony układu pokarmowego i moczowego, odpowiednio. Tylko jeden chory wymagał leczenia zachowawczego, w tym sterydoterapii z powodu nasilenia dolegliwości dyzurycznych (reakcja 3 stopnia wg klasyfikacji EORTC/RTOG). Chory ten prezentował objawy dyzuryczne przed rozpoczęciem leczenia – suma punktów ocenionych w kwestionariuszu IPSS – 17. Obserwuje się spadek PSA w dalszych kontrolach po leczeniu, jakkolwiek hormonoterapię uzupełniającą zalecano u większości chorych (64%). Kontrolne stężenia PSA pozostają niskie, poza dwoma chorymi u których rozpoznano wznowę biochemiczną.

Późna tolerancja radioterapii jest niesatysfakcjonująca. Objawy późnego odczynu popromiennego w stopniu 2-im lub 3-im wystąpiły w dotychczasowej obserwacji u 35% chorych ze strony odbytnicy i 27,5% ze strony pęcherza moczowego.

Czteroletnie przeżycie wolne od nawrotu klinicznego i biochemicznego choroby pozostaje wysokie - bDFS wyniosło 83%.

W drugiej grupie pilotowej, tj. 3xSBRT mediana stężenia PSA przy rozpoczęciu radioterapii wyniosła 0,47ng/ml, oznaczona przy pierwszej kontroli po zakończeniu leczenia 0,08ng/ml (zakres 0,00-21,6), przy ostatniej wizycie kontrolnej 0,04 ng/ml (zakres 0,008-310).

Chory u którego stwierdzono progresję biochemiczną przy pierwszej kontroli - PSA 21,61ng/ml - miał przeprowadzoną diagnostykę, w wyniku której wykryto przerzuty do kości, włączono leczenie hormonalne: analog LH-RH i bicalutamid, wartość PSA przy ostatniej kontroli 310,76 ng/ml, z uwagi na niewydolność nerek nie podjęto chemioterapii. U pozostałych chorych, w trakcie niemal trzyletniej obserwacji (mediana follow up 30 miesięcy, zakres 8,8-41,5 miesiąca), brak cech nawrotu klinicznego, biochemicznego.

Wyjściowe stężenia PSA, oznaczone przed leczeniem wyniosło średnio 45,6 ng/ml (4,66-452), mediana - 15,7 ng/ml, wyniki nie różniły się od mediany wyjściowego PSA w grupie pilotowej 2xSBRT. Losy dwóch chorych z PSA wyjściowym przekraczającym 100 ng/ml (odpowiednio 220 i 452 ng/ml) wskazują na słuszość kwalifikacji do radykalnego leczenia. Chorzy ci żyją bez nawrotu klinicznego, biochemicznego.

Częstość wystąpienia objawów wczesnego odczynu popromiennego ze strony jelit i pęcherza moczowego wg klasyfikacji EORTC/RTOG jest niska. Odnotowano objawy w stopniu I-ym u 5 i 30% chorych, odpowiednio. Częstość wystąpienia objawów późnego odczynu popromiennego ze strony jelit i pęcherza moczowego zestawiono w Tabeli II.

Tabela II. Częstość wystąpienia objawów późnego odczynu popromiennego ze strony jelit i pęcherza moczowego wg klasyfikacji EORTC/RTOG w drugiej grupie pilotowej - 3xSBRT

	GI	GU
0°	21 (80%)	25 (96%)
1°	2 (8%)	
2°	1 (4%)	1 (4%)
3°	2 (8%)	

Porównanie danych zebranych w Tabeli I-ej i II ej wskazuje na 4-ro krotnie niższą częstość powikłań w stopniu 2-im i 3-im ze strony pęcherza moczowego w grupie chorych, u których zastosowano trzy w miejsce dwóch boost'ów stereotaktycznych: 4 vs 27,5%. Odpowiednie wartości odnoszące się do późnego odczynu popromiennego ze strony odbytnicy (krwawień z kiszki stolcowej) to 12 vs 35 %, czyli około 3-krotnie rzadziej.

Różnice dotyczą również czasu do wystąpienia objawów późnego odczynu popromiennego w stopniu 2-im, 3-im, zarówno GI jak i GU, i wynoszą: 29 miesięcy, mediana (zakres: 9-41 miesięcy) wobec wartości mediany 16 miesięcy (zakres: 6-58 miesięcy), odpowiednio dla grup 3xSBRT vs 2xSBRT.

Chorzy pozostają w obserwacji celem dalszej oceny toksyczności i skuteczności zastosowanych metod leczenia promieniami.

6. Projekt medyczny badania z randomizacją, porównujący konwencjonalnie frakcjonowaną konformalną radioterapię (CF-CRT) versus CF-CRT skojarzoną z śródmiąższową brachyterapią HDR lub z hipofrakcjonowanym boostem stereotaktycznym u chorych na raka stercza o pośrednim lub wysokim ryzyku nawrotu choroby w kwietniu 2013 roku został zarejestrowany w Clinical Trials Gov. pod numerem NCT 01839994. Tytuł badania: „Phase III clinical trial on conventionally fractionated conformal radiotherapy (CF-CRT) versus CF-CRT combined with high-dose-rate brachytherapy or stereotactic body radiotherapy for intermediate and high-risk prostate cancer”.

Od marca 2016 rozpoczęto randomizację do badania. Wobec ograniczeń w dostępie do brachyterapii, obecnie chorzy randomizowani są do wyłącznej teleradioterapii bądź do radioterapii z trzema boost'ami stereotaktycznymi. Do grudnia 2017 włączono do badania 36-u chorych. Chorzy w tej grupie są na różnym etapie planowania leczenia, realizacji leczenia bądź obserwacji.

7. Dotychczas opublikowano trzy prace podsumowujące doświadczenia z niekonwencjonalnie frakcjonowaną radioterapią oraz z zastosowaniem boost'u z brachyterapii.

- Praca zatytułowana “The early closure of a pilot study on acute and late tolerance of hypofractionated radiotherapy in low-risk prostate cancer patients.” została opublikowana przed rokiem w czasopiśmie „Reports of Practical Oncology and Radiotherapy” 19 (2014) 337–342

Autorzy: Katarzyna Behrendt, Elżbieta Nowicka, Marzena Gawkowska-Suwińska, Grzegorz Plewicki, Beata Smolska-Ciszewska, Monika Gigłok, Rafał Suwiński, Aleksander Zajusz.

- Praca zatytułowana „The effectiveness and side effects of conformal external beam radiotherapy combined with high-dose-rate brachytherapy boost compared to conformal external beam radiotherapy alone in patients with prostate cancer.” została opublikowana w czasopiśmie Radiation Oncology (2015) 5Mar 7;10:60. Autorzy: Beata Smolska-Ciszewska, Leszek Miszczyk,

Brygida Białas, Marek Fijałkowski, Grzegorz Plewicki, Marzena Gawkowska-Suwińska, Monika Giglok, Katarzyna Behrendt, Elżbieta Nowicka, Sebastian Ciszewski, Aleksander Zajusz, Rafał Suwiński

• Praca zatytułowana: “Alpha/beta (α/β) ratio for prostate cancer derived from external beam radiotherapy and brachytherapy boost.” została opublikowana w *British Journal of Radiology*. 2016; 89 (1061):20150957. Autorzy: Boonstra PS, Taylor JM, Smolska-Ciszewska B, Behrendt K, Dworzecki T, Gawkowska-Suwinska M, Białas B, Suwinski R

8. Wstępną analizą objęto 52 chorych na raka gruczołu krokowego, u których w roku 2007 wykonano badanie MRI stercza (T2WI, DWI, MRS), a następnie przeprowadzono radykalną radioterapię. Przeanalizowano retrospektywnie dokumentację medyczną, natomiast badania radiologiczne oceniono ponownie pod kątem lokalizacji nacieku nowotworowego. W analizowanej grupie chorych biopsja stercza wykazała raka gruczołowego w materiale pobranych z lewego płata (67% badań) lub z prawego płata stercza (58% badań). Planowana jest próba korelacji obrazu radiologicznego, wyników badań mikroskopowych z przebiegiem klinicznym i wynikami leczenia w dłuższym okresie obserwacji.
9. Do października 2012 włączono do prospektywnej obserwacji 124 chorych na raka stercza, u których przed rozpoczęciem radykalnej radioterapii pobrano krew na badania molekularne. Oznaczono stężenie osteopontyny, planowane są dalsze badania. U części z nich wykonywano również powtórny analizę przy pierwszej kontroli po leczeniu napromienianiem. Planowana jest dalsza obserwacja w okresie: 1 rok, 2 lata i 3 lata po leczeniu w Instytucie Onkologii w Gliwicach oraz w przypadku stwierdzenia nawrotu. Ocena kliniczna obejmuje czynniki rokownicze, t.j. wyjściowe PSA, stopień zaawansowania klinicznego choroby, stopień zróżnicowania wg klasyfikacji Gleasona, rodzaj leczenia: zastosowanie hormonoterapii jako leczenia neo+/-adjuwantowego, dawki radioterapii, ewentualne zastosowanie brachyterapii śródmiąższowej HDR, jak również parametry morfologii krwi obwodowej. W okresie obserwacji odnotowane będą natomiast stężenia PSA, a w dłuższym czasie wyniki leczenia mierzone powszechnie stosowanymi parametrami.

Sposób kontynuacji lub wykorzystania wyników zadania

1. W kolejnym roku planowana jest kontynuacja naboru chorych do projektu z randomizacją oraz dalsze monitorowanie wyników leczenia i jego toksyczności u chorych na raka stercza z udziałem boost'ów z radioterapii stereotaktycznej.
2. Dane dotyczące wyników leczenia chorych w grupach pilotowych będą analizowane i opisane celem przygotowania publikacji.

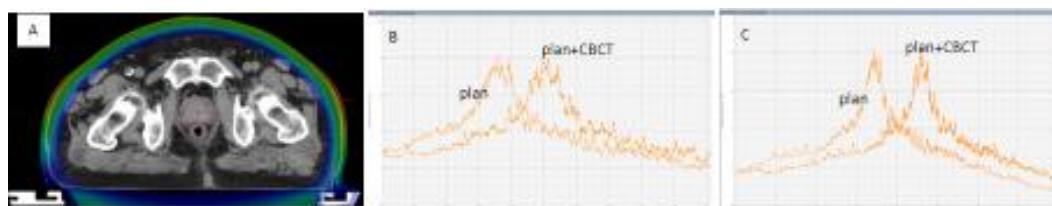
4.9. Optymalizacja i indywidualizacja technik planowania leczenia w radioterapii.

4.9.1. Projekt połączenia dawek generowanych w czasie weryfikacji obrazowej- CBCT z różnymi technikami radioterapii: CRT/ IMRT/VMAT.

Kierownik: K. Ślosarek

Aleksandra Grządziel, Barbara Bekman, Łukasz Dolla, Wojciech Osewski

Materiał stanowiły dane dozymetryczne opracowane na potrzeby systemu planowania leczenia Eclipse VMS, który został skonfigurowany w celu wyliczenia rozkładów dawek promieniowania kV, generowanego w czasie badań obrazowych przed seansem terapeutycznym (OBI: CBCT). Do obliczeń zastosowano odpowiednio przygotowany algorytm AAA (VMS v.13.5). Wykonano wstępne, teoretyczne obliczenia rozkładów dawek pochodzących od systemu obrazowania (CBCT). Stwierdzono, że istnieje możliwość ich sumowania z dawkami terapeutycznymi (na poziome dawek fizycznych).



Na rysunku „A” przedstawiono rozkład dawki obliczony dla CBCT (przypadek napromieniania gruczołu krokowego). Rysunek „B” przedstawia DVH dla pęcherza moczowego: plan – zaplanowana dawka terapeutyczna (max. 68,826 Gy); plan+CBCT – dawka z uwzględnieniem badań CBCT (tylko przed seansem terapeutycznym), dawka maksymalna wzrosła do 60,032 Gy. Jeżeli weryfikację obrazową wykonuje się przed i po seansie terapeutycznym (sprawdzenie ruchomości wewnątrzfrakcyjnej) rysunek „C”, wówczas dawka maksymalna wynosi 68.314 Gy.

W praktyce klinicznej, po weryfikacji dozymetrycznej będzie można stosować tak skonfigurowany system planowania leczenia do uwzględnienia dawek pochodzących od systemów obrazowania.

Opracowany sposób obliczeń dawek będzie przedmiotem publikacji po pozytywnej weryfikacji dozymetrycznej.

Możliwość uwzględnienia dawki pochodzącej od badań obrazowych (IGRT) będzie prowadziło do optymalnego wykorzystania weryfikacji obrazowej, w dalszej części prace będą oprowadzone w kierunku uwzględnienia efektów biologicznych tego sumowania.

Praca zostanie wysłana do czasopisma „Reports of Practical Oncology and Radiotherapy”.

4.9.2. Rozkłady dawek w technikach dynamicznych –IMRT/VMAT generowane przez kolimatory HD i Millenium akceleratorów TrueBeam i Clinac firmy VMS.

Kierownik: K. Ślosarek

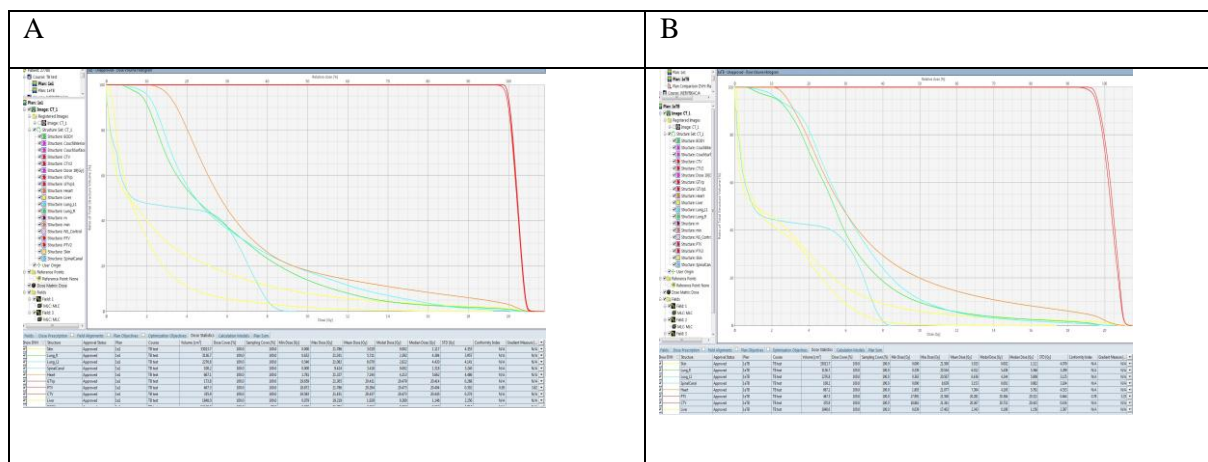
I. Brąclik, W. Leszczyński, J. Wendykier, J. Kopczyńska

Celem pracy była odpowiedź na pytanie: czy rozkłady dawek obliczone dla kolimatorów typu HD i Millenium akceleratorów firmy Varian są równoważne ze względu na rozkłady dawek, dla dużych napromienianych obszarów.

Techniki napromieniania np. ściany klatki piersiowej, obszaru miednicy, wymagają zastosowania dużych pól terapeutycznych. Jeżeli uzyskanie odpowiedniego wymiaru pola jest niemożliwe ze względu na kolimator typu HD (maksymalny wymiar), stosuje się wówczas dwa lub więcej punktów centrowania.

Materiał stanowi 19 pacjentów leczonych promieniowaniem jonizującym (fotony: X-6MV, X-10MV; z filtrem i bez filtra spłaszczającego), u których leczono duże objętości (rak piersi, przełyk, jama brzuszna) stosując kolimator typu Millenium. Następnie wykonano obliczenia rozkładów dawek wg. założeń terapeutycznych, wcześniej zdefiniowanych dla MLC-HD.

Analizie statystycznej zostały poddane wartości współczynników oceniających rozkłady dawek, liczbę jednostek monitorowych, dawki: integralne, minimalne, średnie, modalne; medianę dawki oraz odchylenie standardowe. Wartości te zostały odczytane z DVH dla każdego pacjenta dla rozkładów dawek otrzymanych przy pomocy MLC-HD oraz MLC-Millennium akceleratorów firmy Varian MS



Rozkłady dawek przedstawione w postaci DVH (Dose Volume Histogram) obliczone dla akceleratora Clinac z kolimatorem Millennium – A oraz B – kolimator wielolistkowy typu HD - akcelerator TrueBeam. Z wykresu można odczytać wszystkie dane statystyczne dotyczące rozkładu dawki: minimalne, średnie, modalne, mediana i odchylenie standardowe.

Wyniki uzyskane przy użyciu testów nieparametrycznych wskazują na brak istotnej statystycznie różnicy w przypadku wykonania planu leczenia wykorzystującego kolimator *HD*[®] lub *Millennium*[®].

Praca „IMRT/VMAT dose distributions generated for *HD*[®] and *Millennium*[®] collimators *TrueBeam*[®] and *Clinac*[®] accelerators” została wysłana do czasopisma „Reports of Practical Oncology and Radiotherapy” i jest po recenzji oraz wstępnej akceptacji.

4.9.3. Ocena przydatności fuzji obrazowej TK/NMR/PET w definiowaniu obszaru tarczowego w planowaniu zrobotyzowanej stereotaktycznej radiochirurgii CyberKnife.

Kierownik: K. Ślosarek

M. Stapór-Fudzińska, K. Orzechowska, L. Hawrylewicz, B. Maciejewski

Ocenie poddano przydatność i precyzję fuzji obrazowej TK/PET ⁶⁸Ga-DOTATATE w porównaniu do TK/NMR w wyznaczaniu konturów GTV oponiaków przez czterech niezależnych wykonawców z uwzględnieniem zgodności konturów GTV, wskaźnika czułości, konformalności i optymalnej wartości parametru SUV- PET ⁶⁸Ga.

Stosując obrazowanie TK/PET ⁶⁸Ga zgodność konturowania GTV oponiaków przez 4 wykonawców była 3,5-4,5-krotnie wyższa dla oponiaków > 10 cm³ vs 5 cm³ niż dla TK/NMR. Dla oponiaków z GTV < 10 cm³ obrazowanie TK/NMR okazało się wystarczająco precyzyjne i wiodące w celu konturowania ich granic, a TK/PET ⁶⁸Ga można wykorzystać w sytuacjach wątpliwych. Dla GTV ≤ 10 cm³ współczynnik korelacji konturów TK/NMR i TK/PET ⁶⁸Ga był wysoki (r = 0,91), natomiast znamienne, około dwukrotnie niższy (r = 0,4) dla GTV > 10 cm³. Współczynnik zgodności Kappa okazał się korzystny (K = 0,53) dla konturowania przez lekarzy i fizyków w oparciu o TK/PET ⁶⁸Ga i jedynie mierny (K = 0,342) dla TK/NMR. W grupie 13 oponiaków (19%) z GTV > 23 cm³ u połowy odnotowano 9% błąd geograficzny, oznaczający pozostawieniem poza konturem GTV niewielkiej objętości guza. To wskazuje na niedostateczną przydatność TK/NMR dla konturowania GTV oponiaków większych niż 10 cm³ z nieregularnymi granicami obrysu guza.

Analiza wpływu parametru SUV-PET ^{68}Ga na precyzję konturowania GTV oponiaków wykazała, że wraz ze wzrostem zakresu tego parametru z 0-100% do 75-100% objętość GTV $< 6 \text{ cm}^3$ zmniejsza się około 5-krotnie i około 6-krotnie, gdy GTV przekracza 20 cm^3 . Dla SUV 25-100% nieostre granice GTV występowały w 6% przypadków w porównaniu do 95% przypadków, gdy SUV wynosił 50-100% lub 75-100%. Za optymalny przedział SUV uznano zakres 25-100%. Dla tej wartości SUV współczynnik konformalności (CI) powyżej 0,6 dotyczył 65% przypadków w porównaniu do 35% dla SUV 0-100%. Po znormalizowaniu $\text{GTV}_{\text{TK/PET } ^{68}\text{Ga}}$ do $\text{GTV}_{\text{TK/NMR}} = 1,0$, 38% znormalizowanych $\text{GTV}_{\text{TK/PET } ^{68}\text{Ga}}$ z SUV 25-100% mieściło się w zakresie $1,0 \pm 0,15$ i tylko 5% przypadków, gdy SUV wynosił 50-100% i powyżej. Wartość SUV 25-100% uznano za optymalną.

Powyższe wyniki zostały zaprezentowane podczas wystąpienia ustnego podczas 2017 Radiosurgery Society Annual Scientific Meeting: Bridging the Gap – Improving Patient Care through Science & Innovation, 1-4.11.2017, Las Vegas, USA (Stąpór-Fudzińska M., Maciejewski B., Hawrylewicz L., Orzechowska K., Miszczyk L., Śłosarek K.: *Use of ^{68}Ga -DOTATATE PET/CT imaging for stereotactic radiosurgery treatment planning for patients with meningiomas*).

4.10. Modele szacowania prawdopodobieństwa miejscowego wyleczenia nowotworów głowy i szyi po leczeniu promieniami.

4.10.1. Szacowanie szansy miejscowego wyleczenia (TCP) na podstawie estymacji TCP dla częściowych objętości guza (subvolume SVTCP) z niejednorodnie deponowaną dawką IMRT, na modelu regionu głowy i szyi.

Kierownik: L. Miszczyk

B. Maciejewski, L. Hawrylewicz, M. Stąpór-Fudzińska, K. Szczepanik

Biorąc pod uwagę fakt niejednorodnego rozkładu dawki w obszarze tarczowym (guz) i jej gradientu w guzie i poza jego granicami fizyczna charakterystyka planu 3D-IMRT jest niewystarczająca, ponieważ nie uwzględnia różnic w rozkładzie dawek biologicznych. Do badania zaadoptowano model radiobiologiczny opracowany przed laty przez B. Maciejewskiego i H.R. Withersa uwzględniający niejednorodny rozkład dawek biologicznych w obszarze tarczowym GTV.

Pominięto obszary CTV i PTV, ponieważ są one oznaczane subiektywnie i dawka w nich dopasowana zapewnia ponad 90% wyjałowienie subklinicznych ognisk raka.

Obszar GTV podzielono na dwie podobjętości: SVA z deponowaną 100% dawką planowaną (a nie D_{95} wskazywaną przez ICRU) oraz podobjętość SVB z dawką $< D_{100}$. W miejsce rangowej cechy T wprowadzono ilościowy parametr wyjściowej liczby (TCP) macierzystych komórek raka oraz oznaczono szansę wyjałowienia SVA i SVB w zależności od podanej biologicznie znormalizowanej dawki i porównano ze wstępnie przewidywanym TCP.

Model kliniczny badań stanowiło 16 przypadków raka regionu głowy i szyi w stopniu T_1 - $T_2N_0M_0$, w których podano dawkę całkowitą (TD) 60-70 Gy. Dla takich wartości TD przewidywana TCP wynosi 90-95%. Wyniki analizy wykazały, że uwzględniając niejednorodny rozkład dawek w SVA i SVB rzeczywiste wartości TCP będące wynikiem iloczynu TCP dla SVA i SVB w znacznym stopniu odbiegały od przewidywanego TCP, nie przekraczały 50%. W tych przypadkach (50%), na podstawie 3-letnich wyników wystąpiły wznovy miejscowe. Uzyskane wyniki wskazują, że przewidywane wstępnie TCP w oparciu o dawki fizyczne i rangowy system zaawansowania nowotworu jest w wielu przypadkach błędny. Opracowano i przetestowano metodę korekty fizycznych i biologicznych planów terapii 3D-IMRT przed rozpoczęciem napromieniania umożliwiających maksymalne pokrycie SVA planowaną dawką D_{100} i ograniczenie do minimum obszaru SVB z niższą dawką.

Badanie, które realizowano przy współpracy z Dept. Radiotherapy Uniwersytetu w Monachium (K. R. Trott, H. Kummermehr) i opracowano w formie publikacji pt. „Overall and GTV subvolumes tumor control probability estimation with inhomogeneous dose distribution in 3D-IMRT planning for head and neck cancer” wysłano do druku do Strahlentherapie und Onkologie.

4.10.2. Wpływ stopni zaawansowania regionalnych węzłów chłonnych szyi na prawdopodobieństwo 3-letniego wyleczenia guza pierwotnego. Częstość i kinetyka wznów miejscowych w samodzielnej radioterapii raków regionu głowy i szyi.

Kierownik: L. Miszczyk

B. Maciejewski, A. Celejewska, D. Gabryś, T. Latusek

Generalnie i zwyczajowo wyniki radioterapii są opracowywane w formie relacji wyleczenia miejscowego (LTC lub LRC) dla stopnia zaawansowania TNM i dawkowania promieniowania. Zasadniczym pytaniem w realizowanym projekcie jest jak zaawansowanie N wpływa na wyjałowienie pierwotnego ogniska T (wyrażonego w kategorii objętości, a nie rangowej) w porównaniu do statusu regionalnych węzłów chłonnych w stopniu N_0 . Uwzględniono również częstość i dynamikę wznów miejscowych w zależności od stopnia N. W tym celu w 2017 roku rozpoczęto tworzyć retrospektywny bank danych radioterapii raków regionu głowy i szyi z co najmniej 3-letnim okresem obserwacji wszystkich włączonych przypadków, co pozwala na oznaczenie rzeczywistych, a nie aktualizowanych relacji guz-dawka.

W 2017 roku do utworzonej bazy danych włączono 110 przypadków raka regionu głowy i szyi i przeprowadzono oznaczenie radiobiologiczne zastępujące cechy rangowe T oznaczonymi objętościami guzów pierwotnych i segregując przypadki w cztery grupy pod względem N na N_0 , N_1 , N_2 i N_3 . Rozbudowa bazy danych jest kontynuowana do osiągnięcia co najmniej 160 przypadków dla uwiarygodnienia planowanych badań biostatystycznych. Uzyskane wyniki będą stanowić podstawę dla wprowadzenia wolumetrycznego zaawansowania T i N oraz oznaczenia wymaganej korekcji dawek i frakcjonowania w obszarze pierwotnego ogniska raka, w zależności od wolumetrycznego zaawansowania regionalnych węzłów chłonnych.

Badanie ma charakter retrospektywny i wieloletowy i w 2018 roku przewidywane jest uzyskanie zaplanowanej liczbowo bazy danych i przystąpienie do przeprowadzenia wymaganych analiz biostatystycznych.

Przewidywane przekazanie opracowania do publikacji w czasopiśmie z listy filadelfijskiej – koniec 2019/I kwartał 2020.

4.11. Stereotaktyczna radiochirurgia i radioabłacja nowotworów i chorób czynnościowych.

4.11.1. Optymalizacja i indywidualizacja radioterapii stereotaktycznej guzów i zmian nienowotworowych ośrodkowego układu nerwowego i kręgosłupa.

Kierownik: L. Miszczyk

S. Blamek, D. Księżniak-Baran, M. Stankiewicz, D. Larysz, A. Roch-Zniszczoł, K. Ficek, A. Kruczek, Z. Straszak, A. Celejewska, D. Syguła, A. Łuczak, K. Grellier, A. Grządziel, A. Napieralska, B. Bekman, K. Śłosarek

W wyniku realizacji zadania badawczego w roku 2017 przeanalizowano odległe wyniki zastosowania radiochirurgii stereotaktycznej w leczeniu chorych na wydzielającego gruczolaka przysadki. Wykazano dużą skuteczność tej metody w zakresie uzyskania kontroli miejscowej oraz hamowania patologicznego wydzielania hormonów, w szczególności w przypadku akromegalii. Najslabiej reagowali chorzy na chorobę Cushinga. [1,2]

Zbadano także skuteczność radiochirurgii stereotaktycznej CyberKnife w leczeniu przerzutów do mózgu, ze szczególnym uwzględnieniem efektów leczenia chorych z przerzutami mnogimi oraz powtarzania zabiegów radiochirurgii stereotaktycznej u chorych, u których stwierdzono progresję wcześniej napromienianej zmiany lub obecność nowych przerzutów. Wykazano, że jest to leczenie bezpieczne, a jego skuteczność nie odbiega od obserwowanej u chorych poddanych jednemu zabiegowi SRS. W grupie chorych z kontrolowaną chorobą poza OUN skuteczność leczenia była podobna niezależnie od ilości napromienianych jednorazowo przerzutów.[3,4] W pracy opublikowanej w czasopiśmie *Hepatology* przedstawiono możliwości zastosowania radioterapii stereotaktycznej w leczeniu chorych na pierwotne nowotwory wątroby, zarówno jako metody leczenia radykalnego jak i terapii pomostowej przed planowanym przeszczepieniem wątroby. [5] Dokonano także analizy wyników leczenia za pomocą radiochirurgii stereotaktycznej dzieci chorych na czaszokardłaki, potwierdzając skuteczność tej metody leczenia w odpowiednio wyselekcjonowanej grupie chorych.[6] Podsumowanie odległych wyników radioterapii stereotaktycznej chorych na oponiaki wykazało, że u chorych poddanych niedoszczętej resekcji guza i uzupełniającej radiochirurgii stereotaktycznej, wyniki leczenia są gorsze niż u chorych, którzy poddani byli tylko SRS.[7] W pracy podsumowującej wyniki leczenia malformacji tętniczo-żylnych (AVM) u dzieci przeanalizowano wyniki leczenia AVM za pomocą radiochirurgii stereotaktycznej porównując je z efektami zastosowania metod endowaskularnych i leczenia chirurgicznego.[8] W kolejnej pracy dotyczącej chorych na AVM poddanych radiochirurgii stereotaktycznej przeanalizowano częstość występowania objawów klinicznych sugerujących genetyczne tło choroby. U około 10% chorych poddanych napromienianiu stwierdzono obecność skórnych objawów sugerujących występowanie zespołu CM-AVM, związanego z mutacją genu RASA1. **Praca ta została wyróżniona nagrodą „Best clinical poster” w czasie konferencji 2017 RSS Annual Scientific Meeting odbywającej się 2-4.11.2017 w Las Vegas.**[9] Obecnie trwają prace nad przygotowaniem manuskryptów kolejnych publikacji.

Podsumowując, efektem realizacji projektu badawczego w roku 2017 są następujące publikacje i doniesienia zjazdowe:

1. D. Księżniak-Baran, S. Blamek, M. Stankiewicz, K. Hasse-Lazar *Efficacy and safety of Linac-based stereotactic radiosurgery (SRS) and hypofractionated stereotactic radiotherapy (HFSRT) for acromegaly. A long-term follow-up study.* ISRS 2017, 28.05-01.06 2017, Montreux, Szwajcaria
2. D. Księżniak-Baran, M. Stankiewicz, K. Hasse-Lazar, S. Blamek *Ocena czynności hormonalnej wydzielających gruczolaków przysadki mózgowej u chorych poddanych radioterapii stereotaktycznej I obserwowanych co najmniej trzy lata.* *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2017; 3 (supl. C): C21
3. M. Stankiewicz, D.Ksiezniak-Baran, .S Blamek *CyberKnife radiosurgery for single and multiple cerebral metastases* ISRS 2017, 28.05-01.06 2017, Montreux, Szwajcaria

4. M. Stankiewicz, D. Księżniak-Baran, S. Blamek *Powtórna radioterapia stereotaktyczna przerzutó do mózgowia z wykorzystaniem systemu CyberKnife* *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2017; 3 (supl. C): C28
5. S. Blamek, A. Kruczek, D. Gabryś, L. Miszczyk *Zastosowanie stereotaktycznej radioterapii ablacyjnej u chorych na pierwotne nowotwory wątroby i dróg żółciowych* *Hepatologia* 2017; 17: 121-128 <https://doi.org/10.5114/hepatologia.2017.67959>
6. S. Blamek, M. Mandera, M. Kalina, D. Larysz *Zastosowanie radiochirurgii stereotaktycznej u dzieci chorych na czaszkogardłaka* *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2017; 3 (supl. C): C22
7. I. Kołodziej, Z. Ślosarek, S. Blamek *Radiochirurgia stereotaktyczna jako leczenie pierwotne lub pooperacyjne u chorych na oponiaki* *Onkologia w Praktyce Klinicznej* 2017; 3 (supl. C): C23
8. M. Putz, S. Blamek, M. Zbrozczyk, Z. Olczak, A. Klimczak, M. Mandera *Strategia i wyniki leczenia nadnamiotowych malformacji tętniczo-żylnych u dzieci*. 43 Zjazd Polskiego Towarzystwa Neurochirurgów 6-9.09.2017, Łódź
9. S. Blamek, A. Kruczek, D. Larysz, L. Miszczyk *The incidence of cutaneous vascular marks in patients treated with stereotactic radiosurgery for cerebral arteriovenous malformations* 2017 RSS Annual Scientific Meeting

4.11.2. Zbadanie wpływu zastosowania nowoczesnych technik radioterapii na funkcjonowanie wszczepialnych urządzeń elektrostymulujących.

Kierownik: L. Miszczyk

S. Blamek, D. Gabryś, B. Niewiadomska, A. Bekman, Ł. Dolla, A. Kruczek, A. Woźnica, M. Stąpór-Fudzińska, D. Larysz, M. Sokół, K. Ślosarek

W roku 2017 w ramach realizacji projektu badawczego opublikowano w formie artykułu podsumowanie doświadczeń klinicznych na świecie w zakresie prowadzenia radioterapii u chorych z wszczepionym elektronicznym urządzeniem stymulującym serce w kontekście standardów wypracowanych w IO[1] Przedstawiono też doświadczenia własne dotyczące monitorowania chorych z wszczepialnymi urządzeniami kardiologicznymi w czasie radioterapii.[2] W bieżącym roku zbadano również funkcjonowanie kardiologicznych urządzeń wszczepialnych w warunkach narażenia na rozproszone promieniowanie jonizujące generowane przez aparat CyberKnife oraz podsumowano wyniki badań na aparacie CyberKnife urządzeń do stymulacji nerwu błędnego.[3,4] Rozpoczęto badanie wrażliwości na promieniowanie jonizujące urządzeń do głębokiej stymulacji mózgu (DBS – deep brain stimulation). Wykonano ponadto badania mające na celu wyjaśnienie zaobserwowanych zaburzeń funkcjonowania badanych urządzeń, polegające na zbadaniu środowiska wewnątrz bunkrów aparatów terapeutycznych za pomocą helowego detektora neutronów. Wyniki badań wskazywały na obecność pola neutronowego wewnątrz bunkrów nawet w przypadku wykorzystywania akceleratorów emitujących wiązkę 6 MV. Obecność neutronów potwierdzono za pomocą próbek metali (wykorzystano Mn, Sb, Au), które uległy aktywacji wskutek interakcji z neutronami. Wstępne wyniki tych badań opublikowano w postaci doniesienia zjazdowego.[5] Manuskrypty kolejnych prac pełnotekstowych są w przygotowaniu.

Podsumowując, efektem realizacji projektu badawczego w roku 2017 są następujące publikacje i doniesienia zjazdowe:

1. S. Blamek *Radiotherapy in patients with cardiac implantable electronic devices – clinical experience* *Oncoreview* 2017;2: 64-69 DOI: 10.24292/01.OR.300617.2

2. J. Niedziela, E. Gadula-Gacek, J. Gorol, S. Blamek, P. Płaza, L. Miszczyk, M. Tajstra, M. Gąsior *Wpływ nowoczesnej radioterapii na działanie wszczepialnych urządzeń do elektroterapii serca XXVIII Konferencja Sekcji Rytmu Serca PTK Polstim 25-27.05.2017 Rzeszów*
3. S. Blamek, M. Stąpór-Fudzińska, B. Niewiadomska, M. Tajstra, M. Gąsior, A. Bekman, E. Gadula-Gacek, D. Gabryś *Implantable cardioverters-defibrillators, cardiac resynchronization therapy devices and CyberKnife radiosurgery: An in vitro study ISRS 2017, 28.05-01.06 2017, Montreux, Szwajcaria*
4. S. Blamek, M. Stapor-Fudzinska, D. Larysz, B. Niewiadomska, A. Bekman *Robotic Radiosurgery and a Vagus Nerve Stimulator: An in Vitro Feasibility Study Int J Radiat Oncol Biol Phys 2017; 99 (2): E639*
5. S. Blamek, A. Konefał, B. Niewiadomska, A. Bekman, Ł. Dolla, M. Tajstra, E. Gadula-Gacek, D. Gabryś, M. Gąsior *Ocena funkcjonowania nowoczesnych wszczepialnych urządzeń kardiologicznych w środowisku promieniowania rozproszonego generowanego przez urządzenie do tomoterapii Onkologia w Praktyce Klinicznej 2017; 3 (supl. C): C27*

4.12. Skojarzone leczenie chorych na raki przewodu pokarmowego i układu moczowo-płciowego.

4.12.1. Porównanie tolerancji i skuteczności przedoperacyjnej i pooperacyjnej radiochemioterapii u chorych na operacyjnego raka żołądka – badanie kliniczne III fazy. Ocena możliwości indywidualizacji leczenia w oparciu o markery molekularne i immunologiczne.

Kierownik: L. Miszczyk

J. Wydmański, R. Suwiński, S. Półtorak, M. Kryj, D. Lange, A. Chmielarz, E. Nowara, M. Wideł, M. Strączyński, M. Samborska-Plewicka, M. Zeman, W. Leszczyński, Ż. Kaniszewska-Dorsz, A. Namysł-Kaletka, E. Zembala-Nożyńska, L. Hawrylewicz, J. Nieckula, W. Bał, M. Kraszkiewicz, W. Majewski, A. Chwieduk, A. Gdowicz-Kłosok, A. Chmura, Ł. Kleszyk, R. Deja, K. Grabińska, G. Woźniak, L. Miszczyk

Cel pracy

Ocena tolerancji i skuteczności przedoperacyjnej radiochemioterapii w porównaniu do standardowej pooperacyjnej radiochemioterapii u chorych na raka żołądka oraz ocena wczesnych i późnych powikłań w narządach jamy brzusznej. Jednym z celów projektu jest identyfikacja czynników prognostycznych i predykcyjnych: genetycznych, proteomicznych, immunologicznych, histopatologicznych oraz metabolicznych. Ważnym aspektem prowadzonych badań jest standaryzacja radioterapii dla chorych na raka żołądka.

Materiał i metody badawcze

Przedmiotem analizy jest grupa 204 chorych na raka żołądka, 63 kobiety i 141 mężczyzn, w wieku od 25 do 74 lat (mediana 59). Kryteria kwalifikacji do badania klinicznego były następujące: potwierdzony w badaniu histopatologicznym gruczolakorak żołądka, stopień zaawansowania miejscowego umożliwiający radykalne leczenie operacyjne, wykluczenie przerzutów odległych, wiek chorego 20 – 75 lat, stopień sprawności chorego oceniany w skali ZUBROD 0-2, prawidłowe próby wątrobowe i nerkowe oraz pisemna zgoda chorego na udział w badaniu klinicznym.

Chorzy byli losowo dobierani do ramienia badawczego (A) i kontrolnego (B). W ramieniu A zastosowano neoadiuvantową radiochemioterapię z następową operacją i kontynuacją chemioterapii. W ramieniu B chorzy byli operowani a następnie w zależności od oceny stopnia zaawansowania raka żołądka byli kwalifikowani do pooperacyjnej radiochemioterapii (IB-IV) lub obserwacji (IA). Schemat radiochemioterapii w obu ramionach był identyczny. Napromieniano żołądek (lub łożę po żołądku) wraz z regionalnymi węzłami chłonnymi dawką frakcyjną 1,8 Gy do dawki całkowitej 45 Gy w czasie 5 tygodni. W trakcie radioterapii chory otrzymuje 2 cykle monochemioterapii 5-Fu w dawce 325 mg/m² d1-5 i d29-33 (na 1 h przed frakcją radioterapii). Chemioterapię kontynuowano wg schematu: 5-Fu 425 mg/m² d1-5 LV 20 mg/m² d1-5 (4 cykle w rytmie 28 dni).

Wyniki

Najczęstszymi powikłaniami były nudności i wymioty I i II stopnia, które stwierdzono u 50% chorych w grupie A i 31% w grupie B. Biegunka (I i II stopnia) wystąpiła u 24% i 33% chorych, odpowiednio w grupie A i B. Leukopenię I i II stopnia stwierdzono u ok. 60% chorych w ramieniu A i u 62% chorych w ramieniu B. U 2 chorych przerwano leczenie: u jednego chorego z powodu złej tolerancji, u drugiego chorego z powodu niedrożności przewodu pokarmowego. Szczególnej ocenie poddano późne odczyny popromienne trzustki. Podczas obserwacji po leczeniu stwierdzono spadek stężeń α -amylazy u 19,7% pacjentów, natomiast stężenie lipazy spadło u 48,2% pacjentów. Spośród różnych klinicznych czynników wpływających na popromienne uszkodzenie funkcji zewnątrzwydzielniczej trzustki, wiek oraz stężenie enzymów trzustkowych przed leczeniem były istotne statystycznie. U pacjentów poniżej 65 lat odnotowano mniejsze ryzyko wystąpienia hipoamylazemii w porównaniu z pacjentami starszymi. Ryzyko wystąpienia uszkodzenia funkcji zewnątrzwydzielniczej silnie zależy od stężeń enzymów trzustkowych. Stwierdzono, że prawdopodobieństwo wystąpienia niewydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki było mniejsze niż 0,2 u pacjentów, u których stężenie α -amylazy i lipazy przed leczeniem wynosiło odpowiednio 50U/L i 55U/L. Odnotowano również regenerację zewnątrzwydzielniczej funkcji trzustki, którą najwyraźniej obserwowano w ciągu 500 dni od leczenia. Stężenia lipazy i α -amylazy powróciły do normy odpowiednio u 39% oraz 31% chorych, przy czym powrót do normy jednego z enzymów trzustkowych, korelował z normalizacją stężenia drugiego enzymu trzustkowego.

U 70% chorych przeprowadzono radykalne leczenie chirurgiczne, w tym u 79,5% chorych w ramieniu A i u 63% chorych w ramieniu B. Ze względu na zaawansowanie miejscowe i/lub rozsiew guz był nieresekcyjny u 19% chorych w ramieniu A oraz u 30% chorych w ramieniu B. W okresie okołoperacyjnym grupie w A i B stwierdzono odpowiednio 4% i 4,5% zgonów. Nie stwierdzono istotnych różnic w powikłaniach chirurgicznych i niechirurgicznych w obu grupach chorych.

W grupie A 2- i 5-letnią miejscową kontrolę uzyskano odpowiednio u 67% i 58% chorych w porównaniu do 53% i 53% chorych w grupie B ($p=NS$). Aktualizowane 2- i 5-letnie przeżycie całkowite wyniosło 48% i 36% oraz 48% i 40% odpowiednio w grupie A i w grupie B ($p=NS$). Szczegółowa analiza przyczyn niepowodzenia leczenia chorych na raka żołądka stała się przyczynkiem do napisania i publikacji rozdziału o klinice przerzutów raka żołądka (1).

Ponadto w kolejne publikacje dotyczyły aspektów technicznych radioterapii: wyznaczenia objętości tarczowych w oparciu o badanie PET oraz wyznaczenia marginesu ITV-PTV dla przedoperacyjnej radioterapii raka żołądka (2,3).

Wnioski

Tolerancja leczenia w obu grupach chorych jest dobra. Wykazano zwiększone ryzyko wystąpienia niewydolności zewnątrzwydzielniczej trzustki po radiochemioterapii. W grupie chorych po neoadiuwantowej radiochemioterapii stwierdzono niższy odsetek nieresekcyjnych guzów żołądka oraz lepszą miejscową kontrolę nowotworu w porównaniu do grupy kontrolnej, bez wpływu na przeżycia odległe. Badanie kliniczne znajduje się we wczesnej fazie i nie można jeszcze ostatecznie porównać obu grup chorych ze względu na krótki czas obserwacji.

Formy prezentacji wyników:

Publikacje:

1. Debiec, K., and J. Wydmański. "Gastric Cancer Metastasis." *Introduction to Cancer Metastasis*. 2017. 137-161.
2. Leszczyńska, P., Leszczyński, W., Wydmański, J., Kinga, D., Kaletka, A. N., Tukiendorf, A., & Hawrylewicz, L. (2017). Delineation of Margins for the Planning Target Volume (PTV) for Image-Guided Radiotherapy (IGRT) of Gastric Cancer Based on Intrafraction Motion. *Asian Pacific journal of cancer prevention: APJCP*, 18(1), 37.
3. Dębiec, K., Wydmański, J., Gorczewska, I., Leszczyńska, P., Gorczewski, K., Leszczyński, W., d'Amico, A., Kalemba, M. (2017). 18-Fluorodeoxy-Glucose Positron Emission Tomography-Computed Tomography (18-FDG-PET/CT) for Gross Tumor Volume (GTV) Delineation in Gastric Cancer Radiotherapy. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 18(11), 2989-2998. doi: 10.22034/APJCP.2017.18.11.2989

4.12.2. Ocena skuteczności trzech różnych metod leczenia oszczędzającego pęcherz moczowy u chorych na raka pęcherza moczowego.

Kierownik: L. Miszczyk

W. Majewski, J. Nieckula, T. Dworzecki, R. Kulik, E. Chawińska, E. Nowara, A. Celejewska

W bieżącym roku dokonano analizy w podgrupie chorych poddanych neoadjuwantowej chemioterapii.

Formą opracowania wyników w 2017 r. jest niniejszy raport.

W 2018 r planowana jest końcowa analiza i podsumowanie wyników we wszystkich grupach chorych (neoadjuwantowa chemioterapia + radioterapia, jednoczasowa radio-chemioterapia i samodzielna radioterapia). Formą zakończenia badania w 2018 roku będzie przygotowanie pracy do publikacji.

Material i Metody

Badaną grupę stanowiło 42 chorych na naciekającego raka pęcherza moczowego, którzy byli kwalifikowani do neoadjuwantowej chemioterapii i następnej radioterapii radykalnej w latach 2005-2016. W badanej grupie było 35 mężczyzn i 7 kobiet. Średni wiek wynosił 63 lat i wahał się od 49 do 75 lat. W badanej grupie było 11 chorych (26%) w stopniu T2, 15 chorych (36%) T3 i 16 chorych (38%) w stopniu T4. U 33 chorych (79%) nie stwierdzono przerzutów w regionalnych węzłach chłonnych (N0), natomiast u pozostałych 9 chorych stwierdzono przerzuty w tych węzłach, co jednak nie dyskwalifikowało chorych od radykalnego leczenia. Stopień złośliwości histopatologicznej nowotworu był oceniony u 31 chorych (74%): rozpoznano G1 u 4 chorych (10%), G2 u 9 (21%), G3 u 18 chorych (43%).

Wyniki

Najczęściej stosowanym schematem chemioterapii był schemat PG, rzadziej MVAC. U 3 chorych zastosowano 1 cykl chemioterapii neoadjuwantowej (7%), u 17 (41%) 2 cykle, u 16 (38%) 3 cykle, a u 6 chorych (14%) 4 cykle chemioterapii. U 1 chorego po chemioterapii doszło do progresji choroby i dalszego rozsiewu i chory został skierowany do leczenia objawowego. Spośród pozostałych chorych u 5 z nich obserwowano progresję choroby po chemioterapii i chorzy ci zostali poddani paliatywnej . W analizie tolerancji radioterapii ujęto tylko grupę 36 chorych, którzy rozpoczęli radykalną radioterapię (20 Gy/4 Gy, 30 Gy/3 Gy).

Tak więc radykalną radioterapię rozpoczęło ostatecznie 36 chorych (82%). Stosowano dawkę całkowitą od 60 Gy do 70 Gy. U 3 chorych radioterapię skończono na niższej niż założona dawce, z uwagi na nasilone odczyny popromienne (odpowiednio 22 Gy, 30 Gy i 45 Gy).

W analizie wyników odległych ujęto całą grupę 42 chorych kwalifikowanych do sekwencyjnego leczenia zgodnie z pierwotną intencją leczenia. Odczyny popromienne ostre i późne oceniono wg klasyfikacji RTOG.

Tolerancja radioterapii:

Ostre i późne odczyny popromienne przedstawia Tabela 1 i Tabela 2.

Tabela 1. Ostry odczyn popromienny

Stopień nasilenia odczynu ostrego	Dla pęcherza moczowego	Dla odbytnicy/jelit
0	5 chorych (14%)	24 chorych (67%)
1	8 chorych (22%)	9 chorych (25%)
2	16 chorych (44%)	2 chorych (6%)
3	7 chorych (19%)	0 chorych
4	0	1 chory (3%)

U 1 chorego wystąpiła w trakcie radioterapii pełna niedrożność jelit (4 stopień odczynu), prowadzono leczenie zachowawcze. Chory zakończył RT na dawce 30 Gy.

Tabela 2. Późny odczyn popromienny

Stopień nasilenia odczynu późnego	Dla pęcherza moczowego	Dla odbytnicy/jelit
0	12 chorych (33%)	28 chorych (78%)
1	10 chorych (28%)	0
2	4 chorych (11%)	0
3	2 chorych (6%)	0
4	0	0

U 8 chorych (22%) brak było wystarczającej obserwacji po zakończeniu radioterapii aby ocenić odczyn późny.

Wyniki odległe:

W badanej grupie: 3-letnie i prognozowane 5-letnie wyleczenia miejscowe wyniosły 33% i 33%, 3-letnie i prognozowane 5-letnie przeżycia całkowite wyniosły 42% i 36%, natomiast 3-letnie i prognozowane 5-letnie przeżycia bezobjawowe 19% i 19%.

Spośród analizowanych czynników jedynie stopień zaawansowania guza (T) wiązał się z szansą przeżycia bezobjawowego (Tabela 3)

Tabela 3. Szansa na przeżycie bezobjawowe a zaawansowanie miejscowe guza T (p=0,036)

Zaawansowanie guza T	Przeżycie bezobjawowe (DFS) Liczba chorych (%)
T2	4 (36%)
T3	7 (47%)
T4	1 (6%)

Wyniki tej analizy wskazują, że chorzy z wyjściowo bardzo zaawansowanym guzem (T4) nie są kandydatami do leczenia radykalnego- ich szanse na wyleczenie i przeżycie są niewielkie.

Wnioski:

- Tolerancja skojarzonego leczenia jest dobra porównywalna z tolerancją samodzielnej radioterapii.
- Wyniki leczenia nie są zadowalające, choć jak na tak zaawansowaną grupę chorych dają szansę na wyleczenie i przeżycie u części chorych.
- Istotna wydaje się odpowiednia kwalifikacja chorych, chorzy ze zbyt zaawansowaną miejscowo chorobą lub bez istotnej odpowiedzi na neoadjuwantową chemioterapię powinni być kierowani do leczenia paliatywnego

Publikacje

1. Arcangeli G, Arcangeli S, Strigari L, et al. A systematic review and meta-analysis of clinical trials of bladder-sparing trimodality treatment for muscle invasive bladder cancer (MIBC). *Crit Rev Oncol Hematol* 2015; 94: 105-115
2. Arcangeli G, Strigari L, Arcangeli S, et al. Radical cystectomy versus organ-sparing trimodality treatment in muscle-invasive bladder cancer: A systematic review of clinical trials. *Crit Rev Oncol Hematol* 2015; 95: 387-396
3. Hafeez S, Horwich A, Omar O, et al. Selective organ preservation with neo-adjuvant chemotherapy for the treatment of muscle invasive transitional cell carcinoma of the bladder. *Br J Cancer* 2015; 112: 1626-1635.
4. Petrelli F, [Coinu A](#), Cabiddu M, et al. Correlation of pathologic complete response with survival after neoadjuvant chemotherapy in bladder cancer treated with cystectomy: a meta-analysis. [Eur Urol](#). 2014; 65: 350-357
5. Zapatero A, Martin De Vidales C, Arellano R, et al. Long-term results of two prospective bladder-sparing trimodality approaches for invasive bladder cancer: neoadjuvant chemotherapy and concurrent radio-chemotherapy. *Urology* 2012; 80: 1056-1062.

4.14. Ocena wartości prognostycznej wolumetrycznej klasyfikacji płaskonabłonkowego raka gardła i krtani i infekcji wirusem brodawczaka ludzkiego HPV u chorych poddanych radio- i chemioterapii.

Kierownik: K. Składowski

T. Rutkowski, A. Mazurek, M. Śnietura, A. Hajduk, B. Hejduk, M. Jędrzejewska, W. Pigłowski, E. Małusecka, A. Fiszer-Kierzkowska, R. Rutkowski, A. Wygoda, I. Domińczyk, T. Stępień, A. Tukiendorf, Z. Kołosza, D. Lange, P. Widłak

Ocena częstości występowania raka HPV-zależnego oraz roli HPV jako czynnika prognostycznego u chorych na raka gardła i krtani (RK) z zastosowaniem radioterapii samodzielnej (RT) lub w skojarzeniu z chemioterapią (RTCHT) w latach 2012- 2014 w Centrum Onkologii-Instytucie, oddział w Gliwicach. Badanie przeprowadzono na grupie 247 chorych zakwalifikowanych do RT lub CHRT, w tym chorych na raka nosogardła (RN) 16 (6,5%), RGŚ 93 (37,5%), raka gardła dolnego (RGD) 28 (11%), (RK) 108 (44%). U 102 (41%) chorych zastosowano RT a u 145 (59%) chorych CHRT. Potwierdzenie etiologii HPV uzyskiwano z materiału tkankowego i/lub oznaczano pozakomórkowy, krążący DNA wirusa HPV. Porównano wskaźniki przeżycia dla chorych na raka HPV zależnego (HPV+) i na raka HPV niezależnego (HPV-). Mediana czasu obserwacji wyniosła 24 miesiące. HPV stwierdzono u 59 (24%) chorych, odpowiednio u 0 (0%), 48 (19%), 1 (0,5%), 8 (3%) chorych na RN, RGŚ, RGD i RK. Chorzy HPV+ mieli znamienne wyższe odsetki 2-letnich wyleczeń miejscowych (94% v 78%, p=0,01) i lokoregionalnych (88% v 74%, p=0,03) niezależnie od stopnia zaawansowania T i N. Odsetki 2-letnich przeżyć bez przerzutów odległych nie różniły się w obu grupach (92% v 88%, p=0,3). Blisko 20% chorych na RGŚ w Polsce jest HPV+. Badania potwierdzają że HPV jest silnym, niezależnym, korzystnym czynnikiem prognostycznym w populacji polskich chorych na RRGiSz.

Efektem prac prowadzonych nad badaniami HPV w osoczu krwi chorych na raka regionu głowy i szyi jest otrzymanie grantu dofinansowanego ze środków NCBiR p.t. „Opracowanie strategii diagnostyczno-terapeutycznej HPV-zależnych nowotworów w oparciu o uwarunkowania genetyczne w celu optymalizacji leczenia (kierownik Agnieszka Mazurek)”. Głównym celem projektu jest zaproponowanie nowej strategii diagnostycznej opartej na wykrywaniu HPV w pozakomórkowym krążącym DNA dla chorych z HPV-zależnym rakiem regionu głowy i szyi (RRGiSz). W ramach projektu Tango zostanie opracowany test do wykrywania HPV w osoczu. Celem nadrzędnym jest wdrożenie do praktyki klinicznej nowej procedury diagnostycznej opartej na pozakomórkowym DNA pochodzącym z guza oraz promocja nowych jakości i standardów leczenia opartych na nowatorskim badaniu.

Wykaz publikacji będących wynikiem realizacji wniosku:

1. Rutkowski T, Mazurek A, Śnietura M, Wygoda A, Kentnowski M, Polanowski P, Dworzecka U, Pilecki B, Dębiec K, Gawron I, Niedziałek J, Pigłowski W, Bojko U, Widłak P, Składowski K. cfHPV DNA as a marker of treatment results In patients with HPV-related head and neck cancer. Radiotherapy & Oncology, March 2017 Volume 122, Supplement 1, p16-17 (6th ICHNO International Conference on Innovative Approaches in Head and Neck Oncology, 16-18.03.2017, Barcelona, Hiszpania).
2. Rutkowski T, Mazurek AM, Śnietura M, Wygoda A, Bojko U, Widłak P, Składowski K. Circulating HPV DNA as a marker of treatment results In patients with HPV-related head and Neck cancer after radiotherapy/radiochemotherapy. 2017, s. 471, 31st International Papillomavirus conference, 28.02-04.03. 2017, Cape Town, South Africa.
3. Mazurek AM, Bojko U, Składowski K, Rutkowski T, Circulating HPV16 DNA in the blood of head and neck cancer patients. XXI Gliwice Scientific Meetings, 17-18.11.2017, Gliwice, Poland.
4. A. Brewczyński, T. Rutkowski, A. Mazurek, M. Śnietura, Z. Kołosza, A. Wygoda, K. Składowski, A. Celejewska, E. Małusecka, A. Fiszer-Kierzkowska, U. Bojko, W. Pigłowski, A. Hajduk, P. Polanowski, U. Dworzecka, I. Gawron, M. Kentnowski, B. Pilecki, T. Stępień, I.

Domińczyk, E. Nadolska, A. Tatar, P. Widlak. HPV as an etiological and prognostic factor for the Polish patients with HNC. *Radiotherapy & Oncology*, May 2017, Volume 123, Supplement 1, Pages S595–S596 (ESTRO 36, May 5-9, 2017, Vienna, Austria).

4.15. Zbadanie skuteczności indukcyjnej chemioterapii (iCHT) u chorych na pierwotnie operacyjnego, zaawansowanego raka zlokalizowanego w jamie ustnej.

Kierownik: K. Składowski

T. Rutkowski, C. Szymczyk, A. Hajduk, A. Wygoda, E. Stobiecka, B. Hejduk, A. Maciejewski, J. Wierzoń, Ł. Krakowczyk, M. Jędrzejewska, P. Zeman, B. Lukaszczuk-Wideli, Ł. Michalecki, B. Pilecki, M. Kentnowski, U. Dworzecka, K. Grabińska

Wstęp: W Polsce większość chorych na raka regionu głowy i szyi (RRGiSz) trafia do onkologa z chorobą w stanie zaawansowanym (III, IV stopień kliniczny). Standardowe leczenie (operacja, radioterapia (RT)) jest skuteczne u mniej niż połowy takich chorych. Główną przyczyną niepowodzeń są niewyleczenia i wznowy. U istotnego odsetka chorych pojawiają się przerzuty odległe. Z tego względu podjęto badania nad skutecznością stosowania dodatkowo chemioterapii (CHT). Obecnie już wiadomo, że CHT skojarzona z RT powoduje zwiększenie szansy zachowania funkcji narządu (1) wzrost odsetka wyleczeń miejscowych i regionalnych (1), zmniejszenie odsetka przerzutów odległych (1) i wydłużenie przeżycia całkowitego (2). Wiadomo również, że po operacji, uzupełniająca radioterapia skojarzona z jednoczesną chemioterapią zmniejsza odsetek wznów miejscowych i wydłuża przeżycia całkowite (Bernier Cooper). Ostatnio coraz większe zainteresowanie towarzyszy leczeniu indukcyjnemu. Wykazano, że indukcyjna chemioterapia zwiększa skuteczność leczenia oszczędzającego chorych na zaawansowanego RRGiSz(3). Próby oceny skuteczności chemioterapii jako leczenia indukcyjnego przed planowanym leczeniem operacyjnym są nieliczne (Licitra) a wyniki doniesień są trudne do jednoznacznej interpretacji ze względu na niejednorodne grupy chorych, brak jednoznacznych kryteriów kwalifikacji czy suboptymalne schematy chemioterapii. (Hill 1986, Posner 2000, Tannock 1986). Taka sekwencja leczenia obecnie nie jest więc postępowaniem z wyboru mimo, że niejednokrotnie stosowana w praktyce klinicznej (Harrari 1997). Można spodziewać się, że indukcyjna chemioterapia pozwoli na uzyskanie istotnej cytoredukcji guza pierwotnego i przerzutowych węzłów chłonnych umożliwiając ograniczenie rozległości zabiegu czy zmniejszenie ryzyka powstania przerzutów odległych. Dodatkowym zyskiem leczenia indukcyjnego w niektórych przypadkach może być możliwość leczenia operacyjnego chorych z pierwotnie nieresekcyjnymi guzami. Potencjalna korzyść z leczenia indukcyjnego to również zmniejszenie pooperacyjnego deficytu czynnościowego i poprawa jakości życia jako efekt skojarzenia z możliwościami nowoczesnej, mikronaczyniowej chirurgii rekonstrukcyjnej.

Cel: Celem badania jest ocena skuteczności i tolerancji iCHT przed planowanym leczeniem operacyjnym u chorych z pierwotnie resekcyjnym guzem nowotworowym zlokalizowanym w jamie ustnej.

Material: Kryteria kwalifikacji spełniają chorzy na płaskonabłonkowego, pierwotnie operacyjnego raka jamy ustnej, dziąsła lub języka w III lub IV stopniu zaawansowania klinicznego (TNM; AJCC) bez przerzutów odległych., uprzednio nieleczeni. Do badania zakwalifikowano chorych z pierwotnie operacyjnym rakiem płaskonabłonkowym jamy ustnej. Zostali oni poddani chemioterapii indukcyjnej trójlekowej (docetaxel, cisplatyna, fluorouracyl) lub dwulekowej (cisplatyna, fluorouracyl). Odpowiedź radiologiczna i możliwość operacyjności była oceniana przez wielodyscyplinarny zespół. Pierwotnym celem było uzyskanie poprawy operacyjności i wpływ chemioterapii indukcyjnego na leczenie uzupełniające. W okresie od 03.2013 do 10.2017, 111 pacjentów zakwalifikowano do leczenia skojarzonego: chemioterapia indukcyjna, zabieg operacyjny, radioterapia uzupełniająca +/- chemioterapia. Średni wiek chorych wynosił 57 lat i 5 miesięcy. Głównymi lokalizacjami było dno jamy ustnej - 52 (47%) chorych oraz ruchoma część języka - 48 (43%) chorych. Większość chorych miało zaawansowanie w stopniu klinicznym IVA – 58 (92%).

Wyniki: Chemioterapię wg schematu TPF lub PF otrzymało 92 (83%) chorych, natomiast pozostali przeważnie samodzielnie DDP. Planowe 3 lub 4 cykle chemioterapii indukcyjnej otrzymało 85 (76%) chorych. U 10 (9%) chorych zakończono leczenie po 1. lub 2. cyklu z powodu złej tolerancji hematologicznej lub nefrologicznej, 3 (3%) chorych nie zgłosiło się do kontynuacji leczenia po 1. lub 2. cyklu, 3 (3%) doszło do klinicznej progresji. Średni odstęp między cyklami wynosił 23 dni (21-31 dni), 2. cykl otrzymało 95 (85%) chorych, 3. cykl – 85 (76%) chorych. Zabieg operacyjny został przeprowadzony u 94 (84%) pacjentów, jednak u 2 (3,2%) chorych w trakcie operacji okazała się niemożliwa resekcja. Odstąpiono od operacji u 7 z powodu progresji choroby lub braku odpowiedzi na leczenie. Po chemioterapii i zabiegu operacyjnym, u 10 (10%) chorych uzyskano pCR i odstąpiono od leczenia uzupełniającego; **Wnioski:** Wstępne wyniki wskazują, że indukcyjna chemioterapia u pierwotnie operacyjnych chorych na zaawansowanego raka jamy ustnej, jest dobrze tolerowana i może być rozważana jako opcja terapeutyczna w wyselekcjonowanej grupie chorych.

Piśmiennictwo:

1. Induction chemotherapy plus radiation compared with surgery plus radiation in patients with advanced laryngeal cancer. The Department of Veterans Affairs Laryngeal Cancer Study Group. *N Engl J Med.* 1991 Jun 13;324(24):1685-90.
2. Pignon JP, Bourhis J, Domenge C, Designé L. Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma: three meta-analyses of updated individual data. MACH-NC Collaborative Group. *Meta-Analysis of Chemotherapy on Head and Neck Cancer. Lancet.* 2000 Mar 18;355(9208):949-55
3. Posner MR, Haddad RI, Wirth L, Norris CM, Goguen LA, Mahadevan A, Sullivan C, Tishler RB. Induction chemotherapy in locally advanced squamous cell cancer of the head and neck: evolution of the sequential treatment approach. *Semin Oncol.* 2004 Dec;31(6):778-85. Review.
4. Posner MR i wsp. Cisplatin and Fluorouracil Alone or with docetaxel In head and Neck cancer. *NEJM Vol 357, oct 25, 2007; 1705-1715*
5. Vermorken JB. I wsp. Cisplatin Fluorouracil and Docetaxel in Unresectable head and neck cancer. *NEJM 357, oct 25 2007;1695-1704*
6. Licitra S. i wsp. Primary chemotherapy in resectable oral cavity squamous cell cancer: a randomized controlled trial. *J Clin Oncol 2003; 21:327- 333.*
7. Hill BT i wsp. Importance of primary site of accessing of chemotherapy response and 7 years survival data in advanced squamous cell carcinoma of head and neck treated with initial combination of chemotherapy without cis-platin. *J Clin Oncol 1986; 4:1340-1347.*
8. Posner MR i wsp. The role of induction chemotherapy in the curative treatment of squamous head and neck cancer. *Seminars Oncol.* 2000; 27: 13-24.

9. Tannock IF *et al*. Lack of evidence for a role of chemotherapy in the routine management of the locally advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol* 1986; 4:1121-1126.

10. Harrari PM Why has induction chemotherapy for advanced head and neck cancer become a United States community standard of practice? *J Clin Oncol* 1997; 15:2050-2055.