

POKROKY V ČIPOVÝCH TECHNOLOGIÍCH ZNAMENAJÍ POKROKY V BIOMEDICÍNSKÉM VÝZKUMU I KLINICKÉ DIAGNOSTICE

ZPRÁVA Z KONFERENCE ADVANCES
IN MICROARRAY TECHNOLOGY 2006,
AMSTERDAM, 30.10. - 2.11.2006

REPORT FROM CONFERENCE ADVANCES IN MIC-
ROARRAY TECHNOLOGY 2006, AMSTERDAM,
30.10. - 2.11.2006

SLABÝ O.
MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV, BRNO

Na přelomu října a listopadu 2006 uspořádala společnost Select Biosciences v amsterdamském hotelu Hilton mezinárodní konferenci **Advances in Microarray Technology 2006** zaměřenou na pokroky, kterých bylo v minulém roce dosaženo napříč celým spektrem čipových technologií a jejich aplikací především v oblasti biomedicíny. Moje účast na konferenci byla spojena s prezentací posteru zařazeného do sekce Clinical diagnostics - „**Usage of low-density oligonucleotide microarrays for prognosis prediction of colorectal cancer patients**“ autorského kolektivu Slabý O., Garajová I., Svoboda M., Fabian P., Šmerdová T., Vyzula R. z Masarykova onkologického ústavu v Brně.

Program konference byl rozdělen do několika tematických bloků zaměřených na bioinformatiku, vývoj čipových technologií, DNA čipy pro detekci genových polymorfizmů, DNA čipy ke stanovení genové exprese, proteinové čipy a čipy sloužící ke studiu proteinových interakcí. Ve všech sekcích bylo možné vyslechnout přední odborníky na dané problematiky. Z kapacitních důvodů zmiňuji podrobněji pouze tři vybrané referáty.

První přednáškový blok zaměřený na bioinformatiku zahájil dr. Alvis Brazma vedoucí týmu vyvíjejícího internetový databázový systém pro ukládání, analýzy a výměnu expresních dat ArrayExpress (<http://www.ebi.ac.uk/array-express>) z Evropského Bioinformatického Institutu (EBI). Jeho tým se rovněž podílí na vytváření standardů, výměnných formátů (**MIAME - Minimum Information About a Microarray Experiment** a **MAGE - MicroArray and Gene Expression**) a protokolů pro ukládání a výměnu dat získaných z čipových studií. Přednáška velice přehledně shrnovala současné možnosti a trendy ve výměně dat z čipových analýz a workflow v případě multicentrických biomedicínských studií za využití aplikací vytvořených týmem na EBI. Poněvadž akceptování publikace ve většině odborných periodik s impakt faktorem vyšším než tři je dnes podmíněno poskytnutím hrubých dat z čipových analýz v nějakém z výše uvedených výměnných formátů, je pro odborné pracovníky využívající některou z čipových technologií orientace v pojmech jako je MIAME a MAGE nutností. Podrobnosti o projektech spojených z čipovými technologiemi probíhajícími na EBI naleznete na internetových stránkách (<http://www.ebi.ac.uk/microarray>).

V bloku zaměřeném na bioinformatiku zazněla rovněž přednáška prof. Domanyho z Weizmannova institutu v Izraeli zaměřená na problematiku identifikace unikátní sady genů sloužící k predikci prognózy u pacientek

s mamárním karcinomem v souvislosti s **první mezinárodní klinickou prospektivní studií založenou na čipových analýzách MINDACT** (Microarray In Node negative Disease may Avoid ChemoTherapy, EORTC Protocol 10041 - BIG 3-04 - <http://www.eortc.be/services/unit/mindact>) pořádanou sítí výzkumných pracovišť **TRANSBIG** (40 institucí v 21 zemích) s celkovým rozpočtem přibližně 20 milionů eur a s plánovaným ukončením v roce 2010. V prvních třech letech se očekává zařazení přibližně 5000 pacientek. Studie **MINDACT** je založena na výsledcích studie dr. van't Veerové publikované v Nature v roce 2002, ve které identifikovala sadu 70 genů schopnou predikovat metastatický potenciál nádorů u pacientek s mamárním karcinomem v časných stádiích. Vzhledem k tomu, že pouze jedna třetina adjuvantně léčených pacientek má z terapie užitek, umožňovalo by genomové profilování racionální indikaci adjuvantní chemoterapie na základě individuálních vlastností daného nádoru a její redukci až o 70%, což by mělo význam nejen v zamezení zatěžování pacienta náročnou a pro něj neúčinnou léčbou, ale také z hlediska farmakoekonomického. Riziko metastatického postižení a následně indikace adjuvantní terapie je ve studii **MINDACT** hodnocena paralelně pomocí veřejně přístupné webové aplikace Adjuvant! na základě běžně používaných diagnostických kritérií a pomocí exprese sady 70 genů získané z bioptického vzorku primárního karcinomu pomocí DNA čipu **MammaPrint** vyrobeného společností Agendia na základě genové sady identifikované dr. van't Veerovou. Studie se dělí do tří ramen. První rameno je tvořeno pacienty s vysokým rizikem metastazování dle obou metodik a je spojenou s indikací adjuvantní chemoterapie, druhé rameno tvoří pacienti s nízkým rizikem metastazování dle obou metodik a tedy bez adjuvantní chemoterapie, třetí rameno, pacienti s rozdílným výsledkem u každé z metodik, jsou náhodně rozdělováni do předchozích dvou ramen. Studie v současnosti dospěla ke konci své počáteční „validační fáze“, která má retrospektivní charakter a měla sloužit pouze k potvrzení dobrých analytických vlastností genové sady také na jiných populacích než testovací. Při nezávislých validacích sice bylo dosaženo statistické významnosti, ale o více než polovinu nižší, než které bylo dosaženo při validaci dr. van't Veerovou. Nenaplněná očekávání „validační fáze“ byla interpretována různými způsoby, uvažovalo se o změně designu studie i o jejím případném pozastavení. Možnou interpretaci této diskrepance se mimo jiné zabýval právě biostatistický tým prof. Domanyho a příčinu nespokojivé reprodukovatelnosti výsledků nalezl v nedokonalém statistickém zpracování získaných expresních dat v původní práci dr. van't Veerové, která na souboru 96 pacientek identifikovala 5852 genů signifikantně rozdílných v expresi mezi skupinami s různou prognózou a 70 z nich s prognózou nejvíce korelujících použila pro konstrukci Kaplan-Meyerových křivek celkového přežití. (proč vybrala právě počet 70 genů není v práci diskutováno). Tato sada genů byla následně převzata do studie **MINDACT**. Prof. Domany zopakoval dříve provedenou analýzu dat a v různých krocích do ní zasahoval. Například vyloučení jednoho ze vzorků ze zkoumané skupiny pacientů znamenalo v rámci 5852 signifikantních genů úplné přeskládání jejich pozic z hlediska významnosti korelace s prognózou a 70 statisticky nejvýznamnějších tvoří

ly z 80% jiné geny. Prof. Domany vybíral napříč souborem 5852 signifikantních genu různé sady po 70 genech a vždy dospěl k podobně významným rozdílům v Kaplan-Meyerových křivkách celkového přežití. Tyto jevy lze vysvětlit například velkým množstvím vstupních dat nesouvisejících ze zkoumaným v našem případě metastatickým fenotypem. Prof. Domany vytvořil matematickou metodu schopnou určit počet vzorků potřebných do čipové studie, aby při její nezávislé validaci došlo alespoň k 50% průniku nalezených genových sad. Na základě této metody by u studie dr. van't Veerové bylo potřeba přibližně 2300 místo zařazených 96 pacientek. Je zřejmé, že validace nepřesně identifikované sady 70 genů na tisících pacientek takto ztrácí relevanci. Tato zjištění by v důsledku mohla a snad i zásadním způsobem ovlivnit design studie **MINDACT**. Její pokračování bez zohlednění výše uvedených skutečností by mohlo zásadním způsobem snížit význam předpokládaných výstupů z této vysoce nákladné a významné klinické studie.

Přednáškový blok věnovaný proteinovým čipům zahajoval dr. Pawlak, vedoucí skupiny proteinového profilování na Institutu přírodních a medicínských věd (NMI) pod Univerzitou v Tübingenu, přednáškou zaměřenou na **reverzně-fázové proteinové čipy**. Princip této technologie je založen na spotování vzorků (nikoli protilátek), a to ve čtyřech ředěních a duplikátech. Běžné je uspořádání pro 40 vzorků tzn. celkem 320 signálů z jednoho čipu. Pro představení, tato technologie umožní denně získat výsledky odpovídající přibližně deseti tisícům linií na Western-blotech s dvacetinásobně menší spotřebou materiálu při srovnatelných analytických vlastnostech. Reverzně-fázové proteinové čipy naleznou využití především v rozsáhlých studiích zaměřených například na validaci biomarkerů apod. NMI momentálně spolupracuje převážně s farmaceutickými společnostmi při screeningu působení léčiv na různé intracelulární signální dráhy speciálně různé druhy kináz. Přínos této technologie spočívá především v usnadnění a zpřesnění práce v rutinních laboratorních provozech zaměřených na kvantifikaci proteinů v biologických vzorcích.

Konference byla velkým přínosem k získání přehledu o vývoji dané technologie a jejím možném využití v našich podmínkách. Je logické, že po deseti letech vývoje čipových technologií jako takových a po dosažení správnosti a dobré reprodukovatelnosti měření, směřuje v současnosti jejich vývoj především k rutinním aplikacím v biomedicínském výzkumu a klinické diagnostice.

Zahraniční cesta byla podpořena grantem IGA MZ ČR NR/9076 - 4.

XLIII. DNY NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY 2006 XLIII. DAYS OF NUCLEAR MEDICINE ZPRÁVA ZE SLUŽEBNÍ CESTY

ŘEHÁK Z.

MASARYKŮV ONKOLOGICKÝ ÚSTAV BRNO,
ODDĚLENÍ NUKLEÁRNÍ MEDICÍNY

Ve dnech 1. až 3. listopadu 2006 proběhly XLIII. Dny nukleární medicíny s mezinárodní účastí v Českých Budějovicích. Dny nukleární medicíny bývají každoročně klíčovým sympoziem pro nukleárněmedicínskou lékařskou odbornost. Nukleární medicína a onkologie nabývají stále těsnější spojení. Jedním z možných vysvětlení bude narůstající uplatnění pozitronové emisní tomografie (PET) a nověji i PET/CT diagnostiky v onkologické praxi.

Pozitronové emisní tomografii byla věnována celá 1 pracovní sekce. V úvodním sdělení byl shrnut vývoj PET diagnostiky i další vize. První PET kamera ještě s detektory BGO je v provozu od srpna 1999, v roce 2003 byla instalace další PET kamery již s detektory LSO a hybridní PET/CT kamery. Trendem je jednoznačně spojení s plnohodnotným CT do hybridního systému PET/CT. V době konání sympozia (listopad 2006) byly v České republice v provozu již 2 PET kamery a 3 hybridní PET/CT kamery ve 4 specializovaných PET centrech v Praze, Brně, Plzni a Olomouci a je tak vytvořen prostor pro dobrou dostupnost PET vyšetření v ČR. (Bělohávek, O. Rozvoj PET diagnostiky v ČR za posledních 7 let). Na vlastním souboru nemocných byla hod-

nocena role PET/CT vyšetření u nemocných s karcinomem neznámého původu (Fencel, P. Diagnostická správnost a prognostická hodnota ^{18}F FDG- PET/CT vyšetření u nemocných s karcinomem neznámého původu. Analýza 190 nemocných). Rovněž v případě detekce karcinomu pankreatu PET a zejména PET/CT umožňuje komplexněji charakterizovat případnou patologii i vyjádřit se k resektabilitě (Votrubová, J. Význam PET a PET/CT v detekci karcinomu pankreatu). Na druhou stranu ale PET v případě reziduálních retroperitoneálních infiltrátů u nemocných s germinativním tumorem varlat po chemoterapii nerozliší bezpečně teratom od nekroticko-fibrotického residua a je otázkou, zda tyto nemocné k PET vyšetření indikovat. (Řehák, Z. ^{18}F -FDG PET jako prediktor viability reziduálního retroperitoneálního infiltrátu po chemoterapii u nemocných s germinativním tumorem varlat). Ukazuje se, že kombinace hodnocení nativního CT a PET může prospět diferenciální diagnostice expanzí nadledvin (Nižňanská, V. Význam FDG-PET/CT v diferenciální diagnostice tumorózně zvětšených nadobliček u onkologických pacientů).

Druhá pracovní sekce byla věnována ostatním metodám nukleární medicíny v onkologii. Za zmínku stojí shrnutí zkušeností s ^{111}In oktreotidem v diagnostice karcinoidů a gastro-entero-pankreatických tumorů, kdy tento typ zobrazení má u těchto tumorů stále zcela nezpochybnitelnou pozici (Bernátek, J. 10 let zkušeností s preparátem ^{111}In -OctreoScan v diagnostice karcinoidů) je možné. Upřesnění lokalizace neuroendokrinních tumorů za použití fúze SPECT/CT při vyšetření ^{111}In oktreotidem a ^{123}I -MIBG (Makaiová, I. Prognostický význam multimodálního