

XXIX. konference ISOBM v Barceloně 29.9.-3.10.2001

XXIX. ISOBM Meeting (International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine), Barcelona September 29th-October 3rd, 2001

M.SIMICKOVÁ, M.NEKULOVÁ
Masarykův onkologický ústav, Brno

Ve dnech 29.9.2001 až 3.10.2001 jsme se účastnily XXIX. konference ISOBM (International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine), která se konala v Barceloně. Při tomto každoročním setkání odborníků z oblasti experimentálního i klinického výzkumu v onkologii (letos v počtu asi 400 osob) se speciálním zaměřením na nádorové markery probíhají i pravidelná setkání v rámci speciálních workshopů, které se zabývají optimalizací imunochemických postupů při stanovení nádorových markerů.

Konference byla rozdělena do několika nosných témat. Úvodní přednášky byly věnovány kvalitě v onkologii, diagnostickým pokynům EGT M (European Group on Tumor Markers), současným a perspektivním aspektům vyšetřování markerů i kritériím, která musí být při jejich vyšetřování splněna (specifita nejméně 90%, hodnocení senzitivity, pozitivní a negativní prediktivní hodnoty, užití metody statistického vyhodnocení - jednorozměrná i mnohorozměrná analýza). Do laboratorní onkologie vstupuje vedle genomiky proteomika, nové postupy molekulární biologie, stejně jako nové přístupy v diagnostice i monitorování průběhu choroby. Vystává nutnost standardizace vyšetřování markerů, vytváření dalších doporučení podobných těm, které ASCO vytvořilo v r. 1996, 1998 a 1999 pro vyšetřování karcinomu prsu i kolorekta. EBM (medicína založená na důkazech) musí zajišťovat racionální odborné užití nových diagnostických i monitorovacích metod tak, aby nedocházelo k nadměrné ani nedostatečné terapii. Také vzhledem k vysokým ekonomickým nákladům terapie se stává nutností zajištění kontroly kvality vyšetřovacích metod. Jsou vypracovány pokyny pro vyšetřování nádorových markerů (Anticancer Research 19,2785-2820, 1999) pro jednotlivá nádorová onemocnění. Markery mají svou důležitou úlohu při monitorování choroby vzhledem k diagnostice jejího návratu i v odpovědi na terapii. Naopak pro screening jsou vhodné jen specifické oblasti (PSA, CA 125) ve specifických indikacích. Zvyšuje se význam vyšetřování markerů jako prediktivních i prognostických parametrů. Rozvoj PCR technik u různých genetických nádorových syndromů i u takto nepodmíněných malignit s prokázanými molekulárními alteracemi (kolorektální a pankreatické nádory), které vyžadují agresivní iniciační terapii, je velice výrazný.

V bloku přednášek o **markerech maligního melanomu (MM)** byl jako nejlepší marker hodnocen **S-100B** (pro prognózu i monitorování). Jeho senzitivita je nejvyšší (86%), těsně následovaná markerem melanoma inhibiting activity = **MIA** (senzitivita 80%, cena 1 vyšetření však kolem 800 Kč), zatímco klasický enzym LD vykazoval senzitivitu 48% a zcela selhal předpokládaný pokles albuminu při progresi (senzitivita jen 15%). Přechodný vzestup S-100B může být však pozorován během imunoterapie působený aktivací dendritických buněk. Pro posouzení efektu terapie je doporučováno tento parametr vyšetřovat ve 4. týdnu po terapii. Efekt chemoterapie však bývá referován jen v 10-15% a víceméně se od ní pouští. Imunoterapie hledá méně toxické a nákladné režimy než jsou HDIL-2R, IFN-alfa2, které navozují remisi jen u malého % případů. Byla referována metoda imunoterapie u diseminovaného MM

pomocí dendritických buněk připravených in vitro modifikací monocytů.

V bloku věnovaném nádorům **gynekologické lokalizace** zůstává pro karcinom ovaria klasickým markerem CA 125 (zejména pro serózní ca), je využíván i pro screening - primární test, následovaný provedením ultrazvuku (multimodální screening). Jeho výtěžnost byla nesrovnatelně větší (1:5) než u screenu pouze ultrazvukem (1:35). V prospektivní studii provedené na 22 000 žen (celkem 50 000 vyšetření) byl vypracován algoritmus (change-point statistical model) beroucí v úvahu kromě trendu hodnot CA 125 také věk ženy pro hodnocení rizika ovariálního karcinomu. CA SA (Cancer Associated Serum Antigen) je vhodný pro adenocarcinomy ovaria. Při referenční hodnotě 4 U/ml byla referovaná specifita 98%, senzitivita 43,5%, negativní prediktivní hodnota 49% a pozitivní prediktivní hodnota 35%, což jsou horší parametry než pro CA 125. Pro rozlišení mezi maligní a benigní pánevní resistenci má však CA SA nižší falešnou pozitivitu. Jako perspektivní nové markery ovariálního karcinomu byly referovány hK6, hK10 a hK11 (kalikreinové biomarkery pro diagnózu, prognózu i monitorování pacientek se serózním typem ca). Riziko mortality je u nemocných s jejich zvýšenou hodnotou v séru před terapií 3x vyšší. Vykazují organovou specifitu pro ovarium. Marker CA 72-4 má senzitivitu pro mucinózní ca kolem 72%, zatímco pro serózní ca jen 47% při 95% specifitě. Zajímavá byla informace o synergické interakci gonadotropinů (FSH a hCG) a IGF-I u ovariálního karcinomu. Pro ca cervicis uteri je většinou vyšetřována kombinace markerů SCC + CEA nebo CYFRA21-1 + CEA. SCC při relapsu vykazoval vyšší senzitivitu (58%).

U karcinomů plic také záleží na histologickém typu nádoru. Pro NSCLC je doporučována kombinace CEA + CYFRA 21-1 (případně SCC), pro SCLC kombinace CEA + NSE, případně NSE + ProGRP (Pro-Gastrin-Releasing Peptide). Senzitivita NSE této kombinace se udává kolem 62%. Pracoviště University Mnichov doplňuje tato sledování vzhledem k posuzování efektu terapie ještě novým vyšetřením nukleosomů v séru (Cell Death Detection ELISA plus- Roche Diagnostic) 8. den po terapii (podobně jako námi sledovaný sérový TPS pro posouzení lysis fenoménu nádorových buněk). Hodnocení AUC (plochy pod křivkou) zejména u responderů u NSCLC bylo vysoce signifikantně odlišné od non-responderů - pro nukleosomy, CYFRU 21-1 i CEA. Pro SCLC byly změny také signifikantní, ale ne tak významným způsobem. Takto po 2 podaných cyklech posuzují efekt terapie dle dynamiky hodnot uvedených parametrů a srovnávají s hodnocením efektu dle UICC kritérií. Bude-li chemoterapie úspěšná, je z průběhu křivky vidět již 8. den po terapii - možná predikce efektu. Pravidelné workshopy byly tentokrát věnovány **hCG, CEA a kostní alkalické fosfatáze**. Pro dosud 27 užívaných protilátek proti hCG byly definovány epitopy, na něž se tyto protilátky vázou. Vedle vazebných míst proti intaktnímu hCG jsou známy molekulární formy proti nickované, tj. částečně štěpené složce (hCGn), alfa- a beta podjednotce hCG, nickované beta-podjednotce, beta-core fragmentu vyšetřovaném v moči a syntetickému delta-peptidu C-koncové části molekuly. Na základě těchto výsledků lze doporučit různé formy protilátek vhodných pro klinickou praxi. Výrobci diagnostických souprav by měli přesně charakterizovat, jakou složku hCG měří jejich soupravy, a tyto difference je třeba pečlivě zvážit při ev. změně metody stanovení hCG..

Pro CEA byly popsány další protilátky, ne všechny jsou charakterizovány jako „Gold standard I“, tj. nevykazují zkříže-

nou reaktivitu s dalšími členy CEA genové rodiny, především NCA.

Tři izofomy kostní alkalické fosfatázy ovlivňují imunoreaktivitu s 19 testovanými protilátkami. Afinita jednotlivých monoklonálních protilátek k jednotlivým izoformám antigenu je podmíněna počtem zbytků sialové kyseliny. Vzhledem k tomu, že poměr jednotlivých cirkulujících izoform kostní alkalické fosfatázy s rozdílným obsahem sialové kyseliny se liší v závislosti na typu metabolického obratu (pubertální růst, metabolické kostní choroby), je třeba definovat protilátky pro připravované imunosoustavy podle předpokládaného využití. Enzymovou problematikou se zabývala sdělení o **pyruvátkináze**. Přestože nádorový izoenzym pyruvátkinázy ve formě dimeru vykazuje falešnou pozitivitu především u nemocných s bakteriální infekcí, zdá se být vhodným ukazatelem odpovědi na úspěšnou terapii nemocných, např. s karcinomem prsu. U pacientek s dobrou odpovědí se normalizovala jeho hladina v průběhu 4 týdnů od začátku terapie. Vysvětlením rychlého poklesu tohoto parametru u pacientů reagujících na chemoterapii může být změna v poměru produkce dimerní a tetramerní podoby izoenzymu.

Z dalších enzymů, detailně na sjezdu probíraných, zasluhuje pozornost proteináza **PSA**, především jeho "volná a komplexovaná forma. Již delší dobu je známo, že rozlišovací schopnost mezi benigním a maligním onemocněním prostaty může být zvýšena stanovením poměru volného a celkového PSA. Volný PSA je obsažen v séru benigních onemocnění prostaty ve vyšší koncentraci než u nemocných s karcinomem prostaty. Nyní bylo zjištěno, že volný PSA se může vyskytovat v séru ve dvojí podobě, a to jako intaktní, který je charakteristický pro karcinom. Jeho druhá varianta, „nickovaný" volný PSA (= štěpený v místě vazby peptidového řetězce mezi lysiny 145 a 146) se zdá být forma specifická pro benigní hyperplasii prostaty. Příprava specifických protilátek pro rozlišení obou forem volného PSA může být dalším krokem v diferenciální diagnostice obou typů postižení prostaty. Komplexovaný PSA (tj. PSA vázaný na α 1-chymotrypsin) je nyní možno rovněž stanovit, zdá se, že jeho senzitivita je mírně vyšší než senzitivita celkového PSA. Při 90 % specifitě vykazovaly zvyšující se senzitivitu v. řadě: celkový PSA (15%), komplexovaný PSA (21 %) a poměr volný/celkový PSA (28%).

NSE (neuron-specifická enoláza) je podle doporučení EGT M (European Group on Tumor Markers, 1999) optimální parametr pro monitorování neuroendokrinních tumorů, speciálně malobuněčného karcinomu plic a neuroblastomu, a někdy u kolorektálního karcinomu (senzitivita v této lokalizaci jen kolem 20%). Ve studii zahrnující vyšetření více než 1000 sér zdravých a pacientů byla potvrzena diskriminační hranice zdravých osob 14,3 ug/l (95 percentil), benigní onemocnění GIT však vykazují tuto hodnotu zvýšenu na 18 ug/l, u autoimunitních onemocnění se mohou objevit hodnoty výrazně vyšší, s 95 percentilem až 51 ug NSE/l. Je tedy třeba při vyšetření tohoto markeru se nejen zaměřit na možné preanalytické ovlivnění výsledku hemolýzou, při které se množství NSE falešně zvyšuje uvolněním tohoto parametru z erytrocytů, ale i na jiná onemocnění jako zdroj možného nespecifického zvýšení.

Podobná falešná pozitivita, byť velice řídká a shodující se s našimi zkušenostmi, byla popsána i pro stanovení **CA 72-4**. Příčiny někdy až několikanásobného zvýšení nad diskriminační hranici bez evidentní maligní patologie jsou dosud nevyjasněny. I přes toto zjištění patří CA 72-4 mezi výborné markery pro mucinózní karcinom ovaria (při specifitě 95 % má senzitivitu 73%). Při primární diagnostice karcinomu žaludku jeho senzitivita koreluje se stadiem tumoru (pro T1 až T4 byly zjištěny senzitivity 6,26,30 a 65 %).

SCC je serologický marker, který patří mezi skupinu inhibitorů setinových proteináz (serpin). Nedávno byly odlišeny dvě molekuly, SCC1 a SCC2, kódované dvěma geny. Byly připraveny protilátky proti SCC1 a SCC2. Zdrojem standar-

du pro SCC1 (ne však SCC2) byly sliny (pozor na kontaminaci při přípravě séra pro vyšetření!). Význam jednotlivých forem pro onkologii je dosud nepotvrzen. Nová byla informace o B hCG jako nezávislém prognostickém markeru v karcinomu ledvin. Vyšetření tohoto parametru však bude podle dosavadních zkušeností zatíženo poměrně vysokou preanalytickou chybou.

Detekce karcinomu močového měchýře vyšetřením moče je v poslední době věnována poměrně velká pozornost. Vedle standardního cytologického vyšetření jsou do klinické praxe postupně zaváděny metody imunocytochemických nebo enzymatických testů (**BTA test, NMP22, UBC test, telomeráza** a další). Všechna tato vyšetření jsou charakteristická dosud nižší senzitivitou. Nový test **UROVISION** (firma Vysis, USA) využívá FISH techniku (fluorescenční in situ hybridizaci) pro detekci geneticky nestabilních forem tumoru s vysokým rizikem progresu, a to pro detekci aberací na chromozomech 3,7, 17 a 9p21. Zdá se, že tento postup zvyšuje senzitivitu a specificitu detekce karcinomu močového měchýře ve srovnání s cytologií ze vzorků moči, čímž se může snižovat počet cystoskopií.

Jedním ze základních témat, jímž byla věnována značná pozornost, bylo stanovení **HER-2/neu**, onkoproteinu skupiny receptorů růstových faktorů, ve tkáni primárního nádoru prsu a v séru těchto nemocných.

Obecně lze uzavřít:

- Vyjasňuje se **mechanismus účinku Herceptinu** v procesu terapie. Herceptin se podílí pravděpodobně na prevenci heterodimerizace HER-2 s dalšími členy této rodiny - HER-3 a HER-4. Heterodimerizace je nutným krokem ke spuštění celé kaskády dalších dějů. Herceptin pravděpodobně inhibuje angigeny, inhibuje tvorbu metastáz, působí zástavu buněčného cyklu v G1 fázi a působí na štěpení extracelulární domény.
- N-terminální extracelulární doména tvoří oblast pro ev.vazbu dosud nedefinovaného ligandu. Je uvolňována jako solubilní fragment o velikosti 100-120 kDa, který se dostává do extracelulární tekutiny a do cirkulace. Proteolytické štěpení má za následek produkci redukovaného fosforylovaného fragmentu p95, který je vázán na membránu. Herceptin pravděpodobně inhibuje štěpení HER2, a v důsledku toho i tvorbu tohoto aktivního proteinu, který spouští další reakci.
- Pro účely terapie aplikované proti HER-2/neu je vhodné rutinně overexpresi tohoto antigenu stanovovat **FISH technikou** (fluorescenční in situ hybridizace), která je nejpřesnější, reprodukovatelnou a správnou metodou stanovení, jak bylo prokázáno srovnáním s kvantitativní radioimunochemií se značenou protilátkou. Shoda mezi FISH a imunohistochemickou lokalizací (IHC) je pro vysokou expresi HER-2/neu výrazná, pro nižší stupeň positivity IHC (2+) je vhodné provést FISH potvrzení. Objevily se i protiargumenty proti FISH: metoda je drahá, není dostupná ve všech laboratořích, i při hodnocení FISH se vyskytují problémy (dvojitě body, asi 10% nehodnotitelných výsledků, ne vždy se kontroluje ploidita, atd.). Doporučený test pro aplikaci Herceptinu (Herceptest firmy Dako) však vykazuje falešnou pozitivitu. Kombinace FISH a IHC v různých navrhovaných algoritmech umožňuje snížit náklady tohoto vyšetření a užít i protilátky s vyšší specificitou (CB11 Novocastra).
- Podle posledních představ je stanovení sérových hodnot HER-2/neu, které je průkazem aktuálního stavu tohoto antigenu, důležité pro rozhodování o terapii Herceptinem. Bylo ověřeno, že 20 - 30 % pacientek původně v primárním nádoru HER-2/neu negativním vykazuje zvýšené sérové koncentrace v průběhu vývoje onemocnění. Zvažuje se tedy, že pro aplikaci této terapie bude vhodné doporučit i tuto skupinu nemocných.
- Metoda stanovení sérového HER-2/neu firmy Oncogene umožňuje sledovat i dynamiku změn tohoto antigenu během terapie Herceptinem. Výsledky jsou zatím rozporné, podle některých autorů je možno rozlišit dvě skupiny nemocných,

a to s trendem poklesu HER-2/neu, a tedy s dobrou odpovědí na terapii, a s rostoucí hladinou tohoto onkoproteinu, bez odpovědi. Výsledky je třeba zhodnotit na větším souboru (pro nás ekonomicky obtížně zvládnutelné, jedno vyšetření setem Oncogene stojí asi 125 US \$).

• Adjuvantní podání Herceptinu bylo zahájeno na celkem asi 15 000 nemocných v různých klinických uspořádáních. Výsledky studií lze očekávat v r. 2007.

Značný prostor byl věnován bloku týkajícímu se **molekulárně-biologické detekci minimální reziduální choroby**, jejímuž klinickému využití se předvídá značný význam. Podle úvodních studií se totiž předpokládá, že nádorové buňky prokázané v časně fázi nádorového onemocnění (ve fázi mikro-metastáz nejzjistitelných dosavadními dostupnými technikami) buď v cirkulaci, v kostní dřeni nebo regionálních lymfatických uzlinách, mohou hrát centrální roli v metastatickém procesu. Přes značný metodický pokrok, který vedl od imunocytochemické lokalizace k mnohem citlivějším molekulárním technikám, jsou však dosavadní práce zatíženy stále poměrně nízkou senzitivou a naopak vyšší falešnou pozitivitou. Dosud jsou testovány především nádory GIT (mRNA pro CK20 a CEA), melanomy (mRNA pro tyrozinázu) a nádory prostaty (mRNA pro PSA). Na sjezdu zazněly výsledky studií zaměřených na průkaz mRNA pro CEA v periferní krvi a regionálních uzlinách u nemocných s kolorektálním karcinomem. Přestože tento průkaz se senzitivou 1 nádorová buňka na 10⁷ krvinek bílé řady u 40% nemocných s karcinomem koreloval s přítomností vzdálených metastáz, nebyl zjištěn prognostický význam tohoto vyšetření před operací. U zánětlivých onemocnění GIT se vyskytovala falešně pozitivita. Neméně významné bylo zjištění většího počtu cirkulujících buněk jako následek laparoskopického zásahu ve srovnání s klasickým operačním zásahem. Imunomagnetickou separací a následnou detekcí buněk z cirkulace nebo dokonce ve stolici a testováním mutací DNA (Kras, TP 53) se senzitivita i specifita jejich průkazu značně zvýšila. Vyšetření CEA kvantitativní analýzou mRNA v reálném čase (real time PCR) v regionálních lymfatických uzlinách nemocných s karcinomy kolorekta vedlo k závěru, že tento parametr je u nemocných stadia Dukes C výrazně vyšší než ve stadiu Dukes A (výsledky u stadia Dukes D byly nejednotné). Zdá se, že tato kvantitativní metoda by mohla být citlivým a objektivním postupem pro detekci nádorových buněk v lymfatických uzlinách.

Další studie byla zaměřena na průkaz cirkulujících nádorových buněk prokázaných prostřednictvím mRNA pro tyrozinázu u nemocných s melanomem. Byla prokázána nepřímá korelace mezi intervalem DFI nebo OS a hladinou mRNA během terapie interferonem. Pro rozpory v dosavadních studiích však nelze využít tento parametr jako kritérium ke změně neúčinné terapie. Důvodem těchto diferencí jsou zřejmě kromě nesrovnalostí ve velikosti souborů rovněž metodické - příprava vzorku může často vést k degradaci RNA, nemalou roli může hrát i heterogenita nádorů.

Budoucnost nových terapeutických možností v chemoterapii je spatřována: ve využití nových "design drug" atakujících nádorové buňky z různých aspektů, pomocí **monoklonálních protilátek proti povrchovým receptorům** (Cetuximab-EGFR, Transtuzumab - HER-2/neu), **proti jednotlivým parametřům signálních transdukčních cest** (STI571 - inhibuje receptor tyrosinkinázy či farnesyltransferázové inhibitory proti Ras), inhibitory kináz, cyklin-dependentní kinázy, **blokáci angiogeneze**, **proti matrix metaloproteinázám**, **proti drug resistantním genům**, pomocí **vákcín**. Většina užitých postupů však působí cytostaticky, ne cytotoxicky, a tak zůstává ještě mnoho problémů k vyřešení - např. jak dlouho léčit apod. Nicméně u některých uvedených metod se RR pohybuje až kolem 70%, např. u gastrointestinálních stromálních tumorů. Cesta eskalace dávek cytostatik s převodem krvetvorných buněk se ukazuje v některých oblastech slepá, např. u ca prsu

metastazujícího. Naopak se využívá zvýšení denzity dávek, které spočívá ve zkracování intervalů mezi cykly. Tento postup vychází z cytogenetiky a předpokládá inhibici nádorového růstu mezi cykly a limitaci výskytu resistantních linií při trvalé kumulativní expozici chemoterapeutik.

Klasické sérové nádorové markery tedy zůstávají stále důležitým prostředkem pro sledování vývoje onemocnění, v poslední době i pro počítačově analyzované sledování účinnosti terapie. V blízké budoucnosti však lze očekávat i rutinní využití dosavadních výsledků z oblasti studia prognostických a prediktivních tkáňových parametrů a detekce minimální reziduální choroby na podkladě metod molekulární biologie.

V. mezinárodní sympozium o Hodgkinově chorobě, 22. - 25.9.2001, Kolín nad Rýnem, Německo

Fifth International Symposium on Hodgkin's Lymphoma, September 22 - 25, 2001, Cologne, Germany

J. MARKOVÁ

FN Královské Vinohrady - hematologické oddělení

Ve dnech 22. - 25.9.2001 se konalo v Kolíně nad Rýnem V. mezinárodní sympozium o Hodgkinově chorobě, pořádané Německou studijní skupinou Hodgkinova lymfomu (Deutsche Hodgkin Lymphom Studiengruppe- DHSG). Skupinu řídí Univerzita v Kolíně nad Rýnem, v čele s profesorem Dr. Volkerem Diehlem.

Setkání v Kolíně nad Rýnem se stalo významným pro řadu vědců a kliniků, kteří se věnují problematice Hodgkinovy choroby již od roku 1987, kdy se zde konal první kongres na toto téma. I letos vystoupilo mnoho účastníků sympozia s příspěvky k molekulární patologii, biologii, genetice, imunologii, chemoterapii, toxicitě terapie a prognostickým faktorům. Souhrnně lze říci, že výsledky léčby Hodgkinova lymfomu patří k největším úspěchům moderní onkologie. Dnes, na počátku dalšího století, je moderními terapeutickými metodami vyléčeno v závislosti na stadiu a rizikových faktorech více než 80% pacientů (90% pacientů s časnými stadii Hodgkinova lymfomu, definovanými jako stadium I a II).

Ústředním tématem sympozia byly prezentace věnované identifikaci biologických rizikových faktorů, které by doplnily známé klinické prognostické rizikové faktory a pomohly tak při indikaci intenzifikované nebo již primárně vysokodávkované léčby.

Je známým faktem, že právě intenzifikovaná terapie stírá význam prognostických rizikových faktorů. Část pacientů je však vystavena riziku „overtreatment“, a tím i zbytečnému riziku vzniku pozdních následků léčby, mezi které patří kardiotoxicita, plicní toxicita, poruchy fertility a hlavně sekundární neoplázie. Účastníci diskuse opakovaně zdůrazňovali nutnost léčení většinou velmi mladých pacientů s Hodgkinovým lymfomem v rámci velkých multicentrických studií zkušenými odborníky specializovanými na tuto problematiku v hemato-onkologických centrech s dostupným kompletním diagnostickým a terapeutickým servisem.

Časově těsná návaznost na tragické záříjové události ve Spojených státech zabránila bohužel účasti na sympoziu většině amerických kolegů. Jejich přednášky sice přednesli pořadatelé kongresu, chyběla však diskuse. Depresivní nálada prvního dne sympozia v souvislosti s tímto hrůzným děním se v dalších dnech změnila v odhodlání bojovat proti agresi, nenávisti a zlobě právě úsilím na poli vědy a výzkumu. Důkazem toho bylo, že na akci přijelo i přes dramatickou mezinárodní situaci velké množství odborníků, věnujících se problematice Hodgkinovy choroby, z celého ostatního světa.

Jak se stalo již v minulých letech tradicí, připravil prof. Volker Diehl se svým týmem dobře zorganizované, vědecky velmi náročné a pro každého účastníka přínosné sympozium. Jemu a celému jeho týmu patří velké uznání za vykonanou práci.