

**Universitatea de Medicina si Farmacie  
„Iuliu Hatieganu” Cluj-Napoca**

**CLAUDIA CRISTINA BURZ**

**STUDII DE FARMACOCINETICĂ ȘI FARMACOGENETICĂ ÎN  
CANCERELE COLORECTALE**

**Rezumatul tezei de doctorat**

**Conducător științific  
Prof.Dr. SORIN E. LEUCUȚA**

**2009**

## CUPRINS

### INTRODUCERE

#### I PARTEA GENERALA

1. Cancerogeneza	10
1 Biologia moleculară în cancerul colorectal	27
2 Prezentarea sărurilor de platină	33

#### II. PARTEA EXPERIMENTALA

1 Studiul clinic : evaluarea eficacității tratamentului cu oxaliplatină la pacienții cu cancer colorectal metastatic	57
2 Studiul parametrilor farmacocinetici al oxaliplatinei	70
3 Studiul in vitro al radicalilor liberi de oxigen generați în cursul apoptozei celulare induse de sărurile de platină	95
4 Studiul de farmacogenomică al oxaliplatinei in vitro pe linii celulare de cancer colorectal	118

<b>CONCLUZII GENERALE</b>	180
<b>REFERINȚE</b>	185
<b>LUCRĂRI PUBLICATE</b>	200

**Cuvinte cheie :** oxaliplatină, apoptoza, radicali liberi de oxigen, farmacocinetica, farmacogenomică

### INTRODUCERE

Cancerul colorectal reprezintă 15% din totalul cazurilor de cancer și 70% din totalul cancerelor digestive. Ocupă locul al III-a la bărbat (după cancerul prostatic și pulmonar) și locul al II-a la femei (după cancerul mamar). Prognosticul, deși rămâne încă rezervat cu o supraviețuire globală la 5 ani de 50%, în ultimele decenii prin apariția a noi compuși cu activitate pe celula transformată tumoral se constată ameliorarea supraviețuirii și calității vieții pacienților cu cancer colorectal.

Oxaliplatin, sare de platină din a III-a generație, reprezintă unul dintre cele mai active citostatice administrate în tratamentul cancerului colorectal. Eficacitatea și toxicitatea tratamentului variază în limite largi în funcție de anumiți factori dependenți atât de tumoră cât și de tratament, de aceea este dificil de afirmat la debutul

tratamentului cine va beneficia de eficiența tratamentului și unde reacțiile secundare vor fi marcate. Tratamentul individualizat are la bază administrarea medicamentelor pe anumite molecule identificate ca ținte terapeutice cu scopul de a obține maximum de eficacitate și minimum de reacții adverse.

**Obiectivul acestei lucrări a fost de a caracteriza căile moleculare de inducere a apoptozei celulelor tumorale de către oxaliplatină dar și de a evalua parametrii de toxicitate și eficacitate privind administrarea sa la pacienții cu cancer colorectal metastatic. Cunoașterea acestor elemente ar permite individualizarea tratamentului prin adaptarea dozelor în funcție de metabolismul fiecărui pacient și fenotipul tumoral cu scopul de a crește toleranța la tratament respectând puterea citotoxică a moleculei.**

În pofida descoperirilor din ultimele decenii, mecanismele de acțiune ale oxaliplatinei, condiționată în produsul farmaceutic Oxaliplatin, sunt departe de a fi elucidate. Clasic se știe că oxaliplatina, similar celorlalți compuși de platină, reacționează cu ADN-ul celular formând punți intra-intercatenare care vor duce la oprirea ciclului celular, inhibarea replicării și apoptoza celulară. Acest mecanism însă nu explică spectrul de activitate și toxicitatea diferită, și mai mult citotoxicitatea oxaliplatinei superioară cisplatinei, reprezentanta familiei. Oxaliplatina este activă pe linii celulare rezistente la cisplatină și nu prezintă rezistență încrucișată cu aceasta. În ce privește spectru de toxicitate, oxaliplatina este lipsită de toxicitatea renală și auditivă specifice cisplatinei dar prezintă toxicitate neurologică importantă, care poate fi invalidantă ajungând până la impotența funcțională a pacientului. Mecanismele implicate în inducerea neurotoxicității nu sunt cunoscute. Studii recente sugerează incriminarea radicalii liberi de oxigen atât în inducerea apoptozei celulelor tumorale cât și în apariția reacțiilor secundare ale oxaliplatinei.

Deoarece până în prezent mecanismele de inducere a apoptozei celulare responsabile de moartea celulelor tumorale dar și de apariția efectelor secundare ale oxaliplatinei nu sunt pe deplin elucidate, orice informație suplimentară poate constitui un real beneficiu pentru practica oncologică.

Abordarea genomică în general și cea farmacogenomică în special încearcă să descifreze modul de acțiune al medicamentelor anticanceroase la nivelul celulei tumorale. Totodată evaluarea genomică, cu ajutorul tehnicilor de ultimă generație precum PCR-*array* reprezintă una dintre principalele preocupări ale marilor centre de cercetare oncologice. Ca urmare este de interes o astfel de abordare în urma căreia se

pot identifica și caracteriza gene specifice implicate în căile de semnalizare celulară (apoptoză) și care pot contribui la o mai bună înțelegere a biologiei tumorale în vederea administrării tratamentului individualizat.

O parte a studiului experimental s-a realizat la Institutul Karolinska, Stockholm, Suedia, în cadrul unei burse Marie Curie, oferită doctorandei de Comunitatea Europeană. Colaborarea cu un centru de referință, la nivel mondial, care poate susține logistic și științific tema propusă reprezintă unul din argumentele care stau la baza acestui experiment. Celelalte părți ale tezei au fost realizat în Institutul Oncologic “I Chiricuța” – în Departamentul de Genomică Funcțională și Secția de Chimioterapie precum și în colaborare cu Institutul de Cercetare pentru Instrumentație Analitică INCDO-INOE 2000 și Departamentul de Tehnologie Farmaceutică și Biofarmacie a Universității de Medicină și Farmacie “I Hațieganu”, Cluj-Napoca.

Teza este structurată în două părți: generală și experimentală

**Partea generală** conține noțiuni privind cancerogeneza cu detalieri a cancerogenezei colorectale. De asemenea sunt prezentate sărurile de platină cu mecanisme de acțiune și rezistență elucidate până în prezent, alături de o sinteză a principalelor studii preclinice și clinice în urma cărora oxaliplatina a fost introdusă în tratamentul cancerelor colorectale.

**Partea experimentală este structurată în 4 capitole** după cum urmează:

## **1. STUDIUL CLINIC: EVALUAREA EFICACITĂȚII TRATAMENTULUI CU OXALIPLATINĂ LA PACIENȚII CU CANCER COLORECTAL METASTATIC**

În primul capitol al părții experimentale a fost realizat un studiu clinic unde am evaluat eficacitatea și toxicitatea tratamentului cu oxaliplatina pe un număr de 49 pacienți cu diagnosticul de cancer colorectal metastatic aflați în evidența Institutului Oncologic “I Chiricuța” Cluj-Napoca. Rezultatele studiului nostru au aratat frecvența crescută a cancerului colorectal la persoanele cu vârsta cuprinsă între 46-66 ani. Localizarea tumorii primare a fost predominant rectosigmoidiană iar în ce privește histologia, a predominat adenocarcinomul cu diferite grade de diferențiere în timp ce adenocarcinom mucipar a fost întâlnit la 19% dintre pacienți.

Din totalul pacienților 3 (7%) au prezentat metastaze cu multiple localizări în timp ce la majoritatea pacienților metastazele au fost cu localizare unică, predominant

hepatică (56%) urmate de determinări peritoneale (19%) și pulmonare (12%). Alte localizări mai rar întâlnite au fost la nivel osos (2%) și lombo-aortic (5%). Complanța la tratament a fost bună la majoritatea pacienților s-au administrat între 3 și 6 cicluri de chimioterapie. Rata de răspuns a fost de 53.49% dintre care 6.98% răspunsuri complete. În analiză univariată singurul factor care s-a corelat cu rata de răspuns a fost indicele de performanță. Important este faptul că la 6 pacienți (18.35%) a fost posibilă rezecția metastazelor postchimioterapie. Intervalul liber de boală a fost de 7 luni fără a fi posibilă stabilirea unor corelații între acesta și caracteristicile pacienților. În ce privește spectrul de toxicitate al tratamentului, se observă predominanța toxicității neurologice (60.46% din pacienți), urmată de toxicitate digestivă (25.6%), neutropenie (25.6%), anemie (20.93%), trombocitopenie (18.61%). Printre reacțiile secundare mai rar întâlnite au fost hepatocitoliza, mucozita și alergia. Nu a fost posibilă stabilirea unor corelații între gradul toxicității neurologice și caracteristicile pacienților precum vârstă, sex, IP, sediul tumorii și al metastazelor. Rezultatele obținute au fost în concordanță cu datele din literatură.

## **2. STUDIUL PARAMETRIILOR FARMACOCINETICI AI OXALIPLATINEI**

Eficacitatea și toxicitatea tratamentului variază în limite largi în funcție de diferiți factori dependenți de tumoră și pacient, ceea ce a justificat determinarea parametriilor farmacocinetici ai oxaliplatinei la pacienții cu cancer colorectal metastatic, în a doua parte a studiului. Studiul de farmacocinetică a fost efectuat pe două grupe de pacienți cărora li s-au administrat doze diferite de oxaliplatină: 130 mg/mp respectiv 85 mg/mp conform schemelor de chimioterapie Xelox respectiv FOLFOX4. Au fost prelevate probe biologice la diferite momente ale tratamentului cu oxaliplatină. Concentrația oxaliplatinei s-a determinat în patru compartimente (sânge, plasmă, plasmă ultrafiltrată, urină ) prin spectrofotometria de masă inductibilă cuplată cu plasmă. Farmacocinetica oxaliplatinei a fost obținută pe baza concentrațiilor funcție de timp folosind metoda non-compartimentală. Rezultatele au arătat că parametrii farmacocinetici ai oxaliplatinei sunt dependenți de doza administrată dar și de compartimentul în care s-au evaluat.

În ce privește parametrii farmacocinetici ai oxaliplatinei în plasma ultrafiltrată care conține componenta activă a citostaticului, concentrația maximă (C<sub>max</sub>), aria de sub curbă totală/finală (AUC<sub>fin</sub>, AUC<sub>tot</sub>) cât și timpul de înjumătățire (T<sub>1/2</sub>) au fost statistic

semnificativ inferioare valorilor obținute în plasma și sânge. În schimb volumul de distribuție și clearance-ul oxaliplatină în plasma ultrafiltrată au fost statistic semnificativ superioare valorilor din sânge și plasmă integrală. Compararea statistică a parametrilor obținuți în sânge, plasmă, plasmă ultrafiltrată la administrarea dozelor diferite de oxaliplatină au arătat diferențe statistic semnificative ale  $C_{max}$  în sânge ( $p=0.029$ ),  $AUC_{fin}$  ( $p=0.029$ ) în timp ce în plasma ultrafiltrată, doar  $AUC_{fin}$  și  $AUC_{tot}$  au fost statistic semnificativ diferite ( $p=0.029$ ). Volumul de distribuție și clearance-ul oxaliplatină nu prezintă diferențe statistic semnificative în cele trei compartimente, la concentrații diferite ale oxaliplatină.

În ce privește farmacocinetica oxaliplatină, aceasta poate fi descrisă după un model bicompartamental cu o fază de distribuție rapidă urmată de o fază de eliminare plasmatică lentă cu un timp de înjumătățire cuprins între 16- 24 ore în sânge și plasmă integrală dar valori inferioare (9-12 ore) în plasma ultrafiltrată, fără a exista diferențe statistic semnificative între curbele obținute la administrarea celor două doze de oxaliplatină. Aceste rezultate sunt în concordanță cu rezultatele altor studii de fază a II-a care s-au interesat de farmacocinetica oxaliplatină la pacienții cu cancer de colon și reprezintă un preambul pentru studiul de farmacogenomică în vederea identificării în diferite momente ale administrării citostaticului a unor molecule implicate în inducerea apoptozei celulelor tumorale de către oxaliplatină

### **3. STUDIUL IN VITRO AL RADICALILOR LIBERI DE OXIGEN GENERAȚI ÎN CURSUL APOPTOZEI INDUSE DE SĂRURILE DE PLATINĂ**

Patogeneza toxicității neurologice a Oxaliplatinului este departe de a fi elucidată. Studiile recente sugerează implicarea radicalilor liberi de oxigen în inducerea apoptozei celulelor tumorale dar și în apariția reacțiilor adverse ale sărurilor de platină.

În partea a III-a a studiului, pe linia celulară tumorală de colon HCT p25 wt, am evaluat moartea celulară indusă de săruri de platină (oxaliplatină respectiv cispaltină) printr-o metodă ELISA specifică, care cuantifică fragmente proteine eliberate în urma apoptozei de către caspaze. De asemenea am evidențiat radicalii liberi de oxigen generați în cursul apoptozei celulare prin spectrofotometrie și citometrie de flux precum și modul în care inhibitori specifici ai diferitelor specii de oxigen influențează apoptoza celulelor tumorale indusă de sărurile de platină.

Rezultatele obținute au arătat că atât oxaliplatina cât și cisplatina produc apoptoza celulelor liniei tumorale HCTp53wt dar oxaliplatina este mai citotoxică decât cisplatina. Pentru a produce același procent de evenimente apoptotice sunt necesare concentrații de 1.5 ori mai mari de cisplatină. De asemenea în cursul apoptozei au fost evidențiați radicali liberi de oxigen, generați precoce- la o oră postexpunere la citostatic, a căror nivel este influențat de concentrația folosită. Prin folosirea unor inhibitori ai diferitelor specii de oxigen s-a reușit identificarea unor diferențe în ce privește radicalul liber de oxigen generat în cursul apoptozei induse de oxaliplatină respectiv cisplatină. Astfel, nivelul peroxinitritului și al superoxidului au fost superioare în cazul tratamentului cu oxaliplatin comparativ cu expunerea la cisplatină. Nivelul diferit al radicalilor liberi de oxigen generați în cursul apoptozei ar putea explica spectrul de activitate și toxicitatea diferită a sărurilor de platină. Identificarea radicalului liber de oxigen responsabil de apariția neurotoxicității și modularea sa terapeutică ar reprezenta un real beneficiu pentru pacienții sub tratament cu oxaliplatină care adesea, datorită toxicității neurologice devin în imposibilitatea de a se mobiliza, dependenți de anturaj.

#### **4. STUDIUL DE FARMACOGENOMICĂ AL OXALIPLATINEI IN VITRO PE LINII CELULARE DE CANCER COLORECTAL**

Studiul de farmacocinetică a reprezentat un preambul în realizarea studiului de farmacogenomică, partea a IV a studiului, care a avut ca obiective identificarea căilor de inducerea a apoptozei celulelor tumorale de către oxaliplatină. Evaluarea farmacogenomică s-a făcut prin tehnica *apoptosis*-PCR-array. Aceasta reprezintă o modalitate nouă de investigare moleculară care permite studiere simultană a 84 de gene implicate în mecanismul apoptozei. Aplicarea acestei tehnologii în domeniul cancerului reprezintă un real progres care va contribui la înțelegerea mecanismelor implicate în apoptoza celulelor tumorale și evoluția bolii canceroase. Studiul de farmacogenomică s-a realizat pe linia celulară de cancer de colon, colo320. Au fost luate în considerare genele supra respectiv subexprimate la două momente diferite postexpunere la oxaliplatină, 24 respectiv 48 ore exprimate statistic semnificativ ( $p < 0.05$ ) cu nivel de expresie  $\geq 1,5$  decât nivelul genelor control.

Rezultatele obținute au evidențiat supraexprimarea respectiv subexprimarea diferitelor gene în cele două puncte analizate.

Pentru analiza de bioinformatică s-a folosit un program interactiv: Ingenuity Pathways Analysis (IPA) ce reprezintă un sistem de analiză bazat pe o rețea largă ce include sute sau mii de interacțiuni directe și indirecte atât la nivel funcțional cât și fizic între genele mamiferelor, care sunt publicate în bazele de date mondiale (NCBI). Deasemenea s-a analizat relevanța biologică a rețelelor obținute pe baza unei evaluări probabilistice între rețeaua creată și o listă de funcții biologice stocate în baza de date a sistemului de analiză Ingenuity (Ingenuity Pathways Knowledge Base – IPKB).

Rezultatele obținute au arătat că oxaliplatina acționează la nivelul liniei celulare luate în studiu pe mai multe căi de semnalizare celulară, ce vizează reglarea ciclului celular, răspunsul imun sau moartea celulară, transformarea malignă . Studiu *in vivo* a arătat deasemenea diferențe de expresie genică între cele două momente diferite de timp analizate. La 24 ore postexpunere la oxaliplatină au fost supraexprimate numeroase gene implicate în mediarea răspunsului imun și inflamator alături « gardianului genomului », p53. Totodată sunt inhibate precoce gene cu rol în creștere și proliferare celulară. La 48 ore postexpunere la oxaliplatină sunt activate căi moleculare implicate în mediarea răspunsului imun și inflamator dar în plus se produce activarea mecanismelor implicate în declanșarea apoptozei celulare pe cale intrinsecă prin supraexprimarea nivelului de expresie al genelor membrilor familiei Bcl-2 și a caspazelor.

## **5. CONCLUZII GENERALE**

Al cincilea capitol al tezei prezintă concluziile generale, specifice pentru fiecare capitol al părții speciale. Rezultatele cercetării personale contribuie la îmbogățirea cunoștințelor referitoare la abordarea genomică în general și cea farmacogenomică în special care încearcă să descifreze modul de acțiune al medicamentelor anticanceroase la nivelul celulei tumorale, a mecanismelor moleculare prin care celula tumorală dobândește rezistență la una sau mai multe clase de medicamente (rezistență pleiotropică) precum și la elucidarea unor aspecte legate de semnalizarea moleculară în interacțiunile celulare, în evoluția sau regresia tumorală.

La sfârșitul lucrării sunt anexate rezultatele cercetării valorificate prin prezentări la manifestări naționale și internaționale precum și publicații în extenso în reviste de specialitate.



## CURRICULUM VITAE

### DATE PERSONALE

1. **Nume:** Burz
2. **Prenume:** Claudia Cristina
3. **Data și locul nașterii:** 21 iunie 1970, Cugir, jud. Alba
4. **Cetățenie:** română
5. **Stare civilă:** căsătorită, doi copii
6. **Studii**

<b>Instituția</b>	<b>Liceul Industrial nr.1 Cugir</b>	<b>Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca</b>	<b>Specializare</b>
<b>Perioada</b>	09.1984-06.1988	09.1990-06.1996	1997-2002
<b>Titluri sau diplome obținute</b>	Diploma de bacalaureat	Diploma de Licență în Medicină	Diploma medic specialist oncologie medicală

7. **Titlul științific și gradul didactic:** asistent universitar
8. **Experiență profesională** (în ordine descrescătoare)

<b>Perioada</b>	<b>Locul</b>	<b>Instituția</b>	<b>Funcția</b>
08.2008–10.2008	Departament de imunologie și microbiologie	Universitatea de Medicină, Göteborg, Suedia	Bursier
09.2007 - prezent	Catedra de Imunologie	Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hatieganu"	Asistent universitar
06.2004-11.2004	Departament de Patologie Experimentală	Institutul Karolinska, Sthockholm, Suedia	Doctorand, Bursier Marie-Curie
09.2002-05.2003	Departament Oncologie Digestivă	Institutul Gustave Roussy, Villejuif, Franța	Medic
05.2001-05.2002	Departament Oncologie Digestivă	Centrul Medical Universitar, Rouen, Franța	Medic

9. **Locul de muncă actual:** Catedra de Imunologie a UMF Cluj , doctoranda a Universității de Medicină și Farmacie "Iuliu Hatieganu" Cluj-Napoca în domeniul Tehnologie Farmaceutică și Biofarmacie cu titlul tezei: **Studii de farmacocinetică și farmacogenetică în cancerul colorectal**
10. **Vechime la locul de muncă actual:** 2 an

**11. Membru al asociațiilor profesionale:** Societatea Română de Radioterapie Oncologică (S.R.R.O) , European Society Medical Oncology (ESMO), Colegiul Medicilor din Romania

**12. Limbi străine cunoscute** și certificate de competență lingvistică: engleza, franceza

**13. Activitate profesională/spitalicească:**

- februarie - martie 2000 : curs de endoscopie digestivă, Clinica Medicală III, Cluj
- noiembrie 2000 - aprilie 2001 : stagiul practic în serviciul de Endoscopie Digestivă, Medicală III, Cluj-Napoca.
- 2 mai - 30 oct.2001 : stagiul de Oncologie Medicală în Centrul de Depistare și tratament al tumorilor digestive, Clinica Charles-Nicolle, Rouen, Franța.
- 1 noiembrie 2001- 30 aprilie 2002 : stagiul de endoscopie digestivă în Departamentul de Hepato-Gastroenterologie , CHU Rouen, Franța.
- 14-25 ianuarie 2002 : "Course on antitumor chemotherapy & medical treatment of cancer", Villejuif, Institutul Gustave-Roussy, Franța.
- 30 aprilie 2002 : "Attestation de formation spécialisée d'oncologie" ,U.F.R. Medecine et Pharmacie de Rouen, Franța.
- 4 noiembrie 2002 – 30 aprilie 2003: Faisant Fonction d'Interne, Departement de Medecine Adulte, Service de Gastroenterologie, Institut Gustave- Roussy, Franța.
- 13 martie 2003 : Tumori osoase și de părți moi – DU de Carcinologie Clinică, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, Franța.
- 14 martie 2003 : Ingrijiri paliative în cancerologie – DU (Diplomă Universitară) de Carcinologie Clinică, Institut Gustave-Roussy, Villejuif, Franța.
- 15-16 martie 2003: Oncoform – Zilele de perfecționare în Oncologie Digestivă, Val d'Isere, Franța.
- 23 mai 2003 : Diploma "Douleur en Oncologie", Facultatea de Medicina Paris-Sud.
- 24 aprilie 2004 : Competența în endoscopie digestivă
- 4 iunie- 19 noiembrie 2004 Bursă de cercetare, Eurogendis- Marie Curie, la Institutul Karolinska, Stockholm, Suedia
- 2-12 iulie 2006, Biogenero, Scoala de genomica functionala, Cluj-Napoca, Romania
- 27-28 nov.2007, International workshop: Functional Genomics in cancer biology and therapy Biogenero II, Cluj-Napoca, Romania
- 1 sept.-1 noiemb.2008 Schimb de experienta la Clinica de Microbiologie a Universitatii de Medicina din Goteborg, Suedia, in cadrul programului „ Sixth framework programme for research and technological development of the European Comunitatea- IMMUNOBIOTA MTKD-CT-2006-042540
- 2-5 dec.2008 International workshop : Principles and applications of functional genomics in cancer biology and therapy, Cluj-Napoca, Romania

**14. Activitate științifică:**

**A. Cărți:**

Ioana Berindan Neagoe, **Claudia Burz** , Biologia tumorala si tratamentul tumorilor digestive – carte in curs de aparitie ISBN: 978-973-693-255-7

## **B. Articole/studii publicate în reviste de specialitate naționale și străine**

1. Ioan A., Bârsan M., **Burz C.** Tratatamentul multidisciplinar al cancerului pulmonar Radioterapie & Oncologie Medicală, vol.3,195-208,1999
2. **Claudia Burz**, B.Paillot, P.Michel Radio-chimioterapia în cancerul gastric. Studiu retrospectiv efectuat pe o serie de pacienți tratați între 1994- 2001 la Spitalul Universitar “Charles Nicolle” și Centrul Henri Becquerel”, Rouen, Franța. Radioterapie & Oncologie Medicală, 2:102-107, 2003.
3. **Claudia Burz** Noutăți în cancererele digestive. A 27-a ediție a zilelor francofone de Patologie Digestivă. Radioterapie & Oncologie Medicală, 2: 138-140, 2003 .
4. I.B. Neagoe, Bălăcescu O, Rișcă R, Budiu R, **Burz C**, Oprea I Fibronectina în cancerul mamar.Studiu imunohistochimic.Turkish Journal of Oncology, 4, 2003.
5. Maria Shoshan, Maria Berndtsson, **Claudia Burz**, Emma Hermlung, Stig Linder et al. Differential modes of action of cisplatin and oxaliplatin. Involvement of NO and reactive oxygen species in induction of apoptosis. *Proc Amer Assoc Cancer Res*, vol 46, 2005, abstract 5329
6. **Claudia Burz**, Maria C. Shoshan, Stig Linder. Rolul radicalilor liberi de oxigen în apoptoza indusă de Oxaliplatin . Clujul Medical, 2, 402-409,2005
7. **Claudia Burz**, Maria C. Shoshan, Stig Linder Apoptoza indusă de Oxaliplatin și Cisplatin în funcție de radicalii liberi de oxigen. Farmacia 1,134-143,2006
8. **Claudia Burz**, N.Ghilezan Timomul epitelial malign și afecțiuni auto-imune asociate. Radioterapie& Oncologie Medicală, vol. XII, nr.3,223-231, 2006
9. **Claudia Burz** Cancerul si alimentația, partea I..Cancer, o provocare la viata, nr.20, oct.4-9, 2006
10. **Claudia Burz** Cancerul si alimentația, partea II.Cancer, o provocare la viata, nr.21, 2007
11. **Claudia Burz**, Maria C Shoshan, S Linder, Maria Berndtsson, SE Leucuta.Generarea speciilor reactive de oxigen in raspunsul apoptotic la Oxaliplatin al celulelor de cancer colic uman HCTp53wt. Radioterapie& Oncologie Medicală, vol. XIII, nr.1,63-68, 2007
12. **Claudia Burz**, G.Kacso. Durerea oncologica- ignoranta sau neputinta? Radioterapie& Oncologie Medicală, vol. XIII, nr.2,137-146, 2007
13. **C.C.Burz**, IB Neagoe, O Balacescu, O Tudoran, V Cristea, A Irimie. Genomic analysis of gene involved in platinum compound resistance. *Annals of Oncology*, 2008 vol 19, suppl. 8, 109P
14. **Burz Claudia**, Berindan Neagoe Ioana , Dronca Nora , Buiga Rares. Key signaling pathways in apoptosis. Radioterapie& Oncologie Medicală, vol. XIV, nr.3, 121-131, 2008
15. **Claudia Burz** , Ioana Berindan-Neagoe , Ovidiu Balacescu , Claudiu Tanaselia , Laurian Vlase , Sorin-E Leucuta, Loredana Balacescu, Alexandru Irimie, Victor Cristea. Clinical and pharmacokinetics study of Oxaliplatin in colon cancer patients. *J Gastrointest Liver Dis March*, 2009, Vol 18, No, 1.
16. **Burz Claudia**, Berindan Neagoe Ioana , Balacescu Ovidiu , Irimie Alexandru. Apoptosis in cancer : key molecular signaling pathway and target therapy – submisă spre publicare, in revizie, in Acta Oncologica
17. **Burz Claudia**, Ioana Berindan-Neagoe, Ovidiu Balacescu, Gabi Kacso, Nicolae Todor, Victor Cristea, Alexandru Irimie. Oxaliplatin, fluorouracil and leucovorin (FOLFOX) as first line chemotherapy for metastatic colorectal cancer patients. submisă in B.U.O.N

## **C. Articole/studii publicate în volumele unor manifestări științifice naționale și internaționale recunoscute : 23**

#### **D. Lector invitat**

- Durerea cronică de cauză oncologică –curs de formare medicală continuă organizat de Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”- Institutul Oncologic „I. Chiricuta”, Societatea română de radioterapie oncologică, 8-9 decembrie, 2006.
- Terapie antiangiogenică. Functional Genomics in cancer biology and therapy. Biogeno - workshop 27-28 nov.2007, Cluj-Napoca, România
- Clinical Trial- the way we make progress against disease. Pathcero, Cluj-Napoca, România
- 2-5 dec.2008 International workshop : Principles and applications of functional genomics in cancer biology and therapy, Cluj-Napoca, România

#### **15. Proiecte de cercetare naționale:**

1. **CNCSIS- IDEI** - Screeningul variabilelor de formulare și tehnologice pentru modificarea farmacocineticii și acțiunii biologice a unor substanțe medicamentoase în scopul realizării unor forme farmaceutice moderne. (2007-2010)
2. **CNMP (PNCDI II)**- Definirea profilului molecular transcriptomic în predicția statusului clinic în cancerul mamar rezistent la antracicline. Definirea bolii metastatice în raport cu tumora primară. BREAST-OMICS. (2007-2010)
3. **CNMP (PNCDI II)** Implementarea terapiei miniminvasive în cancerul colorectal, optimizarea diagnosticului și prognosticului bolii corelate cu nivelul plasmatic al moleculelor angiogenice în relație cu VEGF – CELIOMARK. (2007-2010)
4. **CNMP (PNCDI II)** Optimizarea diagnosticului precoce și tratamentul stenozelor maligne de cai biliare utilizând ecografia intraductală cu miniprobe, tehnici microarray și terapia fotodinamică neoadjuvantă LASENDO. (2007-2010)
5. **CEEX** -Utilizarea tehnologiilor micro- și tissue-array în stabilirea semnăturii moleculare a tumorilor ovariene epiteliale cu potențial redus și înalt de malignitate. Identificarea genelor candidate în angiogeneza tumorilor borderline. MT-ARRAY (2006-2009).
6. **CEEX** - Screening, profilaxie și corecție a malformațiilor congenitale genito-urinare la copil în epoca tehnicilor terapeutice minim invazive (laparoscopie, endoscopie) – SCANURGENT. (2006-2009).
7. **CEEX** - Dezvoltarea unui sistem biologic pentru înțelegerea modelelor moleculare implicate în cancerul de prostată – MOLPAT. (2006-2009).
8. **CEEX**- Analiză comparativă a profilului molecular în leziunile chistice de pancreas. Utilizarea microarray în evaluarea nivelului de expresie genomică - PANARRAY (2006-2008)
9. **CNCSIS** -Analiză profilului molecular al genelor implicate în angiogeneza și invazia celulelor tumorale în cancerul colului uterin.Utilizarea radioterapiei în vederea restabilirii profilului genetic normal. (2006-2008 )

#### **16. Proiecte de cercetare internațională**

**IMMUNOBIOTA: „ Tools for integrated studies of the immunoregulatory properties of commensal microbiota” (2006-2010)**

**University of Medicine and Pharmacy  
“Iuliu Hatieganu” Cluj-Napoca**

**CLAUDIA CRISTINA BURZ**

**PHARMACOGENETICS AND PHARMACOKINETICS STUDIES  
IN COLORECTAL CANCER**

**Summary**

**Scientific supervisor  
PhD, Prof. Dr. SORIN E. LEUCUȚA**

**2009**

## Table of contents

### Introduction

#### I. Generalities

- |   |    |
|---|----|
| 1. Cancerogenesis                         | 10 |
| 2. Molecular biology in colorectal cancer | 27 |
| 3. Presentation of Platinum salts         | 33 |

#### II. Experimental part

- |   |     |
|---|-----|
| 5 Clinical study: oxaliplatinum treatment efficacy in metastatic colorectal cancer                | 57  |
| 6 Study of pharmacokinetic parameters of oxaliplatinum  | 70  |
| 7 "In vitro" study of reactive oxygen species generated during apoptosis induced by platinum salt | 95  |
| 8 "In vitro" pharmacogenomic study of oxaliplatinum on colorectal cancer celullar lines           | 118 |

**Conclusions** 180

**References** 185

**Published papers** 200

**Key words:** oxaliplatinum, apoptosis, free reactive species, pharmacokinetics, pharmacogenomics

### Introduction

Colorectal cancer represents 15% of all cancers and 70% of digestive cancers. It is on third place in men, after prostate and pulmonary cancer and on second in women, after breast cancer. The prognosis, still reserved, meaning an overall survival of about 50% in 5 years, is improved by using new drugs.

Oxaliplatinum, a platinum salt of third generation, represents one of most active drug used in colorectal cancer treatment. The efficacy and the tolerance of treatment depend on tumor and patients characteristics. So, it is difficult to say from the beginning who can benefit from treatment and where the side effects will be intense. The individual treatment is based on administration of drugs to molecular targets in order to obtain better results with minimum side effects.

The goals of this paper are to characterize molecular pathways of oxaliplatin-induced apoptosis in tumor cells and to evaluate the toxicity and the efficacy in metastatic colorectal cancer. The data allow us to individualize the treatment by adapting the doses to metabolic parameters of patients and to tumor phenotype in order to increase the tolerance, respecting the cytotoxic power of the molecule.

Despite the recent data, the mechanism of oxaliplatin action, is not very clear. We know, from a “classic” point of view, that oxaliplatin, like other platinum salts, reacts with cellular DNA, resulting in intra-strand bridges which lead to cellular cycle stop, inhibition of replication and apoptosis. Those mechanisms do not explain the activity spectrum, the differences in toxicity and the greater cytotoxic effects than cisplatin, “the traditional platinum salt”. Oxaliplatin is active on cell lines resistant to cisplatin and has no cross-resistance. It has no renal and auditory toxicity, but has an important neurologic impact, leading sometimes to disability. The mechanism of neurotoxicity are not well known. Recent studies suggest that reactive oxygen species are involved in apoptosis and side effects, too.

So, any supplementary information could be a real benefit for oncological practice.

The genomic and the pharmacogenomic point of view try to explain the mechanisms of action of anticancer drugs. New techniques as PCR-array are of great interest in oncological research. So, we find this approach interesting for leading us to a better individualized treatment.

A part of the experimental study is done at the Karolinska Institute, Stockholm, Sweden, as a Marie Curie fellowship, offered by the European Community. The other parts of the paper are realized at the Oncological Institute “Prof. Dr. Ion Chiricuta” Cluj-Napoca at the Department of Functional Genomics and at the Chemotherapy Department, as well as with the help of INCDO-INOE 2000 and the Department of Pharmaceutical Technique of University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca.

The paper contains two parts: the general one and the experimental one.

**The general part** contains data regarding cancerogenesis, especially colorectal cancerogenesis, the platinum salts and a synthesis of the most important preclinical and clinical studies which led to the use of oxaliplatin in the treatment of colorectal cancer.

***The experimental part*** is structured in 4 chapters, as follows:

## **1. CLINICAL STUDY: EVALUATION OF OXALIPLATINUM TREATMENT EFFICACY IN METASTATIC COLORECTAL CANCER**

The study is realized on 49 patients with metastatic colorectal cancer treated in Oncological Institute Cluj-Napoca. The age of patients is between 46 and 66 years, the predominant site of tumor is rectosigmoidian, the predominant histology is adenocarcinomas of different grades, the mucipar cancer being found in 19% patients. 3 of patients (7%) presented multiple metastasis, the rest had a unique metastasis: liver (56%), peritoneum (19%), lung (12%), bones (2%) and 5% had lomboaortic lymph nodes. The treatment compliance was very good, the majority of patients received 3 to 6 cycles of chemotherapy. The univariate analysis has showed that the only factor correlated with the response rate was the performance status. It is important that after chemotherapy the resection of metastasis was possible in 6 patients (18.35%). Disease free survival was 7 months, but we couldn't establish a correlation with patients characteristics. Regarding toxicity, the neurotoxicity is predominant (60.46% of patients), followed by digestive toxicity (25.6%), neutropenia (25.6%), anemia (20.93%), trompocitopenia (18.61%) and more rarely we found hepatocytolisis, mucositis and alergia. It was not possible to establish a correlation between the grade of neurotoxicity and the patients characteristics such as age, sex, performance status, tumor site, metastasis site. The results are similar to literature.

## **2. STUDY OF PHARMACOKINETICS PARAMETERS OF OXALIPLATINUM**

The efficacy and toxicity of treatment depend on tumor and patient characteristics, which justifies the determination of pharmacokinetics parameters in patients with metastatic colorectal cancer, in the second part of study. We analyzed 2 groups of patients: a group received 130 mg/sm oxaliplatinum, schedule XELOX, and the other one, 85 mg/sm, schedule FOLFOX4. We took hematological samples at



different moments of treatment. The concentration of oxaliplatin was determined in 4 compartments: blood, plasma, ultra filtrated plasma and urine, using inducible mass spectrophotometry coupled with plasma. The pharmacokinetics of oxaliplatin was obtained on concentration function of time, using non compartmental method. The results showed that pharmacokinetic parameters of oxaliplatin depend of dose and the compartment.

In ultrafiltrated plasma, which contains the active part of drug, the maximum concentration ( $C_{max}$ ), the area under curve (AUC), total (AUC tot) and final (AUCfin) and the half time ( $T_{1/2}$ ) were statistically inferior than the values obtained in plasma and blood. On the other hand, the distribution volume and clearance of oxaliplatin were statistically superior than in blood and plasma.

At different doses of oxaliplatin, the parameters were statistically different for  $C_{max}$  in blood ( $p= 0.029$ ), AUC fin in blood ( $p= 0.029$ ), AUC fin and AUC tot in ultrafiltrated plasma. Distribution volume and the clearance of oxaliplatin were not statistically different in compartments at different oxaliplatin doses.

The pharmacokinetics of oxaliplatin is bicompartimental, with a fast distribution phase and a slow elimination phase with  $T_{1/2}$  between 16-24 hours in plasma and blood and between 9 to 12 hours in ultrafiltrated plasma, with no statistical difference between the two curves for the two concentration of oxaliplatin. This results are the same with those reported in other II phase studies concerning the oxaliplatin pharmacokinetics in colorectal carcinoma. They are a start point for the study of pharmacogenomics in order to identify the molecules involved in apoptosis at different moments of oxaliplatin administration.

### **3. IN VITRO STUDY OF REACTIVES OXIGEN SPECIES RELEASED DURING APOPTOSIS INDUCED BY PLATINUM SALTS**

The pathogenesis of oxaliplatin neurotoxicity is not very clear until now. Recent studies suggest that free-oxygen radicals are involved in induction of apoptosis and in appearance of side effects, too.

The third part of study reports the cellular death evaluation induced by oxaliplatin and cisplatin. We used colonic line cell HCT p25wt and a specific

ELISA method which quantifies proteins fragments released during apoptosis by caspasis. Other methods were spectrophotometry and flow cytometry. We also studied how specific inhibitors of different oxygen species influence platinum salt-induced apoptosis of tumoral cells.

The results showed that both drugs induce apoptosis of tumoral cells HCTp53wt, but oxaliplatinum is more cytotoxic that cisplatinum . To produce the same number of apoptotic events a 1.5 more quantity of cisplatinum is necessary. We found generation of reactivess oxygen species during apoptosis in the first hour after administration, depending on the drug concentration. The levels of specific reactivess oxygen species as peroxytril and superoxide detected by spectrophotometry and flow cytometry were differents in fonction of treatment being superior for oxaliplatinum than cisplatinum. Different levels of free oxygen radicals could explain different spectrum of activity and toxicity of these drugs. Therapeutic modulation of free radicals could diminish the neurotoxicity, improving the quality of life of these patients.

#### **4. „IN VITRO” PHARMACOGENOMIC STUDY OX OXALIPLATINUM ON COLORECTAL CANCER CELL**

The pharmacogenomic study goal was to identify the way of apoptosis induction by oxaliplatinum. For this, we used apoptosis-PCR-array technique. This is a new method of molecular investigation which allows simultaneous study of 84 genes involved in apoptosis.

We used tumor line cell colo 320. We considered overexpressed and suppressed genes at different moments after drug administration: at 24 hours and at 48 hours. ( $p < 0.05$ ), level expres=1.5 X control level.

We observed different expressions in different moments.

For bioinformatic analysis we used an interactiv programme: Ingenuity Pathways Analysis (IPA). This is a network with hundreds or thousands of direct or indirect interactions between mammal genes, at functional and physical level. The data base is published in NCBI. We compared the created network with the biological functions contained by Ingenuity (Ingenuity Pathways Knowledge Base – IPKB).

The results obtained showed that oxaliplatinum acts at cellular level by different pathways: the modulation of cellular cycle, imune response, cellular death, tumor

transformation. In vivo study showed different gene expression at the two analysed moments of time. At 24 hours after administration some genes, like p53 and others, involved in immune and inflammatory response, were overexpressed. Others, involved in growth and cell proliferation were suppressed. At 48 hours, the molecular pathways involved in modulation of immune and inflammatory response and those involved in apoptosis (the intrinsic pathway - overexpressed genes Bcl-2 and caspases) are activated.

## **5. GENERAL CONCLUSIONS**

The fifth part of the paper presents the general conclusions.

Our study shows the efficacy of Oxaliplatin for the treatment of metastatic colorectal cancer patients. The major side effect of Oxaliplatin therapy was neurotoxicity. The data obtained were in concordance with other studies regarding the efficacy, the toxicity and the pharmacokinetic parameters of Oxaliplatin. The free oxygen radicals are thought to play a major part in the pathogenesis of the platinum salts side effects. By modern technologies, which have so far a very limited use in our country, the identification of oxygen species synthesized during Oxaliplatin and Cisplatin-induced apoptosis was possible, evaluating the way in which specific inhibitors could influence cellular death.

The results of personal research contribute to the enrichment of the knowledge regarding the genomics approach in general, and the pharmacogenomics approach in particular, which try to decipher the anticancer drugs way of action at tumor cell level, the molecular mechanisms used by tumor cells to gain resistance to one or more drugs (pleiotropic resistance), as well as to elucidate some aspects related to molecular signaling in cellular interactions, in tumor progression or regression.

The results of personal research which were presented at national and international conferences, as well as published in specialized journals are annexed at the end of the paper.

## CURRICULUM VITAE

1. **Surname:** Burz
2. **Name:** Claudia Cristina
3. **Date of birth:** 1970, 21 of june
4. **Place of birth:** Cugir, Alba region, Romania
5. **Marital status:** married
6. **Nationality:** Romanian
7. **Address:** Rapsodiei street., no. 7, Cluj-Napoca
8. **Phone :** +40264522097; **mobile phone:** +40743034822
9. **e-mail:** [cburz@yahoo.fr](mailto:cburz@yahoo.fr)

### 10. Studies:

<b>Institution</b>	University of Pharmacy and Medicine "Iuliu Hatieganu", Cluj- Napoca	University of Pharmacy and Medicine "Iuliu Hatieganu", Cluj- Napoca
<b>Period: from (month, year) until (month, year)</b>	09.1990 - 06.1996 14.03.1997-19.06.2002	10.2003-02.2009
<b>Diplomas or Degrees</b>	University Degree MD Medical Oncology and Chemotherapy	PhD degree

### 11. Professional experience:

<b>Period:</b>	05.2001-04.2002	11.2002-04.2003	06.2004-11.2004 09.2008-11.2008	1. 09. 2003 – 02.2009 2. 09.2007 - prezent
<b>Place:</b>	Digestive Oncology Department	Digestive Oncology Department	1. Department of Experimental Pathology 2. Department of Clinical Bacteriology	Immunology Department
<b>Institution:</b>	Clinic "Charles-Nicolle", Rouen, France	Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France	1. Karolinska Institute, Stockholm, 2. University of Gothenburg Suedia	University of Pharmacy and Medicine "Iuliu Hatieganu", Cluj- Napoca
<b>Function:</b>	Medical doctor	Medical doctor	1. Phd student 2. researcher	Phd student Lector

**12. Scientific Title:** PhD, lector at the Department of Immunology, University of Medicine and Pharmacy, "Iuliu Hatieganu" , Cluj-Napoca

**13. Present position and place of work:** MD lecturer at the Department of Immunology, University of Medicine and Pharmacy, "Iuliu Hatieganu" , Cluj-Napoca

**14. Years of experience at the present place of work:** 2 years

**15. Member of professional associations:**

Member of Romanian Society of Radiotherapy and Medical Oncology  
Member of ESMO  
Member of Medical College

**16. Foreign languages:** english, french.

**17. Specialisations and qualifications:**

- November-May 2000 – Course and practice of digestive endoscopy, Medical University no. III, Cluj-Napoca, Romania
- 14-25 January 2002 – Course of antitumor chemotherapy & medical treatment of cancer, Villejuif, Institut Gustave-Roussy, France
- 30 april 2002 – Diploma “Formation spécialisée d’Oncologie”, University of Medicine and Pharmacy Rouen, France.
- Seminar of Cellular and Genetic therapy, the 16<sup>th</sup> edition 2002, Paris, France.
- 13-14 march 2003–Course of Oncology: Tumors bone and soft tissues. Supportive care in oncology. Institut Gustave-Roussy, Villejuif, France.
- 15-16 March 2003 – Oncoform – Perfecting days in Digestive Oncology, Val d’Isere, France
- 23 May 2003 – Diploma “Douleur en Oncologie”, University of Medicine, Paris
- 26 april 2004- Competence in Digestive Endoscopy
- 4 Juin 2004 - 19 nov.2004 Research fellowship at "Karolinska Institute" Stockholm, Suedia.
- 2-12 July 2006, International workshop : Functional Genomics in cancer biology and therapy, Biogenero I, Cluj-Napoca, Romania
- 27-28 nov.2007, International workshop: Functional Genomics in cancer biology and therapy, Biogenero II, Cluj-Napoca, Romania
- Clinical Trial- the way we make progress against disease.Pathcero, Cluj-Napoca, Romania, 2007
- 1 sept.-1 noiemb.2008, Research exchange at University of Medicine, Department of Immunology, Goteborg, Suedia, in „ Sixth framework programme for research and technological development of the European Community” - IMMUNOBIOTA MTKD-CT-2006-042540
- 2-5 dec.2008 International workshop : Principles and applications of functional genomics in cancer biology and therapy, Cluj-Napoca, Romania

**15. In extenso published papers:**

1. Ioan A., Barsan M, **Burz C.** The multidisciplinary treatment of lung cancer. *Radiotherapy & Medical Oncology*, 1999:195-208.
2. **Claudia Burz**, Paillot B., Michel P. Radio-chemotherapy of gastric cancer. A retrospective study performed on patients treated between 1994-2001 at University “Charles Nicolle” & “Henri Becquerel”, Rouen, France. *Radiotherapy & Medical Oncology*, 2003; 2:102-107.

3. **Claudia Burz**. News in digestive cancers. The 27<sup>th</sup> edition of francophone days of Digestive Pathology. *Radiotherapy & Medical Oncology*, 2003; 2:138-140.
4. Ioana Berindan Neagoe, Balacescu O., Risca Rodica, Budi Raluca, **Burz Claudia**, Oprea I. Fibronectin in mammary carcinoma. An immunohistochemical study. *Turkish Journal of Oncology*, 2003; 4
5. **Claudia Burz**, Maria C. Shoshan, Stig Linder. Reactive oxygen species in apoptosis induced by oxaliplatin. *Clujul Medical*, 2, 402-409, 2005
6. Maria Shoshan, Maria Berndtsson, **Claudia Burz**, Emma Hermlung, Stig Linder et al. Differential modes of action of cisplatin and oxaliplatin. Involvement of NO and reactive oxygen species in induction of apoptosis. *Proc Amer Assoc Cancer Res*, vol 46, 2005, abstract 5329
7. **Claudia Burz**, Maria C Shoshan, Stig Linder, Maria Berndtsson, SE Leucuta. Reactive oxygen species generation in the apoptotic response to oxaliplatin and cisplatin in human HCT116p53wt colon cancer cells. *Farmacologia*, vol LIV2, 23-31, 2006
8. **Claudia Burz**, N.Ghilezan. Tymoma and the autoimmune diseases associated. *Radioterapie & Oncologie Medicala*, vol. XII, nr.3, 223-231, 2006
9. **Claudia Burz**. Cancer and alimentation, part I. *Cancer, a challenge to life*, nr.20, oct.4-9, 2006
10. **Claudia Burz**. Cancer and alimentation, part II. *Cancer, a challenge to life*, nr.21, 2007
11. **Claudia Burz**, G.Kacso. Pain in cancer. *Radioterapie & Oncologie Medicala*, vol. XIII, nr.2, 137-146, 2007
12. **Claudia Burz**, Maria C Shoshan, S Linder, Maria Berndtsson, SE Leucuta. Generation of reactive oxygen species during apoptosis induced by oxaliplatin on HCTp53wt tumor cell lines. *Radioterapie & Oncologie Medicala*, vol. XIII, nr.1, 63-68, 2007
13. **Burz Claudia**, Berindan Neagoe Ioana, Dronca Nora, Buiga Rares. Key signaling pathways in apoptosis. *Radioterapie & Oncologie Medicala*, vol. XIV, nr.3, 121-131, 2008
14. **C.C.Burz**, IB Neagoe, O Balacescu, O Tudoran, V Cristea, A Irimie. Genomic analysis of gene involved in platinum compound resistance. *Annals of Oncology*, 2008 vol 19, suppl. 8, 109P
15. **Claudia Burz**, Ioana Berindan-Neagoe, Ovidiu Balacescu, Claudiu Tanaselia, Laurian Vlase, Sorin-E Leucuta, Nicolae Todor, Alexandru Irimie, Victor Cristea. Clinical and pharmacokinetics study of Oxaliplatin in colon cancer patients – *Romanian Journal of Gastroenterology*, no.18, vol.1, 2009

#### 14. Communicated papers and papers published in abstract volumes:23

#### 15. Lector invited

- Pain in cancer – curs 8-9 decembrie, 2006, Cancer Institute „I Chiricuta”, Cluj-Napoca
- Functional Genomics in cancer biology and therapy. Biogeno - workshop 27-28 nov.2007, Cluj-Napoca, Romania
- Clinical Trial- the way we make progress against disease. Pathcero, Cluj-Napoca, Romania
- 2-5 dec.2008 International workshop : Principles and applications of functional genomics in cancer biology and therapy, Cluj-Napoca, Romania

## **16. Experience in national/international programmes:**

### **National projects:**

**CNCSIS- IDEAS** - Screening of technological and formula variables for modification of drugs pharmacokinetics and biological actions for synthesis of modern pharmaceutical forms.

**CNMP (PNCDI II)** – molecular profiling in antracyclin resistant breast cancer for clinical outcome prediction – executiv (2007-2010)

**CNMP (PNCDI II)** Minimal invasive therapy implementation in colorectal cancer, diagnosis and prognosis optimization – executiv (2007-2010)

### **International Projects:**

**IMMUNOBIOTA-** MTKD-CT-2006-042540 Tools for integrated studies of the immunoregulatory properties of commensal microbiota 2006-2010

**Claudia Burz**

**23.02.2009**