

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Podpora vzdělávání vědeckých pracovníků z oblasti molekulární onkologie
reg. č.: CZ.1.07/2.3.00/09.0089

SATELITNÍ SYMPOZIUM NA DNECH DIAGNOSTICKÉ, PREDIKTIVNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ ONKOLOGIE

Projekt „Podpora vzdělávání vědeckých pracovníků z oblasti molekulární onkologie“, zkráceně „Molonkol“ si klade za cíl vzdělat lékaře a přírodovědce v oblastech onkologického výzkumu, kde je potřeba mít souběžné znalosti: 1) o současné klinické praxi, 2) o současných možnostech molekulární onkologie, 3) o současných biostatistických a bioinformatických nástrojích a zároveň je potřeba ovládat grantové dovednosti řízení projektů a publikování výsledků v impaktovaných, anglicky psaných časopisech.

Webové stránky projektu jsou dostupné na adrese: <http://www.molonkol.org/>.

Aktivita projektu „Satelitní sympozium na Dnech diagnostické, prediktivní a experimentální onkologie“ v rámci Molonkolu přináší vyžádané přednášky národně i mezinárodně uznávaných odborníků na vybraná aktuální témata z oblasti onkologického výzkumu a vývoje.

Účastníci sympozijních přednášek obdrží studijní materiály a certifikát o účasti.

Na programu v roce 2009 budou přednášky:

9:00–9:40 GASTROINTESTINÁLNÍ STROMÁLNÍ NÁDORY / Garant: Melichar B.

1. Melichar B.: **Systémová léčba gastrointestinálních stromálních nádorů**
2. Neoral Č.: **GIST – z pohledu chirurgické intervence**

9.40–10.40 NOVÁ PROTINÁDOROVÁ LÉČIVA A LÉČEBNÉ STRATEGIE V ONKOLOGII

1. Klener P.: **Angiogeneze jako součást nádorového „ekosystému“ a možnosti jejího ovlivnění**

10.40–11.00 Přestávka

11.00–12.20 MOLEKULÁRNÍ ONKOLOGIE V CÍLENÉ BIOLOGICKÉ LÉČBĚ – HEMATOONKOLOGIE / Garant: Papajík T.

1. Kubová Z., Papajík T., Procházka V., Indrák K.: **Nežádoucí účinky léčby monoklonálními protilátkami v hematologii, jejich prevence a léčba**
2. Rohoň P., Faber E., Indrák K.: **Inhibitory tyrozínových kináz – cílená léčba myeloidních neoplázií, ale i solidních nádorů**
3. Klener P. jr., Molinský J., Marková M., Leahomski S., Šimonová T., Anděra L., Nečas E., Živný J.: **Zvýšená exprese kaspázy 10 se paradoxně podílí na rezistenci buněk T-lymfoblastické leukemie Jurkat na TRAIL (TNF – related apoptosis inducing ligand)**
4. Hajdúch M.: **Molekulární prediktory účinnosti protinádorové léčby – současný stav a výhled na rok 2010**

GASTROINTESTINÁLNÍ STROMÁLNÍ NÁDORY

předsedající: Melichar B. / pátek / 27. 11. 2009 / 9.00–9.40

Systémová léčba**gastrointestinálních stromálních nádorů**

prof. MUDr. Bohuslav Melichar, Ph.D.

Onkologická klinika LF UP a FN Olomouc

Významného pokroku v léčbě metastatického GIST bylo dosaženo molekulárně cílenou léčbou. Imatinib je inhibitorem tyrozínových kináz, mezi jinými i c-kit. Imatinib nejenom zásadním způsobem změnil léčebné postupy u nemocných s GIST, zároveň se jedná o jeden z prvních případů úspěšného použití molekulárně-cílené léčby v onkologii. V klinických studiích byla objektivní odpověď na imatinib pozorována u více než 50 % nemocných s GIST a pouze asi u 10 % případů onemocnění na léčbu primárně nereaguje. Tolerance léčby imatinibem je většinou velmi dobrá, jako vzácný závažný vedlejší účinek léčby však byla popsána ruptura nádoru s následným krvácením. U většiny nemocných s GIST, kteří primárně odpověděli na léčbu, se později objeví progresse a po 2 letech léčby

je bez progresse pouze 20–30 % nemocných, i když dvouleté přežití je více než 80 %. Standardním lékem druhé linie je sunitinib a objevují se informace, které postupně vedou k zavedení léčby dalších linií.

GIST – z pohledu chirurgické intervence

doc. MUDr. Čestmír Neoral, CSc.

I. chirurgická klinika FN Olomouc

Úvod: Gastrointestinální stromální tumor patří mezi nejčastější mezenchymální nádor trávicího traktu. Souhrnné studie udávají největší výskyt těchto nádorů v žaludku (60–70 %), dále následuje tenké střevo (20–25 %), tlusté střevo (5 %) a nejméně početné zastoupení je udáváno v jícnu (2 %). Na rozdíl od zbylé části zažívacího traktu, kde se provádí klasický resekční výkon, je u jícnu třeba volit specifický přístup chirurgické intervence.

Morfologie gastrointestinálního stromálního tumoru: Tumor vychází z některé vrstvy pod sliznicí gastrointestinální stěny (nejčastěji z muscularis

propria) a vyklenuje se většinou do lumina. Při své vzácnější lokalizaci v jícnu se na rozdíl od jiných částí GITu nešíří na zde chybějící serózní povrch, ale spíše má tendence k šíření svalovinou s překrytí zevními svalovými vlákny. Může docházet k ulceraci přilehlé sliznice.

Sestava pacientů: V letech 2003–2009 jsme operovali celkem 9 pacientů s benigním tumorem jícnu, osm mužů a jedna žena. Lokalizace tumoru byla sedmkrát v oblasti hrudního jícnu a dvakrát v oblasti abdominálního jícnu, respektive na hranici hrudního a abdominálního jícnu. Následně byl u 6 pacientů diagnostikován stromální tumor jícnu.

Výsledky: V osmi případech jsme operovali minimálně invazivně metodou rendez-vous. Operační výkon byl navigován endoskopicky. Šestkrát byl tumor odstraněn torakoskopicky, dvakrát laparoskopicky při jeho lokalizaci v distální části jícnu. Jedenkrát bylo postupováno u objemného tumoru VATS technikou a tumor byl z jícnu vyjmut otvorem po excizi jeho stopky. Všichni pacienti

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Podpora vzdělávání vědeckých pracovníků z oblasti molekulární onkologie
reg. č.: CZ.1.07/2.3.00/09.0089

se zhojili per primam a v rozmezí 4–9 dne odchází do domácího léčení. Jsou dispenzarizováni a u žádného z nich se neobjevila recidiva tumoru.

Závěr: GIST v jícnové lokalizaci je poměrně vzácný. Vzhledem k biologické povaze tumorů u našich

pacientů bylo možno považovat exstirpaci ze stěny jícnu za dostatečnou. Z toho pacienti jednoznačně profitují, neboť jakýkoliv resekční výkon je z pohledu problematiky jícnové chirurgie velmi závažný. Přitom je nutno mít na paměti, že v době operace

není diagnóza jasná a o povaze tumoru rozhodne až kompletní histopatologické vyšetření. Jeho odběr předem přes sliznici by totiž znemožňoval jeho miniinvazivní vyjmutí ze stěny bez narušení integrity sliznice.

NOVÁ PROTINÁDOROVÁ LÉČIVA A LÉČEBNÉ STRATEGIE V ONKOLOGII

pátek / 27. 11. 2009 / 9.40–10.40

Angiogeneze jako součást nádorového „ekosystému“ a možnosti jejího ovlivnění
prof. MUDr. Pavel Klener, DrSc.

1. interní hemato-onkologická klinika 1.LF a VFN, a ÚHK, Praha

Poznaky o významu nádorového mikroprostředí („ekosystému“) pro biologické chování nádoru (invazivita, angiogeneze, metastazování) vedly k zásadní pro-

měně nazírání na povahu nádorového onemocnění od redukcionistického pohledu až k pohledu vysoce komplexnímu. Modelovým příkladem vzájemných interakcí nádorových buněk a nádorového mikroprostředí může být angiogeneze.

Jsou probrány mechanismy angiogeneze, angiogenní a antiangiogenní faktory a možnosti inhibice angiogeneze. Za nejúčinnější se dnes považuje inhibice signální dráhy vaskulárního endoteliálního faktoru

(VEGF) jednak neutralizací ligandu (monoklonální protilátkou bevacizumabem), jednak bloádou tyrozinkinázové domény intracelulární části receptoru pro VEGF. Prověřují se i jiné možnosti antiangiogenní léčby, jako je např. použití látek působících disrupci nádorových cév (VDA- vascular disruption agents) nebo použití tzv. metronomické chemoterapie. V závěru jsou zmíněny některé nové poznatky o mechanismu lamfangiogeneze.

MOLEKULÁRNÍ ONKOLOGIE V CÍLENÉ BIOLOGICKÉ LÉČBĚ – HEMATOONKOLOGIE

předsedající: Papajík D. / pátek / 27. 11. 2009 / 11.00–12.15

Nežádoucí účinky léčby monoklonálními protilátkami v hemato-onkologii, jejich prevence a léčba

MUDr. Zuzana Kubová,
doc. MUDr. Tomáš Papajík, Ph.D.,
MUDr. Vít Procházka,
prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.
Hemato-onkologická klinika,
Fakultní nemocnice Olomouc

V posledních deseti letech se pozornost stále častěji obrací k biologické léčbě monoklonálními protilátkami, v terapii nádorových onemocnění hrají v současnosti jednu z hlavních rolí. Ve srovnání s klasickými chemoterapeutickými režimy je jejich nespornou výhodou nepřítomnost výraznějších nežádoucích účinků, což je do určité míry dáno jejich selektivním působením na struktury obsahující příslušný antigen. Americkou společností FDA (Food and Drug Administration) bylo do dnešní doby schváleno pro léčbu přesně definované skupiny solidních i hematologických malignit 10 monoklonálních protilátek. První generace monoklonálních protilátek, tvořená myšími buňkami, byla většinou spojena s tvorbou protilátek proti myším proteinu vedoucí k alergické reakci, nicméně u monoklonálních protilátek vyšší generace byly tyto proteiny nahrazeny lidskými

(chimerické, humanizované protilátky), což vedlo ke snížení počtu nežádoucích účinků. Obecně lze tyto vedlejší účinky rozdělit do 2 hlavních skupin. Časné, přímo spojené s aplikací monoklonální protilátky, většinou ve formě různých silných lokálních či celkové alergické reakce. Druhou skupinu tvoří specifické účinky plynoucí z podstaty působení protilátky proti určitému cílovému antigenu. Nejvíce využívané protilátky v hemato-onkologii jsou rituximab, alemtuzumab, ibritumomab tiuxetan. První schválenou protilátkou pro léčbu non-Hodgkinského lymfomu byla anti-CD20 chimerická protilátka rituximab (MabThera®). Aplikace rituximabu je všeobecně dobře tolerována, nicméně první aplikace bývá často provázena alergickou reakcí různé tíže. Ojedinele byly hlášeny případy hypoxie, komorové fibrilace, kardiogenního šoku, tumor lysis syndromu s následným selháním ledvin. Vzhledem k působení protilátky proti antigenu CD20, který se primárně nachází na B lymfocytech, dochází k lymfodepleci, provázené různými infekčními komplikacemi, zejména reaktivací hepatitidy B, jiných virových infekcí a progresivní multifokální leukoencefalopatií. Další protilátkou namířenou proti antigenu CD20 je monoklonální protilátka konjugovaná s radioizotopem yttria-90 (90Y)-ibritumomab tiuxetan (Zavalin®). V souvislosti s léčbou se objevují těžké, prolongované pancytopenie s delším časovým odstupem od podání,

projevující se krvácením, těžkými, převážně bakteriálními infekcemi. Ojedinele byly zaznamenány výrazné mukokutánní reakce. Alemtuzumab (MabCampath®), monoklonální, humanizovaná protilátka, specificky namířená proti antigenu CD52 byla původně schválena pro léčbu chronické lymfatické leukemie. Indukci apoptózy pomocí fixace komplementu a na protilátce závislé cytotoxicitě dochází k hluboké depleci lymfocytů, která může přetrvávat i několik měsíců po ukončení léčby. V té době je pacient ohrožen zejména oportunními infekcemi, zpusobenými cytomegalovirem a Pneumocystis jiroveci. Z toho důvodu je doporučována důsledná profylaktická protiinfekční terapie. Rozpoznání, prevence a léčba těchto nežádoucích účinků je důležitou součástí léčby pacientů monoklonálními protilátkami.

Inhibitory tyrozinových kináz – cílená léčba myeloidních neoplázií, ale i solidních nádorů

MUDr. Peter Rohoň,
doc. MUDr. Edgar Faber, CSc.,
prof. MUDr. Karel Indrák, DrSc.
Hemato-onkologická klinika, FN Olomouc

Tyrozinové kinázy (TK) sú enzymy, ktoré sú súčasťou tzv. signálnych kaskád a podieľajú sa na prenose informácií medzi bunkami i v bunke samotnej. Dokážu

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Podpora vzdělávání vědeckých pracovníků z oblasti molekulární onkologie
reg. č.: CZ.1.07/2.3.00/09.0089

fosforylovat tyrozinové rezidua různých cílových proteinů a regulovat tak ich aktivitu.

Typickým příkladem aplikace poznatků o TK je léčba chronické myelocytové leukémie (CML). Je to onemocnění s typickým cytogenetickým a molekulárním ukazatelem, které je v současnosti dominantně léčeno inhibitory tyrozinových kináz (TKI) – tzv. targeted therapy.

Imatinib mesylát (IMA) je první molekulou, která začala být využívána v léčbě CML. Především štúdia IRIS preukázala výhodnost využití IMA v porovnání s jinými léčebnými modalitami. IMA má širší použití: Ph+ a/alebo BCR-ABL+ akutní lymfoblastová leukémie v kombinaci s chemoterapií, myelodysplastické/myeloproliferativní onemocnění (MDS/MPD) spojené so změnou genu receptoru pro rastový faktor trombocytů, hypereozinofilový syndróm (HES) a/alebo chronická eozinofilová leukémie (CEL) s přestavbou *FIP1L1-PDPDGFRα*, c-kit+ (CD 117) inoperabilní a/alebo metastatické zhubné stromální nádory zažívacího traktu (GIST) a inoperabilní dermatofibrosarkoma protuberans (DFSP).

Z nežádoucích účinků (NÚ) IMA dominuje především hematologická toxicita (společný NÚ většiny TKI). Nehematologické NÚ většinou nedosahují stupně 3 a 4. Zásadním problémem při aplikaci IMA je vznik rezistence či intolerance (postihuje 20–40 % pacientů). Má různorodé příčiny: mutace v ABL kinázové doméně (některé mutace však nemají biologickou účinnost, passenger mutations), amplifikace *BCR-ABL*, klonová evoluce, influxné a efluxné systémy buněk, BCR-ABL nezávislé mechanismy.

Při zlyhání léčby IMA je možné použít 2. generaci TKI (dasatinib a nilotinib). Obe molekuly nie sú účinné pri mutácii ABL kinázy T315I. Ich spoločným NÚ je predĺženie QTc intervalu, ďalší profil NÚ je rôzny.

Záver: IMA nepochybné zmenil pohľad na ciele liečbu v onkológii. V súčasnosti je 1. voľbou pre liečbu novo diagnostikovanej CML. Nezanedbateľný počet pacientov však vyžaduje iný typ liečby. Existuje 2. generácia TKI, ktorá zlepšila výsledky liečby chorých s CML a celkové prežitie pacientov je dnes excelentné. Dasatinib i nilotinib majú podobnú účinnosť bez významného rozdielu pri dosahovaní a napokon i trvaní hematologickej, cytogenetickej odpovede a celkového prežitia. Obe liečivá vykazujú rozdielnú toxicitu. Rezistencia k liečbe pomocou „klasických“ TKI vyžaduje siahnuť k alogénnej transplantácii kmeňových buniek krvotvorby, experimentálnej liečbe či k „starším“ molekulám (interferón-α).

Zvýšená exprese kaspázy 10 se paradoxně podílí na rezistenci buněk T-lymfoblastové

leukemie Jurkat na TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand)

MUDr. Pavel Kleiner, Ph.D.¹,
MUDr. Jan Molinský¹,
Mgr. Marie Marková¹,
MUDr. Sergiu Leahomski¹,
Mgr. Tereza Šimonová¹,
RNDr. Ladislav Anděra, CSc.²,
prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc.¹,
MUDr. Jan Živný, Ph.D.¹

¹ Ústav patologické fyziologie 1. LF UK

² Ústav molekulární genetiky AV ČR Praha

TRAIL je proapoptotický cytokin se selektivním protinádorovým účinkem a minimální toxicitou vůči zdravým tkáním. TRAIL se v současnosti klinicky testuje u řady malignit. Mechanismy získané TRAIL rezistence jsou málo prozkoumané.

TRAIL-senzitivní linie T-lymfoblastové leukemie Jurkat byla po dobu 8 týdnů vystavena účinkům TRAILu (1 µg/ml). Tři etablované TRAIL-rezistentní Jurkat subklony (TR1-3) byly podrobeny analýze. Prokázali jsme, že získaná TRAIL rezistence subklonů TR1-3 byla spojena s rezistencí na další cytotoxické látky (TNF-alfa, Fas-ligand, fludarabine, metotrexát). Citlivost vůči jiným cytostatikům byla zachována (doxorubicin, cisplatina) nebo zvýšena (cytarabine). TRAIL-rezistentní subklony nevykazovaly signifikantní rozdíly v expresi receptorů pro TRAIL, TNF-alfa a Fas-ligand či klíčových antiapoptotických molekul (Bcl2, Mcl1, XIAP, Survivin aj.). Analýza proapoptotických molekul prokázala signifikantně zvýšenou proteinovou expresi kaspázy CASP10 u subklonů TR1 a TR3 a mírné snížení kaspázy 8 u subklonu TR1. Downregulace CASP10 pomocí siRNA u subklonu TR1 vedla k částečné resenzitizaci subklonu TR1 vůči TRAILu. Analýza DISCu (death-inducing signaling complex) prokázala poruchu tvorby DISCu po expozici TRAILem v subklonech TR3 a TR2. Analýza genové exprese pomocí čipů Illumina prokázala komplexní změny v genové expresi u TRAIL-rezistentních subklonů.

Ukázali jsme, že získaná TRAIL rezistence je u linie Jurkat spojena s komplexními poruchami v regulaci apoptózy. Zatímco u subklonů TR2-3 byla hlavním mechanismem TRAIL rezistence porucha tvorby DISCu, subklon TR1 vykazoval významnou dysregulaci exprese kaspázy 8 a 10. Předpokládáme, že vytěsnění z DISCu kaspázy 8 kaspázou 10 omezilo převod apoptotických signálů z death receptorů do nitra buňky. Podali jsme první důkaz o tom, že zvýšená exprese kaspázy 10 může přispívat k zvýšení rezistence vůči proapoptotickým stimulům.

LC 06044, MSM 0021620806,

MSM 0021620808, GAUK 2009/259153/86309,

GAUK 259211/110709.

Molekulární prediktory účinnosti protinádorové léčby – současný stav a výhled na rok 2010

doc. MUDr. Marián Hajdúch Ph.D.
Laboratoř experimentální medicíny
při Dětské klinice LF UP a FN Olomouc

Klinická onkologie čelí v posledních několika letech stoupajícímu počtu výsledků plynoucích z molekulárního výzkumu biochemie maligních onemocnění, jejichž implementace vede ke specifitější léčbě nádorů. Vůbec nejčastěji jsou nová protinádorová léčiva směřována do rodiny HER (ERBB). Jedním z nejvíce sledovaných protoonkogenů je gen HER2, jehož amplifikace vede k nadprodukci receptoru, což se dává do souvislosti se vznikem různých typů nádorů u člověka (například karcinomy prsu, ovaria, gastrointestinálního traktu). Patogenetická souvislost mezi nádorovou proliferací a amplifikací HER2 dala podnět k přípravě blokujících humanizovaných protilátek proti extracelulární doméně genu HER2, toto léčivo bylo později vyvinuto a registrováno pro léčbu karcinomu prsu pod názvem trastuzumab.

Obdobně je i gen HER1 (EGFR1) vhodný k cílenému léčebnému ovlivnění. Ke zvýšené aktivaci proteinu EGFR1 v nádorech dochází jeho overexpresí, amplifikací, delecí extracelulární domény, nebo aktivujícími mutacemi v tyrozinokinázové doméně receptoru. Proti neřízené aktivaci proteinu EGFR1 je zaměřena cílená terapie nízkomolekulárními i vysokomolekulárními inhibitory EGFR1, které po navázání na protein inhibují fosforylaci tyrozinokinázové části receptoru (nízkomolekulární inhibitory – gefitinib a erlotinib) nebo brání interakci s ligandou na extracelulární části receptoru (vysokomolekulární inhibitory, např. cetuximab a panitumab) a následně tak blokují aktivaci následných signálních drah. Naopak aktivující mutace onkogenu KRAS, který je lokalizovaný pod EGFR1 receptorem, je signálem pro rezistenci na terapii EGFR1 inhibitory. Vyšetření aktivčních mutací genu KRAS i EGFR1 se stalo indikačními kritérii pro nasazení inhibitorů EGFR1 receptoru.

Terapie cílenými protinádorovými léčivy je mimořádně nákladná a převážně účinná ve skupině pacientů s jednoznačnou patologickou aktivací příslušného genu, což vede ke zvýšeným požadavkům na přesné vyšetření řady prognosticko-prediktivních parametrů, jejichž význam bude v přednášce podrobně diskutován.

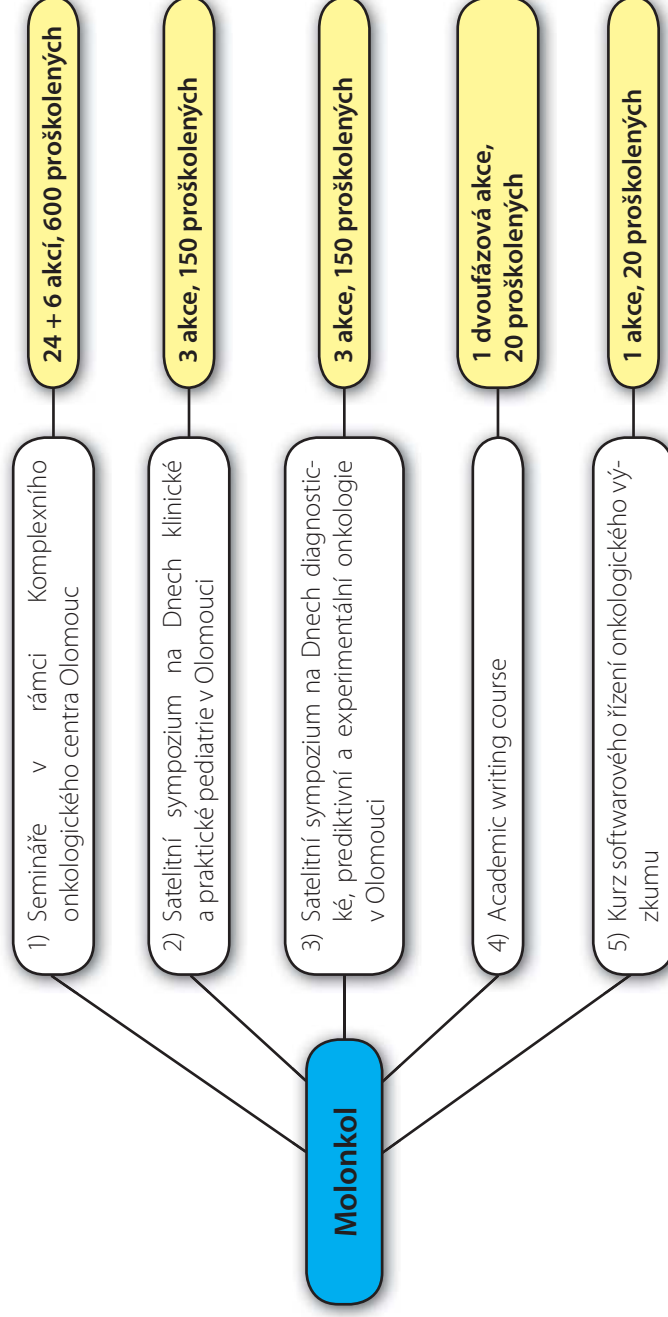
Poděkování: Práce na projektu byla podporována granty MSM6198959216 a LC07017.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Podpora vzdělávání vědeckých pracovníků z oblasti molekulární onkologie
reg. č.: CZ.1.07/2.3.00/09.0089

Cíl: Projekt „Molonkol“ si klade za cíl vzdělat lékaře a přírodovědce

- 1) o současné klinické praxi,
- 2) o současných možnostech molekulární onkologie,
- 3) o současných biostatistických a bioinformatických nástrojích,
- 4) v dovednostech řízení projektů,
- 5) v publikování výsledků v impaktovaných, anglicky psaných časopisech.



Zahájení: červenec 2009

Ukončení: červen 2012

Webové stránky: www.molonkol.org

Kontakty: doc. Mgr. Jiří Drábek, PhD. / řešitel
jiri_drabek@seznam.cz),

Ing. Jana Lukešová / projektová manažerka
jana.lukesova@upol.cz),

Věra Drozdová / asistentka
drozdova.vera@centrum.cz

MUDr. Petr Džubák, PhD. / garant aktivity 1
dzubakp@gmail.com

MUDr. Josef Srovnal / garant aktivity 2
josef.srovnal@seznam.cz

RNDr. Radek Trojanec, PhD. / garant aktivity 3
Radek.Trojanec@seznam.cz

Zuzana Cibulková, DiS. / garantka aktivity 4
zucib@seznam.cz

Mgr. Marta Dziechciarková, PhD. / garantka aktivity
mdziechciarkova@seznam.cz