

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA ZDRAVOTNICKÝCH STUDIÍ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2017

Karel Hubert Riegr

Univerzita Pardubice
Fakulta zdravotnických studií

Možnosti radiosenzibilizace nádorových buněk karcinomu pankreatu

Karel Hubert Riegr

Bakalářská práce

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta zdravotnických studií
Akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Karel Hubert Riegr**
Osobní číslo: **Z14132**
Studijní program: **B5345 Specializace ve zdravotnictví**
Studijní obor: **Radiologický asistent**
Název tématu: **Možnosti radiosenzibilizace nádorových buněk karcinomu pankreatu**
Zadávací katedra: **Katedra informatiky, managementu a radiologie**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. Studium literatury, sběr informací a popis současného stavu řešené problematiky.
2. Stanovení cílů a metodiky práce.
3. Příprava a realizace výzkumného šetření dle stanovené metodiky.
4. Analýza a interpretace získaných dat.
5. Zhodnocení výsledků práce.

Rozsah grafických prací: dle doporučení vedoucího

Rozsah pracovní zprávy: 35 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

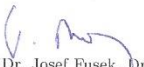
Seznam odborné literatury:

1. ADAM, Zdeněk, Marta KREJČÍ a Jiří VORLÍČEK. Obecná onkologie. Praha: Galén, 2011. ISBN 978-80-7262-715-8.
2. GRIM, Miloš a Rastislav DRUGA. Základy anatomie. Praha: Galén, 2001. ISBN 80-246-0307-1.
3. MAČÁK, Jiří, Jana MAČÁKOVÁ a Jana DVOŘÁČKOVÁ. Patologie. 2., dopl. vyd. Praha: Grada, 2012. ISBN 978-80-247-3530-6.
4. ŘEZÁČOVÁ, Martina a Jiřina VÁVROVÁ. Molekulární mechanismy účinku ionizujícího záření. Hradec Králové: Nucleus HK, 2011. ISBN 978-80-87009-82-6.
5. ŠLAMPA, Pavel a Jiří PETERA. Radiační onkologie. Praha: Galén, 2007. ISBN 978-80-7262-469-0.

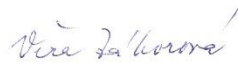
Vedoucí bakalářské práce: prof. RNDr. Jiřina Vávrová, CSc.
Katedra informatiky, managementu a radiologie

Datum zadání bakalářské práce: 1. prosince 2015

Termín odevzdání bakalářské práce: 9. května 2017


prof. MUDr. Josef Fusek, DrSc.
děkan

L.S.


Věra Záhorová, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 27. února 2017

Prohlášení autora

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce v Univerzitní knihovně.

V Pardubicích dne 9. 5. 2017

Karel Hubert Riegr

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval mé vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Jiríně Vávrové, CSc. za její čas, vstřícnost a velkou trpělivost.

ANOTACE

Tématem této bakalářské práce je literární zpracování možností radiosenzibilizace nádorových buněk pankreatu. Práce popisuje anatomii a histologii pankreatu, onemocnění pankreatu se zaměřením na nádory pankreatu. Dále se práce věnuje současným metodám terapie karcinomu pankreatu a zaměřuje se na cílenou léčbu, specificky na možnosti využití inhibitorů tyrozin kináz a možnosti radiosenzibilizace a chemosenzibilizace nádorových buněk pankreatu pomocí inhibitorů ATM a ATR kináz.

KLÍČOVÁ SLOVA

pankreas, rakovina, terapie, radiosezibilizace, inhibitory kináz

TITLE

Possibilities of radiosensitization of pancreatic tumor cells

ANNOTATION

The topic of this bachelor thesis is the literal processing of possibilities of radiosensitization of pancreatic tumor cells. This bachelor thesis describes anatomy and histology of pancreas, pancreatic diseases with focus on pancreatic tumors. Further the thesis focuses on current methods of pancreatic cancer therapy and on targeted therapy, specifically on the use of tyrosine kinase inhibitors and the possibility of radiosensitization and chemosensitization of pancreatic tumor cells by ATM and ATR kinase inhibitors.

KEYWORDS

pancreas, cancer, therapy, radiosensitization, kinase inhibitors

OBSAH

0	ÚVOD.....	13
1	CÍL.....	14
2	ANATOMIE PANKREATU	15
2.1	Duktální systém.....	17
2.2	Cévní systém.....	18
2.3	Lymfatický systém	18
2.4	Nervový systém.....	18
3	HISTOLOGIE PANKREATU	19
4	ONEMOCNĚNÍ PANKREATU	22
4.1	Akutní pankreatitida	22
4.2	Chronická pankreatitida.....	24
4.3	Cystická fibróza pankreatu	25
4.4	Nádory pankreatu	26
4.4.1	Duktální adenokarcinom	28
4.4.2	Cystické pankreatické nádory.....	30
4.4.3	Neuroendokrinní nádory.....	30
5	TNM KLASIFIKACE NÁDORŮ	31
6	CHIRURGICKÁ LÉČBA.....	34
7	RADIOTERAPIE	36
8	CHEMOTERAPIE	39
9	TERAPIE PROTONY	41
10	NEOAJUVANTNÍ TERAPIE.....	45
11	ADJUVANTNÍ RADIOTERAPIE	46
12	ADJUVANTNÍ CHEMOTERAPIE.....	49
13	PALIATIVNÍ TERAPIE	50
14	CÍLENÁ LÉČBA	51

14.1	Tyrozín kinázy.....	51
14.1.1	Receptorové tyrozín kinázy	53
14.1.2	Nereceptorové tyrozín kinázy	54
14.1.3	Aktivační procesy receptorových tyrozín kináz	55
14.1.4	Aktivační procesy nereceptorových tyrozín kináz.....	56
14.2	Možnosti využití tyrozín kináz.....	56
14.2.1	ErbB	56
14.2.2	EGRF.....	56
14.2.3	VEGF	58
14.2.4	Src	60
14.3	Kontrolní body buněčného cyklu	61
14.3.1	P53.....	63
14.3.2	ATM a ATR kinázy	63
14.4	Možnosti využití ATM kináz	64
14.5	Možnosti využití ATR kináz	67
15	ZÁVĚR	70

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: anatomické uložení pankreatu a okolních orgánů.	16
Obrázek 2: nejběžněji se vyskytující uspořádání duktálního systému pankreatu.	17
Obrázek 3 histologický preparát zobrazující jeden z interkalárních duktů.	20
Obrázek 4: histologický preparát zobrazující langerhasův ostrůvek a okolní acinarní buňky.	21
Obrázek 5: CT snímek zobrazující pankreatické pseudocysty.	23
Obrázek 6: histologický preparát zobrazující obstrukci pankreatických duktů a fibrotizaci tkání.	25
Obrázek 7: graf zastoupení jednotlivých histologických typů pankreatických nádorů v procentech.	27
Obrázek 8: graf věkové struktury populace pacientů trpících nádorem pankreatu.	27
Obrázek 9: model progresu pankreatického duktálního adenokarcinomu, od zdravého epitelu po invazivně rostoucí nádor.	29
Obrázek 10: TNM klinická klasifikace.	32
Obrázek 11: pTNM patologická klasifikace.	33
Obrázek 12: porovnání ozařovacích plánů 3D-CRT (A), IMRT (B) a SRBT (C).	38
Obrázek 15: rodiny lidských receptorových (modře) a nereceptorových (červeně) tyrozin kináz.	52
Obrázek 16: přehled kontrolních bodů buněčného cyklu.	62

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

3D-CRT	Three Dimensional Conformal Radiation (3D konformní radioterapie)
5-FU	5-Fluorouracil
A-T	Ataxia telangiectasia (syndrom Louis-Barové)
ATM	Ataxia teleangiectatica mutated
ATP	Adenosintrifosfát
ATR	Ataxia telangiectasia and Rad3-related
ATRIP	ATR-interacting protein (ATR-interagující protein)
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulators (transmembránové regulátory vodivosti cystické fibrózy)
CT	Computed tomography (výpočetní tomografie)
DDR	DNA damage response (DNA odpověď na poškození)
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DNA-PK	DNA-dependent protein kinase (DNA-dependentní protein kináza)
DSB	Double-strand breaks (dvojité zlomy DNA)
EGF	Epidermal Growth Factor (epidermální růstový faktor)
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor (receptor epidermálního růstového faktoru)
ERCP	Endoskopická retrográdní cholangio-pankreatografie
IMRT	Intensity modulated radiation therapy (radioterapie s modulovanou intenzitou)
MDC1	Mediator of DNA damage checkpoint protein 1 (Mediátor proteinu kontroly poškození DNA 1)
MLC	Multileaf collimator (vícelistový kolimátor)
OIS	Onkogenem indukovaná senescence

PDGFR	Platelet Derived Growth Factor Receptor (receptor růstového faktoru odvozený od trombocytů)
PTD	Perkutánní transhepatální drenáž
SBRT	Stereotactic Body Radiation Therapy (stereotaktická radioterapie)
SH2,SH3	SRC Homology 2 Domain, SRC Homology 3 Domain (Doména SRC homologie 2 a 3)
TKI	Tyrosine kinase inhibitors (inhibitory tyrozin kináz)
ÚZIS	Ústav zdravotnických informací a statistiky
VEGF	Vascular endothelial growth factor (vaskulární endotelový růstový faktor)
VEGFR	Vascular endothelial growth factor receptor (receptor vaskulárního endotelového růstového faktoru)
VMAT	Volumetric modulated arc therapy (objemově modulovaná oblouková terapie)
WT	Wild type (jako např. WT receptor – receptor divokého typu)

0 ÚVOD

Tématem této práce je literární zpracování možností radiosenzibilizace nádorových buněk pankreatu. Práci lze tematicky rozdělit do tří částí. Úvodní část obecně popisuje anatomii a histologii pankreatu, dále onemocnění pankreatu se zaměřením na rakovinu pankreatu. Druhá část je věnována postupům léčby karcinomu pankreatu. Popisuje chirurgické postupy léčby karcinomu, současné možnosti radioterapie a chemoterapie v neoadjuvantní a adjuvatní terapii a v terapii pokročilého onemocnění. Tato část se také dále věnuje paliativní terapii karcinomu pankreatu. Třetí část se detailněji věnuje cílené léčbě, specificky možnostem využití inhibitorů tyrozin kináz a možnostem radiosenzibilizace a chemosenzibilizace nádorových buněk pankreatu pomocí inhibitorů ATM a ATR kináz.

1 CÍL

Cílem práce je seznámit se současnými postupy terapie karcinomu pankreatu a zhodnotit, dle literárních údajů, možné nové postupy terapie a význam radiosenzibilizace inhibitorů ATR a ATM kináz, které by mohli vést ke zvýšení radiosenzitivity nádorů pankreatu.

2 ANATOMIE PANKREATU

Pankreas neboli slinivka břišní je plochá laločnatá žláza hruškovitého tvaru. U dospělého člověka váží 70 až 110 gramů a měří 12 až 20 centimetrů v délce. Slinivka břišní je obklopena jemným vazivem.

Hlava pankreatu leží v pravém horním kvadrantu a ocas pankreatu spolu se slezinou v levém horním kvadrantu abdominální dutiny. Hlava pankreatu je uložena v ohbí duodena a má lobulární strukturu. Přední (anterior) povrch hlavy pankreatu je přilehlý k pyloru, prvnímu segmentu duodena a příčnému tračniku. Zadní povrch nasedá na hilus pravé ledviny, dále přiléhá k vena cava inferior a pravé renální tepně, pravé gonadální žíle a bránici.

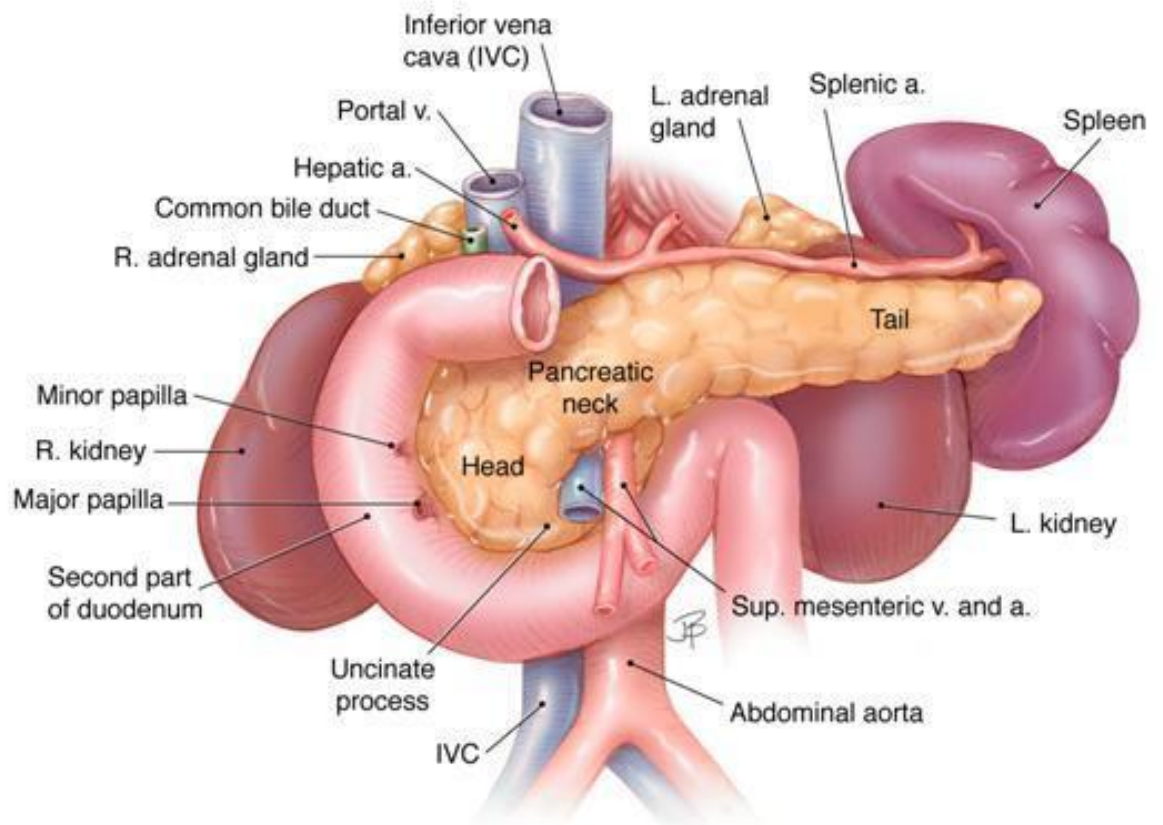
Processus uncinatus je prodloužením tkáně slinivky břišní s variabilní velikostí a tvarem. Odstupuje z dolní části hlavy pankreatu směrem nahoru a doleva. Processus uncinatus leží anterior směrem k abdominální aortě a vena cava inferior a je překryt cévami vena mesenterica superior které se dále spojují pod krkem pankreatu. Velikost i tvar processus uncinatus se u různých lidí liší, někdy se nemusí vyskytovat vůbec.

Krk pankreatu je zúženou částí mezi hlavou a tělem pankreatu. Od hlavy odstupuje doleva, je asi 1,5 až 2 centimetry dlouhý a 3 až 4 centimetry široký. Posterior ke krku pankreatu se spojují vena portae, vena mesenterica superior a žíly sleziny. Povrch je z pohledu anterior překryt omentální bursou, která odděluje žaludek od slinivky břišní a je v kontaktu s žaludkem a příčným tračníkem (1).

Tělo pankreatu pokračuje směrem vlevo od krku pankreatu. Povrch těla pankreatu je rovněž z pohledu anterior překryt omentální bursou. Posterior k tělu pankreatu leží aorta, bránice, levá ledvina, levá nadledvina a slezina. Středová část těla pankreatu překrývá obratle bederní páteře.

Tělo pankreatu poté pokračuje a plynule přechází v ocas pankreatu bez zjevného dělicího bodu. Ocas pankreatu obvykle dosahuje až po hilus sleziny (viz obr. 1).

Obrázek 1: anatomické uložení pankreatu a okolních orgánů.¹

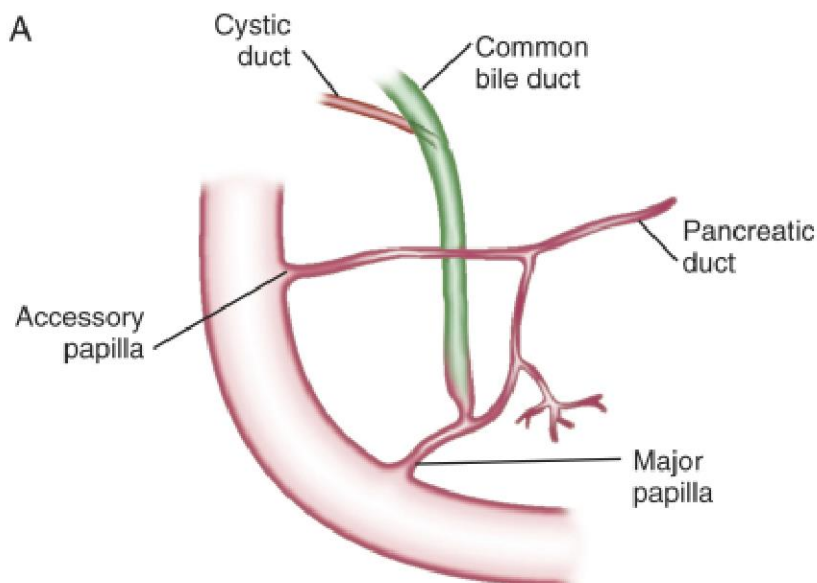


¹ Anatomy and Histology of the Pancreas. [online] dostupný z WWW: <http://jpck.zju.edu.cn/jcyxjp/files/ge/05/MT/0521.pdf>

2.1 Duktální systém

Pankretické šťávy jsou odváděny ze slinivky břišní do dvanáctníku pomocí duktů. Ve většině případů ústí do dvanáctníku dukty dva. Hlavní pankreatický dukt, Wirsungův vývod, začíná v blízkosti ocasu pankreatu. Postupuje z levé strany k pravé straně a je zvětšován dalšími přídatnými dukty. Skrze ocas a tělo leží zhruba uprostřed z pohledu superior-inferior a lehce posterir. Na úrovni Vaterské papily zatačí Wirsungův vývod směrem horizontálně a spojuje se s hlavním žlučovodem (viz obr. 2). U některých lidí může být ústí do Vaterské papily pro žlučovod a Wirsungův vývod odděleno septem. Santoriniho vývod slouží jako dodatečný dukt a většinou ústí do papilla minor, která leží proximálně k Vaterské papile. Santoriniho vývod je většinou propojen s vývodem Wirsungovým, v některých případech však bývá naprosto oddělen a někdy se nevyskytuje vůbec (1).

Obrázek 2: nejběžněji se vyskytující uspořádání duktálního systému pankreatu.²



² Anatomy and Histology of the Pancreas. [online] dostupný z WWW: <http://jpck.zju.edu.cn/jcyxjp/files/ge/05/MT/0521.pdf>

2.2 Cévní systém

Pankreas je bohatě krevně zásoben větvemi odstupujícími z arteria celiaca a arteria mesenterica superior. Hlava pankreatu je spolu s jí obklopujícím duodenem zásobována dvěma pankreatoduodenálními arteriálními arkádami, arteria pancreatoduodenaes anterior a posterior superior.

Žilní systém povětšinou kopíruje ten tepenný. Krev je odváděna do vena portae, která vzniká soutokem vena mesenterica superior a vena linealis za hlavou pankreatu. Pankreatické žíly odvádějí krev z krku, těla a ocasu pankreatu a vlévají se do vena linealis. Pankreatoduodenální žíly korespondují pankreatoduodenálnímu tepennému systému a vlévají se do vena linealis nebo přímo do vena portae (1).

2.3 Lymfatický systém

Lymfa je odváděna povrchovými sítěmi lymfatických cév, které odtékají směrem k regionálním uzlinám a jsou tvořeny především podél velkých cév. Horní lymfatické cévy vedou podél horní stěny slinivky břišní v blízkosti vena lineales. Horní lymfatické cévy podél levé strany těla pankreatu a ocasu pankreatu se vlévají do uzlin v hilu sleziny. Horní lymfatické cévy podél pravé strany těla pankreatu a krku pankreatu se vlévají do uzlin poblíž horní stěny hlavy pankreatu. Lymfatické drenáž hlavy pankreatu spolu s duodenem se vlévá do pankreatoduodenálních uzlin a nakonec do cisterna chyli (1).

2.4 Nervový systém

Nervy, které inervují slinivku břišní, vycházejí z plexus coeliacus a vedou podél velkých cév. Sympatická vlákna přicházejí z ganglion coeliacum, parasympatická vlákna jsou větvemi n. X. dex. Aferentní vlákna probíhají s větvemi sympatiku (2; str. 52).

3 HISTOLOGIE PANKREATU

Histologicky je slinivka břišní rozdělena do lobulů (lalůčků) pomocí pojivové tkáně, septa. Lalůčky mají tvary hroznů a jsou složeny převážně shluky exokrinních, acinárních buněk, které produkují trávicí enzymy. Sekret acinárních buněk proudí postupně přes interkalární dukty (viz obr. 3), intralobulární dukty, interlobulární dukty a nakonec do duodena skrze hlavní pankreatické dukty.

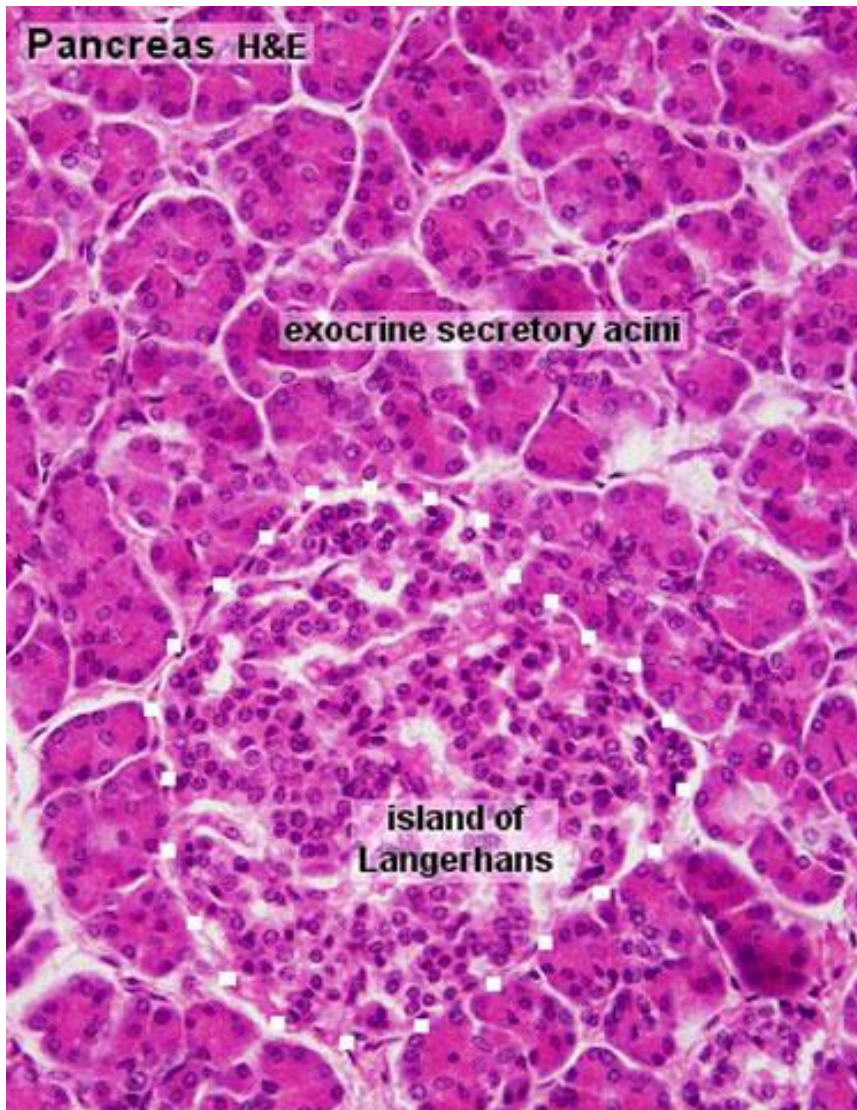
Langerhasovy ostrůvky jsou složeny anastomozními provazci polygonálních endokrinních buněk (viz obr. 4). Mají průměr asi 0,2mm a ve slinivce břišní je jich rozmístěno okolo 1 milionu. Jsou velmi bohatě vaskularizovány. Nejpočetněji jsou zde zastoupeny beta buňky, které produkují inzulin, a alfa buňky, zodpovědné za tvorbu glukagonu (1).

Obrázek 3 histologický preparát zobrazující jeden z interkalárních duktů.³



³ Gastrointestinal Tract - Pancreas Histology. [online] dostupný z WWW:
https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Gastrointestinal_Tract_-_Pancreas_Histology

Obrázek 4: histologický preparát zobrazující langerhasův ostrůvek a okolní acinarní buňky.⁴



⁴ Gastrointestinal Tract - Pancreas Histology. [online] dostupný z WWW:
https://embryology.med.unsw.edu.au/embryology/index.php/Gastrointestinal_Tract_-_Pancreas_Histology

4 ONEMOCNĚNÍ PANKREATU

4.1 Akutní pankreatitida

Akutní pankreatitida neboli akutní hemoragická nekróza pankreatu je zánětlivé onemocnění postihující slinivku břišní, které často začíná náhle bez předchozích symptomů a má velmi prudký průběh. Můžeme ji dle závažnosti rozdělit na lehkou a těžkou formu. *Lehká forma pankreatitidy se vyskytuje v 80 až 90% případů a její úmrtnost je 0,5 až 1%. Těžká forma pankreatitidy se vyvine u zbylých 20% případů a její úmrtnost je asi 20%* (3; str. 238). Patří k poměrně často se vyskytujícím onemocněním slinivky břišní.

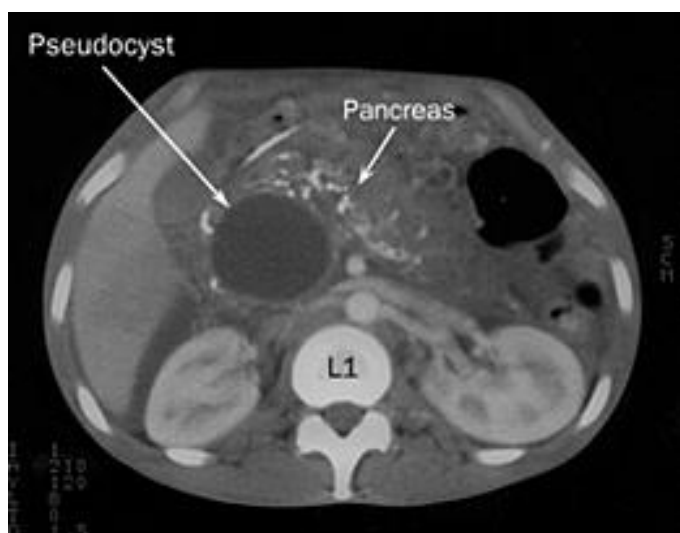
Předpokládá se, že akutní pankreatitida je vyvolána trávením tkáně slinivky břišní jejími vlastními enzymy. Autodigestce pankreatu se poté projeví fermentativní nekrózou žlázového parenchymu i tukových tkání, která následně vyvolává systémovou zánětlivou reakci jako odpověď na tvorbu nekróz. Akutní pankreatitida se projevuje hemodynamickými a koagulačními změnami, enzymy slinivky se uvolňují do krve, ovlivňují funkci jater a ledvin. Pacienti umírají na šok ze zánětlivé reakce a za příznaků selhání ledvin či plic.

Etiologická škála faktorů je u onemocnění akutní pankreatitidy poměrně široká a doposud neznáme všechny vlivy vzniku onemocnění. Mezi ty známé patří metabolické vlivy, jako jsou alkohol, hyperkalcémie a některá léčiva. Dalšími vlivy jsou obstrukce biliárními konkrementy či traumatické poškození a embolizace příslušných cév. Známý je i efekt některých infekčních onemocnění, kterými jsou například příušnice či mycoplasma pneumoniae. Alkoholismus a cholecystolitiáza jsou příčinou u asi 80% případů.

Ostatní etiologie jsou méně obvyklé a u asi 10 až 20% nemocných se buďto nepodaří najít jakékoli předcházející procesy (nemoc je označena jako idiopatická), nebo se jedná o řadu procesů, jejichž incidence je poměrně nízká a nedá se tedy u nich s jistotou spojitost se vznikem akutní pankreatitidy předpokládat (4; str. 241).

Ačkoli patogeneze onemocnění není doposud zcela vyjasněna, předpokládá se, že základním patogenetickým mechanismem je autodigestce pankreatu kvůli abnormální aktivaci enzymů v pankreatu či přímo v acinárních buňkách. Experimentální studie na zvířatech ukázali, že injekcí některých enzymů slinivky břišní (převážně elastázy a fosfolipázy) do parenchymu slinivky břišní či do ductu, ve spojení se žlučí nebo žlučovou kyselinou mohou vyvolat akutní pankreatitidu (5). Tento jev lze předpokládat při obstrukci pankreatického vývodu konkrementy či zvýšení tlaku v důsledku zaklínění konkrementu biliárního v oblasti papilla Vateri. Vzhledem k společnému pankreatu a žlučových cest může v této situaci nastat reflux žluči pankreatu spolu s aktivovanými enzymy slinivky břišní (6). To vede k poškození acinárních buněk. Rozsah poškození se šíří, a, za předpokladu že akutní pankreatitida je opravdu autodigestivním onemocněním, spouští aktivaci proenzymů a zymogenů nacházejících se ve slinivce břišní. *Dochází k fermentativní nekróze tkáně a uvolňování dalších enzymů* (4; str. 241). Enzymy se dostávají i mimo slinivku břišní a mohou unikat do krve, kde se rychle šíří organismem. *Aktivují se systémy koagulační kaskády krve a dochází k diseminované vaskulární koagulaci. To vše ústí rychle do šoku, v plicích nastává syndrom akutní respirační tísně* (4; str. 241). Pokud pacient přežije a slinivka břišní je zachována, dochází k hojení fibrotizací a v tkáni vznikají pseudocysty (viz obr. 5).

Obrázek 5: CT snímek zobrazující pankreatické pseudocysty.⁵



⁵ Jhmicall. [online] dostupný z WWW:

https://www.jhmicall.org/GDL_Disease.aspx?CurrentUDV=31&GDL_Cat_ID=AF793A59-B736-42CB-9E1F-E79D2B9FC358&GDL_Disease_ID=0ADCFD83-7DE7-4D53-82F5-6F0C9BFB7F14

4.2 Chronická pankreatitida

Jedná se o opakované mírné až středně výrazné zánětlivé projevy. Dochází ke ztrátě parenchymatické tkáně a ta je při tom nahrazována fibrózním vazivem. Chronická pankreatitida postupně omezuje funkci slinivky břišní, čímž zhoršuje možnost trávení pacienta a tvorbu pankreatických hormonů. Pacienti často ubývají na váze i přes zachování stravovacích návyků, což je způsobeno nedostatečnou sekrecí enzymů pankreatu.

Etiologicky lze prokázat působení dlouhodobého abusu alkoholu. V průmyslových zemích je alkoholismus příčinou u asi 70 až 80% případů. Ostatní případy jako anatomické anomálie, hyperlipidemie a hyperkalcemie jsou velmi vzácné. U 10 až 30% případů nepředchází onemocnění žádná známá etiologická příčina. Onemocnění je pak označeno jako idiopatické.

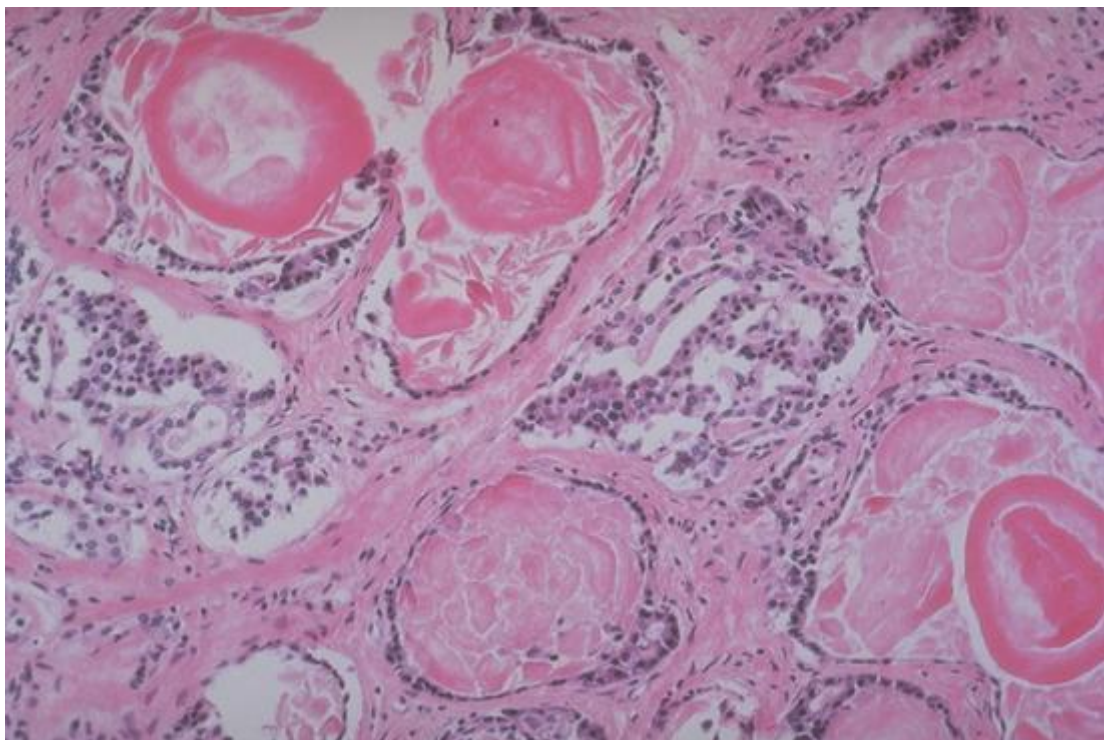
Průběh nemoci je v raných stádiích charakterizován rekurentními epizodami akutní pankreatitidy. V pozdějších stádiích nastává exokrinní insuficience a často diabetes melitus. Morfologicky se tvoří kalcifikace, nepravidelná sklerotizace tkáně s fokálním, segmentálním nebo difuzním typem poškození parenchymu (7; str. 323).

Většina pacientů s chronickou pankreatitidou trpí bolestmi v horní části břicha, která může vystřelovat do zad. Bolest se většinou zhoršuje po jídle či pití. U některých pacientů však nemusí být bolest žádná, vzácně pak u některých pacientů bolest ustupuje s progradací onemocnění. Mezi další příznaky u pacientů s chronickou pankreatitidou patří nauzea, zvracení, průjemy nebo stolice s obsahem tuků.

4.3 Cystická fibróza pankreatu

Cystická fibróza pankreatu (dříve mukoviscidóza, cystická pankreatofibróza) je geneticky podmíněné onemocnění a vyskytuje se jako součást komplexní cystické fibrózy (4; str 242). Postižení slinivky břišní se vyskytuje u asi 90% pacientů s Cystickou fibrózou. Pacienti trpící cystickou fibrózou mají mutaci genu CFTR, který je zodpovědný za transport iontů skrze buněčnou membránu. V případě slinivky břišní toto onemocnění vede ke zvýšené viskozitě pankreatického sekretu. Ten v mírnějších případech pouze dilatuje dukty slinivky břišní, ve vážnějších případech je však viskozita sekretu natolik vysoká, že dukty ucpává a dochází k atrofii acinárních buněk. Ty jsou nahrazovány tukovými buňkami a fibrotickou tkání. V konečném důsledku může vést až k úplné ztrátě exokrinní i endokrinní funkce slinivky břišní (viz obr. 6).

Obrázek 6: histologický preparát zobrazující obstrukci pankreatických ductů a fibrotizaci tkání.⁶



⁶ Pathology Outlines. [online] dostupný z WWW:
<http://www.pathologyoutlines.com/topic/pancreascysticfibrosis.html>

4.4 Nádory pankreatu

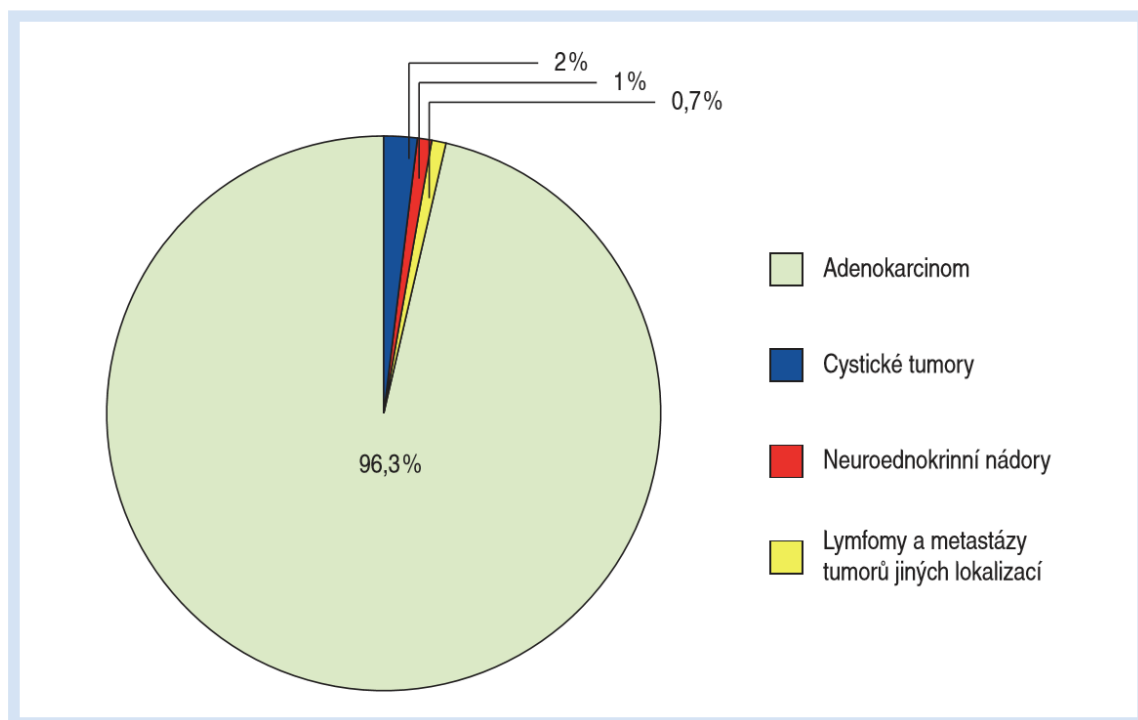
Karcinom pankreatu je dle údajů ÚZIS (ústav zdravotnických informací a statistiky) z roku 2005 sedmou nejčastější malignitou České republiky s incidencí 18,1 u mužů a 16,7 u žen (8). Karcinom pankreatu vzniká abnormálním a nekontrolovaným růstem buněk pankreatu. Z praktického hlediska lze nádory pankreatu rozdělit na duktální adenokarcinom, tvořící více jak 90% nádorů žlázy a ty ostatní, méně časté (nádory cystické, neuroendokrinní, lymfomy a metastázy nádorů jiných lokalizací), jejichž incidence však v posledních letech roste (9). Na procentuální zastoupení četnosti jednotlivých histologických typů nádorů pankreatu zobrazuje obrázek 7.

Nádory pankreatu jsou v raných stádiích téměř bezpříznakové, což je dělá obtížně diagnostikovatelné. Nálezy pankreatických karcinomů v raném stádiu bývají převážně nálezy vedlejší při indikaci vyšetření z jiných důvodů. První projevující se příznaky většinou bývají nespecifické. Patří mezi ně únava, bolesti břicha či zad, hubnutí. Pokud jsou nádory umístěny v hlavě pankreatu, mohou se projevit ikterem či postprandiálním zvracením. Hormonálně aktivní neuroendokrinní nádory se kromě výše popsaných příznaků společných pro všechny pankreatické neoplazie, projevují syndromem příslušné hormonální nadprodukce (10).

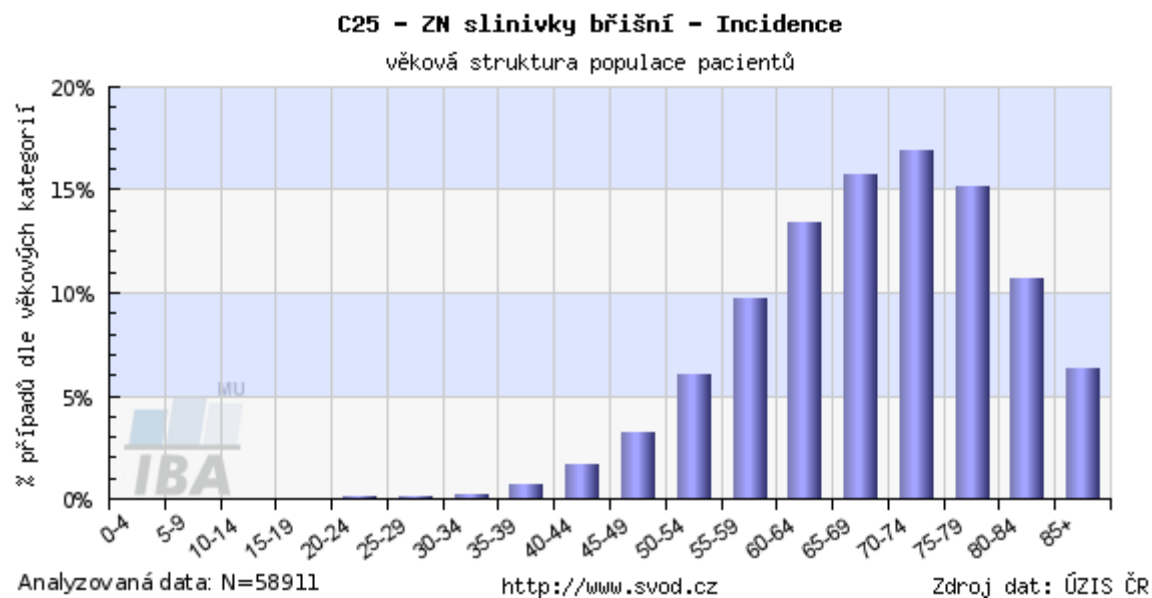
Co se týče etiologie, nejčastěji uváděnými rizikovými faktory jsou chronická pankreatitida (zvyšující riziko 5 až 15krát) a nikotinismus (11). Dalšími prokazatelnými faktory jsou diabetes, jaterní cirhóza, infekce virem HIV, hepatitida typu B, cystická fibróza, obesita, a heredita rakoviny pankreatu v rodině.

Karcinom pankreatu je nádorem především staršího věku, nejčastěji se vyskytuje zhruba mezi 60 až 80 rokem života (viz obr. 8).

Obrázek 7: graf zastoupení jednotlivých histologických typů pankreatických nádorů v procentech.⁷



Obrázek 8: graf věkové struktury populace pacientů trpících nádorem pankreatu.⁸



⁷ Jan Hlavsa a kol. Med. Pro Praxi. Brno, 2008; 5(10): 388-392

⁸ Vytvořeno softwarem SVOD [online] dostupný z WWW: <http://www.svod.cz/>

4.4.1 Duktální adenokarcinom

Duktální adenokarcinom je karcinom buněk epitelu pankreatického ductu (kanálu) nebo kanálků (viz obr. 9). Je nečastější malignitou slinivky břišní. Jedná se o nádor agresivní a špatně léčitelný. Celkové chirurgické odstranění tumoru je jedinou nadějí pro vyléčení, nicméně v době klinického nálezu má již 80 až 90% pacientů karcinom ve stádiu kdy už není chirurgicky operabilní (12).

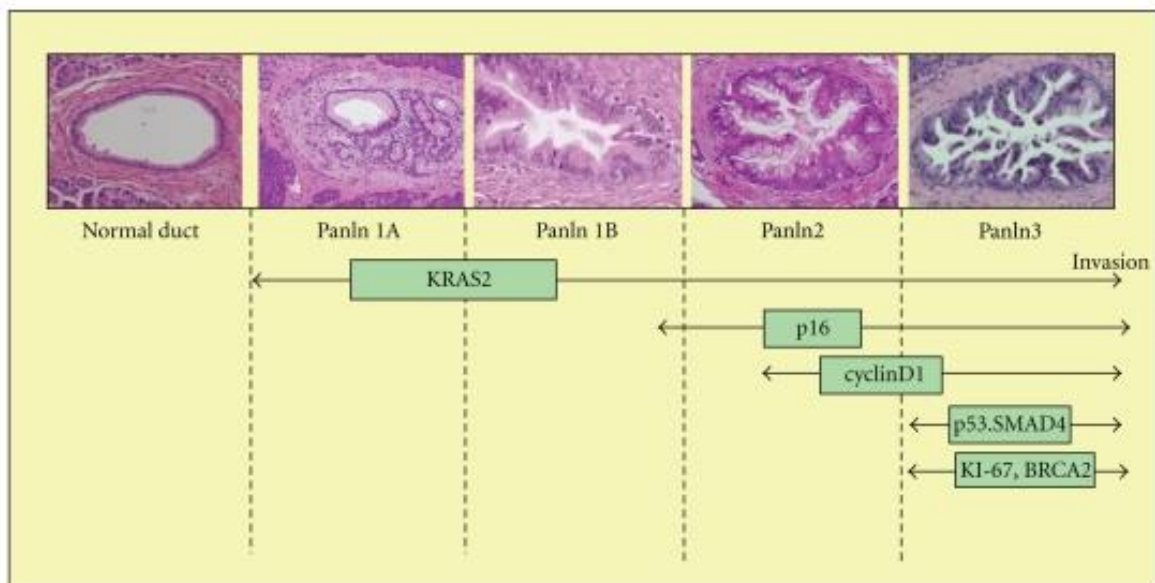
Vzhledem k tomu, že zhruba 96% všech nádorů pankreatu jsou duktální adenokarcinomy, epidemiologie koreluje s obecnou epidemiologií rakoviny pankreatu. Jedná se tedy o nikotinismus a předcházející onemocnění chronickou pankreatitidou, často spojenou s abusem alkoholu.

Většina případů duktálního adenokarcinomu, asi 60 až 70 %, je lokalizována v hlavě pankreatu. Nejčastějším příznakem je v tomto případě ikterus. Při postižení těla či kaudy pankreatu se však nádor dlouho klinicky neprojevuje. Je často diagnostikován v lokálně pokročilém stadiu, kdy prorůstá do žaludku, tračníku, levé nadledviny, ledviny, popřípadě magistrálních cév.

I za provedení kurativního zákroku resekci karcinomu zůstává prognóza špatná.

Celkové pětileté přežití pacientů s duktálním adenokarcinomem nepřesahuje 10%. Medián přežití je 18 měsíců, v případě inoperabilního nálezu se většina pacientů nedožívá déle jak 12 měsíců (13).

Obrázek 9: model progresse pankreatického duktálního adenokarcinomu, od zdravého epitelu po invazivně rostoucí nádor.⁹



⁹ Ottenhof NA, de Wilde RF, Maitra A, Hruban RH, Offerhaus GJ. Molecular characteristics of pancreatic ductal adenocarcinoma. Patholog Res Int. 2011 March 27; 2011:620601.

4.4.2 Cystické pankreatické nádory

Cystické pankreatické nádory tvoří asi 10 až 15% všech cystických lézí pankreatu, a asi 1 až 2% z celkového počtu nádorů pankreatu. Můžeme je obecně dělit na muciózní léze, zahrnující intraduktální papilární muciózní neoplazie a muciózní cystické nádory a na nemuciózní léze, které zahrnují serózní cystické nádory, solidní pseudopapilární nádory a cystické pankreatické endokrinní nádory.

Mezi typické příznaky patří ikterus, chronická bolest břicha a za předpokladu obstrukce recidivující pankreatitida. Mezi další, nespecifické, příznaky patří bolesti zad, ztráta na hmotnosti, nevolnost a zvracení. (14).

4.4.3 Neuroendokrinní nádory

Neuroendokrinní nádory pankreatu jsou pouze asi 1% všech případů nádoru pankreatu.

Mohou být benigní i maligní a rostou standardně pomaleji než nádory exokrinních buněk pankreatu. Vznikají nádorovým bujením endokrinních buněk v langerhasových ostrůvcích. Mohou to být nádory buďto funkční, produkující hormony dle příslušného typu buněk, ze kterého vznikly, anebo jsou nefunkční.

Funkční neuroendokrinní nádory způsobují nadprodukcí příslušného hormonu a způsobují k tomu odpovídající symptomy. Většina neuroendokrinních nádorů je však nádory nefunkčními. Povětšinou se neprojevují, dokud nedosáhnou pokročilého stádia. Poté se projeví poměrně nespecificky, bolestmi břicha, popřípadě ikterem (10).

5 TNM KLASIFIKACE NÁDORŮ

Systém TNM klasifikace nádorů je celosvětově nejpoužívanějším systémem pro klasifikaci nádorů. Prvořadým kritériem TNM systému je klasifikace anatomického rozsahu nemoci, jež je určen klinicky a (dle možnosti) histopatologicky. TNM systém klasifikace poskytuje údaje o prognóze pro daný typ nádoru v daném stádiu. Napomáhá při plánování léčby a při hodnocení léčebných výsledků. Díky své univerzálnosti umožňuje snadný sběr dat a přispívá k výzkumu zhoubných nádorů. Dále usnadňuje výměnu informací mezi jednotlivými léčebnými centry (15; str. 13).

TNM systém klasifikace je založen na třech složkách, T určuje rozsah primárního nádoru, N přítomnost či nepřítomnost metastáz v spádových mízních uzlinách a M přítomnost či nepřítomnost vzdálených metastáz.

Pro každý nález se provádí dvě klasifikace, klinická a patologická klasifikace. Klinická klasifikace je založena na předléčebných nálezech získaných na podkladě klinických vyšetření. Označuje se jako TNM či cTNM klasifikace. Patologická klasifikace se označuje jako pTNM klasifikace a je doplněna, popřípadě pozměněna dle nálezů, které byly získány při chirurgickém výkonu a patologii (viz obr. 10 a 11).

Obrázek 10: TNM klinická klasifikace.¹⁰

TNM KLINICKÁ KLASIFIKACE

Průběžně jsou používány následující všeobecné definice:

T - Primární nádor

TX primární nádor nelze hodnotit
T0 bez známek primárního nádoru
Tis karcinom in situ

T1, T2, T3, T4 narůstající velikost a/nebo místní rozsah primárního nádoru

N - Regionální mízní uzliny

NX regionální mízní uzliny nelze hodnotit
N0 v regionálních mízních uzlinách nejsou metastázy

N1, N2, N3 narůstající postižení regionálních mízních uzlin

Poznámka: Přímé šíření primárního nádoru do mízních uzlin se klasifikuje jako uzlinová metastáza. Metastázy v jiných než regionálních mízních uzlinách se klasifikují jako metastázy vzdálené.

M - Vzdálené metastázy

MX vzdálené metastázy nelze hodnotit
M0 nejsou vzdálené metastázy
M1 vzdálené metastázy

Kategorie M1 může být dále specifikována označením:

plicní	PUL (C34)	kostní dřeň	MAR (C42.1)
kostní	OSS (C40, C41)	pleurální	PLE (C38.4)
jaterní	HEP (C22)	peritoneální	PER (C48.1,2)
mozkové	BRA (C71)	nadledvinkové	ADR (C74)
uzlinové	LYM (C77)	kožní	SKI (C44)
		jiné	OTH

¹⁰ MUDr. J. Novák, MUDr. F. Beška, CSc. TNM klasifikace zhoubných novotvarů. Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, Praha, 2004; 80-7280-391-3

Obrázek 11: pTNM patologická klasifikace.¹¹

pTNM PATOLOGICKÁ KLASIFIKACE

Průběžně jsou používány následující všeobecné definice:

pT - Primární nádor

pTX primární nádor nelze histologicky hodnotit

pT0 bez histologických známek primárního nádoru

pTis karcinom in situ

pT1, pT2, pT3, pT4 narůstající velikost a/nebo místní rozsah primárního nádoru histologicky

pN - Regionální mízní uzliny

pNX regionální mízní uzliny nelze histologicky hodnotit

pN0 v regionálních mízních uzlinách nejsou histologicky žádné metastázy

pN1, pN2, pN3 narůstající postižení regionálních mízních uzlin histologicky

¹¹ MUDr. J. Novák, MUDr. F. Beška, CSc. TNM klasifikace zhoubných novotvarů. Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, Praha, 2004; 80-7280-391-3

6 CHIRURGICKÁ LÉČBA

Zásadní metodou léčby karcinomu pankreatu je resekční výkon. Typ chirurgického zákroku, který se volí jako forma terapie, se liší podle typu a umístění nádoru pankreatu. U pacientů s benigními typy nádorů je snaha o zachování zdravé části pankreatu a okolních orgánů.

U cystických neoplazií a benigních tumorů uložených v hlavě se přistupuje k resekci samotné hlavy pankreatu. U této operace je zachováno duodenum a žlučovod.

Resekce hepatopankreatického ductu je zákrokem prováděným u pacientů s polypy ductů.

V případě benigních a neagresivních nádorů malého rozsahu v oblasti krku pankreatu lze zvolit jako postup operace centrální pankreatektomií a zachovat jak hlavu, tak zbylé tělo a ocas pankreatu. Endokrinní nádory většinou nebývají větší než 1 až 2 centimetry. Často se nacházejí při povrchu slinivky břišní. Jsou dobře oddělitelné od ostatní tkáně slinivky břišní. K jejich odstranění lze v těchto případech použít enukleaci. Enukleace nádorů Langerhansových ostrůvků je zákrok, při kterém se vyjme endokrinní nádor samotný, aniž by docházelo k výraznějšímu zásahu do okolní tkáně slinivky břišní (16).

Hemi-pankreatoduodenektomie neboli operace dle Whipplea je zákrok prováděný u pacientů s karcinomem hlavy pankreatu, nejčastěji adenokarcinomů. Jedná se o nejčastější zákrok prováděný u operabilních karcinomů slinivky břišní. *Operace spočívá v resekci pravého oddílu pankreatu při zachování ocasu slinivky s odstraněním celého duodena, žlučníku s ductus choledochus a s částečnou resekci žaludku* (16). V některých případech je možné zachování žaludku. Procedura prováděná v těchto případech je poté nazývána pylorus zachovávající Whippleova operace. Hlava pankreatu je velmi úzce spojena s vena mesenterica superior a arteria mesenterica superior. V případě invaze karcinomu do oblasti těchto krevních řečišť je nádor považován za neoperabilní. Je proto u tohoto zákroku obzvláště důležitá diagnostika nádoru pomocí radiodiagnostiky.

Distální pankreatektomie je výkon, při kterém se odstraní distální část pankreatu, tělo a ocas. Konvenčně se při tomto zákroku zároveň odstraňuje i slezina (distální pankreatektomie v kombinaci se splenektomií). V některých případech je však slezina zachovávána. Distální pankreatektomie se provádí u pacientů s adenokarcinomy ocasu a těla pankreatu či u pacientů s jinými, benigními, typy nádorů v této oblasti, například i endokrinními nádory slinivky břišní. Komplikací tohoto zákroku je těsná blízkost arteria celiaca. Pokud karcinom prorůstá

až k arterii, není možné jej operovat. Stejně tak jako u Whippleovy operace je tedy nutné dbát na důkladnou předoperační diagnostiku rozsahu karcinomu.

V případě totální resekce slinivky břišní dochází k endokrinní i exokrinní insuficienci pankreatu a k rozvoji diabetu. U nádorů způsobujících obstrukční ikterus a u kterých není možná resekce se provádí choledo-chojejuno-anastomóza. *Je-li u nemocného provedena laparotomie a zjištěn neresekabilní tumor hlavy slinivky, je vhodné založit preventivně gastro-jejuno-anastomózu a tak zabránit obstrukci duodena (16).*

7 RADIOTERAPIE

V případě postižení hlavy pankreatu jsou ozařovány uzliny horní a dolní peripankreatické, přední pankreatikoduodenální, pylorické, horní mezenterické, zadní peripankreatické a coeliacké. Při uložení nádoru v těle či kaudě pankreatu jsou součástí cílového objemu uzliny horní a dolní peripankreatické, přední pankreatikoduodenální, horní mezenterické, zadní peripankreatické a lienální. S výhodou je při plánování využíváno peroperačního označení lůžka tumoru kontrastními svorkami. Další možností ke zvýšení dávky v cílovém objemu a k vyšší ochraně tkání v okolí je využití kombinace zevní radioterapie a intraoperačního ozáření (IORT) (17; str. 65).

Před počátkem 90. let 20. století bylo standardem použití konvenční (2D) radioterapie s relativně velkou oblastí záření, zahrnující celý pankreas a regionální uzliny. Použití takto velkého radiačního pole vedlo k vysokému výskytu toxicity gastrointestinálního traktu, zvláště při použití konkomitanční chemoterapie.

Trojrozměrná konformní radioterapie 3D-CRT, která využívá získané obrazy CT pro umožnění vymezení cílových objemů a přesné lokalizace okolních rizikových orgánů, umožnila lepší plánování pro optimální pokrytí cíle a šetření okolních kritických orgánů a tkání.

Ještě modernější technikou ozařování je IMRT. *Při této technice, kromě přizpůsobení svazku záření tvaru cílového objemu, je přizpůsobována i intenzita jednotlivých částí svazku. Při IMRT je dosahováno vyšší shody mezi často geometricky složitým tvarem cílového objemu a rozložením dávky. Zejména u objemů konkávního tvaru dochází k většímu šetření zdravých struktur. Toto šetření kritických struktur umožňuje navýšení dávky v cílové oblasti (18; str. 55).*

Yovino a kol. provedli studii léčby adjuvantní IMRT v kombinaci s chemoterapií 5-FU s cílem zjistit rozložení dávky na kritické orgány. Do studie bylo zahrnuto 46 pacientů s rakovinou pankreatu a ampulární rakovinou. Schéma terapie bylo podobné tomu u studie RTOG 9704, kde bylo ozařováno pouze pomocí 3DCT, pro možné srovnání. Studie prokázala lepší výsledky IMRT co se týče zasažení okolních orgánů a následné toxicity ve srovnání s ozařováním za pomoci 3DCT (19).

Radioterapie s objemově modulovanou intenzitou (VMAT) je v současné době technicky nejvyspělejší možností ozáření. Vychází z principu IMRT, kdy navíc proměnlivou rychlostí rotace hlavice přístroje (gantry), změnou dávkového příkonu či orientace multileaf kolimátoru (MLC), je umožněna další modulace svazků záření a současně výrazné urychlení ozařovacího času (18; str. 56).

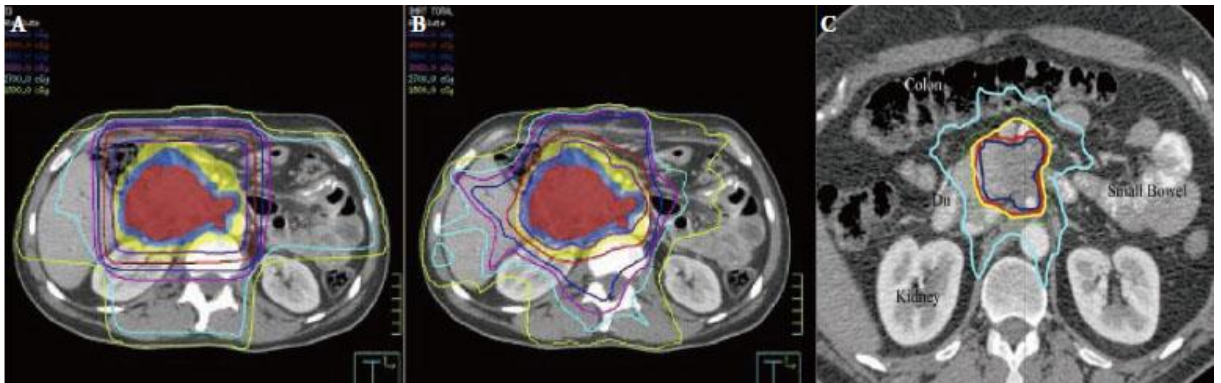
Nabavizadeh a kol. provedli výzkum ve kterém srovnávala výsledky 3DCRT, IMRT a VMAT. Plánem byla léčba celkovou dávkou 45Gy rozloženou v 25 frakcích na velké pole a následný boost pomocí 8 frakcí, na celkovou dávkou 59,4Gy. VMAT ukázala lehké snížení průměrné dávky pro boost plánovaného cílového objemu. Ačkoli při srovnání VMAT s IMRT nebylo zjištěno statisticky významného snížení dávky na kritické orgány, VMAT ukázal snížení objemu stoprocentní izodózní linie pro plány s velkým polem (20).

Jednou z dalších metod volby, o které lze při ozařování karcinomu pankreatu uvažovat, je stereotaktická radioterapie (SBRT) *SBRT je aplikace vysoké dávky záření do malého cílového objemu s velmi vysokou přesností* (18; str. 56). Někdy je díky své přesnosti označována jako radiochirurgie. Ozařuje se pomocí 1 až 5 ablativních dávek směřovaných do malé oblasti zasahující pouze oblast nádoru samotnou s poměrně malým rozpětím (viz obr. 12). Studie zkoumající využití SBRT prokázali dobrou míru proveditelnosti s vysokou mírou lokální kontroly nádoru, nicméně toxicita byla vyšší.

Carla Hajj and Karyn A. Goodman vydali v roce 2004 klinickou zprávu o stereotaktické radiochirurgii u pacientů s lokálně pokročilým karcinomem pankreatu. Patnáct pacientů bylo zařazeno do studie. Pacienti obdrželi jednorázovou dávku buďto 15Gy, 20Gy nebo 25Gy pomocí CyberKnife-Robotic radiochirurgického systému. Toxicita okolních tkání dosáhla nejvýše 3. stupně. U šesti hodnocených pacientů léčených 25Gy bylo medián celkového přežití 8 měsíců. U žádného z pacientů nenastal lokální návrat onemocnění až do smrti či do konce pozorování. U všech se vyskytly vzdálené metastázy jako místo první progresse (21).

Koong a kol. provedli studii zkoumající léčbu za pomoci IMRT s následným stereotaktickým boostem. U 19 pacientů s lokálně rozvinutým adenokarcinomem pankreatu byla zahájena léčba, dle protokolu se ozařovalo 45Gy IMRT v kombinaci s chemoterapií 5-fluorouracilem a poté se provedl boost za pomoci stereotaktické radioterapie dávkou 25Gy cílenou na primární tumor. 16 pacientů dokončilo léčbu dle plánu. U 15 z těchto 16 pacientů se nevyskytla žádná lokální progresse až do smrti. Medián celkového přežití pacientů byl 33 týdnů. Toxicita nebyla u žádného pacienta vyšší než 3. stupeň. Tento postup terapie prokázal také dobrou lokální kontrolu tumoru, nicméně na celkové přežití neměl velký vliv (22).

Obrázek 12: porovnání ozařovacích plánů 3D-CRT (A), IMRT (B) a SRBT (C).¹²



¹² Fen Wang, Parvesh Kumar. The role of radiotherapy in management of pancreatic cancer. J Gastrointest Oncol 2011; 2: 157-167.

8 CHEMOTERAPIE

Před vývojem gemcitabinu byla chemoterapie 5-FU standardem péče o pokročilou rakovinu pankreatu.

Burriss a kol. publikovali randomizovanou studii porovnávající léčbu gemcitabinem s léčbou 5-FU. Celkem 126 pacientů s lokálně pokročilým nebo metastatickým karcinomem pankreatu bylo náhodně rozděleno do dvou skupin. Jedna skupina obdržela léčbu gemcitabinem a druhá léčbu 5-FU. Studie byla navržena s primárním výsledkem hodnocení klinického přínosu složeného z hodnocení snížení bolesti, celkového výkonnostního stavu pacienta a zachování hmotnosti. Klinického přínosu bylo dosaženo u 23,8% pacientů ve skupině léčené gemcitabinem, ve srovnání s 4,8% u skupiny léčené 5-FU. Dále se zjistilo, že medián celkového přežití byl rovněž lepší v případě léčby gemcitabinem. Medián celkového přežití byl u skupiny léčené gemcitabinem 5,65 měsíce a u skupiny léčené 5-FU 4,41 měsíce. Na základě této a dalších studií se gemcitabin stal standardem péče inoperabilního karcinomu pankreatu (23).

Snahy o zlepšení výsledků chemoterapie se soustředily na potenciál kombinace gemcitabinu s dalšími látkami.

Několik randomizovaných studií porovnálo léčbu gemcitabinem samotným s kombinací gemcitabinu a 5-FU a kombinací gemcitabinu a kapecitabinu.

Berlin a kol. publikovali výsledky randomizované studie léčby u 322 pacientů s pokročilým karcinomem pankreatu. Pacienti byly rozděleny do dvou skupin, jedné skupině byla podána léčba gemcitabinem a druhé skupině léčba v kombinaci gemcitabin a následně 5-FU. Medián celkového přežití nebyl příliš odlišný. V případě kombinované léčby byl medián celkového přežití 6,7 měsíce, v případě léčby gemcitabinem samotným 5,4 měsíce (24).

Herrmann a kol. provedli randomizovanou studii pacientů s karcinomem pankreatu. Pacienti byly léčeni v jedné skupině gemcitabinem, v druhé skupině kombinací gemcitabinu a kapecitabinu. Medián celkového přežití opět nedosáhl statistické významnosti. Ve skupině kombinované léčby 8,4 měsíce a 7,2 měsíce ve skupině léčené gemcitabinem samotným (25).

Jednou z dalších látek zkoumaných jako potenciální volba terapie u pacientů trpících karcinomem pankreatu je oxaliplatin (Eloxatin). Randomizovaná studie, kterou provedli Louvet a kol. zahrnovala léčbu 313 pacientů s karcinomem pankreatu léčených buď gemcitabinem v kombinaci s oxiplatinou, nebo gemcitabinem samostatným. Medián celkového přežití nebyl v těchto dvou skupinách signifikantně odlišný. Ve skupině s kombinovanou léčbou byl medián celkového přežití 9 měsíců a ve skupině léčených samostatným gemcitabinem 7,1 měsíců. (26).

Na základě těchto studií se nezdá, že by kombinovaná léčba gemcitabinem s 5-FU nebo činidly platiny byla významně přínosná u pacientů trpících inoperabilním karcinomem pankreatu. Ostatní studie kombinující gemcitabin s pemetrexedem, irinotekanem a dalšími látkami, také neprokázaly statisticky významný celkový přínos na medián celkového přežití.

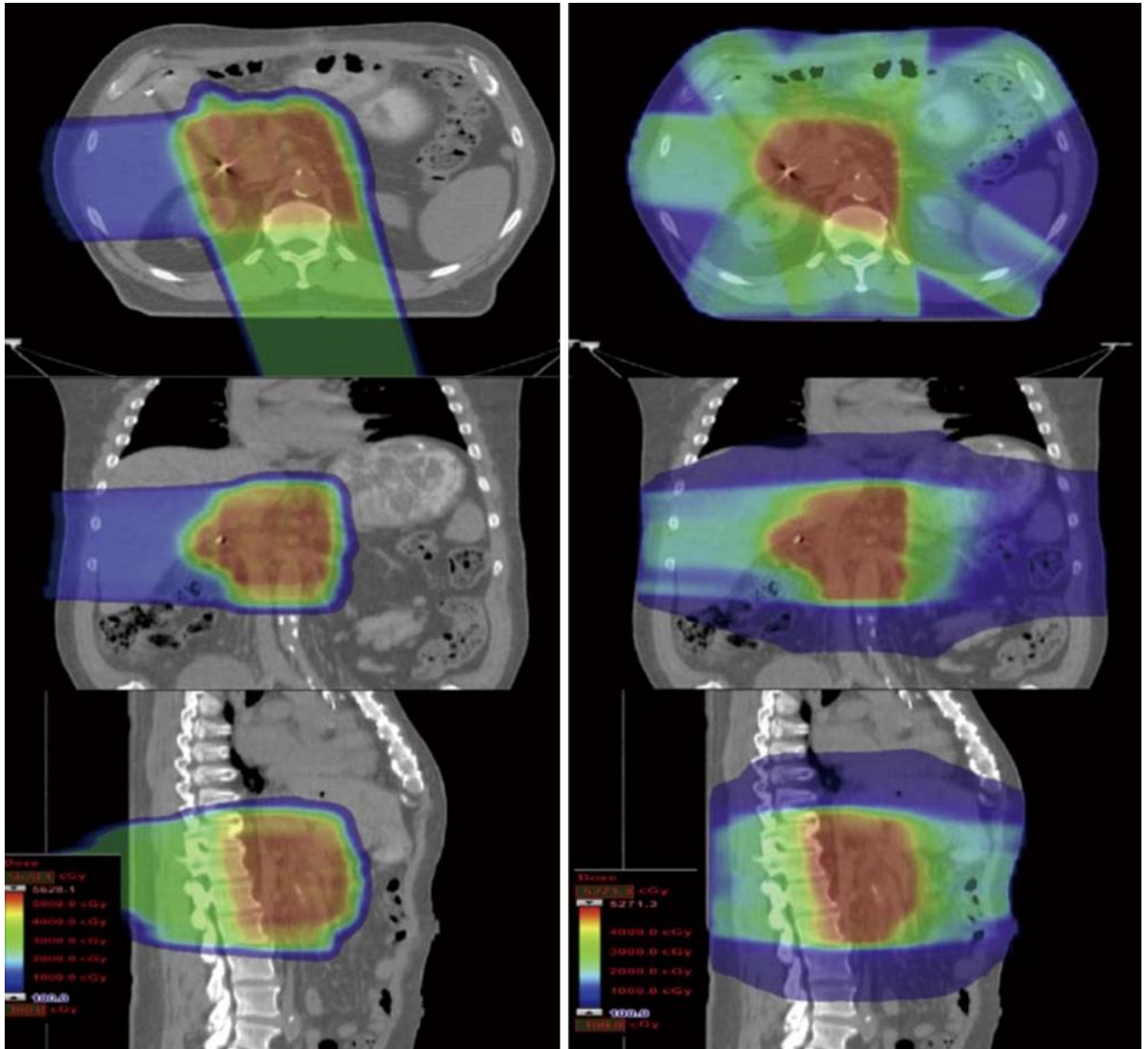
Na druhou stranu, meta-analýzy těchto studií prokázali stabilní přínos kombinované léčby, ačkoli ne zcela velký. Nejvýznamnějšího zlepšení oproti léčbě samotným gemcitabinem ukázala kombinovaná léčba gemcitabinu s činidly platiny či kapecitabinu. (27).

9 TERAPIE PROTONY

Protonová radioterapie umožňuje rozložení dávky, které je ještě více šetrné k zdravím tkáním okolo ozařovaného nádoru než moderní postupy při klasickém ozařování fotonů. Z tohoto důvodu se zdá, že protony představují významnou modalitu terapie pacientů s inoperabilními nádory pankreatu i v adjuvantním či neoadjuvantním podání. Na rozdíl od fotonového záření, které uvolní největší množství energie při vstupu do tkáně, nabitě částice jako jsou protony uvolňují většinu (přibližně 70%) energie v těsně definované oblasti nazvané „Braggův peak“. *Dosah svazku, tedy hloubka Braggova peaku, je přesně určen vstupní energií protonů, kterou lze regulovat, právě v závislosti na hloubce nádorového ložiska (28).*

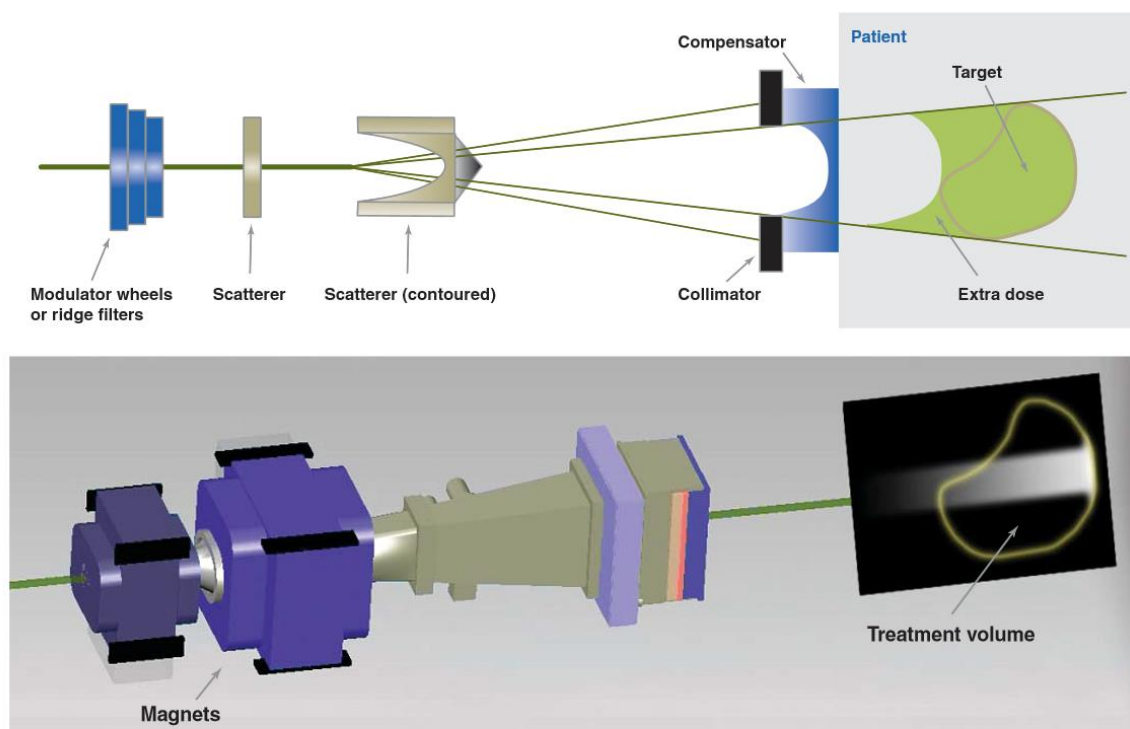
Tato vlastnost protonového záření umožňuje použití menšího množství polí k vytvoření konformního rozložení dávky. V důsledku toho je ozáření okolních zdravých tkání minimalizováno. Rozptýlení protonového záření umožňuje vytvoření „rozptýleného Braggova peaku“, který odpovídá hloubce a poloze cílového nádoru (viz obr. 13). V současné době jsou používány 2 metody ozařování pomocí protonů. „Passive spreading“, zahrnující single a dual scattering a „active spreading“, který je obecně znám jako scanning (viz obr. 14). V případě techniky passive spreading je protonový paprsek rozptýlen umístěním rozptylujícího materiálu do jeho dráhy. Technika single scattering dostatečně rozšiřuje paprsek pro pokrytí malých polí. U větších polí je potřeba druhotného rozptylu (dual scattering), aby byl zajištěn uniformní profil dávky. Rozptýleného Braggova peaku je docíleno pomocí rozsahového modulačního systému uvnitř gantry. Scanning technika využívá vychýlení a řízení směru protonových paprsků za pomoci magnetů. Cílový objem je zakreslen a poté je pod řízením počítače ozářen v postupných vrstvách. Hloubka Braggova peaku je upravena změnou energie paprsku, ještě před vstupem do gantry (29).

Obrázek 13: ozařovací plán metody „passive spreading“ protonového ozařování (vlevo) ve srovnání s ozařovacím plánem IMRT (vpravo).¹³



¹³ Romaine C Nichols, Soon Huh, Zuofeng Li, Michael Rutenberg. Proton therapy for pancreatic cancer. World J Gastrointest Oncol 2015 September 15; 7(9): 141-147.

Obrázek 14: diagram principu ozařování metody „scattering“ (nahore) a „scanning“ (dole).¹⁴



(Top) Figure 1: Scattering diagram; (Bottom) Figure 2: Scanning diagram

Četné dozimetrické a klinické studie zkoumali možnosti protonové léčby a jejího přínosu v případě karcinomu pankreatu.

Hsiung-Stripp a kol. demonstrovali schopnost protonové léčby o energiích 130-180 MeV účinně léčit inoperabilní nádory pankreatu. Ve srovnání s plány podobně účinnými ozařováním za pomoci fotonového záření bylo dosaženo výrazně nižší dávky na míchu, ledviny a játra (30).

Thompson a kol. porovnali léčbu protony ve srovnání s IMRT u 13 pacientů s inoperabilním karcinomem hlavy pankreatu. Autoři zkoumali potenciální využití obou postupů (dual scattering, active spreading). Jak dual scattering, tak active spreading snížily dávku na žaludek, dvanáctník a tenké střevo v oblastech s nízkým příkonem ve srovnání s IMRT. V oblastech se středním a vysokým příkonem však byla dávka na orgány vyšší (31).

¹⁴ Proton Beam Therapy – Scattering versus scanning treatment techniques. [online] dostupný z WWW: https://www.varian.com/sites/default/files/resource_attachments/ProtonTherapy_Scattering%20vs%20Scanning.pdf

Nichols a kol. zveřejnili zprávu o výsledcích 22 pacientů léčených protonovou terapií s konkomitantní chemoterapií kapecitabinem u pacientů s resekovatelným (n = 5), okrajově resekovatelným (n = 5) a neresekovatelným (n = 12) ampulárním karcinomem a karcinomem pankreatu. Terapeutická dávka se pohybovala v rozmezí od 50,4 Gy až 59,4 Gy. U žádného pacientů se neprojevovala toxicita 3 stupně během léčby i během následného sledování. U tří pacientů byla zjištěna gastrointestinální toxicita 2 stupně. U těchto pacientů byla pozměněna volba polí, což vedlo k praktickému vymizení gastrointestinální toxicity. Chemoterapie kapecitabinem byla u pacientů rovněž dobře tolerována (32).

Sachsman a kol. následně provedli další výzkum terapie protonovým zářením v kombinaci s konkomitantní chemoterapií kapecitabinem u 11 pacientů s inoperabilním karcinomem pankreatu, s mediánem 23 měsíců následného sledování pacientů po ukončení terapie. Míra dvouletého přežití činila 31%, medián celkového přežití byl 18,4 měsíců. Míra dvouletého období bez progresu nemoci činila 69%. Opět se potvrdila velmi nízká míra toxicity terapie u všech pacientů (33).

10 NEOADJUVANTNÍ TERAPIE

Neoadjuvantní radioterapie se používá k zmenšení objemu nádoru. *Tím je v řadě případů možno dosáhnout operability u původně lokálně rozsáhlého inoperabilního nádoru nebo zmenšení rozsahu operačního výkonu. Zároveň je sníženo i riziko diseminace při manipulaci v operované oblasti* (34; str. 5).

Neoadjuvantní terapie často kombinuje s neoadjuvantní radioterapií s neoadjuvantní chemoterapií, např. gemcitabinem. V případě karcinomu pankreatu se však jedná spíše o vzácnou modalitu. Primární bariérou pro přijetí neoadjuvantní terapie, v případě karcinomu pankreatu, je problém možné gastrointestinální toxicity, která by zkomplikovala postup operace.

Meta-analýza 19ti studií neoadjuvantní chemo-radioterapie ukázala, že u pacientů léčených neoadjuvantní chemo-radioterapií je méně pravděpodobné, že budou mít resekční okraje pozitivní markery, ale hrozí u nich zvýšené riziko perioperačního úmrtí (35).

Nové možnosti by mohla představovat neoadjuvantní terapie pomocí protonového záření.

Nichols a kol. analyzovali výsledky 5 pacientů s původně neresekovatelným onemocněním, u kterých bylo dosaženo dostatečného zmenšení tumoru, pro možné provedení chirurgické resekce, ozáření vysokou dávkou konvenčně frakcionované protonové terapie. Pacienti byly ozáření dávkou 59,4Gy ve 33 frakcích současně s podáním kapecitabinu. Tři pacienti následně podstoupili laparoskopickou standardní pankreatoduodenektomii, 1 podstoupil otevřenou pylorus zachovávající pankreatoduodenektomii a 1 podstoupil otevřenou distální pankreatektomii. Doba chirurgického zákroku, ztráta krve, pobyt v jednotce intenzivní péče a celkový pobyt v nemocnici byly v souladu s kritérii. Žádný z operačních chirurgů neohlásil nález fibrózy či jakéhokoli dalšího důkazu, že protonová terapie komplikuje operaci. Tyto skutečnosti by naznačovali, že je možné ozařovat pacienty pomocí protonů, aniž by nastaly komplikace při operaci spojené s neoadjuvantním ozařováním (36).

11 ADJUVANTNÍ RADIOTERAPIE

Cílem adjuvantní („zajišťovací“) radioterapie je eradikovat předpokládanou zbytkovou mikroskopickou chorobu. Tím se snižuje riziko vzniku lokální či regionální recidivy onemocnění a může se zlepšit celková doba přežití (34; str. 4). Na rozdíl od adjuvantní chemoterapie, která vykazuje prokazatelný přínos, u adjuvantní léčby pacientů trpících karcinomem pankreatu, zůstává využití adjuvantní radioterapie kontroverzní. Zatímco některé randomizované studie prokázaly záporné výsledky o přínosech adjuvantní radioterapie oproti pouhé operaci samotné, jiné studie poukazovali na benefit jejího využití.

Crosini a kol. vyhodnotili výsledky rozsáhlé retrospektivní studie celkem 466 pacientů z Mayo Clinic v Rochesteru, Minnesotě, po potencionálně kurativní resekci nádoru s R0 markery a bez metastatického rozsevu. Do studie nebyli zahrnuti pacienti s indolentními nádory, jakož jsou nádory endokrinní a mucinozní (cystadenokarcinomy). 180 pacientů bylo po chirurgickém odstranění nádoru pozorováno a nebyla jim podána žádná následná adjuvantní léčba. U 246 pacientů byla zahájena adjuvantní léčba radioterapií a chemoterapií 5-FU. U 28 pacientů následovala chemoterapie po ukončení adjuvantní léčby. Medián přežití pacientů po adjuvantní radioterapii v kombinaci s adjuvantní chemoterapií byl 25,2 měsíce oproti tomu medián přežití u pacientů, u kterých proběhlo pouze sledování, byl 19,2 měsíce. Ještě výrazněji lepších výsledků bylo pozorováno u pacientů s následnou chemoterapií po chemoradiační adjuvantní léčbě. Ačkoli existuje potenciální předsudek při výběru pacienta v jakékoliv retrospektivní analýze od jediné instituce (např. stav výkonnosti pacienta může ovlivnit vzorce doporučení, u zdravějších pacientů je pravděpodobnější, že budou zařazeni pro adjuvantní terapii), může být tato odchylka kompenzována konkurenční předpojatostí přijímání pacientů pro adjuvantní chemo-radioterapii, pokud mají vyšší riziko relapsu po samotném chirurgickém zákroku (37).

Klinkenbijnl a kol. publikovali výsledky randomizované studie zabývající se problematikou adjuvantní radioterapie a chemoterapie. Ve studii bylo provedeno šetření u celkem 218 pacientů s histologicky prokázaným adenokarcinomem hlavy pankreatu a periampulárním adenokarcinomem. Pacienti byli po resekci rozděleni do dvou randomizovaných skupin, 108 do observační skupiny a 110 do skupiny léčené adjuvantní radioterapií konkomitantně s terapií 5-FU. Medián celkového přežití byl 19 měsíců u observační skupiny a 24,5 měsíce v léčené skupině. Míra dvouletého přežití byla v případě pacientů trpících rakovinou hlavy pankreatu 26% u observační skupiny vůči 34% u léčené skupiny. U periampulárního karcinomu byla míra dvouletého přežití 63% v observační skupině a 67% ve skupině léčené chemo-radioterapií. Během adjuvantní léčby byla pozorována pouze mírná toxicita a léčba byla pacienty poměrně dobře tolerována (38).

Některé studie však ukázali horší výsledky adjuvantní chemo-radioterapie než u pouhého pozorování.

John a kol. porovnávali v randomizované studii adjuvantní radioterapii s konkomitantní chemoterapií, 6ti měsíční chemoterapii a kombinaci těchto terapií v porovnání k observační skupině u celkem 289 pacientů trpících rakovinou pankreatu. 145 pacientů podstoupilo adjuvantní chemo-radioterapii, z nich bylo u dalších 72 pokračováno následnou chemoterapií. 75 pacientů podstoupilo léčbu pouze chemoterapií a 69 pacientů bylo pouze pozorováno. Protokolárně bylo ozařováno celkovou dávkou 40Gy, tato dávka nebyla u 38 (tj. 30%) pacientů v dané skupině dodržena, nejčastěji kvůli progresi onemocnění či vůli pacienta. Vyhodnocení studie vykazovalo horší výsledky u pacientů léčených chemo-radioterapií. Medián přežití byl 16,9 měsíce u pacientů v observační skupině, 13,9 měsíců u pacientů léčených za pomoci chemo-radioterapie, 21,6 měsíců u pacientů určených pro chemoterapii a 19,9 měsíců u pacientů léčených chemo-radioterapií a následnou šestiměsíční chemoterapií. Medián průměrného přežití byl 15,9 měsíců u všech 145 pacientů léčených chemo-radioterapií, a 17,9 měsíců u 144 pacientů, u kterých chemo-radiační léčba neproběhla (39). Horší výsledek radioterapie však mohl být spojen se zpožděním systémové terapie. Použití radiační terapie v této studii bylo také kritizováno (např. návrh radiačního pole a dávky).

Metaanalýza 15 prospektivních randomizovaných studií ukázala, že chemo-radioterapie v adjuvantním podání ve srovnání se samotným chirurgickým zákrokem nezlepšila dobu přežití bez progresu nemoci (DFS), míru 2letého přežití nebo celkové přežití (OS) zatímco adjuvantní chemoterapie zlepšily výsledky ve všech těchto faktorech (40).

V důsledku těchto konfliktních výsledků se chemo-radioterapie v adjuvantním podání v Evropě rutinně nepoužívá. Ve Spojených státech je chemo-radioterapie často vyhrazena pacientům s vysokým rizikem lokální recidivy, jako například pacientům po R1 resekcích.

12 ADJUVANTNÍ CHEMOTERAPIE

Donedávna byla hlavním léčebným režimem v adjuvantní indikaci kombinace 5-FU s leukovorinem. V současné době se však do popředí dostává gemcitabin (16).

Oettle a kol. zkoumali přínos gemcitabinu u pacientů po potenciálně kurativní resekci. Cílem bylo zjištění přínosu k dlouhodobému přežití pacientů a zamezení rekurence onemocnění. 368 pacientů bylo rozděleno do dvou skupin. U 186 pacientů byla zahájena šestiměsíční léčba gemcitabinem a zbylých 182 pacientů bylo pouze pozorováno. Medián období bez progresse nemoci byl 13,4 měsíce v léčené skupině a 6,7 měsíce u observační skupiny. Celkové pětileté přežití bylo u léčené skupiny 20,7% a celkové desetileté přežití 12,2%. U observační skupiny bylo celkové pětileté přežití 10,4% a celkové desetileté přežití 7,7%. Tyto výsledky jsou přesvědčivý argument pro používání léčby gemcitabinem v adjuvantním podání (41).

Neoptolemos a kol. zjišťovali přínos léčby gemcitabinu ve srovnání s 5-FU. Do studie bylo zařazeno 1088 pacientů ze 159 center z Evropy, Asie, Austrálie, Japonska a Kanady. 551 pacientům byla podána šestiměsíční léčba 5-FU spolu s Leucovorinem, 537 pacientům šestiměsíční léčba gemcitabinem. Primárním cílem bylo zjistit celkovou dobu přežití pacientů, sekundárním, toxicita léčby a doba bez progresse nemoci.

Medián celkového přežití byl 23,0 měsíců u pacientů léčených 5-FU a 23,6 měsíců u pacientů léčených gemcitabinem. 14% pacientů léčených 5-FU mělo závažné nežádoucí účinky souvisejících s léčbou, ve srovnání se 7,5% u skupiny léčené gemcitabinem (42).

Gemcitabin lze na základě těchto výsledků považovat za vhodnější z hlediska toxicity, avšak z hlediska celkové délky života či doby bez progresse nemoci je statistický rozdíl v adjuvantním podání spíše zanedbatelný.

13 PALIATIVNÍ TERAPIE

U mnohých pacientů trpících pokročilým karcinomem pankreatu s případnými metastázami může být využití terapeutických metod s ohledem na rozsah nemoci nevhodné či nemožné. Vhodná paliativní léčba symptomů může být nejlepším přístupem k péči o tyto pacienty. Důležitou úlohou paliativní péče je tlumení bolesti. Mimo klasického podání analgetik, lze využít i paliativního ozáření. Standardně se v tomto případě využívá ozáření nádoru a postižených uzlin jednoduchými technikami, dávkou 40Gy.

U 65 až 75% pacientů trpících pokročilým stádiem karcinomu pankreatu dojde během onemocnění k obstrukci žlučových cest. Zajištění drenáže žlučových cest má velice významný dopad na kvalitu života (43).

Způsob drenáže se volí individuálně dle pacienta. Při endoskopické retrográdní cholangio-pankreatografii (ERCP) lze zajistit duodenobiliární drenáž zavedením plastové endoprotézy, kterou je pak nutno v určitých intervalech měnit, případně implantovat metalický stent, který se nemění (16).

Pomocí perkutánní transhepatální drenáže (PTD) je zaváděn zevně vnitřní drén, který zajišťuje drenáž žluči do střeva, eventuálně pouze zevní drenáž. Biliární drén je třeba pravidelně proplachovat a jeho výměna je také v určitých intervalech nutná (16).

Důležité je dbát na informovanost pacienta. Pacient by měl být obeznámen s tím, že cílem léčby v jeho případě není uzdravení, ale pouze tlumení příznaků onemocnění.

14 CÍLENÁ LÉČBA

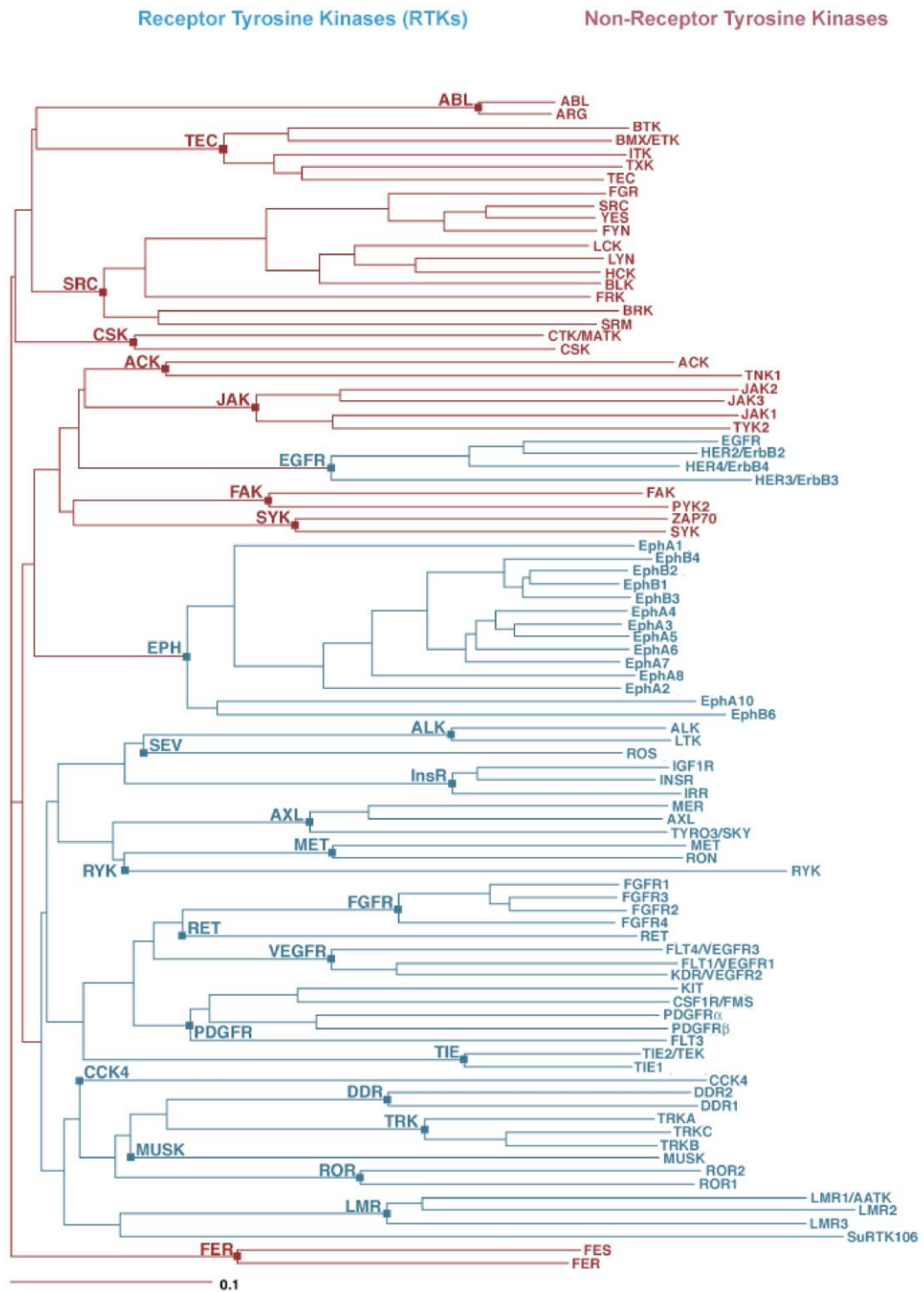
V posledních letech zažívá nebývalý rozvoj, a to nejen u karcinomu pankreatu, tzv. cílená léčba, někdy označovaná jako biologická terapie. Je specificky namířena proti některým molekulárním reakcím v buňce, ke kterým dochází při spuštění a udržení nádorového růstu (16). Velkým strategickým přínosem by se do budoucna mohly stát inhibitory kináz. Tyrozin kinázy hrají klíčovou úlohu v mezibuněčné signální transdukcii a regulují klíčové procesy nádorových buněk, jako je proliferace, migrace, životnost a angiogeneze. Nadprodukce některých tyrozin kináz jako jsou EGFR, VEGFR, PDGFR a Src byla pozorována u karcinomu pankreatu. Blokování receptorových i nerekceptorových tyrozin kináz tedy představuje možný nový přístup v léčbě karcinomu pankreatu.

V současné době zkoumaným postupem jsou i možnosti radiosenzibilizace a chemosenzibilizace nádorových buněk pankreatu pomocí inhibitorů ATM a ATR kináz.

14.1 Tyrozin kinázy

Tyrozin kinázy jsou důležitou podskupinou proteinových kináz, které hrají klíčovou roli v intracelulární signální transdukcii. Tyrozin kinázy dělíme na receptorové a nerekceptorové tyrozin kinázy. U člověka bylo identifikováno zhruba 20 rodin receptorových tyrozin kináz a 9 různých rodin nerekceptorových tyrozin kináz (viz obr. 15). Tyrozin kinázy jsou fosfo-transferázy, regulují funkci cílového proteinu přenosem fosfátu z ATP na hydroxylovou skupinu cílového proteinu tyrozinu.

Obrázek 13: rodiny lidských receptorových (modře) a nerekceptorových (červeně) tyrozin kináz.¹⁵



¹⁵ Protein Kinases: Human Tyrosine Kinases. [online] dostupný z WWW: <https://www.cellsignal.com/contents/science-protein-kinases/protein-kinases-human-tyrosine-kinases/kinases-tyk> (upraveno).

14.1.1 Receptorové tyrozin kinázy

Receptorové tyrozin kinázy (molekuly receptorových tyrozin kináz) jsou umístěné v membráně buněk. Většina receptorových tyrozin kináz existuje jako jediný polypeptidový řetězec a jsou monomerní, bez přítomnosti ligandu. Výjimkou jsou Met receptorové tyrozin kinázy a členy spadající do této rodiny, které obsahují krátký řetězec α spojený disulfidovou vazbou s trans-membránovým řetězcem β , a inzulínový receptor a členy spadající do této rodiny, které se skládají ze dvou extracelulárních α řetězců spojený disulfidovou vazbou ke dvěma trans-membránovým β řetězcům. Každá podjednotka má trans-membránovou doménu tvořenou řetězcem z 25 až 38 aminokyselin. Dle umístění v buňce a zároveň i funkčně můžeme receptorové tyrozin kinázy rozdělit na intracelulární, extracelulární a transmembránovou část. N konec leží extracelulárně, na něj se váží polypeptidové ligandy. Extracelulární část receptorových tyrozin kináz typicky obsahuje různorodou řadu diskretních globulárních domén, jako jsou imunoglobulinové domény, domény fi bronektinu typu III, domény bohaté na cystein a domény EGF. Střední část tvoří trans-membránová spirála. Prochází skrze buněčnou membránu a ukotvuje receptor. C (terminální) konec ležící intracelulárně obsahuje tyrozin kinázové domény. Na rozdíl od extracelulární části je uspořádání domény v cytoplazmatické části receptorových tyrozin kináz jednodušší, skládající se z juxta-membránové oblasti, ležící hned za trans-membránovou spirálou, následované katalytickou doménou tyrozin kinázy a karboxyterminální oblastí. Juxta-membránové a karboxy-terminální oblasti se mezi jednotlivými receptorovými tyrozin kinázami liší v délce. Spolu s tyrozin kinázovou vložkou obsahují tyto oblasti tyrozinové zbytky. Receptorové tyrozin kinázy zprostředkovávají trans-membránový přenos signálů z extracelulárního prostředí do cytoplasmy. Váží extracelulární polypeptidové ligandy (růstové faktory) a cytoplazmatické efektorové a adaptační proteiny pro regulaci biologických procesů. Vazba ligandu indukuje dimerizaci buněčných povrchových receptorů, což vede k auto-fosforylaci cytoplazmatických domén a aktivaci receptorové tyrozin kinázy (44). Konkrétně RTK katalyzují přenos fosfátů z ATP na hydroxylové skupiny tyrozinů na cílových proteinech. Fosforylované tyroziny slouží jako vazebná místa pro řadu cytoplazmatických molekul přenášejících signál, aktivující následné signalizační cesty (44).

14.1.2 Nereceptorové tyrozin kinázy

Na rozdíl od receptorových tyrozin kináz nereceptorové tyrozin kinázy postrádají součásti jako je extracelulární doména vázající ligand a trans-membránovou helix. Nereceptorové tyrozin kinázy jsou nejčastěji cytoplasmatické proteiny. Některé nereceptorové tyrozin kinázy jsou zakotveny k buněčné membráně modifikací aminoterminálů, jako je myristoylace nebo palmitoylace. Dále se některé nereceptorové tyrozin kinázy nachází v organelách buňky, včetně endoplasmatického retikula, Golgiho aparátu či samotného jádra buňky.

Struktura nereceptorových tyrozin kináz je značně variabilní. Kromě tyrozin kinázové domény, nereceptorové tyrozin kinázy mají domény, které zprostředkovávají interakce protein-protein, protein-lipid a protein-DNA. Nejčastěji nalezené protein-proteinové domény u nereceptorových tyrozin kináz jsou domény SH2 a SH3 (45). Některé nereceptorové tyrozin kinázy nemají domény SH2 a SH3, ale mají domény specifické dle podskupiny používané pro interakce protein-protein (46). Členové rodiny Jak obsahují specifické domény, které jsou zaměřené na cytoplazmatickou část cytokinových receptorů. Nereceptorové kinázy Fak mají dvě domény, které zprostředkovávají interakce protein-protein: doménu vázající integrin a doménu s vazbou na fokální adhezi. Nereceptorová tyrozin kináza Abl obsahuje nukleární lokalizační signál a nachází se jak v jádře, tak v cytoplazmě. Kromě domén SH2 a SH3 má pak Abl doménu vázající se na aktin F a doménu vázající DNA. Další modulární doména, přítomná v podskupině Btk/Tec nereceptorových tyrozin kináz a v mnoha dalších signalizačních proteinech, je doména pleckstrin homologie. Domény pleckstrin homologie se váží na fosfatidylinositol lipidy. Koncentrace specifických fosfatidylinositol lipidů v buněčné membráně se zvyšují v důsledku aktivace PI-3K. Proteiny mohou být navázány na aktivované signalizační komplexy na membráně prostřednictvím interakcí domény pleckstrin homologie s fosforylovanými fosfatidylinositol lipidy (47).

14.1.3 Aktivační procesy receptorových tyrozin kináz

Aktivace receptorových tyrozin kináz typicky vyžaduje dva procesy, zvýšení vnitřní katalytické aktivity a vytvoření vazebných míst pro získání navazujících signalizačních proteinů. Pro většinu receptorových tyrozin kináz je obou těchto procesů dosaženo pomocí autofosforylace na tyrozinových residuích, což je důsledkem oligomerizace zprostředkované ligandem. Autofosforylace tyrozinů v juxta-membránové oblasti, kinázové vložce a karboxyl terminálních regionech vytvářejí dokovací místa pro modulární domény, které rozpoznávají fosfotyrosin v specifických kontextech sekvence. Dva dobře známé fosfotyrosinové vazebné moduly přítomné v signalizačních proteinech jsou SH2 doména a PTB doména (45).

Ligandem indukovaná oligomerizace RTK je mechanismus, kterým se spouští autofosforylace tyrosinu. Ligand vázající se na extracelulární část RTK zprostředkuje nekovalentní oligomerizaci monomerních receptorů nebo indukuje strukturální přesmyk v heterotetramerických receptorech, jako je například inzulinový receptor, usnadňující autofosforylaci tyrosinu v cytoplazmatických doménách. Zda dimerizace receptoru je dostatečná pro přenos signálu, nebo zda je požadována oligomerizace vyššího řádu, není prozatím zcela jisté (48).

Pro některé receptorové tyrozin kinázy, jako je například PDGF receptor, se aktivační proces zdá být komplikovanější. Substituce dvou tyrozinů s fenylalaninem v juxta-membránové oblasti receptoru PDGF- β drasticky redukuje autofosforylaci mnoha dalších míst na receptoru, které jsou ochotné k autofosforylaci ve WT receptoru (49).

14.1.4 Aktivační procesy nereceptorových tyrozin kináz

Nejběžnějším regulačním procesem nereceptorových tyrozin kináz, stejně jako u receptorových tyrozin kináz, je fosforylace tyrozinu. Až na některé výjimky, fosforylace tyrozinů v aktivační smyčce nereceptorových tyrozin kináz vede ke zvýšení enzymatické aktivity. Fosforylace aktivační smyčky nastává trans-autofosforylací nebo fosforylací za pomoci jiných nereceptorových tyrozin kináz. Fosforylace tyrosinů mimo aktivační smyčku povětšinou negativně reguluje aktivitu kinázy. PTP obnovují nereceptorové tyrozin kinázy zpět do základního stavu aktivity, popřípadě v některých situacích mohou i pozitivně regulovat jejich aktivitu (50).

14.2 Možnosti využití tyrozin kináz

14.2.1 ErbB

ErbB proteiny patří do podtřídy I. nadskupiny receptorových tyrozin kináz. Skupina ErbB zahrnuje čtyři členy: receptor epidermálního růstového faktoru (EGF), ErbB2 / Neu / HER2, ErbB3 / HER3 a ErbB4 / HER4. Receptory ErbB jsou exprimovány v různých tkáních epiteliálního, mezenchymálního a neuronálního původu, kde hrají zásadní roli ve vývoji, proliferaci a diferenciaci. Zvýšená signalizace z těchto receptorů v důsledku mutace nebo nadměrné exprese přispívá k několika typům lidských rakovin, včetně rakoviny plic, prsu, kolorektálního karcinomu, mozku, hlavy krku a vaječníků (51).

14.2.2 EGFR

Výzkumy naznačily, že EGFR dráhy jsou aktivovány také ve velkém množství případů rakovin pankreatu založených na nadměrné expresi proteinu EGFR. Data naznačují prognostickou významnost exprese ligandu EGFR (52). Předpokládá se, že nadměrná exprese signalizace EGFR indukuje zvýšenou proliferaci, chemorezistenci a invazivitu nádorů pankreatu.

EGFR může být zaměřen pomocí monoklonálních protilátek nebo inhibitorů tyrozin kináz, obvykle jsou to malé molekuly. Monoklonální protilátky interagují s extracelulární doménou EGFR, inhibují vazbu ligandu EGF a indukují endocytózu receptoru. Příležitostně, Fc část některých monoklonálních protilátek může indukovat buněčnou cytotoxicitu závislou na protilátce, která zprostředkuje lýzu nádorových buněk. Malá molekula TKI působí intracelulárně a interferuje s místem vazby ATP tyrozin kinázy EGFR, čímž inhibuje fosforylaci tyrozinových zbytků na cílových proteinech (53).

V in vitro pokusech jak monoklonální protilátky, tak TKI malých molekul účinně blokují dráhy přenosu signálu EGFR, což indukuje zastavení nádorových buněčných cyklů, posílení apoptózy, inhibici angiogeneze a zvýšení chemoterapeutických protinádorových účinků (54).

Erlotinib je reverzibilní inhibitor tyrozin kinázy ErbB-1 schválený k léčbě rakoviny pankreatu.

Moore a kol. provedli výzkum u 569 pacientů s pokročilou rakovinou pankreatu. Pacienti byly rozřazeni na 2 skupiny, jedné skupině byl podáván gemcitabin a erlotinib, druhé skupině gemcitabin a placebo. Ve skupině léčené kombinací gemcitabinu a erlotinibu byl medián celkového přežití vyšší, a to 6,2 měsíce oproti 5,9 měsícům v případě skupiny kontrolní bez erlotinibu. Míra jednoročního přežití byla rovněž vyšší, 23%, oproti 17% u kontrolní skupiny (55).

Na základě této studie a přínosu z jiných studií byl erlotinib schválen, pro použití v kombinaci s gemcitabinem, u pacientů s rakovinou pankreatu.

Epelbaum a kol. testovali přínos léčby samostatně podávaným erlotinibem. Erlotinib byl podán třinácti pacientům, u kterých předchozí chemoterapie nebyla účinná. Medián doby bez progresu nádoru byl 1 měsíc. Pět pacientů (38%) vykazovalo klinické zlepšení nebo stabilizaci onemocnění se snížením nádorových markerů (56).

Zdá se tedy, že terapie erlotinibem je účinná i jako monoterapie u rakoviny pankreatu, je však třeba dalších testů pro podložení tohoto poznatku.

Ačkoli bylo dosaženo statisticky znatelného zlepšení celkového přežití při léčbě erlotinibem, lze toto zlepšení označit za spíše skromné.

Ioka a kol. zkoumali účinky léčby monoklonální protilátkou anti-EGFR cetuximabu podávaného spolu s gemcitabinem v porovnání s gemcitabinem samotným u pacientů s lokálně pokročilým nebo metastatickým pankreatickým adenokarcinomem. Mezi 766

zařazenými pacienty byl medián celkového přežití 6 měsíců u pacientů, kterým byl podáván gemcitabin samotný, oproti 6,5 měsícům ve skupině léčené kombinací gemcitabin a cetuximab (57). Rozdíl mezi těmito skupinami byl tedy statisticky nevýznamný.

14.2.3 VEGF

Různé nádorové buňky, včetně těch rakoviny pankreatu, běžně sekretují silný proangiogenní faktor, vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF). VEGF-A zvyšuje mikrovaskulární propustnost, stimuluje migraci endoteliálních buněk, proliferaci a chrání je před apoptózou. VEGF-A zprostředkovává své účinky interakcí se svými dvěma vysoce afinitními receptory pro vaskulární endoteliální růstový faktor VEGFR, a to VEGFR-1 a VEGFR-2. VEGFR-1 a VEGFR-2 jsou vysoce afinitní trans-membránové tyrozin kinázové receptory selektivně exprimované ve zdravém vaskulárním endotelu a nadměrně exprimovanými v nádorovém endotelu. VEGFR-3 je další člen VEGFR, který se váže na ostatní členy rodiny ligandů VEGF, VEGF-C a VEGF-D. VEGFR-3 se normálně exprimuje v lymfatickém endotelu a je také, nadměrně exprimován v nádorových buňkách. Podobně jako u signálních drah EGFR, VEGF ligandy při vazbě svých VEGF receptorů iniciují fosforylaci receptorových tyrozin kináz. To vyvolává kaskádu následných signalizačních událostí, které vedou k aktivaci fosfolipázy C γ , PI-3K a Ras/MAP kinázy, zprostředkovávající migraci a proliferaci endoteliálních a lymfatických buněk (58).

Onkogenní supresorová genová aktivace, tkáňová hypoxie a sekrece cytokinů rakovinnými buňkami pankreatu, vede ke zvýšené expresi VEGF a VEGFR (58). Vyšší sérové a intratumorové hladiny VEGF byly spojeny s větší velikostí nádoru, zvýšenou lokální progresí, časnější recidivou po chirurgické resekci a celkově horší prognózou rakoviny pankreatu (59).

K zaměření signální dráhy VEGF pro terapii se používá monoklonálních protilátek proti VEGF. Protilátky se váží na inhibitory VEGFR a VEGFR tyrozin kinázy.

Kindler a kol. ve své studii zkoumali účinky léčby pacientů s pokročilým nádorem pankreatu Anti-VEGF monoklonální protilátky avastinu v kombinaci s gemcitabinem v porovnání s léčbou gemcitabinem samotným. U pacientů, kterým byla podávána kombinace avastinu a gemcitabinu byl medián celkového přežití 5,8 měsíce. Oproti tomu byl medián přežití ve skupině pacientů, kterým byl podáván gemcitabin a placebo 5,9 měsíce. Kombinace avastinu a gemcitabinu se tedy neosvědčila pro léčbu karcinomu pankreatu (60).

14.2.4 Src

Src kinázy patří do rodiny nereceptorových proteinových tyrozin kináz, které hrají rozhodující roli při regulaci buněčného dělení, motilitě, adhezi, angiogenezi a přežití. Src kinázy jsou řízeny receptory tyrozin kinázy (EGFR, PDGFR, receptory fibroblastového růstového faktoru), integrinovými receptory, receptory sdruženými s G-proteinem, receptory cytokinů a receptory steroidních hormonů. Při aktivaci Src signalizuje řadu následných efektorů, včetně faktorů transkripce Stat. Konstitutivně aktivované varianty kináz rodiny Src jsou schopné indukovat maligní transformaci. Nereceptorová tyrozin kináza c-Src je nadměrně exprimována u velkého počtu lidských malignit, včetně rakoviny pankreatu (61).

Ito a kol. testovali účinky pyrazolopyrimidinu (inhibitoru specifického pro Src kinázu), na třech lidských buněčných liniích rakoviny pankreatu, BXPC-3, MIAPaCa-2 a PANC-1. Pyrazolopyrimidinem zprostředkovaná inhibice Src fosforylace byla potvrzena imunoprecipitací. Pyrazolopyrimidin úplně potlačil Src fosforylaci, aktivitu MMP2 a MMP9 z 40% na 34% a potlačil buněčnou invazivitu o více než 90%, ve všech třech buněčných liniích. Pyrazolopyrimidin měl proměnlivý účinek na buněčný růst. U MIXPaCa-2 byl snížen o 50% u BXPC-3, o 7% a u PANC-1 o 22% (62).

Následné klinické testy jsou nezbytné pro potvrzení přínosu pyrazolopyrimidinu v léčbě karcinomu pankreatu. Lze racionálně uvažovat o jeho využití v kombinaci s cytotoxickou chemoterapií.

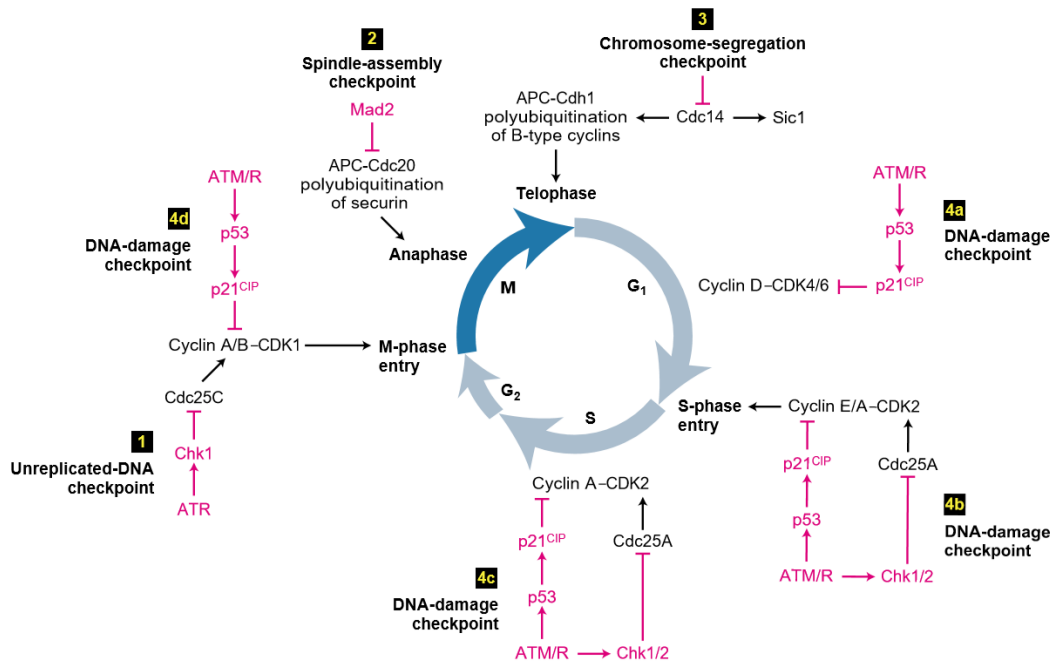
14.3 Kontrolní body buněčného cyklu

Během života jsou buňky stále a nevyhnutelně ohrožovány vnějšími a vnitřními stresy, které mohou narušit integritu jejich genomů. Aby byly buňky schopné přežít tyto stresy a předat neporušené genetické informace dalším generacím, vyvinuly vysoce organizovaný a koordinovaný systém ke zmírnění genotoxického stresu nazývaný DNA damage response (DDR). Aby se minimalizoval výskyt chyb během událostí probíhajících během buněčného cyklu, je progresse buňky, v průběhu cyklu, monitorována na několika kontrolních bodech (viz obr. 16). Kontrolní mechanismy, které operují na těchto kontrolních bodech, zajišťují, že chromozomy jsou neporušené a že každá fáze buněčného cyklu je dokončena před zahájením následující fáze.

Pozastavení v kontrolním bodu poskytuje buňkám čas opravit poškozenou DNA. Po dokončení opravy DNA se buňky regenerují a pokračují v průběhu buněčného cyklu. Pokud poškození překročí kapacitu možné opravy, buňky zůstávají trvale zastaveny v cyklu nebo jsou zničeny programovanou smrtí (63). Indukce genotoxického stresu ionizujícím zářením, nebo chemoterapií by mohla představit významný průlom v terapii rakoviny.

Kontrolní body buněčného cyklu (cell check-points) chrání integritu genomu. Onkogenem indukovaná senescence (OIS) působí jako bariéra zabraňující rozvoji nádoru. Během svého vývoje však nádorové buňky získávají mutace, které jim umožňují částečně obcházet kontrolní body a zabránit tak vzniku OIS (64).

Obrázek 14: přehled kontrolních bodů buněčného cyklu.¹⁶



¹⁶ Lodish, Harvey F. *Molecular cell biology*. 7th ed. New York: W.H. Freeman, 2013; 978-1-4641-0981-2.

14.3.1 P53

P53 je jedním z nejdůležitějších tumor supresorových proteinů, který je často v rakovinových buňkách mutován. Obecně p53 funguje jako transkripční faktor, který je stabilizován a aktivován různými genotoxickými a buněčnými stresovými signály, jako je poškození DNA, hypoxie, aktivace onkogenu či nutriční deprivace, což následně vede k zastavení buněčného cyklu, apoptóze, senescenci a metabolické adaptaci. P53 se stává funkčně insuficientním ve většině nádorových onemocnění, včetně nádorových onemocnění pankreatu. Rakovinové buňky s nedostatkem p53 nemají účinný kontrolní bod v G1/S fázi a udržování kontrolního bodu G2/M plně závisí na kontrolních kinázách CHEK1 a CHEK2. Abrogace kontrolního bodu umožňuje zahájení miózy i přes přítomnost poškození DNA, což vede k mitotické katastrofě a smrti těchto buněk (65). Z tohoto důvodu se začalo uvažovat o farmakologické inhibici kontrolních kináz v kombinaci s chemoterapií nebo radioterapií poškozující DNA, jako o slibné strategii léčby rakoviny. Nádorové buňky s insuficiencí p53, ztrácejí zbývající ochranný účinek kontrolních kináz a stávají se velmi zranitelnými, zatímco zdravé buňky jsou stále chráněny odpovědí p53 kinázy. Kombinovaná léčba by proto měla vést pouze k mírným vedlejším účinkům u zdravých buněk, zatímco účinně eradikuje buňky rakovinné (66).

14.3.2 ATM a ATR kinázy

Dvě proteinové kinázy velmi důležité pro indukci kontrolního bodu buněčného cyklu po poškození DNA jsou Ataxia-Telangiectasia mutated (ATM) a Ataxia-Telangiectasia Rad3-related kináza (ATR). ATM a ATR patří do strukturně unikátní rodiny proteinových serin-threonin kináz PIKK. ATM, ATR a další PIKK sdílejí podobnou doménovou organizaci.

Kinázové domény PIKK se nacházejí v blízkosti jejich karboxylových zakončení a jsou lemovány konzervovanými FAT (FRAP-ATM-TRRAP) a FAT karboxy-terminálními (FATC) doménami. FAT a FATC domény ATM a ATR jsou důležité regulační oblasti. V lidských buňkách interagují FAT a kinázové domény ATM navzájem v nepřítomnosti poškození DNA, což inhibuje ATM aktivitu. Tato interakce mezi FAT a kinázovými doménami ATM je narušena autofosforylací Ser1981 v reakci na poškození DNA, což zmírňuje inhibici ATM kinázy (67).

Velké amino-terminální a interní oblasti ATM a ATR jsou tvořeny četnými α -helikálními HEAT strukturami. ATM existuje ve formě dimeru nebo oligomeru v nepoškozených buňkách a po aktivaci poškozením DNA se mění na monomer (68). ATR, na druhé straně, tvoří stabilní a závazný komplex s ATRIP. ATRIP také dimerizuje nebo oligomerizuje prostřednictvím své doménové struktury, ale tato interakce se nezdá být přímo regulována poškozením (69).

14.4 Možnosti využití ATM kináz

Aktivizace ATM nastává při výskytu dvojitých zlomů DNA, např. v důsledku ozáření. Místo dvojitých zlomů je rozpoznáváno komplexem MRN (složeným z podjednotek Mre11, Rad50 a NBS1), který rekrutuje ATM v místě poškození. ATM fosforyluje histon H2AX na Ser-139 v blízkosti zlomu, který je následně vázán proteinem MDC1, který dále amplifikuje signál náborem více molekul MRN. Chromatin v blízkosti léze je extensivně modifikován a přitahuje opravné faktory, jako jsou BRCA1 a 53BP1 (68). Aktivní ATM fosforyluje Thr-68 a tímto aktivuje difúzní kontrolní efektorovou kinázu Chk2 (70).

Mutace, které narušují funkci ATM kinázy, způsobují syndrom ataxia-telangiectasia (A-T). Syndrom A-T způsobuje cerebrální degeneraci, imunodeficitu a zvýšenou sensitivitu vůči ionizujícímu záření (71).

Přecitlivělost pacientů trpících A-T syndromem vůči ionizujícímu záření poukazuje na ATM kinázu, jako na možný vhodný cíl pro radiosenzibilizaci a chemosenzibilizaci v léčbě rakoviny. Jedny z prvních léčiv testovaných jako radiosenzibilizátory nádorových buněk byly kofein a wortmannin (72).

Zhang a kol. prezentovali výsledky testů ozařování buněk hepatocelulárního karcinomu (MHCC97H) za použití kofeinu jako radiosenzibilizátoru. 48 hodin po ozáření dávkou 16Gy vstoupilo do apoptózy 32,3% buněk senzitivizovaných kofeinem, v kontrastu k tomu u buněk, kde nebyl kofein přidáván, do apoptózy vstoupilo pouze 19,4%. Vzestup dávky záření vedl k vzestupu buněk zastavených v G2/M fázi. Po ozáření celkovou dávkou 16Gy byl, po 12ti hodinové inkubaci 37,6% buněk v G2/M fázi, v případě přidání kofeinu počet buněk v G2 fázi klesl na 29,6%. Ačkoli fosforylace CDC2 Tyr15 vzrostla, po zástavě v G2/M fázi indukované ozářením, kofein potlačil expresi CDC2 Tyr15. Kofein zvyšuje radiosenzitivitu

rakovinových buněk s mutací p53 hlavně prostřednictvím abrogace radiačně indukovaného zastavení G2/M fáze potlačením fosforylace CDC2 Tyr15 (73).

Rosenzweig a kol. porovnali radiosenzibilizační účinky wortmanninu a dalšího PI3-K inhibitoru, LY294002, v lidských nádorových buňkách SW480. Oba dva inhibitory prokázali své radiosenzibilizační účinky v nádorových buňkách. Wortmannin ale prokázal signifikantní účinky až při koncentraci 20 μ M a více. Studie hladin exprese DNA-závislé protein kinázy (DNA-PK) ukázaly, že zatímco v expresi proteinu Ku nenastali signifikantní změny, byla výrazně snížena exprese DNA-PK katalytické podjednotky (DNA-PKcs) v kulturách ošetřených wortmanninem s použitím protilátky proti C-terminální oblasti DNA-PKcs. Navíc nebylo pozorováno žádné snížení hladin exprese DNA-PKcs u buněk ošetřených wortmanninem za použití protilátky, která rozpozná střední oblast tohoto velkého proteinu. Tyto výsledky spolu s výsledky souvisejících studií naznačují, že wortmannin radiosenzibilizuje zdravé lidské buňky inhibicí opravy DSB a že tato inhibice je důsledkem inaktivace kinázové aktivity a/nebo strukturální změny způsobené vázáním wortmanninu na C-terminální oblast DNA-PKcs (74).

Ačkoli tedy byly na základě těchto a dalších studií potvrzeny radiosenzibilizační účinky kofeinu a wortmanninu, bylo dále zjištěno, že inhibují mnohé z členů rodiny PI3K kináz, a jsou tedy značně nespecifické, což by vedlo k vysoké toxicitě in vivo.

V poměrně nedávné době bylo vyvinuto několik specifických inhibitorů ATM, KU-55933, CP466722, KU-60019 a KU-559403. Zatímco první tři z těchto látek vykazaly vysokou specifitu a účinnost in vitro, vykazaly špatnou biologickou dostupnost in vivo; tudíž nejsou příliš perspektivní pro klinické podávání. Použití těchto léků však objasnilo princip radiosenzibilizace pomocí inhibice fosforylace ATM.

Hickson a kol. prokázali, že KU-55933 významně senzibilizuje buňky, jak vůči ionizujícímu záření, tak i vůči chemoterapeutickým látkám, jako etoposid, doxorubicin a kamptothecin. Buněčná inhibice ATM pomocí KU-55933 byla prokázána ablací ionizujícím zářením indukované fosforylace řady cílů ATM, včetně p53, gammaH2AX, NBS1 a SMC1. KU-55933 neprokázal inhibici účinků buněčné fosforylace indukované poškozením UV zářením DNA. Inhibice ATM pomocí KU-55933 zrušila ionizujícím zářením vyvolané zastavení buněčného cyklu. Naproti tomu KU-55933 nezesilovala cytotoxické účinky ionizujícího

záření v buňkách trpících syndromem A-T, což potvrdilo ATM specifitu tohoto inhibitoru (75).

Další optimalizace struktury vedla k vývoji inhibitoru ATM druhé generace KU-60019.

Studie skupiny Vecchio a kol. prokázala radiosenzibilizující účinky KU-60019 in vitro při aplikaci přímo do nádoru buňky glioblastomu, v in vivo podání dále také výrazně radiosenzibilizoval xenotransplantáty gliomů u myší (76).

Jak ve své studii uvedli Batley a kol., KU-559403 je první specifický inhibitor ATM, který vykazuje dobrou rozpustnost a dobré tkáňovou distribuci nezbytnou pro in vivo použití. KU-59403 v in vitro testech účinně chemosenzibilizoval buňky rakoviny tlustého střeva v koncentraci 1 μM . Při této koncentraci inhiboval KU59403 nárůst aktivity ATM v buňkách o 50%. Vykázal tedy stejnou účinnost, jako jeho předchůdce KU55933, avšak při nižší koncentraci, která by umožňovala klinické využití tohoto inhibitoru. Samotný KU-59403 neměl vliv na růst nádoru, ale významně zvýšil cytotoxicitu látek kamptothecinu, etoposidu a doxorubicinu. V testech in vivo zvýšil KU55933 protinádorovou efektivitu kamptothecinu a irinotekanu u xenoimplantátů karcinomu tlustého střeva u myší. Na rozdíl od jiných inhibitorů ATM, senzitivní účinek KU-59403 na růst xenograftů karcinomu tlustého střeva nebyl ve výsledcích závislý na stavu p53 (77).

KU-59403 se zdá být vhodným kandidátem pro budoucí klinické testy.

14.5 Možnosti využití ATR kináz

ATR se aktivuje v reakci na perzistentní jednovláknovou DNA (ssDNA), která je meziproduktem vytvořeným během detekce a opravy poškození DNA. Jednovláknová DNA se vyskytuje v případě zastavení replikačních vidlic a jako meziprodukt v cestách pro opravu DNA. V případě dvojitých zlomů (DSB) DNA jsou tyto zlomy zpracovávány během fáze S a G2 endonukleázami Mre11 a CtIP do takzvaných jednovláknových 3'přesahů. Excise DSB konců zahajuje jak reparaci DNA homologní rekombinací, tak aktivaci dráhy ATR. Odhalená ssDNA je označena pomocí RPA. ATR spolupracuje s partnerským proteinem ATRIP, ATR-ATRIP komplex poté rozpozná jednovláknovou DNA právě pomocí RPA. To vede k akumulaci ATR v místě poškození DNA. ATR katalytická aktivita je dále potencována svou interakcí s TopBP1, která je na místě léze navázána buď komplexem 9-1-1, proteinem RHINO, nebo jeho přímou interakcí s MDC1 (78). ATR-ATRIP komplex interaguje a fosforyluje adaptorový protein claspin, který směřuje aktivitu ATR směrem k Chk1. ATR poté fosforyluje C-terminální regulační doménu Chk1 (68).

Vzhledem k důležitosti funkce ATR bylo očekáváno, že farmakologická inhibice ATR nemusí být dobře tolerována *in vivo*. Nicméně několik nedávných studií demonstrovalo, že rakovinné buňky (především buňky p53 negativní nebo mutované) mohou být výrazně citlivější na částečnou inhibici ATR ve srovnání se zdravými buňkami. Zvýšená citlivost na hypomorfni snížení ATR byla pozorována u sarkomů exprimujících aktivní formy H-ras^{G12V}, MLL-ENL řízené akutní myeloidní leukémii a c-MYC řízeného lymfomu. Bylo zjištěno, že nadměrná exprese H-ras^{G12V}, K-rasG12D a Myc některých nádorových buněk způsobuje větší závislost genomové stability na kináze ATR (78). Dále se zjistilo, že zvýšená senzitivita nádorových buněk k částečné redukci ATR nastala bez ohledu na mutaci p53, což naznačuje, že inhibice ATR by mohla být účinná také u onkogenem transformovaných nádorů s poškozenou aktivitou p53 (79).

Mohni a kol. prezentovali výsledky pokusu účinku kombinace ATR inhibitorů a cisplatinu v nádorových střevních buňkách HTC-116. ATR inhibitory (ATR1) vykazali synergii s cisplatinou při zabíjení buněk rakoviny tlustého střeva, což naznačuje, že by tato kombinace mohla být dále terapeuticky využita (80).

VE-821 byl prvním potentním specifickým inhibítozem ATR, který byl schopný zrušit kontrolní bod G2/M a snížil přežití různých typů rakovinných buněčných linií po radioterapii nebo léčbě chemoterapeutiky včetně cisplatin, etoposidu, gemcitabinu, neokarzinostatinu a kamptothecinu.

Šalovská a kol. publikovali výsledky fosfoproteomické analýzy radiosenzibilizace lidských buněk leukemie HL-60 pomocí inhibítozu VE-821. Získaná data indikovala, že ATR kináza má v reakci na poškození DNA v celém buněčném cyklu řadu úloh. Kombinace ionizujícího záření a léčby VE-821 snížila fosforylacii kontrolní kinázy Chk-1 na Ser345. Inhibítozu VE-821 se projevil jako silné činidlo pro radiosenzibilizaci p53 negativních HL-60 buněk (81).

Vávrová a kol. dále porovnali účinky inhibítozu VE-821 s účinky ATM inhibítozu KU55933 v radiosenzibilizaci buněk HL-60. Inhibice ATR kinázy specifickým inhibítozem VE-821 vedla k výraznějšímu radiosenzibilizujícímu účinku v testovaných nádorových buňkách HL-60, ve srovnání s inhibicí ATM kinázy s inhibítozem KU55933. Na rozdíl od inhibítozu KU55933, léčba VE-821 zabránila zastavě buněčného cyklu v G2 kontrolním bodu u těchto nádorových buněk (82).

Blízký analog VE-821, nazvaný VE-822 (alternativně VX-970) prokázal vysoké radiosenzibilizující a chemosenzibilizující účinky u buněk rakovinu pankreatu.

Fokas a kol. uvedli výsledky testů radiosenzibilizace a chemosenzibilizace buněk ductálního pankreatického adenokarcinomu pomocí VE-822 inhibítozu. VE-822 inhiboval ATR v in vitro i v in vivo podání u myši. VE-822 snížil udržovací funkci kontrolních bodů buněčného cyklu, zvýšil trvalé poškození DNA a snížil počet homologních rekombinací u ozářených rakovinných buněk. VE-822 snížil úroveň přežití buněk rakoviny pankreatu po ozáření či chemoterapii gemcitabinem, neměl však vliv na úroveň přežití buněk zdravých. VE-822 výrazně prodloužil prodlevu růstu xenograftů karcinomu pankreatu po chemo-radiaci, aniž by senzibilizoval zdravé tkáně (83).

VE-822 také projevil schopnost potencovat účinek cisplatin u primárních buněk lidského plicního karcinomu in vitro a v xenograftech.

Hall a kol. uvedli, že VE-822 (pod jiným označením VX-970) výrazně senzibilizoval velký podíl buněčné linie plicního karcinomu a panel primárního nádoru in vitro pro řadu chemoterapeutických léčiv. In vivo VE-822 blokoval ATR aktivitu v nádorových buňkách a dramaticky zvýšil účinnost cisplatin u xenoimplantátů plicních rakovinových buněk (84).

Další třídou silných a specifických ATR inhibitorů je AZ20 a jeho analog AZD6738, s lepší rozpustností a farmakodynamikou.

Foote a kol. uvedli, že AZ20 inhiboval ATR imunoprecipitovaný z HeLa nukleárních extraktů a ATR zprostředkovanou fosforylaci Chkl v nádorových buňkách kolorektálního adenokarcinomu HT29 (85).

Jak AZD6738, tak VE-822 jsou v současné době testovány v klinických studiích.

15 ZÁVĚR

Výsledky literárních studií prokazují význam protonového ozáření v radioterapii nádorů pankreatu. Výhodou protonového ozáření oproti konvenčnímu ozáření fotony je jeho vlastnost předávat většinu energie v úzce definované oblasti zvané „Braggův peak“. Tato vlastnost umožňuje rozložení dávky, které je výrazně šetrnější ke zdravím tkáním okolo ozařovaného nádoru, což je v případě ozařování nádorů pankreatu, vzhledem k uložení tohoto orgánu, významnou výhodou. Největší přínos by mohlo ozařování protony přinést v neoadjuvantní terapii. Neoadjuvantní ozáření umožňuje zmenšení objemu původně inoperabilního nádoru natolik, aby jej bylo schopné operovat. Zároveň snižuje riziko diseminace při operaci a riziko výskytu pozitivních markerů resekcí okrajů. V případě ozáření fotony je využití neoadjuvantní terapie kontroverzní, jelikož zářením indukovaná toxicita okolních tkání způsobuje komplikace při resekcím výkonu. Radioterapie protony problém radiační toxicity výrazně snižuje. Mohla by se tak stát do budoucna standardem léčby, obzvláště v případě neoadjuvantní radioterapie.

Jako nejúčinnější cílená léčba, ke zvýšení efektu radioterapie i chemoterapie se ukázalo využití inhibitorů ATR kináz. Především u mutovaných forem karcinomu pankreatu, inhibitory ATR kináz jako jsou AZD6738 a VE-822 prokázali schopnost cíleně radiosenzibilizovat nádorové buňky a zároveň neovlivňovat zdravé buňky. Inhibitory ATR kináz mají potenciál v použití u pacientů trpících karcinomem pankreatu a jsou v současné době testovány v klinických studiích.

1. Anatomy and Histology of the Pancreas [online] [cit. 2017-01-02] Dostupný z WWW: <http://jpck.zju.edu.cn/jcyxjp/files/ge/05/MT/0521.pdf>
2. Miloš Grim, Rastislav Druga. Základy anatomie 3. Galén 2005; 978-80-7262-302-0.
3. Miroslav Souček, kolektiv a, Jindřich Špinar, Petr Svačina. Vnitřní lékařství pro stomatology. Grada 2005; 80-247-1367-5.
4. Mačák Jirka a kolektiv. Patologie - 2. Vydání. Grada 2012; 978-80-247-3530-6.
5. Schiller WR, Suriyapa C, Anderson MC. A review of experimental pancreatitis. J Surg Res 1974; 16:69-90.
6. Acosta JL, Ledesma CL. Gallstone migration as a cause for acute pancreatitis. N Engl J Med 1974; 190:484-487.
7. Bureš, Jan, Horáček, Jiří. Základy vnitřního lékařství. 1 vyd. Praha: Galén-Karolinum 2003; 80-246-0673-9.
8. Zdravotnická ročenka České republiky 2005. ÚZIS ČR, 2006; 80-7280-652-1.
9. Jemal A, Murray T, Samuels A, Ghafoor A, Ward E, Thun MJ. Cancer Statistics 2003. CA Cancer J Clin 2003; 53: 5–26.
10. MUDr. Jan Hlavsa a kol. Nádory pankreatu. Med. Pro Praxi 2008; 5(10): 388–392.

11. Talamini G, Falconi M, Bassi C, Sartori N, Salvia R, Caldiron E, et al. Incidence of cancer in the course of chronic pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1253–1260.
12. Schneider G, Siveke JT, Eckel F, Schmid RM. Pancreatic cancer: basic and clinical aspects. *Gastroenterology* 128(6):1606-1625, 2005.
13. Zavoral, M. Epidemiologie karcinomu pankreatu [online] [cit.10.2002] Dostupné z: <http://www.hpb.cz/index.php?pId=02-1>
14. Thosani N, Thosani S, Qiao W, Fleming JB, Bhutani MS, Guha S. Role of EUS-FNA-based cytology in the diagnosis of mucinous pancreatic cystic lesions: A systematic review and meta-analysis. *Dig Dis Sci.* 2010; 55:2756–66.
15. MUDr. J. Novák, MUDr. F. Beška, CSc. TNM klasifikace zhoubných novotvarů. Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky, Praha, 2004; 80-7280-391-3.
16. MUDr. Jana Halámková, Ph.D. a kol., Současné možnosti léčby karcinomu slinivky břišní [online] 20.6.2010, poslední aktualizace 20.6.2010 [cit. 2017-04-08] Dostupný z WWW:

http://www.remedia.cz/Clanky/Farmakoterapie/Soucasne-moznosti-lecby_karcinomu-slinivky-brisni/6-L-Zt.magarticle.aspx
17. ŠLAMPA, Pavel. Radiační onkologie v praxi. 3. aktualiz. vyd. Brno: Masarykův onkologický ústav, 2011. ISBN 978-80-86793-19-1.

18. Vyzula Rostislav, Ondřej Sláma a kol.: Klinická onkologie pro mediky: solidní nádory a nádory dětského věku. Multimediální podpora výuky klinických a zdravotnických oborů: Portál Lékařské fakulty Masarykovy univerzity [online] 19.9.2016, poslední aktualizace 10.10.2016 [cit. 2017-05-04] Dostupný z WWW:

<http://portal.med.muni.cz/clanek-661-klinicka-onkologie-pro-mediky-solidni-nadory-a-nadory-detskeho-veku.html> ISSN 1801-6103.
19. Yovino S, Poppe M, Jabbour S, David V, Garofalo M, Pandya N, Alexander R, Hanna N, Regine WF. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2011 Jan 1;79(1):158-62.
20. Nabavizadeh N, Simeonova AO, Waller JG, Romer JL, Monaco DL, Elliott DA, Tanyi JA, Fuss M, Thomas CR Jr, Holland JM. *Med Dosim.* 2014 Autumn;39(3):256-60.
21. Hajj C, Goodman KA. Pancreatic cancer and SBRT: a new potential option? *Rep Pract Oncol Radiother.* 2015;20(5):377–3 84.
22. Koong AC, Christofferson E, Le QT, Goodman KA, Ho A, Kuo T, Ford JM, Fisher GA, Greco R, Norton J, Yang GP. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005 Oct 1;63(2):320-3.
23. Burris HA 3rd, Moore MJ, Andersen J, et al: Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 15:2403-2413, 1997.
24. Berlin JD, Catalano P, Thomas JP, et al: Phase III study of gemcitabine in combination with fluorouracil versus gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic carcinoma: Eastern Cooperative Oncology Group Trial E2297. *J Clin Oncol* 20:3270-3275, 2002.

25. Herrmann R, Bodoky G, Ruhstaller T, et al: Gemcitabine plus capecitabine compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer: A randomized, multicenter, phase III trial of the Swiss Group for Clinical Cancer Research and the Central European Cooperative Oncology Group. *J Clin Oncol* 25:2212-2217, 2007.
26. Louvet C, Labianca R, Hammel P, et al: Gemcitabine in combination with oxaliplatin compared with gemcitabine alone in locally advanced or metastatic pancreatic cancer: Results of a GERCOR and GISCAD phase III trial. *J Clin Oncol* 23:3509-3516, 2005.
27. Sultana A, Smith CT, Cunningham D, et al: Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer. *J Clin Oncol* 25:2607-2615, 2007.
28. Protonová terapie [online] 29. 10. 2014, poslední aktualizace 5. 1. 2017 [cit. 2017-04-12] Dostupný z WWW: <http://www.wikiskripta.eu/index.php?oldid=366706>
29. Pedroni E.: Latest Developments In Proton Therapy. Proceedings of the European Particle Accelerator Conference, Vienna, Austria. 2000; 240-244.
30. Hsiung-Stripp DC, McDonough J, Masters HM, Levin WP, Hahn SM, Jones HA, Metz JM. Comparative treatment planning between proton and X-ray therapy in pancreatic cancer. *Med Dosim* 2001; 26: 255-259.
31. Thompson RF, Mayekar SU, Zhai H, Both S, Apisarnthanarax S, Metz JM, Plastaras JP, Ben-Josef E. A dosimetric comparison of proton and photon therapy in unresectable cancers of the head of pancreas. *Med Phys* 2014; 41: 081711.

32. Nichols RC, George tJ, Zaiden RA, Awad Zt, Asbun HJ, Huh S, Ho MW, Mendenhall NP, Morris CG, Hoppe BS. Proton therapy with concomitant capecitabine for pancreatic and ampullary cancers is associated with a low incidence of gastrointestinal toxicity. *Acta Oncol* 2013; 52: 498-505.
33. Sachsman S, Nichols RS, Morris CG, Zaiden R, Johnson EA, Awad Z, Bose D, Ho MW, Huh SN, Li Z, Kelly P, Hoppe BS. Proton therapy and Concomitant Capecitabine for Non-Metastatic Unresectable Pancreatic Adenocarcinoma. *Int J Particle Ther* 2014; 1: 692-701.
34. MUDr. L. Hynková, MUDr. H. Doleželová, Ph.D., prof. MUDr. P. Šlampa, CSc.: Radioterapie - učební texty pro studenty 5. roč. LF MU [online] poslední aktualizace 5. prosince 2016 [cit. 2017-04-04] Dostupný z WWW: <https://m.mou.cz/radiacni-onkologie-ucebni-text-pro-studenty-5-roc-lf-mu-brno/t2068>
35. Laurence JM, Tran PD, Morarji K, Eslick GD, Lam VW, Sandroussi C. A systematic review and meta-analysis of survival and surgical outcomes following neoadjuvant chemoradiotherapy for pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg.* 2011;15:2059–2069.
36. Nichols RC, Morris CG, Bose D, Hughes SJ, Stauffer JA, Celinski SA, Martin RC, Johnson EA, Zaiden RA, Rutenberg MS. Feasibility of pancreatectomy after high dose proton therapy for unresectable pancreatic cancer. *Int J Particle Ther.* 2014;1:767–768.
37. MM Corsini, RC Miller, MG Haddock, etal: Adjuvant radiotherapy and chemotherapy for pancreatic carcinoma: The Mayo clinic experience (1975–2005) *J Clin Oncol* 26: 3511– 3516,2008.

38. Klinkenbijnl JH, Jeekel J, Sahmoud T, van Pel R, Couvreur ML, Veenhof CH, Arnaud JP, Gonzalez DG, de Wit LT, Hennisman A, Wils J.: Adjuvant radiotherapy and 5-fluorouracil after curative resection of cancer of the pancreas and periampullary region: phase III trial of the EORTC gastrointestinal tract cancer cooperative group, *Ann Surg.* 1999 Dec;230(6):776-82.
39. John P. Neoptolemos, M.D., Deborah D. Stocken, M.Sc., Helmut Friess, M.D., Claudio Bassi, M.D., Janet A. Dunn, M.Sc., Helen Hickey, B.Sc., Hans Beger, M.D., Laureano Fernandez-Cruz, M.D., Christos Dervenis, M.D., François Lacaine, M.D., Massimo Falconi, M.D., Paolo Pederzoli, M.D., Akos Pap, M.D., David Spooner, M.D., David J. Kerr, M.D., and Markus W. Büchler, M.D., A Randomized Trial of Chemoradiotherapy and Chemotherapy after Resection of Pancreatic Cancer *N Engl J Med* 2004; 350:1200-1210.
40. Pelin Cinar, MD, MS, Vincent J. Picozzi, MD.: Adjuvant Therapy of Pancreas Cancer: Have We Raised The Bar? [online] January 22, 2016 [cit. 2017-03-04] Dostupný z WWW: <http://gicasym.org/adjuvant-therapy-pancreas-cancer-have-we-raised-bar>
41. Oettle H, Neuhaus P, Hochhaus A, Hartmann JT, Gellert K, Ridwelski K, Niedergethmann M, Zülke C, Fahlke J, Arning MB, Sinn M, Hinke A, Riess H.: Adjuvant chemotherapy with gemcitabine and long-term outcomes among patients with resected pancreatic cancer: the CONKO-001 randomized trial., *JAMA.* 2013 Oct 9;310(14):1473-81.
42. Neoptolemos JP, Stocken DD, Bassi C, Ghaneh P, Cunningham D, Goldstein D, Padbury R, Moore MJ, Gallinger S, Mariette C, Wente MN, Izbicki JR, Friess H, Lerch MM, Dervenis C, Oláh A, Butturini G, Doi R, Lind PA, Smith D, Valle JW, Palmer DH, Buckels JA, Thompson J, McKay CJ, Rawcliffe CL, Büchler MW.: Adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid vs gemcitabine following pancreatic cancer resection: a randomized controlled trial., *JAMA.* 2010 Sep 8;304(10):1073-81.

43. House MG, Choti MA. Palliative therapy for pancreatic/biliary cancer. *Surg Clin North Am* 2005; 85: 359–371.
44. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell*. 2000;103:211–25.
45. Kuriyan J, Cowburn D. 1997. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 26:259–88.
46. Schenk PW, Snarr-Jagalska BE. Signal perception and transduction: the role of protein kinases. *Biochim Biophys Acta*. 1999;1449:1–24.
47. Lemmon MA, Ferguson KM. 1998. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 228:39–74.
48. Heldin CH. 1995. *Cell* 80:213–23.
49. Baxter RM, Secrist JP, Vaillancourt RR, Kazlauskas A. 1998. *J. Biol. Chem.* 273: 17050–55.
50. TonksNK, NeelBG. 1996. *Cell* 87:365–68.
51. Yarden Y, Sliwkowski MX. Untangling the ErbB signalling network. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2001;2:127–37.
52. Xiong HQ, Abbruzzese JL.: Epidermal growth factor receptor-targeted therapy for pancreatic cancer, *Semin Oncol.* 2002 Oct;29(5 Suppl 14):31-7.

53. Ritter CA, Arteaga CL. The epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase: a promising therapeutic target in solid tumors. *Semin Oncol.* 2003;30(Suppl 1):3–11.
54. Mendelsohn J, Baselga J. Epidermal growth factor receptor targeting in cancer. *Semin Oncol.* 2006;33:369–85.
55. Moore MJ, Goldstein D, et al. Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol.* 2007;25:1960–6.
56. Epelbaum R, Gluzman SJ, et al. 2007Erlotinib as a single-agent therapy in patients with advanced pancreatic cancer ASCO 2007 Gastrointestinal Cancers SymposiumAbstr 202.
57. Ioka T, Okusaka T, Ohkawa S, Boku N, Sawaki A, Fujii Y, Kamei Y, Takahashi S, Namazu K, Umeyama Y, Bycott P, Furuse J.: Efficacy and safety of axitinib in combination with gemcitabine in advanced pancreatic cancer: subgroup analyses by region, including Japan, from the global randomized Phase III trial. *Jpn J Clin Oncol.* 2015 May;45(5):439-48.
58. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol.* 2002;20:4368–80.
59. Niedergethmann M, Hildenbrand R, et al. High expression of vascular endothelial growth factor predicts early recurrence and poor prognosis after curative resection for ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Pancreas.* 2002;25:122–9.

60. Kindler HL, Niedzwiecki D, Hollis D, Sutherland S, Schrag D, Hurwitz H, Innocenti F, Mulcahy MF, O'Reilly E, Wozniak TF, Picus J, Bhargava P, Mayer RJ, Schilsky RL, Goldberg RM. Gemcitabine plus bevacizumab compared with gemcitabine plus placebo in patients with advanced pancreatic cancer: phase III trial of the Cancer and Leukemia Group B (CALGB 80303). *J Clin Oncol*. 2010; 1;28(22):3617-22.
61. Thomas SM, Brugge JS. Cellular functions regulated by Src family kinases. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 1997;13:513–609.
62. Ito H, Gardner-Thorpe J, Zinner MJ, Ashley SW, Whang EE.: Inhibition of tyrosine kinase Src suppresses pancreatic cancer invasiveness. *Surgery*. 2003 Aug;134(2):221-6.
63. Ciccio A, Elledge SJ 2010. The DNA damage response: Making it safe to play with knives. *Mol Cell* 40: 179–204.
64. Bartkova J., Horejsi Z., Koed K., Kramer A., Tort F., Zieger K., Guldborg P., Sehested M., Nesland J.M., Lukas C., et al. DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature*. 2005;434:864–870.
65. Castedo M., Perfettini J.L., Roumier T., Andreau K., Medema R., Kroemer G. Cell death by mitotic catastrophe: A molecular definition. *Oncogene*. 2004;23:2825–2837.
66. Zhou B.B., Bartek J. Targeting the checkpoint kinases: Chemosensitization versus chemoprotection. *Nat. Rev. Cancer*. 2004;4:216–225.
67. Bakkenist CJ, Kastan MB 2003. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature* 421: 499–506.

68. Ball HL, Cortez D 2005. ATRIP oligomerization is required for ATR-dependent checkpoint signaling. *J Biol Chem* 280: 31390–31396.
69. Lee J.H., Paull T.T. Activation and regulation of ATM kinase activity in response to DNA double-strand breaks. *Oncogene*. 2007;26:7741–7748.
70. Ahn J.Y., Schwarz J.K., Piwnica-Worms H., Canman C.E. Threonine 68 phosphorylation by ataxia telangiectasia mutated is required for efficient activation of Chk2 in response to ionizing radiation. *Cancer Res*. 2000;60:5934–5936.
71. McKinnon P. J. Ataxia-telangiectasia: an inherited disorder of ionizing radiation sensitivity in man. *Hum. Genet.*, 75: 197-208, 1987.
72. Jan Benada, Libor Macourek.: Targeting the Checkpoint to Kill Cancer Cells. *Biomolecules*. 2015 Sep; 5(3): 1912–1937.
73. Shu-Min Zhang, Zhao-Chong Zeng, and Zhao-You Tang. *Journal of Caffeine Research*. April 2011, 1(1): 59-65.
74. Rosenzweig KE, Youmell MB, Palayoor ST, Price BD.: Radiosensitization of human tumor cells by the phosphatidylinositol3-kinase inhibitors wortmannin and LY294002 correlates with inhibition of DNA-dependent protein kinase and prolonged G2-M delay. *Clin Cancer Res*. 1997 Jul;3(7):1149-56.

75. Hickson I., Zhao Y., Richardson C.J., Green S.J., Martin N.M., Orr A.I., Reaper P.M., Jackson S.P., Curtin N.J., Smith G.C. Identification and characterization of a novel and specific inhibitor of the ataxia-telangiectasia mutated kinase ATM. *Cancer Res.* 2004;64:9152–9159.
76. Vecchio D., Daga A., Carra E., Marubbi D., Baio G., Neumaier C.E., Vagge S., Corvo R., Brisigotti M.P., Ravetti J.L., et al. Predictability, efficacy and safety of radiosensitization of glioblastoma-initiating cells by the ATM inhibitor KU-60019. *Int. J. Cancer.* 2014;135:479–491.
77. Batey M.A., Zhao Y., Kyle S., Richardson C., Slade A., Martin N.M., Lau A., Newell D.R., Curtin N.J. Preclinical evaluation of a novel ATM inhibitor, KU59403, in vitro and in vivo in p53 functional and dysfunctional models of human cancer. *Mol. Cancer Ther.* 2013;12:959–967.
78. Kumagai A., Dunphy W.G. Repeated phosphopeptide motifs in claspin mediate the regulated binding of Chk1. *Nat. Cell Biol.* 2003;5:161–165.
79. Schoppy D.W., Ragland R.L., Gilad O., Shastri N., Peters A.A., Murga M., Fernandez-Capetillo O., Diehl J.A., Brown E.J. Oncogenic stress sensitizes murine cancers to hypomorphic suppression of ATR. *J. Clin. Investig.* 2012;122:241–252.
80. Mohni K.N., Thompson P.S., Luzwick J.W., Glick G.G., Pendleton C.S., Lehmann B.D., Pietenpol J.A., Cortez D. A synthetic lethal screen identifies DNA repair pathways that sensitize cancer cells to combined ATR inhibition and cisplatin treatments. *PLoS ONE.* 2015;10:e0125482.

81. Salovska B., Fabrik I., Durisova K., Link M., Vavrova J., Rezacova M., Tichy A. Radiosensitization of human leukemic HL-60 cells by ATR kinase inhibitor (VE-821): Phosphoproteomic analysis. *Int. J. Mol. Sci.* 2014;15:12007–12026.
82. Vavrova J., Zarybnicka L., Lukasova E., Rezacova M., Novotna E., Sinkorova Z., Tichy A., Pejchal J., Durisova K. Inhibition of ATR kinase with the selective inhibitor VE-821 results in radiosensitization of cells of promyelocytic leukaemia (HL-60) *Radiat. Environ. Biophys.* 2013;52:471–479.
83. Fokas E., Prevo R., Pollard J.R., Reaper P.M., Charlton P.A., Cornelissen B., Vallis K.A., Hammond E.M., Olcina M.M., Gillies McKenna W., et al. Targeting atr in vivo using the novel inhibitor VE-822 results in selective sensitization of pancreatic tumors to radiation. *Cell Death Dis.* 2012;3:e441.
84. Hall A.B., Newsome D., Wang Y., Boucher D.M., Eustace B., Gu Y., Hare B., Johnson M.A., Milton S., Murphy C.E., et al. Potentiation of tumor responses to DNA damaging therapy by the selective ATR inhibitor VX-970. *Oncotarget.* 2014;5:5674–5685.
85. Foote K.M., Blades K., Cronin A., Fillery S., Guichard S.S., Hassall L., Hickson I., Jacq X., Jewsbury P.J., McGuire T.M., et al. Discovery of 4-{4-[(3R)-3-Methylmorpholin-4-yl]-6-[1-(methylsulfonyl)cyclopropyl]pyrimidin-2-yl}-1H-indole (AZ20): A potent and selective inhibitor of ATR protein kinase with monotherapy in vivo antitumor activity. *J. Med. Chem.* 2013;56:2125–2138.