

Darovací smlouva
dle § 2055 a násl. zákona č. 89/2012 Sb. občanského zákoníku

Dárce:

Název instituce: Liga proti rakovině Praha z.s.
Zastoupená: MUDr. Michaelou Fridrichovou – předsedkyní spolku
Adresa: Na Truhlářce 100/60, 180 81 Praha 8
IČO: 00571555
DIČ: CZ00571555
Bankovní spojení: [redacted]
Registrace: Městský soud v Praze, oddíl L, spis. zn. 2370

Obdarovaný:

Krajská zdravotní a.s.
Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem
Odd. hrudní chirurgie
Sídlo: Sociální péče 3316/12A, 401 13 Ústí nad Labem
Zastoupená: Ing. Petrem Flalou – generálním ředitelem společnosti
IČO: 25488627
DIČ: CZ25488627
Bankovní spojení: [redacted]
Číslo bankovního účtu: [redacted]

Uzavírají tuto smlouvu:

I.

Dárce poskytne peněžní dar z výtěžku sbírky Českého dne proti rakovině ve výši 400.000,- Kč (slovy čtyřstatisícikorunčeských).
Projekt: Vliv operační techniky karcinomu plic na diseminaci cirkulujících nádorových buněk
[redacted]

II.

Obdarovaný je právnickou osobou se sídlem na území České Republiky.

III.

Obdarovaný tento dar přijímá a použije jej k účelu, uvedeném v čl. I. této smlouvy. V případě, že dar nebude použit obdarovaným na účel uvedený v bodu I., vyhrazuje si dárce právo na navrácení daru v plné výši.

IV.

Peněžní dar bude vyplacen převodem na výše uvedený účet do 14 dnů po uzavření smlouvy. Obdarovaný podpisem této smlouvy potvrzuje její platnost.

V.

Obě strany se zavazují, že budou o daru účtovat ve svém účetnictví v souladu s touto smlouvou.

VI.

Obdarovaný potvrzuje, že poskytovaná částka souhlasí s přiloženým rozpisem rozpočtu výdajů. Obdarovaný je povinen sledovat použití finančních prostředků v členění podle tohoto rozpočtu a o čerpání podat zprávu do 1 roku od podpisu smlouvy. Součástí zprávy musí být členěná účetní sestava podle jednotlivých položek tohoto rozpočtu včetně přiložených kopií dokladů o uskutečněných nákladech.

VII.

Obdarovaný se zavazuje uvádět u publikací, že práce byla finančně podporována Ligou proti rakovině Praha a u investic označit štítkem, že nákup byl umožněn s podporou Ligy proti rakovině Praha.

VIII.

Tato smlouva je vyhotovena ve dvou originálech, přičemž každá smluvní strana obdrží jedno vyhotovení. Smlouva nabývá platnosti dnem podpisu obou smluvních stran a podléhá povinnému uveřejnění podle z. č. 340/2015 Sb., o registru smluv.

V Praze, dne 13 -11- 2017

Ing. [redacted]

[redacted]
Krajská zdravotní a.s.
Sociální péče 3316/12A
Ústí nad Labem
25488627
CZ25488627

[redacted]
LIGA PROTI RAKOVINĚ PRAHA z.s.
180 82 Praha 8, Na Truhlářce 100/60
tel.: 224 919 732
<http://www.lpr.cz> email: lpr@lpr.cz

1. Název projektu: **Vliv operační techniky karcinomu plic na diseminaci cirkulujících nádorových buněk**

Rešitelské pracoviště:

Krajská zdravotní a.s.- Masarykova nemocnice v Ústí nad Labem
Oddělení Hrudní Chirurgie

Sociální péče 3316/12A
40113 Ústí nad Labem

Spoluřešitelské pracoviště:

Fakultní nemocnice Královské Vinohrady
ÚLD – Oddělení laboratorní genetiky

Šrobárova 50, 100 97 Praha 10.

5. Stručná charakteristika projektu a realizační výstup

Viz příloha č.1

6. Stupeň rozpracování projektu, případně kopie publikací

Řešitelé a spoluřešitel mají zkušenosti s detekcí cirkulujících nádorových buněk (CTCs) u epitelálních i mezenchymálních nádorů. Oddělení hrudní chirurgie MNÚL je nadregionálním centrem pro chirurgickou léčbu karcinomu plic. Klinika zajistí dostatek vhodných pacientů pro zařazení do studie. Laboratoř ve FNKV je schopna jako jediná v ČR nejen detekovat a separovat, ale také kultivovat izolované CTCs *in vitro* (Viz příloha č. 2). Úspěšně byly provedeny izolace a *in vitro* kultivace u prvních pacientů s karcinomem plic.

7. Je projekt podporován i z jiných zdrojů?

Není podporován z jiných zdrojů

8. Návrh na výši finanční podpory a jejího využití

600 000 Kč (100 % dlouhodobá investice do vybavení videotorakoskopickými instrumenty). Finanční podpora poslouží k dovybavení Odd. hrudní chirurgie o sofistikované nástroje, které po skončení řešení grantu budou dále sloužit léčbě pacientů. Náklady na molekulárně – biologickou analýzu CTC budu hrazeny z rozpočtu Odd. laboratorní genetiky.

9. Jaká minimální částka pomůže při řešení projektu?

400 000 Kč

10. Bankovní spojení a přesné číslo bankovního účtu

████████████████████

11. Prohlášení žadatele, že publikace a souhrny přednášek budou označeny větou „Práce byla finančně podpořena grantem Ligy proti rakovině Praha “ a případně zakoupené investiční předměty budou označeny nápisem „ Zakoupeno za finančního přispění Ligy proti rakovině Praha “.

Viz příloha č.3

12. Prohlášení žadatele, že bude do roka od přidělení finanční podpory podána stručná zpráva o získaných výsledcích výzkumu, případně budou předloženy publikace a bude předložen přehled o čerpání finančních prostředků.

Viz příloha č.4

13. Datum odeslání žádosti: 28.7.2017

████████████████████

████████████████████

Vliv operační techniky karcinomu plic na diseminaci cirkulujících nádorových buněk

Cíl: Porovnat vliv videoasistované torakoskopické chirurgie (VATS) a konvenční thorakotomie na hladinu (počet) cirkulujících nádorových buněk (CTC) u pacientů s nemalobuněčným karcinomem plic (NSCLC).

Hypotéza: Menší nárůst počtu cirkulujících nádorových buněk (CTC) bude pozorován u pacientů operovaných přístupem VATS než u pacientů léčených konvenční torakotomií. Snížení počtu CTC pooperačně může zlepšit dlouhodobé přežití u pacientů s NSCLC.

Videoasistovaná hrudní chirurgie (VATS) se během posledních dvou desetiletí výrazně rozvinula. Bylo prokázáno, že VATS-resekcí plic u ranných stadií nemalobuněčného karcinomu plic (NSCLC) mají za následek sníženou pooperační bolest, menší pooperační dysfunkci plic, kratší hospitalizaci a lepší toleranci pacienta k adjuvantní chemoterapii ve srovnání s pacienty, kteří podstoupili torakotomii (Ng CS, Lau KK, 2013).

Několik nedávných studií zaznamenalo dokonce zlepšení dlouhodobého přežití u těch, kteří podstoupili resekci plic VATS v časně fázi NSCLC v porovnání s otevřenou technikou. Navíc minimální invazivní přístup podporuje také pooperační funkci imunitního systému pacientů, což vede k vyššímu výskytu cirkulujících NK-buněk a T buněk, k oxidační aktivitě T buněk a k hladinám imunochemokinů po VATS v porovnání s torakotomií.

Zda se rozdíly v imunologických a biochemických parametrech post-VATS významně podílejí na zlepšení klinických výsledků po resekci plicních resekcí plic ve vztahu k rakovině plic, je třeba dále zkoumat. Budoucí studie se budou muset zabývat také tím, zda snížená přístupová trauma z pokročilých hrudních chirurgických technik, jako je jednorázový VATS, může dále zeslabit pooperační zánětlivou odezvu.

V rámci sledování parametrů objektivně hodnotitelných po resekci plic, navrhujeme testování výskytu přítomnosti CTC peroperačně, perioperační i postoperačně.

Cirkulující nádorové buňky (CTC) reprezentují systémovou fázi lokalizované maligní nemoci a jejich výskyt můžeme standardně hodnotit v rámci procesu, který spadá do kategorie tekutých biopsí (tzv. liquid biopsy). Identifikace CTC a jejich odlišení od krevních elementů, zejména leukocytů je možné pomocí fyzikálních (např. hustota či velikost) a/nebo biologických vlastností CTC (např. exprese epitelových znaků jako jsou EpCAM nebo cytokeratiny). Typizace CTC je dále obvykle kompletována pomocí cytomorfoloického hodnocení (hematologické, fluorescenční barvení), imunohistochemie, kvantitativní PCR a mutační analýzy.

Odlišení nemocných s vysokým rizikem relapsu nemoci je klíčovým bodem pro indikaci dalších léčebných postupů, jako např. adjuvantní chemoterapie. CTC jsou relativně průkazným prognostickým markerem u většiny primárních tumorů. Víme také, že cirkulující a diseminované nádorové buňky (DTC) jsou markerem nezávislým na standardních prognostických parametrech. Testování CTC může být přínosné nejen pro stanovení prognózy a predikce recidivy nemoci, ale také pro predikci léčebné odpovědi.

Klinické využití CTC musí být doloženo klinickými studiemi. Monitorace CTCs v čase před a po chirurgickém zákroku ve vztahu k rozsahu a typu chirurgického zákroku může přiblížit mechanismy rezistence nemoci a pomoci odhalit potenciální cíle terapeutického snažení.

Pravděpodobnost uvolnění CTC do krve pravděpodobně souvisí s agresivitou primární nemoci. Standardní patologické vyšetření primárního nádoru se jeví nedostatečné pro stavení rizika relapsu onemocnění. Víme, že odstranění primární nádorové hmoty není dostačující k zajištění vyléčení pacienta. CTC vyšetření není zatím standardní součástí klinické praxe, ale víme, že monitorování CTC- přítomnosti by mohlo předpovědět relaps nádoru dlouho před vytvořením sekundárních nádorových ložisek. Prognóza metastatického onemocnění je špatná.

Cílem navrhované studie je detekce a stanovení počtu CTC u nemocných s NSCLC vzhledem na typ proběhlého chirurgického zákroku (VATS vs. TORAKOTOMIE) a dále v různých fázích terapie (adjuvantní či paliativní) po chirurgickém zákroku.

Studie popisující výskyt CTC post-VATS vs. post. TORAKOTOMIE zjistila menší nárůst CTC v periferní krvi postoperačně u VATS- výkonů. (Huang HB, Ge MJ et al 2016). Dále je známo, že chirurgický zákrok mobilizuje nádorové buňky do plicní žíly spolu s mnoha normálními

epiteliálními buňkami. Přesně vyčíslit počet uvolněných nádorových buněk nebylo možné, když byl pro detekci CTC použitý jenom EpCAM- marker (Yao X et al. 2014). Proto stavíme detekci CTC v naší studii na kombinování cytomorfoloogické a molekulární analýzy s využitím celého spektra tumor- asociovaných markerů.

Metodika: V plánované studii budou CTC identifikovány na základě separace založené na velikosti buněk, která je následována krátkodobou *in vitro* inkubací (3- 5 dnů) v kombinaci s cytomorfoloogickou anlyzou. Cytomorfoloogická analýza se opírá a zhodnocení buněčných parametrů na úrovni vitální fluorescenční mikroskopie a je dále doplněna analýzou molekulární. Molekulární analýza zahrnuje detekci genové exprese pomocí kvantitativní polymerázové řetězové reakce. Geny, které budou testovány patří do skupiny genů asociovaných s tumorem (TA) a genů spojených s chemorezistencí (CHR) nádorového onemocnění. Výstupem vyšetření CTC je počet nádorových buněk identifikovaných v objemu periferní krve (obvykle 6-8ml) odebraném v daném čase a taky seznam exprimovaných genů ze skupiny TA a CHR. Analýza genové exprese probíhá porovnáním genové exprese ve vzorcích periferní krve (leukocytární frakce) a ve vzorcích CTC- obohacené frakce (Kološtová K et al. 2016).

Data, které byly aktuálně publikována naší výzkumní skupinou (Bielčíková Z et al. 2017) podporují význam typizace CTC v průběhu léčby nemoci. Vlastnosti CTC zpravidla nekorelují s klinicko-patologickými parametry a dynamicky se mění v čase.

CTC mohou poskytnout užitečné prognostické a prediktivní informace v algoritmu rozhodování se o další léčbě. Abychom odpověděli na otázku, zda přítomnost CTC může předpovědět pacientovu prognózu a predikovat efektivitu terapie, musíme se zeptat:

1. Je výskyt (počet) CTC rozdílný u pacientů s NSCLC, u kterých byl a nebyl primární tumor odstraněn?
2. Je výskyt (počet) CTC rozdílný u pacientů s NSCLS, u kterých byl primární tumor odstraněn pomocí VATS vs. TORAKOTOMIE?

3. Jak se liší CTC uvolněné do krevního oběhu během chirurgického zákroku VATS vs. TORAKOTOMIE na molekulární úrovni (porovnání genové exprese pro skupiny genů asociovaných s kmenovými buňkami a s metastatickým potenciálem) ?

4. Může včasná indikace aditivní léčby (nad rámec standardů adjuvantní terapie) u pacientů s trvale zvýšeným počtem CTC zlepšit výsledek celkového přežití pacienta s NSCLC?

5. Jsou CTC uvolněné do krevního oběhu během chirurgického zákroku VATS vs. TORAKOTOMIE odlišné?

6. Jsou CTC uvolněné do krevního oběhu během chirurgického zákroku schopné indukovat růst metastáz (testování in vitro proliferační kapacity) ?

7. Jsme schopni identifikovat rozdíl mezi CTC, které růst metastáz indukují vs. neindukují?

