



Germinatívne nádory testes - model vyliečiteľnej malignity

MUDr. Michal Chovanec, PhD.

2. onkologická klinika LFUK, Národný onkologický ústav, Bratislava

Úvod

Onkologický výskum a jeho priaznivé dopady na liečbu germinatívnych nádorov testis (GCT) je výnimočným príkladom dosiahnutia život zachraňujúcich výsledkov v medicíne. GCT boli pred objavením kuratívnej systémovej liečby považované za smrteľné ochorenie, na ktoré zomierali mladí muži v produktívnom veku od 20 do 40 rokov života.⁽¹⁾ Mladí muži zomierajúci na toto ochorenie strácajú 35–50 rokov života, čo je o niekoľko dekád viac, ako u iných solídnych malígnych ochorení. Diagnóza metastatickej choroby pred viac ako 50 rokmi znamenalo 90% riziko úmrtia v priebehu jedného roka a jej liečbu sprevádzali pokusy o agresívne chirurgické resekcie metastatických lokalít, radiačnú liečbu či málo úspešné pokusy o chemoterapiu.⁽²⁾ Dnes sú GCT medzi solídnyimi malignitami najviac chemosenzitivné a kurbilné nádory s dlhodobým prežívaním všetkých pacientov viac ako 95%.⁽²⁾

Vývoj a obraty v liečbe GCT

Tento zásadný obrat je dôsledkom viacerých výskumných krokov. Objav cytotoxických účinkov cisplatinu Rosenbergom v roku 1965 bol prvým a náhodným objavom pri štúdiu vplyvu elektrického prúdu na motilitu *Escherichia coli* v roztoku počas elektrolyzy s použitím platínových elektród. Rosenberg a spol. pozorovali inhibíciu bunkového delenia baktérií, čo viedlo k sérii ďalších experimentov na hľadavčích modeloch rôznych typov malignít, kde bola popísaná protinádorová aktivita cisplatinu.⁽³⁾ Úvodné klinické experimenty, ktoré vykonal Hill a spol v roku 1971 ukázali sľubnú protinádorovú aktivitu u rôznych typov nádorov.⁽⁴⁾ V roku 1974 bola následne publikovaná štúdia fázy I z Roswell Parku, New York, USA, kde u 11 liečených pacientov s GCT autori pozorovali liečebnú odpoveď u 9 pacientov.⁽⁵⁾ Toxicita liečby cisplatinou však bola v týchto štúdiách na hranici akceptovateľnosti (závažná nefrotoxicita, eméza, neurotoxicita a ďalšie) a Food and Drug Administration (FDA) v USA takmer cisplatinu zakázala v ďalšom klinickom skúšaní. V roku 1974 však skupina klinických výskumníkov vedená profesorom Lawrencom Einhornom z Indiana University v USA modifikovala liečbu cisplatinou a priniesla kombinačnú schému s vinblastínom a bleomycínom (PVB), ktorá radikálne zmenila prognózu tejto smrteľnej choroby.⁽⁶⁾ Uskutočnenie niekoľkých ďalších štúdií fáz II a randomizovaných štúdií fáz III nakoniec viedli k vylepšeným a optimalizovaným režimom chemoterapie podľa tohto modelu, a sú dodnes liečebným štandardom u GCT.⁽⁷⁾ Výskumné a klinické úspechy u tejto choroby sú postavené na výskumných princípoch zo 60–80 rokov 20. storočia, kedy bola organizačná

kontrola výskumu podstatne miernejšia a vedecké hypotézy často výrazne empirické. Veda v medicíne od tohto obdobia prekonala podstatný vývoj vpred a dnešná koncepcia objavovania nových liekov a liečebných metód je prepracovanejšia, systematickejšia a náročnejšia.

Biologická povaha GCT a úskalia efektivity nových liekov

Chemoterapia v liečbe testikulárnych GCT neprináša univerzálne vyliečenie všetkých pacientov. Napriek liečebným úspechom ostáva toto ochorenie neliečiteľné u časti pacientov s relapsom ochorenia po úvodnej liečbe. Dvadsať až tridsať percent pacientov po prvej línii liečby relabuje.^(8,9) Následná záchranná chemoterapia môže vyliečiť len 20–60% z nich v závislosti od charakteristik ochorenia.^(10–12) Väčšie pokroky v liečbe GCT však dlho neprichádzali od zavedenia záchranných režimov chemoterapie, ktoré boli uvedené do klinickej praxe pred 20–30 rokmi. Liečba solídnych nádorov dnes zažíva významné pokroky biologickou liečbou a renesanciou v imunoterapii. Stojíme teda pred zložitou otázkou, prečo u GCT napriek úvodným pokrokom meniacim prognózu ochorenia z neliečiteľného na takmer univerzálne vyliečiteľné za posledných 20 rokov nedochádzalo k významnejšiemu posunu. Odpoveď treba hľadať v komplexnosti a zásadných odlišnostiach v biológii GCT. Dnes vieme, že testikulárne nádory zo zárodočných buniek majú svojráznu molekulárnu povahu, kde chýbajú jednoznačné “driver” mutácie v konvenčnom ponímaní patogenézy malignít. Počet mutácií v tkanive GCT je extrémne nízky v porovnaní s inými solídnyimi nádormi.⁽¹³⁾ Napriek tomu že doteraz boli objavené mutácie v génoch KIT, KRAS a NRAS u malej skupiny pacientov a takmer výlučne so seminómom, tieto nemožno nájsť u všetkých histologických podtypov GCT. Na podklade doteraz publikovaných prác hodnotiacich expresné profily GCT sa zdá, že GCT podliehajú komplikovanej polygénovej patogenéze.^(14–16) Pri nevýraznej mutačnej záťaži u týchto nádorov vyniká ich epigenetická mapa. Podtypy GCT sa vyznačujú rôznym stupňom metylácie DNA na génových promotóroch od výrazne hypometylovaných seminómov, cez mierne až stredne metylované embryonálne karcinómy a hypermetylované nádory žltkového vaku a teratómy.⁽¹⁷⁾ Hypermetylované GCT sú chemorezistentné a jej zvrátenie demetyláciou by mohol byť jeden z faktorov, ktoré dokážu GCT navrátiť chemosenzitivitu.⁽¹⁸⁾ Ukazuje sa, že epigenetická signalizácia sprostredkovaná krátkymi nekódujúcimi úsekmi RNA (mikroRNA) má taktiež úlohu v patogenéze GCT. Hľadania klastrov mikroRNA371-373 veľmi citlivo poukazuje na prítomnosť GCT a má významnú prognostickú hodnotu.^(19–21)

Nové biomarkery a súčasné pokroky v liečbe GCT

Odlišná biológia GCT je teda dôležitým markerom neúčinnosti moderných cielených liekov, ktoré sú efektívne naprieč spektrom ďalších malignít. Naše vedomosti o mole-

kulárnej biológii GCT sa však neustále rozširujú. Biomarkery, ktoré by pomohli lepšie stratifikovať prognózu pacientov a tak optimalizovať ich v liečbe, prichádzali za posledných 20 rokov len sporadicky. Výskumné úsilie našej skupiny viedlo k popísaniu viacerých biomarkerov, ktoré napomáhajú k lepšej identifikácii pacientov s dobrou, intermediárnou a zlou prognózou. Cieľom dnešnej translačnej medicíny je systematicky kombinovať laboratórny a klinický výskum, kde dokážeme identifikovať podstatné klinické problémy, adresovať hypotézy a v laboratórnych podmienkach ich overovať. Takto eskalované výskumné úsilie nakoniec nachádza aplikáciu v investigátorom iniciovaných klinických štúdiách, ktoré sú postavené na experimentálnych predklinických dátach. Takto je možné eliminovať vysokú mylnosť čisto empirického výskumu. Rýchlosť poklesu sérových onkomarkerov alfafetoproteínu a choriongonadotropínu po prvom cycle chemoterapie sú citlivým ukazovateľom prognózy GCT.⁽²²⁾ U pacientov s nepriaznivým poklesom onkomarkerov sme preto iniciovali a zahájili štúdiu fázy II s použitím záchranného režimu chemoterapie paclitaxel, ifosfamid a cisplatin (TIP). U GCT sme v nádorovom tkanive identifikovali zvýšenú expresiu PARP1, enzýmu zodpovedného za opravu DNA.⁽²³⁾ Na podklade týchto dát na našom pracovisku prebieha klinická štúdia fázy II, kde testujeme PARP inhibitor veliparib v kombinácii s chemoterapiou u refraktérnych pacientov s GCT. V prácach Cierna a kol. a Chovanec a kol. sme publikovali zistenia o bohatej expresii ligandu programovanej bunkovej smrti 1 (PD-L1) v nádorovom tkanive a v tumor infiltrujúcich lymfocytoch a popísali sme ich silnú koreláciu s prognózou pacientov.^(24, 25) Dáta zistené uvedenými translačnými štúdiami viedli k zahájeniu klinickej štúdie fázy II s liečbou anti-PD-L1 protilátkou avelumabom (NCT03403777). Úzky vplyv imunity a patogenézy GCT tiež

podčiarkuje prognostická hodnota systémového zápalového indexu⁽²⁶⁾ a zvýšená expresia betakatenínu, ktorá je asociovaná s poruchami imunitnej nádorovej infiltrácie a môže súvisieť s rezistenciou na imunoterapiu.⁽²⁷⁾

Neskorá toxicita kuratívnej liečby

Významná chemosenzitivita a rádiosenzitivita vedú k vyliečeniu stúpajúceho počtu pacientov s GCT. Celosvetovým trendom v dnešnej klinickej onkológii je skúmanie dlhodobých nežiaducich prejavov kuratívnej liečby pacientov po vyliečení malignity. Ukázalo sa, že preživší vyliečení z GCT môžu trpieť kardiovaskulárnymi ochoreniami, zvýšeným rizikom sekundárnych malignít, ototoxicitou, periférnou neuropatiou, renálnou toxicitou, infertilitou, hypogonadizmom a ďalšími.^(28, 29) Súčasťou nášho výskumného úsilia je identifikácia neskorkej toxicity liečby našich pacientov, kde sme publikovali zistenia o poruchách kognície⁽³⁰⁾, sexuálnych funkcií⁽³¹⁾ a kvality života našich pacientov.⁽³²⁾ Cieľom tohto výskumu je identifikovať molekulárne mechanizmy vzniku neskorkej toxicity a následne jej prevencia a liečba.

Záver

Germinatívne nádory testis je malignita, ktorá ponúka viaceré fascinujúce perspektívy, od výnimočnej chemosenzitivity s vysokou kurabilitou, cez model pre skúmanie neskorkej toxicity a rezistencie na chemoterapiu, objavovanie nových biomarkerov a liečebných cieľov a následne realizáciou klinických štúdií na podklade dát generovaných zo systematického translačného výskumu. Takýmto cieľným úsilím je možné identifikovať kritické problémy v klinickej praxi a následne ich riešiť metódami laboratórneho výskumu. Konečným cieľom je objavenie nových liečebných stratégií pre vyliečenie našich pacientov a zlepšenie ich kvality života.

Použitá literatúra

- Einhorn LH. Treatment of testicular cancer: a new and improved model. *J Clin Oncol* 1990; 8: 1777-1781.
- Hanna N, Einhorn LH. Testicular cancer—discoveries and updates. *N Engl J Med* 2014; 371: 2342.
- Rosenberg B, Vancamp L, Krigas T. Inhibition of Cell Division in *Escherichia Coli* by Electrolysis Products from a Platinum Electrode. *Nature* 1965; 205: 698-699.
- Khan A, Hill JM. Inhibition of lymphocyte blastogenesis by platinum compounds. *J Surg Oncol* 1971; 3: 565-567.
- Hill JM, Speer RJ. Organo-platinum complexes as antitumor agents (review). *Anticancer Res* 1982; 2: 173-186.
- Einhorn LH, Donohue J. Cis-diamminedichloroplatinum, vinblastine, and bleomycin combination chemotherapy in disseminated testicular cancer. *Ann Intern Med* 1977; 87: 293-298.
- Oldenburg J, Fossa SD, Nuver J et al. Testicular seminoma and non-seminoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2013; 24 Suppl 6: vi125-132.
- Einhorn LH. General Motors Cancer Research Prizewinners Laureates Lectures. Charles F. Kettering Prize. Clinical trials in testicular cancer. *Cancer* 1993; 71: 3182-3184.
- Motzer RJ, Geller NL, Tan CC et al. Salvage chemotherapy for patients with germ cell tumors. The Memorial Sloan-Kettering Cancer Center experience (1979-1989). *Cancer* 1991; 67: 1305-1310.
- Motzer RJ, Sheinfeld J, Mazumdar M et al. Paclitaxel, ifosfamide, and cisplatin second-line therapy for patients with relapsed testicular germ cell cancer. *J Clin Oncol* 2000; 18: 2413-2418.
- Mardiak J, Salek T, Sycova-Mila Z et al. Paclitaxel plus ifosfamide and cisplatin in second-line treatment of germ cell tumors: a phase II study. *Neoplasia* 2005; 52: 497-501.
- Einhorn LH, Williams SD, Chamness A et al. High-dose chemotherapy and stem-cell rescue for metastatic germ-cell tumors. *N Engl J Med* 2007; 357: 340-348.
- Chovanec M, Cheng L, Laplanche A et al. Molecular characterization of testicular germ cell tumors: chasing the underlying pathways. *Future Oncol* 2019; 15: 227-229.
- Brabrand S, Johannessen B, Axcróna U et al. Exome sequencing of bilateral testicular germ cell tumors suggests independent development lineages. *Neoplasia* 2015; 17: 167-174.
- Litchfield K, Loveday C, Levy M et al. Large-scale Sequencing of Testicular Germ Cell Tumour (TGCT) Cases Excludes Major TGCT Predisposition Gene. *Eur Urol* 2018; 73: 828-831.
- Rajpert-De Meyts E, Skotheim RI. Complex Polygenic Nature of Testicular Germ Cell Cancer Suggests Multifactorial Aetiology. *Eur Urol* 2018; 73: 832-833.
- Shen H, Shih J, Hollern DP et al. Integrated molecular characterization of testicular germ cell tumors. *Cell Rep* 2018; 23: 3392-3406.
- Albany C, Hever-Jardine M, von Herrmann KM et al. Refractory testicular germ cell tumors are highly sensitive to the second generation DNA methylation inhibitor guadecitabine. *Oncotarget* 2017; 8: 2949-2959.
- Dieckmann KP, Radtke A, Spiekermann M et al. Serum Levels of MicroRNA miR-371a-3p: A Sensitive and Specific New Biomarker for Germ Cell Tumours. *Eur Urol* 2017; 71: 213-220.
- Mego M, Van Agthoven T, Gronosova P et al. Clinical utility of plasma miR-371a-3p in testicular germ cell tumors. *J Clin Oncol* 2018; 36: e16540.
- Mego M, van Agthoven T, Gronosova P et al. Clinical utility of plasma miR-371a-3p in germ cell tumors. *J Cell Mol Med* 2019; 23: 1128-1136.
- Fizazi K, Pagliaro L, Laplanche A et al. Personalised chemotherapy based on tumour marker decline in poor prognosis germ-cell tumours (GETUG 13): a phase 3, multicentre, randomised trial. *Lancet Oncol* 2014; 15: 1442-1450.
- Mego M, Cierna Z, Svetlovská D et al. PARP expression in germ cell tumours. *J Clin Pathol* 2013; 66: 607-612.
- Cierna Z, Mego M, Miskovská V et al. Prognostic value of programmed-death-1 receptor (PD-1) and its ligand 1 (PD-L1) in testicular germ cell tumors. *Ann Oncol* 2016; 27: 300-305.
- Chovanec M, Cierna Z, Miskovská V et al. Prognostic role of programmed-death ligand 1 (PD-L1) expressing tumor infiltrating lymphocytes in testicular germ cell tumors. *Oncotarget* 2017; 8: 21794-21805.
- Chovanec M, Cierna Z, Miskovská V et al. Systemic immune-inflammation index in germ-cell tumours. *Br J Cancer* 2018; 118: 831-838.
- Chovanec M, Cierna Z, Miskovská V et al. betacatenin is a marker of poor clinical characteristics and suppressed immune infiltration in testicular germ cell tumors. *BMC Cancer* 2018; 18: 1062.
- Chovanec M, Abu Zaid M, Hanna N et al. Long-term toxicity of cisplatin in germ-cell tumor survivors. *Ann Oncol* 2017; 28: 2670-2679.
- Fung C, Fossa SD, Williams A, Travis LB. Long-term Morbidity of Testicular Cancer Treatment. *Urol Clin North Am* 2015; 42: 393-408.
- Chovanec M, Vasilikova L, Setteyova L et al. Long-Term Cognitive Functioning in Testicular Germ-Cell Tumor Survivors. *Oncologist* 2018; 23: 617-623.
- Chovanec M, Vasilikova L, Setteyova L et al. Long-term sexual functioning in germ-cell tumor survivors. *Journal of Clinical Oncology* 2018; 36: 549-549.
- Chovanec M, Vasilikova L, Petrikova L et al. Quality of life issues in long-term testicular germ cell tumor survivors. *Journal of Clinical Oncology* 2018; 36: e22107-e22107.