

Význam onkomarkerů u testikulárních nádorů

MUDr. Aneta Rozsypalová

Onkologická klinika 1. LF UK a TN, Praha

Nádorové markery (onkomarkery) mají u nádorů varlat naprosto specifické postavení. Uplatňují se jak při stanovení diagnózy, tak i v následném léčebném postupu – klasifikace nádoru, zařazení do prognostické skupiny a v neposlední řadě jsou součástí poléčebného sledování a časného zachytu relapsu onemocnění. Mezi běžně využívané markery patří α -fetoprotein (AFP), lidský choriogonadotropin (hCG), laktát dehydrogenáza (LDH). Úskalím těchto markerů je, že nemají 100% senzitivitu a specificitu, existuje mnoho dalších příčin, které mohou vést k jejich elevaci. Proto se hledají markery nové. Největší naději vzbuzují studie se zaměřením na detekci nekódující RNA a volně cirkulující DNA (tekutá biopsie).

Klíčová slova: testikulární nádory, nádorové markery, α -fetoprotein, lidský choriogonadotropin, laktát dehydrogenáza, nekódující RNA, volná nádorová DNA.

Role of tumor markers in testicular cancer

Serum tumor markers (oncomarkers) play critical role in diagnosis, staging, risk stratification and prognosis of patients with testicular tumors. They are useful as an important index to monitor during the therapy and then aids in the early detection of disease recurrence. Common testicular cancer tumor markers are α -fetoprotein (AFP), human chorionic gonadotrophin (hCG), lactate dehydrogenase (LDH). The limitation of these markers is sensitivity and specificity. There are many other conditions that can cause elevation of these markers. Because of that new markers are finding, the biggest potential have studies based on detection of non-coding RNAs and cell-free circulating DNA.

Key words: testicular germ cell tumours, tumor markers, α -fetoprotein, human chorionic gonadotrophin, lactate dehydrogenase, non-coding RNAs, cell-free circulating DNA.

Epidemiologie

Zhoubné nádory varlat představují asi 1,5–2 % zhoubných malignit u mužů. Až 70 % je diagnostikováno ve věkové kategorii 20–40 let. Incidence má v průběhu let vzestupný charakter, dochází k vzestupu především nádorů ve stadiu I, mortalita má spíše sestupný charakter. Dle dostupných informací Národního onkologického registru za rok 2015 byla incidence 8,66/100 000 obyvatel, mortalita 0,51/100 000 obyvatel. Významný vzestup je v industrializovaných zemích. Nejvyšší incidence v roce 2008 v rámci celosvětového srovnání byla v Norsku a Dánsku. Česká republika obsadila 7. místo (1).

Jedná se o onemocnění, které má vysoce kurebilní potenciál, a to i ve značně pokročilých stádiích.

Nádorové markery

Nádorové markery jsou látky, které jsou produkovány nádorovými buňkami nebo buňkami nenádorovými jako odpověď na přítomnost nádoru. Lze je najít v krvi, moči nebo přímo ve tkáni. Zvýšené hladiny markeru mohou indikovat nádor, ale mohou být zvýšené i z jiného důvodu (2).

Některé z doposud využívaných markerů byly produkovány a měly významnou roli ve fetálním období vývoje (onkofetální markery). Mezi takové patří i některé markery využívané u tumorů testis.

Hladina daného markeru bývá stanovována nejčastěji v krvi, případně v moči, a to opakovaně. Pravidelná monitorace hladin onkomarkerů slouží nejen k diagnostice nádorového onemocnění (jeden z faktorů diagnostiky), ale uplatňuje

se i dále – monitorace odpovědi na podávanou protinádorovou léčbu, v rámci dispenzarizace pacienta po absolvované léčbě k časné diagnostice relapsu onemocnění.

Doposud nebyl nalezen takový marker, který by byl 100% senzitivní a specifický pro konkrétní nádorové onemocnění. Stále mohou nastat situace, kdy jsou hladiny markeru zvýšené i z nenádorové příčiny. Proto je dominantní role onkomarkerů nadále zejména ve sledování aktivity onemocnění během léčby a následné dispenzarizace.

Nádorové markery u testikulárních tumorů a jejich specifické postavení

Mezi základní onkomarkery využívané u nádorů varlat patří:



KORESPONDENČNÍ ADRESA AUTORA:

MUDr. Aneta Rozsypalová, aneta.rozsypalova@ftn.cz

Onkologická klinika 1. LF UK a TN Praha, Vídeňská 800, 140 59 Praha 4

Cit. zkr: Urol. praxi 2018; 19(4): 172–175

Článek přijat redakcí: 16. 4. 2018

Článek přijat k publikaci: 11. 7. 2018

α -fetoprotein (AFP), lidský choriogonadotropin (hCG), laktát dehydrogenáza (LDH).

AFP – α -fetoprotein

U fétu je produkován strukturami žlutkového váčku, v játrech a střevu a slouží jako hlavní vazebná bílkovina. Vrcholné hladiny je dosaženo kolem 12.–14. týdne gestace s postupným poklesem do 1 roku života. V rámci germinálních nádorů je AFP primárně produkován nádory ze žlutkového váčku, v menším množství se objevuje i u embryonálního karcinomu, případně teratomu. U čistého choriokarcinomu a seminomu by AFP mělo být v mezích normy.

V případě, že je zjištěna elevace AFP u čistého seminomu, je téměř jistá přítomnost nese-minomové složky a pacienti by měli být léčeni jako při diagnóze nonseminomu, bez ohledu na původní histologii.

Poločas AFP je 5–7 dnů.

Příklady dalších příčin elevace AFP: nádorové: hepatocelulární karcinom, (ca žaludku, pankreatu, žlučových cest), nenádorové: virové hepatitidy, cirhóza, hereditární tyrosinémie, ataxia telangiectazia, polékové: antiepileptika, anestetika (3).

hCG – lidský choriogonadotropin (konkrétně je využívána β podjednotka)

Je produkován nečastěji choriokarcinomem. V případě nonseminomů bývá jeho pozitivita až ve 40–60 %. Hladina může být ojediněle zvýšená i u seminomů. Poločas β hCG je 24–36 hodin. Normalizaci hCG po orchiektomii očekáváme do 4–6 dnů. V případě, že přetrvává zvýšená hladina, je nutné pomýšlet na přítomnost rezidua.

Příklady dalších příčin elevace hCG: nádorové: ca prsu, (ca žlučníku, jater, pankreatu), nenádorové: hypogonadismus, užívání marihuany (3).

LDH – laktát dehydrogenáza

Laktát dehydrogenáza je enzym produkováný ve svalech, játrech, ledvinách, mozku. Je značně nespecifický a je využíván hlavně jako „doplňkový“ marker. Odráží zejména velikost nádorové masy a představuje nepříznivý prognostický faktor. Je málo specifický a zvýšená hladina se objevuje až u 80 % pokročilých stadií. U testikulárních nádorů bývá nejčastěji zvýšená izoforma LDH-1.

Příklady dalších příčin elevace LDH: hemolýza, muskuloskeletální postižení, poškození myokardu, plicní embolie, leukémie, perniciozní anémie, thalassemie (3).

Tab. 1. TNM klasifikace zhoubných novotvarů (5)

S	Sérové nádorové markery				
SX	Hladiny sérových nádorových markerů nejsou k dispozici				
S0	Hladiny sérových nádorových markerů jsou v mezích normálních hodnot				
	LDH		β -hCG (mIU/ml)		AFP (ng/ml)
S1	$< 1,5 \times N$	a	< 5000	a	< 1000
S2	$1,5-10 \times N$	nebo	$5000-50000$	nebo	$1000-10000$
S3	$> 10 \times N$	nebo	> 50000	nebo	> 10000

N označuje horní hranici normálu pro LDH

Tab. 2. Prognostické schéma podle IGCCCG (6)

Seminomy	
Příznivá prognóza	Kterákoliv primární lokalizace, kromě plic bez viscerálních metastáz
Intermediární prognóza	Jakákoliv primární lokalizace s viscerálními metastázami (jinými než plicními)
Nepříznivá prognóza	Není
Neseiminomy	
Příznivá prognóza	Primárně ve varleti/retroperitoneu a bez viscerálních metastáz (kromě plicních) a následující hodnoty nádorových markerů: AFP $< 1000 \mu\text{g/ml}$, HCG $< 5000 \text{ IU/l}$ ($1000 \mu\text{g/ml}$) a LDH $< 1,5 \times N$
Intermediární prognóza	Primárně ve varleti/retroperitoneu a bez viscerálních metastáz (kromě plicních) a následující hodnoty nádorových markerů – kterýkoliv z: AFP ≥ 1000 a $\leq 10000 \mu\text{g/ml}$ nebo HCG $\geq 5000 \text{ IU/l}$ a $\leq 50000 \text{ IU/l}$ nebo LDH $\geq 1,5 \times N$ a $\leq 10 \times N$
Nepříznivá prognóza	Primárně v mediastinu nebo viscerální metastázy jiné než plicní nebo následující hodnoty markerů jakékoliv z: AFP $> 10000 \mu\text{g/ml}$ nebo HCG $> 50000 \text{ IU/l}$ ($10000 \mu\text{g/ml}$) nebo LDH $> 10 \times N$

Nádorové markery by měly být kontrolovány vstupně, před zahájením terapie, následně po provedení radikální inguinální orchiektomie. Chirurgická léčba zůstává základem léčby. Orchiektomie by měla být optimálně provedena vždy. Vyjimečně je možné orchiektomii odložit u pacientů vyžadujících okamžitou systémovou léčbu (4). K operativě v dalších lokalitách se často přistupuje až po předchozím chemoterapeutickém zajištění, dle rozsahu a viability reziduální choroby.

Nádorové markery před operací jsou využívány v prognostické klasifikaci – IGCCCG index (viz tab. 2).

Hodnota pooperačních markerů slouží k zařazení do kategorie „S“, která je součástí TNM klasifikace nádorů varlat (tab. 1).

Pokud jsou markery po orchiektomii zvýšené, mělo by se provést jejich opakované vyšetření se zohledněním poločasu jednotlivých markerů – AFP (7 dní), β hCG (3 dny). Kategorie S je založena na nejnižší hodnotě markerů AFP, β hCG po orchiektomii, před zahájením další léčby. LDH je prognostickým markerem zejména u diseminovaného onemocnění. Hodnota markerů je dále sledována i v průběhu léčby, slouží k monitoraci odpovědi na léčbu (5, 6).

Molekulární diagnostika – nové onkomarkery?

Molekulární biologie a diagnostika představují směr, kterým se ubírají poslední výzkumy.

Hledají se specifické charakteristiky nádorů, které by se daly využít jak v diagnostice, tak i v léčbě, hledají se genetické změny a znaky, na které by mohla být zaměřena cílená terapie. V případě nádorů varlat šlo především o snahu odhalit změny související s platinovou rezistencí, vysokým rizikem relapsu a špatnou prognózou (7). Zdá se, že přelomovým by se mohly stát výzkumy zaměřené na detekci volné nádorové DNA a nekódující RNA (microRNA, piRNA).

„Tekutá biopsie“ volně cirkulující DNA (cfDNA)

Volně cirkulující DNA představuje krátké fragmenty extracelulární DNA, které mohou být přítomny v nízkých koncentracích i v krvi zdravých jedinců. Do oběhu je uvolňována apoptózou, případně nekózou buněk. Zvýšení hladin volné DNA lze pozorovat u patologických stavů jako je zánět, stres, autoimunitní onemocnění a v neposlední řadě i nádorová onemocnění. Výrazné zvýšení cfDNA je především u pokročilých stadií maligních onemocnění, zejména u pacientů s metastázami (8). Nádorově specifická cfDNA je uvolněna nekózou nádorových buněk, jedná se o velké fragmenty DNA, které vytvářejí komplexy a mohou být detekovány pomocí metody PCR. V cfDNA můžeme detekovat nádorově specifické genetické a epigenetické změny, které umožňují odlišení specifické nádorové

rové cfDNA od normální, zdravé cfDNA v krevním oběhu, což ještě navyšuje diagnostickou specifitu ve srovnání s pouhým kvantitativním stanovením celkového množství cfDNA (8). Hladiny cfDNA v plazmě umožňují kontinuálně sledovat minimální reziduální chorobu, určit relaps onemocnění a zahájit včasnou léčbu. Tekutá biopsie (liquid biopsy) by mohla představovat nový minimálně invazivní nástroj v diagnostice různých druhů maligních onemocnění.

Studie J. Ellingera et al byla zaměřená na hodnocení cfDNA u 74 pacientů s testikulárním nádorem (39 seminom, 35 nonseminom a 35 zdravých jedinců). Výsledkem byl signifikantní nárůst cfDNA u pacientů s nádorem ve srovnání se zdravými jedinci (87 % senzitivita, 97 % specifita). Výrazně vyšší hladiny byly prokázány u pacientů s pokročilým onemocněním, ve stadiu III ve srovnání s pacienty stadia I a II (9).

Vysoká senzitivita cfDNA by mohla být nápomocná zejména u pacientů, kteří mají konvenční markery negativní.

Nekódující RNA

MicroRNA (miRNA)

MicroRNA jsou krátké úseky RNA, které neobsahují protein-kódující sekvence, ale regulují expresi protein-kódujících genů. V případě nádorů dochází k dysregulaci miRNA, ta si ale stále zachovává charakteristiky svého buněčného původu. Do krevního oběhu je miRNA uvolňována z nádorových buněk a je možné ji detekovat a kvantifikovat v séru pacienta pomocí PCR (10).

Prvotní studií Murray et al (r. 2011) bylo zjištěno, že miR-371-373 cluster společně s miR-302-367 clustrem jsou overexprimovány u pacientů s germinálními nádory varlat. Výsledky studie byly následně rozšířeny: overexprese byla prokázána bez ohledu na histologický typ (seminom; nonseminom), věk pacienta a lokalitu primárního germinálního nádoru

(gonadální; extragonadální). Změny v expresi miRNA se odehrávají již na úrovni tumoru in situ, jde tedy o časně změny, jejichž detekce by mohla výrazně napomoci v diagnostice časných stadií onemocnění a u nádorů tzv. „marker-negative“, u kterých jsou běžně používané markery často i v rozmezí normálních hodnot (seminom, embryonální karcinom) (11).

V současné době probíhají studie využívající panel čtyř cirkulujících microRNA ze dvou výše zmíněných clusterů, což senzitivitu a specifitu dále navyšuje a mohlo by, snad v blízké budoucnosti, dojít i k začlenění detekce miRNA do léčebných standardů (12).

piRNAs (PIWI-interacting RNAs)

piRNA představuje malé úseky nekódující RNA, které jsou exprimovány zejména v zárodečných liniích. Právě na tuto oblast se zaměřují nejnovější výzkumy, konkrétně na dráhu PIWI/piRNA, která hraje důležitou roli ve spermatogenezi (suprese exprese transpozony a posttranskripční regulace řady genů zodpovídajících za normální spermatogenezi) (13). Deregulace exprese PIWI byla nejdříve popsána u seminomů. Ferreira et al prokázal korelaci mezi hypermetylací PIWI promotoru a ztrátou jejich exprese u testikulárních tumorů ve srovnání se zdravou populací (14).

Aberantní exprese piRNA a PIWI proteinů byla sledována i u dalších tumorů (karcinom prsu, plic, hepatocelulární karcinom atd.) a souvislost s tumorigenezí se jeví velice pravděpodobná a co více, aberantní exprese byla často spojena s agresivnějšími typy nádorů (15).

Závěr

Nádorové markery u tumorů testis mají již dlouhodobě významné postavení. Slouží jednak ke sledování odpovědi na podávanou léčbu, ale své nezastupitelné místo mají už i na samém počátku onemocnění k zařazení pacienta do prognostické skupiny (good risk; poor risk) a dále

k monitoraci onemocnění k co nejčasnější detekci relapsu onemocnění.

Tradičně používané markery mají limitovanou senzitivitu a specifitu. Bývají průkazné zejména u podtypů yolk sac tumor, choriokarcinom, ale např. u čistého embryonálního karcinomu bývají často negativní.

Možnosti molekulární diagnostiky přináší do dlouhodobě stabilních vod onkomarkerů novou vlnu s markery, které se svými vlastnostmi velice blíží „ideálnímu markeru“. Nejbližší k tomu má v tuto chvíli detekce microRNA, kde byla prokázána overexprese u všech maligních germinálních testikulárních tumorů, bez ohledu na věk pacienta, lokalitu nádoru (gonadální; extragonadální) nebo subtyp (seminom, yolk sac tumor nebo embryonální karcinom). miR-371a-3p prokázala nejvyšší senzitivitu a specifitu, a to až 90 %, při použití celého panelu miRNA tato hodnota ještě stoupá (10).

Se zavedením těchto nových markerů do praxe bychom mohli být zase o krok blíže k individualizaci terapie. Lépe bychom rozdělili pacienty do prognostických skupin. Mohli bychom snáze vyčlenit skupinu pacientů s velmi nízkým rizikem relapsu, kteří by nemuseli podstoupit adjuvantní léčbu, a tím tak předejít možným pozdním nežádoucím účinkům chemoterapie. Nebo naopak včas odhalit vysoce rizikové pacienty, kteří by profitovali z co nejrazantnější terapie, která by měla potenciál na dlouhodobou léčebnou odpověď.

V rámci dispenzarizace je hlavní potenciál nových molekul v časně detekci relapsu onemocnění, dříve než dojde k elevaci běžně využívaných markerů, a zejména u skupiny pacientů již od počátku markerů negativních (seminom, embryonální karcinom). Dalším benefitem by mohlo být snížení počtu zobrazovacích vyšetření v rámci dispenzarizace, a tím snížení radiační zátěže pacientů.

Autorka prohlašuje, že zpracování článku nebylo podpořeno žádnou společností.

LITERATURA

1. Dušek L, Mužík J, Kubásek M, et al. Epidemiologie zhoubných nádorů v České republice [online]. Masarykova univerzita 2005, [cit. 2018-6-16]. Dostupné z: <http://www.svod.cz>. Verze 7.0 2007.
2. Springer D, Valík D, Topolcan O. Nádorové markery v klinické praxi [online]. Poslední změna 11. 10. 2013, [cit. 2018-6-16]. Dostupné z: <https://zdravi.euro.cz/clanek/postgraduální-medicína/nádorové-markery-v-klinické-praxi-472484>
3. Milose J, Filson C, Weizer A, et al. Role of biochemical mar-

4. kers in testicular cancer: diagnosis, staging, and surveillance. Open Access Journal of Urology. 2012; 4: 1–8. DOI:10.2147/OAJU.S15063.
5. Novotný J, Vitek P, Klein Z, et al. Onkologie v klinické praxi. Standardní přístupy v diagnostice a léčbě vybraných zhoubných nádorů, 2. vydání, Mladá fronta a.s. 2016: 443.
6. Sobin L, Gospodarowicz M, Wittekind Ch. TNM Klasifikace zhoubných novotvarů. Přeložil a zpracoval Ústav zdravotnických informací a statistiky České republiky 2011: 201–205.

6. Masarykův onkologický ústav. Modrá kniha České onkologické společnosti. Brno Platnost od 1. 3. 2018: 115–119.
7. Boublikova L, Buchler T, Abrahamova J, et al. Molecular biology of testicular germ cell tumors: unique features awaiting clinical application, Crit Rev Oncol Hematol. 2014; 89(3): 366–385. DOI: 10.1016/j.critrevonc.2013.10.001. Epub 2013 Oct 11.
8. Kubacková V, Sedlářiková L, Bešše L, et al. Potenciál volně cirkulující DNA v diagnostice nádorových onemocnění. Klin. Okol 2015; 28(4): 251–259. dx.doi.org/10.14735/amko2015251

9. Ellinger J, Wittkamp V, Albers P, et al. Cell-Free Circulating DNA: Diagnostic Value in Patients With Testicular Germ Cell Cancer. *J Urol.* 2009; 181(1): 363–371. DOI: 10.1016/j.juro.2008.08.118
10. Murray M, Huddart R, Coleman N. The present and future of serum diagnostic tests for testicular germ cell tumours, *Nature Reviews Urology* 2016; 13: 715–725. DOI: 10.1038/nrurol.2016.170
11. Novotny G, Belling K, Bramsen J, et al. MicroRNA expression profiling of carcinoma in situ cells of the testis. *Endocrine-Related Cancer* 2012; 19: 365–379. dx. doi.org/10.1677/ERC-11-0271.
12. Syring I, Bartles J, Holdenrieder S, et al. Circulating serum miRNA (miR-367–3p, miR-371a–3p, miR-372–3p and miR-373–3p) as biomarkers in patients with testicular germ cell cancer. *J. Urol.* 2015; 193: 331–337. DOI:10.1016/j.juro.2014.07.010
13. Gainetdinov I, Skvortsova Y, Kondratieva S, et al. Assessment of piRNA biogenesis and function in testicular germ cell tumors and their precursor germ cell neoplasia in situ. *BMC Cancer.* 2018; 18: 20. DOI:10.1186/s12885-017-3945-6.
14. Ferreira H, Heyn H, Garcia del Muro X, et al. Epigenetic loss of the PIWI/piRNA machinery in human testicular tumorigenesis. *Epigenetics.* 2014; 9(1): 113–118. DOI:10.4161/epi.27237.
15. Chakrabarti J, Mitra S. *Cancer and noncoding RNAs.* Academic press Elsevier Inc. 2018: 131–145. [online]. [cit. 2018-6-16]. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=5Uy-ZDgAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=cancer+and+non-coding+rnas&hl=cs&sa=X&ved=0ahUKWimm6u25tjbAhWRZVAKHaHiBUAQ6AEIjZAA#v=onepage&q=cancer%20and%20noncoding%20rnas&f=false>

KOMENTÁŘ K ČLÁNKU

Urol. praxi 2018; 19(4): 175

Význam onkomarkerů u testikulárních nádorů

MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU, MBA

Urologie – Chirurgické oddělení, Nemocnice Na Homolce, Praha

Diagnostika a léčba zhoubných nádorů varlat má v mnoha ohledech výjimečné postavení nejenom v oblasti urologické onkologie, ale i z hlediska onkologie jako celku. Kromě toho, že nejvíce postihuje jinak zdravé mladé muže, často roste velmi rychle, jsou k dispozici sofistikované léčebné protokoly a existuje velmi účinná a úspěšná léčba, je další velkou výhodou dostupnost látek, které umožňují upřesnit prvotní nálezy, rozhodnout o výběru léčby a zároveň zajistit včasnou diagnostiku perzistence či recidivy nádoru po léčbě. I přes určité nedostatky jsou základní nádorové markery u zhoubných nádorů

varlat základem ve stanovení diagnostického a léčebného postupu u postižených pacientů. V komentovaném článku jsou podrobně popsány základní používané markery a jejich role u jednotlivých histologických typů nádorů, včetně diferenciální diagnostiky. S rozvojem molekulárně genetických metod popsaných v článku se i v této oblasti dostává na scénu vyšetření genetické informace uvolněné z nádorových buněk, které lze zjistit nejen přímo v nádorové tkáni, ale i v krvi. Díky zpřesňování těchto metod a zvyšování jejich dostupnosti lze v budoucnu očekávat jejich větší použití v každodenní praxi. Umožní to ne-

jenom přesnější rozhodování o léčbě a zlepšení prognózy nemocných, ale i snížení jejich zátěže při sledování a zmírnění nežádoucích účinků použité léčby. I když v současnosti nelze stanovit přesnou úlohu nových molekulárně genetických metod u zhoubných nádorů varlat, je pro urology důležité se seznámit s dostupnými možnostmi a jejich použitím v naší praxi.

MUDr. Kamil Belej, Ph.D., FEBU, MBA

Urologie – Chirurgické oddělení

Nemocnice Na Homolce

Roentgenova 2/37, 150 30 Praha 5

kamil.belej@homolka.cz