DOI: 10.26693/jmbs05.03.228

УДК 616.681-006.6-002.18-091-08

Потапов С. М., Горголь Н. І., Плітень О. М., Галата Д. І.

ТЕОРЕТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПЕРСОНАЛІЗОВАНОЇ (ТАРГЕТНОЇ) ТЕРАПІЇ ГЕРМІНОГЕННИХ ПУХЛИН ЯЄЧКА

Харківський національний медичний університет, Україна

pathomorphologist@gmail.com

Незважаючи на досягнення сучасної медицини, захворюваність і смертність при герміногенних пухлинах яєчка мають провідне місце серед онкологічної патології у молодих чоловіків. Однією з багатьох причин незадовільних результатів лікування окремих хворих на герміногенну пухлину яєчка є відсутність персоналізованого підходу, який базується на дослідженнях експресії молекулярно-біологічних маркерів, визначенні факторів прогнозу і тактики лікування захворювання у конкретного пацієнта.

Метою дослідження було теоретичне обґрунтування персоналізованої (таргетної) терапії герміногенних пухлин яєчка на підставі вивчення молекулярно-біологічних маркерів, які характеризують проліферативно-апоптотичні процеси, стан екстрацелюлярного матриксу, міжклітинну адгезію, пухлинний ангиогенез та імунологічні властивості пухлини.

Дослідження виконано на матеріалі 54 спостережень герміногенних пухлин яєчка. Всі пухлини були розподілені за типом гістологічної будови і відповідно до pTNM класифікації. Були сформовані групи: «0» (пухлини стадії $T_1N_0S_0$), «1» (пухлини стадій $T_1N_0S_{0-2}$), «2» (пухлини стадій $T_2N_{1-3}S_{0-2}$), «3» (пухлини стадій $T_3N_{1-3}S_{0-2}$), «4» (пухлини стадій $T_{2-3}N_{0-3}S_{0-2}$). За стандартними імуногістохімічними методиками досліджували експресію маркерів, які характеризують проліферативно-апоптотичні процеси (Ki-67, Vax, Bcl-2 і p53), стан міжклітинної адгезії (E-cadherin і β -catenin), екстрацелюлярного матриксу (MMP-1, MMP-3, MMP-9 і TIMP-1), пухлинний ангиогенез (CD31 і CD34) та імунологічні властивості пухлини (PDL-1).

На підставі проведеного дослідження експресії зазначених маркерів в різних гістологічних типах герміногенних пухлин яєчка та висвітлених в науковій літературі досягнень з тактики таргетної терапії у хворих з пухлинами інших локалізацій, зроблено теоретичне обґрунтування доцільності її проведення у хворих на герміногенних пухлинах яєчка. Висловлені міркування, що в таргетній тера-

пії герміногенних пухлинах яєчка можуть бути застосовані антиангіогенні препарати, препарати, які блокують металопротеїнази та молекули, що відповідають за ділення клітин, а також препарати, що стимулюють апоптоз та видалення мутованих клітин. Серед перспективних мішеней можуть бути і терапевтичні антитіла, які активують протипухлинний імунітет.

Дослідження експресії молекулярно-біологічних маркерів є важливим для більш чіткого ста-діювання онкологічного захворювання і прогнозування виживання хворого. Розробка та вивчення дії сполук для таргетної терапії герміногенних пухлин яєчка є перспективним напрямом сучасної онкології. Є сподівання, що поєднання даних препаратів з традиційними лікарськими стандартами здатне значно підвищити ефективність медикаментозного лікування герміногенних пухлин яєчка.

Ключові слова: герміногенні пухлини яєчка, персоналізована (таргетна) терапія.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи «Вивчення значення молекулярно-біологічних маркерів для прогнозу, лікування і виживання хворих з основними локалізаціями раку», № державної реєстрації 0114U003394.

Вступ. Значне зростання захворюваності на герміногенні пухлини яєчка (ГПЯ) в останні 40 років і той факт, що саме цей різновид неоплазії є найчастішою онкологічною патологією і основною причиною онкологічної смертності серед чоловіків молодого віку, надає проблемі важливе медичне і соціально-економічне значення [1].

Підвищення ефективності лікування пухлин певною мірою базується на створенні нових хіміопрепаратів, збільшенні їх дози, комбінуванні різних методів протипухлинної терапії, розробці високодозової абляційної терапії. Однак реакція пацієнта при використанні стандартних схем і режимів введення лікарських засобів, в залежності від генетичної конституції організму, супроводжується значними

коливаннями в ефективності та рівні безпеки проведеної терапії [2].

ГПЯ вважається найбільш показовим прикладом солідного ракового захворювання, яке є виліковним. Визнаним стандартом лікування цих пухлин є орхієктомія, при необхідності – заочеревинна лімфаденектомія, які доповнюються променевою і системною хіміотерапією. Остання є доволі агресивною і ризикованою складовою лікування, але це, виходячи з високої хіміочутливості ГПЯ, вважається доцільним [3].

Однак, невиліковність частини ГПЯ у зв'язку з неефективністю стандартної терапії, її непереносимістю або з поширеністю пухлинного процесу, вимагає відмови від призначення токсичних цитостатичних препаратів. Такий підхід може розцінюватися як приклад застосування персоналізованої медицини, що базується на виборі оптимальних для конкретної особи лікувальних засобів [4].

Важливою складовою морфологічної верифікації пухлини є її молекулярно-генетична характеристика, так званий, «молекулярний портрет». Останній є унікальною характеристикою пухлини конкретного хворого, і він ніколи не буває відтвореним пухлиною іншого пацієнта [5].

Як відомо, молекулярні маркери діляться на прогностичні та предиктивні. Прогностичні пов'язані з клітинною проліферацією, диференціюванням, ангіогенезом, інвазією і метастазуванням. Вони дозволяють прогнозувати перебіг хвороби, виживаність, але не пов'язані з протипухлинним лікуванням. Предиктивні маркери дозволяють прогнозувати клінічний ефект, безрецидивний період, виживання, а також токсичність різних видів лікування. Вони безпосередньо пов'язані з молекулярною мішенню для таргетних препаратів. Одним й тим же маркерам можуть бути притаманні як прогностичні, так і предиктивні властивості [6].

Прорив у розвитку таргетної терапії став можливим завдяки успіхам молекулярної біології та розкриттю ряду ключових моментів у розвитку злоякісного процесу. D. Hanahan і R. A. Weinberg (2000) позначили 6 основних ознак, що найбільш повно характеризують канцерогенез: автономність сигналів зростання; ухилення від сигналів, що гальмують зростання; придушення апоптозу; необмежений потенціал реплікації; «спотворений ангіогенез»; здатність до інвазії та метастазування.

Стосовно до кожної з перерахованих ознак ведуться розробки і вивчаються активно діючі точково спрямовані з'єднання [7].

Застосування препаратів, що впливають на конкретні молекулярні мішені (ключові ланки неопластичного процесу) отримало назву «цілеспрямована терапія молекулярної дії» або «таргетна

терапія» – персоналізоване лікування, спрямоване проти певних властивостей, що притаманні певній пухлині.

Існує думка, що ГПЯ – захворювання, для лікування якого не застосовуються будь-які таргетні препарати. Однак досвід провідних онкологічних клінік світу (Ізраїль, клініка «Ассута»; Німеччина, «Helios Kliniken Gruppe»; Україна, Онкологічний центр «Добрий прогноз») доводить, що поряд з традиційними методами лікування ГПЯ, можливе застосування таргетної терапії.

Мета дослідження - теоретичне обґрунтування персоналізованої (таргетної) терапії ГПЯ на підставі вивчення молекулярно-біологічних маркерів, які характеризують проліферативно-апоптотичні процеси, стан екстрацелюлярного матриксу (ЕЦМ), міжклітинну адгезію, пухлинний ангіогенез та імунологічні властивості пухлини.

Матеріал та методи дослідження. Дослідження виконано на матеріалі 54 спостережень ГПЯ, а також історій хвороби пацієнтів, що проходили обстеження і лікування на базі Харківського обласного клінічного центру урології і нефрології ім. В.І. Шоповала. Всі ГПЯ були розподілені за типом гістологічної будови і pTNM класифікації [8, 9], відповідно до якої були сформовані наступні групи: група «0» (пухлини стадії T₁N₀S₀), група «1» (пухлини стадії T₁N₀S₀₋₂), група «2» (пухлини стадії T₂N₁₋₃S₀₋₂), група «3» (пухлини стадії T₃N₁₋₃S₀₋₂), група «4» (пухлини стадії T₂₋₃N₀₋₃S₀₋₂).

Розподіл ГПЯ у відповідності до групи спостереження і гістотипу наведений у таблиці 1.

Таблиця 1 - Групи і кількість спостережень у відповідності до гістотипу ГПЯ

	Семінома	ЕР	ПЖМПТ	ТПТ	СП	ТМСТ
Група «0»	–	–	–	n=3	–	–
Група «1»	n=4	n=5	n=4	n=6	–	n=1
Група «2»	n=5	n=4	n=3	n=7	n=1	
Група «3»	n=3	–	–	–	–	–
Група «4»	n=1	n=4	n=2	–	–	n=1
Всього	n=13	n=13	n=9	n=16	n=1	n=2

За стандартними ІГХ методиками досліджували експресію наступних маркерів: Ki-67, Vax, Bcl-2 і p53 для оцінки проліферативно-апоптотичних процесів; E-cadherin і β -catenin для вивчення стану міжклітинної адгезії; металопротеїназ MMP-1, MMP-3 і MMP-9 разом з їх тканинним інгібітором TIMP-1 – для оцінки стану ЕЦМ; PDL-1 – для оцінки

імунологічних властивостей пухлини; CD31 і CD34 – для оцінки ангіогенезу [10].

Для реалізації об'єктивного аналізу цифрових зображень була розроблена методика, яка дозволила отримувати точні кількісні дані відносно площі (S), яку займають імунопозитивні структури, і інтенсивності (L) експресії маркерів [11].

Рівень проліферативної активності пухлинних клітин визначали за ядерною експресією Ki-67, а також за індексом проліферації (ІП). При вивченні в пухлинах ангіогенезу, крім оцінки відносно S і L експресії CD34 і CD31, досліджували щільність судин (ЩС) в стандартизованому полі зору (СПЗ) мікроскопа Olympus BX-41TF (Японія).

Дослідження виконані з дотриманням основних положень «Правил етичних принципів проведення наукових медичних досліджень за участю людини», затверджених Гельсінською декларацією (1964-2013 рр.), ICH GCP (1996 р.), Директиви ЄЕС № 609 (від 24.11.1986 р.), наказів МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р., № 944 від 14.12.2009 р., № 616 від 03.08.2012 р. Кожен пацієнт підписував інформовану згоду на участь у дослідженні, і вжиті всі заходи для забезпечення анонімності пацієнтів.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою пакету статистичного аналізу Тріал-версії STATISTICA 13.3 EN. [12].

Результати дослідження та їх обговорення.

Наукові дослідження доводять, що високий ступінь проліферації та низький рівень диференціювання, як правило, свідчать про агресивність захворювання і, водночас, можливу чутливість пухлинних клітин до цитостатичної терапії. Навпроти, низька кількість мітозів і збереження диференціювання асоційовані з відносно сприятливим прогнозом і недостатньою ефективністю ДНК-ушкоджуючих терапевтичних агентів [13, 14].

Дане дослідження довело низький рівень проліферативної активності в більшості гістотипів ГПЯ. Виходячи з цього, одним з пояснень хіміорезистентності окремих гістотипів ГПЯ можуть бути саме низькі показники проліферативної активності пухлин [15, 16].

Відомо, що процеси неоваскуляризації в пухлинах є важливим компонентом їх росту, а також інвазійної і метастатичної активності. Протягом багатьох років передбачалося, що ангіогенез може стати важливою мішенню протипухлинної терапії. На сьогодні антиангіогенна терапія є загальноприйнятим підходом в онкології, яка приходить якщо не на зміну, то на серйозну допомогу відомим хіміотерапевтичним засобам [17, 18].

Отримані в даному дослідженні дані підтверджують наявність активної неоваскуляризації в ГПЯ, починаючи з герміногенної неоплазії «in

situ» (GCNIS), початкових стадій пухлинного росту, а також зростання її ступеню у міру пухлинної прогресії.

У антиангіогенному лікуванні вже тривалий час використовують різні інгібітори факторів зростання судин – VEGF і VEGFR. Серед них блокуючі антитіла Бевацизумаб (Авастин), які інгібують передачу ангіогенних сигналів ендотеліальним клітинам. Під впливом анти-VEGF терапії ендотеліальні клітини незрілих кровоносних пухлинних судин піддаються апоптозу [19, 20].

Антиангіогенна терапія малими молекулами, що інгібують тирозинкіназу VEGFR-2, такими як Сорефеніб, Сунітініб, Пазопаніб, призводить до деструкції 80% пухлинних судин і припинення їх новоутворення [21].

В цілому терапія вказаними препаратами показала збільшення часу до прогресування, збільшення загального виживання і поліпшення об'єктивних відповідей у хворих на раки різних локалізацій [22].

В той же час клінічні спостереження довели, що не у всіх хворих буває сприятлива відповідь на антиангіогенну терапію інгібіторами VEGF, нерідко виникає резистентність до них, і, відповідно, рецидиви захворювання [23]. З'явилися переконливі докази, що блокада VEGF/VEGFR-2 сигнального шляху призводить до підвищеної регуляції інших молекул, які підтримують утворення нових судин [24].

Відкриття нових механізмів неоангіогенезу привело до створення іншого класу ангіостатиків, представниками якого є Ангіостатин, Ендостатин, Комбрестатин А4 та інші. Дані сполуки здатні пригнічувати ангіогенез і є дуже перспективними для боротьби зі злоякісними пухлинами на будь-якій стадії їх розвитку. На відміну від Бевацизумабу (Авастину), який ефективний лише по відношенню до певних пухлин, описувані блокатори зростання судин можуть стати універсальним засобом протиракової терапії, при чому тим ефективнішими, чим більш злоякісною є пухлина.

Вдалим за активністю і малою токсичністю виявився синтетичний препарат TNP-470, який проявляє здатність пригнічувати розмноження ендотеліальних клітин, стимулюючи їх апоптоз. Він успішно пройшов клінічні випробування при раку нирок, шийки матки і саркомі Капоші.

У клінічних дослідженнях показано, що блокатори фактору росту фібробластів FGF-2, наприклад, сумнозвісний талідомід та сурамін здатні блокувати зростання судин, і надають терапевтичний ефект у хворих на рак багатьох локалізацій [25].

Встановлено, що більшість регуляторів ангіогенезу – це білки, які утворюються в результаті

протеолітичного розщеплення інших структурних білків, що прямо не відносяться до ангіогенезу. В результаті численних досліджень достовірно встановлена залученість MMP в індукований пухлинний ангіогенез [26-29].

На підставі вивчення цієї ланки пухлинного ангіогенезу була створена ще одна група речовин, що пригнічують зростання судин, а отже, і пухлини. До неї відносяться блокатори активності пухлинних MMP. Ангіостатики описаної дії – пріномастат, батімастат, марімастат, метастат, неовастат та інші, більшість з яких – похідні гідроксамової кислоти.

На жаль дані препарати мають широкий спектр дії, в зв'язку з чим виявились недостатньо ефективними та іноді давали побічні ефекти [30].

Однак, не дивлячись на це, MMP є перспективними мішенями протиракової терапії, оскільки ефект від дії інгібіторів MMP, в першу чергу, виражається в пригніченні індукованого пухлинами ангіогенезу. Тому в даний час увагу привернуто до розробки інгібіторів MMP наступного покоління, яким притаманна висока специфічність до MMP одного типу [31].

У своїй роботі ми ставили за мету вивчення рівня і співвідношення експресії різних видів MMP (MMP-1, -3, -9) та їх тканинного інгібітора TIMP-1.

Оскільки нами отримані переконливі дані про підвищену експресію MMP, а також втрату міжклітинної адгезії в ГПЯ всіх досліджених гістотипів [32, 33], маємо сміливість припустити, що блокада пухлинного ангіогенезу є обґрунтованим і доцільним методом протипухлинної терапії ГПЯ, особливо у випадках хіміорезистентності. Вірогідно, що в лікуванні ГПЯ найбільш ефективними можуть виявитись таргетні препарати – інгібітори MMP.

Вважаємо, що вивчення спектра різних видів MMP може стати у пригоді при розробці та ефективному застосуванні нових інгібіторів MMP, специфічних для ГПЯ конкретного хворого.

Серед відомих протипухлинних сполук рослинного походження з мультитаргетною активністю на особливу увагу заслуговують харчові індоли: індол-3-карбінол (I3C), його фізіологічний метаболіт 3,3'-дііндолілметан (DIM) і флавоноїди епігалокатехін-3-галат (EGCG) [34-36].

Препарати I3C і EGCG мають виражену протипухлинну дію, за рахунок пригнічення ряду біологічних процесів, притаманних неоплазіям (патологічний неоангіогенез, гіперпроліферація, зниження імунної функції, генетична нестабільність) та знижують ймовірність метастатичного ураження [36].

В останні роки ідентифіковані альтернативні механізми кровопостачання пухлин у вигляді формування васкулярних каналів, що обмежені базальною мембраною і вистелені пухлинними кліти-

нами при відсутності ендотеліальних клітин і фібробластів. Дане явище отримало назву васкулогенної мімікрії, яка є несприятливим прогностичним фактором [37, 38].

Для підвищення ефективності лікування злоякісних новоутворень необхідним є комбінування антиангіогенних препаратів з інгібіторами васкулогенної мімікрії, які є похідними згадуваних вище індокарбазолів.

Дане дослідження довело наявність васкулогенної мімікрії в ГПЯ, тому застосування її інгібіторів, має, на нашу думку, теоретично обґрунтовану доцільність.

Імунологія пухлини – одна з областей онкології, що найбільш бурхливо розвивається в останні роки [39].

PD-1 є ключовим імунним рецептором, що експресується на поверхні активованих Т- і В-клітин, дендритних клітин, макрофагів, природних кілерів (NK-cells) і відіграє вирішальну роль в імунологічній «втечі» пухлини і, таким чином, в пухлинній прогресії [40]. Його ліганд PD-L1 зв'язує PD-1, зменшуючи імунорезистентність та розвиток імуносупресії [41, 42]. PD-L1 виявляється в 50% різних типів пухлин [43], таких як меланома [44], недрібноклітинний рак легень [45], пухлини голови і шиї [46], рак яєчників [47], лімфоми і лейкози [48].

Виходячи з цього, вивчення сигнального шляху PD-L1 стало одним з основних напрямків досліджень в області онкології [43, 49]. Виникло припущення, що в пухлинах з експресією PD-L1 найімовірніше буде отримана відповідь на імунотерапію, що спрямована на механізм сигнального шляху PD-L1 [49, 50].

На підставі проведених досліджень механізму сигнального шляху PD-L1 створені проривні імунотерапевтичні препарати як для моно-, так і комбінованої терапії, що здатні змусити імунні клітини організму побачити пухлину і вбити її. Ці препарати зв'язуються зі спеціальними білками (CTLA-4 і PD-1) на поверхні Т-лімфоцитів, ракової клітини і активують протипухлинну імунну відповідь.

В 2018 році за винахід імунотерапевтичних препаратів даного напрямку Тасуку Хондзе і Джеймс Еллісон отримали Нобелівську премію з медицини.

Блокада PD-1/PD-L1 підсилює протипухлинний імунітет, скорочуючи кількість та/або імуносупресивну активність регуляторних Т-клітин (супресорів) і відновлюючи активність ефекторних Т-клітин, що призводить до посилення протипухлинного імунної відповіді. Також блокада PD-1 стимулює проліферацію В-клітин пам'яті. У зв'язку з цим, препарати, що пригнічують функцію PD-1 (ніволумаб, пембролізумаб, іпіліліумаб, атезолізумаб та інші), в даний час знаходять широке застосування в терапії

онкологічних захворювань [51]. Тим більше, що однією з відмінних рис імунотерапії є стійкість ремісії, на відміну від будь-якої хіміотерапії або застосування таргетних агентів, які втрачають свій потенціал по мірі адаптування ракових клітин за допомогою нових генетичних мутацій.

Застосування пембролізумаба у хворих на рак нирки, метастатичний недрібноклітинний рак легень з PD-L1-позитивним статусом в якості першої терапевтичної лінії показало високу ефективність у порівнянні з хіміотерапією. В даний час препарат проходить третю стадію фармакологічних випробувань для лікування раку сечового міхура, молочної залози, ендометрію, фалопієвих труб, шлунково-кишкового тракту, мезотеліоми, множинної мієломи, раку носоглотки, яєчників, простати та плоскоклітинного раку [52-54].

З урахуванням результатів клінічних випробувань, планується тестування інгібіторів PD-L1 для лікування і при інших видах раку.

Таким чином, на сьогодні блокада білків PD-L1, яка розглядається як «імуномодуюча терапія за місцем локалізації пухлини», стає важливою зброєю в арсеналі онкологів.

В даному дослідженні було показано не тільки наявність експресії PD-L1 в найчастіших ГПЯ (семінома і ембріональний рак), а також зростання показників експресії вказаного маркера (S і L). Це дозволяє стверджувати про наявність імунологічної «втечі» в описуваних гістотипах ГПЯ і припустити позитивну відповідь на імунотерапію, що направлена на механізм сигнального шляху PD-L1 [43, 50, 55].

При ініціації канцерогенезу під впливом аномального мікрооточення внаслідок хронічного запалення, на тлі підвищення загальної генетичної нестабільності відбувається розбалансування програм проліферації та диференціювання [56]. Сен-

саційною розробкою цього століття стала ідентифікація фракцій стовбурових пухлинних клітин при різних формах раку – ініціаторів виникнення пухлинного процесу. Молекулярні мішені цих клітин вже використовуються для створення таргетної терапії нового типу [57].

Таким чином, завдяки таргетній терапії терапевтичний нігілізм щодо лікарського лікування цілого ряду злоякісних пухлин подолано. Поліпшено контроль симптомів і якість життя хворих. І хоча захворювання залишаються невиліковними, проте за допомогою сучасних підходів вдається збільшити медіану виживання хворих [57].

Висновки. Виходячи з результатів дослідження, вважаємо, що теоретичним підґрунтям персоналізованої (таргетної) терапії ГПЯ може бути використання протиангіогенних препаратів різних класів, що блокують спотворений пухлинний ангіогенез, препаратів, які блокують фактори і молекули, що відповідають за ділення клітин, і тим самим призводять до зупинки зростання пухлини, а також препаратів, що стимулюють апоптоз і видалення мутованих клітин. Серед перспективних мішеней можуть бути і терапевтичні антитіла, які стимулюють відторгнення пухлини шляхом активації імунної системи.

У даній статті ми не претендували на беззаперечне і остаточне обґрунтування персоналізованої (таргетної) терапії у хворих на ГПЯ, але привели свої міркування, які сформувались на підставі проведеного ІГХ дослідження, і можуть бути теоретичним підґрунтям для вивчення можливостей застосування даної терапії.

Перспективи подальших досліджень у цьому напрямку. Планується продовження вивчення проліферативно-апоптотичних процесів, стану міжклітинної адгезії, імунологічних властивостей і ангіогенезу в ГПЯ.

References

1. Ymyanytov EN. Epidemiologya y byologyya germynogenynykh opukholey [Epidemiology and biology of germinal cell tumors]. *Practical oncology*. 2006; 7(1): 1-5. [Russian]
2. Chekhun VF. Ot systemnoy byologyy raka do metodologyy personalizirovannogo lechenyya [From system biology of cancer to methodology of personalized treatment]. *Oncology*. 2012; 14(2): 84-8. [Russian]
3. Nallu A, Mannuel HD, Hussain A. Testicular germ cell tumors: biology and clinical update. *Curr Opin Oncol*. 2013 May; 25(3): 266-72. PMID: 23549473. <https://doi.org/10.1097/CCO.0b013e32835ff3e3>
4. Ymyanytov E.N. Pryntsypy yndyvdualyzatsyy protyvoopukholevoy terapiyy [Principles of individualization of antitumor therapy]. *Practical oncology*. 2013; 14(4): 187-94. [Russian]
5. Jain KK. Personalized medicine. *Curr Opin Mol Ther*. 2002 Dec; 4(6): 548-58.
6. Snegovoy AV, Manzyuk LV. Znachenye byomarkerov dlya opredelenyya taktiky lechenyya y prognoza zlokachestvennykh opukholey [The importance of biomarkers for determining treatment tactics and prognosis of malignant tumors]. *Practical oncology*. 2011; 12(4): 166-70. [Russian]
7. Weinberg RA. *The biology of cancer*. NY: Garland Science; 2007. 794 p.
8. Moch H, Cubilla AL, Humphrey PA, Reuter VE, Ulbright TM. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part A: Renal, Penile, and Testicular Tumours. *Eur Urol*. 2016 Jul; 70(1): 93-105. PMID: 26935559. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.029>

9. Lobo J, Costa AL, Vilela-Salgueiro B, Rodrigues Â, Guimarães R, Cantante M, et al. Testicular germ cell tumors: revisiting a series in light of the new WHO classification and AJCC staging systems, focusing on challenges for pathologists. *Hum Pathol*. 2018 Dec; 82: 113-24. PMID: 30041024. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2018.07.016>
10. Khlebnikova AN, Novoselova NV. Osobennosti angiogeneza v ochagakh bazalnokletochnogo raka kozhy [Particular features of angiogenesis in lesions in patients suffering from basal cell epithelioma]. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*. 2014; 3: 60-4. [Russian]
11. Patent 119922 Ukraine. Sposib kilkisnoi otsinky rivnia svitlosti ta vidnosnoi ploshchi ekspresii markeriv pry imunohistokhimichnomu doslidzhenni tkany / Potapov SM, Markovskiy VD, Kullshova NE, (UA); заявник i vlasnik patentu Kharkivskiy natsionalnyi medychnyi universytet, patentovlasnyk (UA). заявл 27.09.2019
12. Kobzar AI. Prikladnaya matematicheskaya statistika. Dlya inzhenerov i nauchnykh rabotnikov. FIZMATLIT, 2012. 816 p. Available from: <http://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785922113755.html>
13. Kontzoglou K, Palla V, Karaolani G, Karaikos I, Alexiou I, Pateras I, et al. Correlation between Ki67 and breast cancer prognosis. *Oncology*. 2013; 84(4): 219-25. PMID: 23364275. <https://doi.org/10.1159/000346475>
14. Paik S. Is gene array testing to be considered routine now? *Breast*. 2011 Oct; 20(Suppl 3): S87-91. [https://doi.org/10.1016/S0960-9776\(11\)70301-0](https://doi.org/10.1016/S0960-9776(11)70301-0)
15. Potapov SM, Markovskiy VD, Galata DI, Pliten OM, Gorgol NI. Imunogistokhimichna kharakterystyka proliferativno-apoptotichnykh protsesiv v seminomi yayechka [Immunohistochemical characteristic of proliferative and apoptotic processes in testicular seminoma]. *Morphologia*. 2019; 3(13): 107-14. [Ukrainian] <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.107-114>
16. Potapov SM, Pliten OM, Halata DI, Sidorenko RV, Andreev AV. Imunogistokhimichna kharakterystyka proliferativno-apoptotichnykh protsesiv v okremykh germinogennykh pukhlynakh yayechka [Immunohistochemical characteristic of proliferative and apoptotic processes in particular testicular germ cell tumors]. *Bulletin of problems biology and medicine*. 2019; 3(152): 325-31. [Ukrainian]
17. Zozulya SA, Udovichenko IP. Retseptory semeystva Eph kak terapevtycheskiye mysheny [Eph family receptors as therapeutic targets]. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2012; 38(3): 267-79. [Russian] PMID: 22997698. <https://doi.org/10.1134/S106816201203017X>
18. Kushlinskiy DN, Tereshkina IV, Degtyar VG, Laktionov KP, Adamyan LV. Faktor rosta endoteliya sosudov i ego retseptory pri rake yaichnikov [Endothelial growth factor and its receptors in ovarian cancer]. *Molecular medicine*. 2013; 1: 3-11. [Russian]
19. Ma WW, Adjei AA. Novel agents on the horizon for cancer therapy. *CA Cancer J Clin*. 2009 Mar-Apr; 59(2): 111-37. PMID: 19278961. <https://doi.org/10.3322/caac.20003>
20. Ma J, Waxman DJ. Combination of antiangiogenesis with chemotherapy for more effective cancer treatment. *Mol Cancer Ther*. 2008 Dec; 7(12): 3670-84. PMID: 19074844 PMCID: PMC2637411. <https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-08-0715>
21. Czabanka M, Vinci M, Heppner F, Ullrich A, Vajkoczy P. Effects of sunitinib on tumor hemodynamics and delivery of chemotherapy. *Int J Cancer*. 2009 Mar 15; 124(6): 1293-300. PMID: 19101989. <https://doi.org/10.1002/ijc.24019>
22. Levacheva I, Samsonova O, Tazina E, Beck-Broichsitter M, Levachev S, Strehlow B, et al. Optimized thermosensitive liposomes for selective doxorubicin delivery: formulation development, quality analysis and bioactivity proof. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014 Sep 1; 121: 248-56. PMID: 25001189. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.02.028>
23. Fischer C, Mazzone M, Jonckx B, Carmeliet P. FLT1 and its ligands VEGFB and PlGF: drug targets for anti-angiogenic therapy? *Nat Rev Cancer*. 2008 Dec; 8(12): 942-56. PMID: 19029957. <https://doi.org/10.1038/nrc2524>
24. Kolomeytseva AA, Stepanova EV, Gagarin IM, Rodnikova EG, Rzaev DS, Gorbunova VA, et al. Vliyaniye molekulyarno-byologicheskikh markerov na effektivnost yngybytorov retseptora epydermalnogo faktora rosta u bolnykh rasprostranennym nemelkokletochnym rakom legkogo [The impact of molecular markers on efficacy of EGFR inhibitors in patients with non small-cell lung cancer]. *Russian Journal of Biotherapy*. 2011; 10(4): 9-12. [Russian]
25. Beenen A, Mohammadi M. The FGF family: biology, pathophysiology and therapy. *Nat Rev Drug Discov*. 2009 Mar; 8(3): 235-53. PMID: 19247306. PMCID: PMC3684054. <https://doi.org/10.1038/nrd2792>
26. Ribatti D. Endogenous inhibitors of angiogenesis: a historical review. *Leuk Res*. 2009 May; 33(5): 638-44. PMID: 19117606. <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2008.11.019>
27. Sounni NE, Paye A, Host L, Noël A. MT-MMPs as Regulators of Vessel Stability Associated with Angiogenesis. *Front Pharmacol*. 2011 May 13; 2: 111. PMID: 21687519. PMCID: PMC3108474. <https://doi.org/10.3389/fphar.2011.00111>
28. Deryugina EI, Quigley JP. Tumor angiogenesis: MMP-mediated induction of intravasation- and metastasis-sustaining neovasculature. *Matrix Biol*. 2015 May-Jul; 44-46: 94-112. PMID: 25912949. PMCID: PMC5079283. <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2015.04.004>
29. Fields GB. Mechanisms of Action of Novel Drugs Targeting Angiogenesis-Promoting Matrix Metalloproteinases. *Front Immunol*. 2019 Jun 4; 10: 1278. PMID: 31214203. PMCID: PMC6558196. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01278>
30. Gershtein ES, Kushlinskiy NE. Klynicheskyye perspektivy yssledovaniya assotsyirovannykh s opukholoy proteaz y ykh tkanevykh yngybytorov u onkologicheskikh bolnykh [Clinical prospects of tumor-associated proteases and their tissue inhibitors investigation in oncologic patients]. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2013; 5: 16-27. [Russian] <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i5.659>

31. Murphy G, Nagase H. Progress in matrix metalloproteinase research. *Mol Aspects Med.* 2008 Oct; 29(5): 290-308. PMID: 18619669. PMCID: PMC2810947. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2008.05.002>
32. Potapov SM, Halata DI, Pliten OM, Sidorenko RV, Andreev AV. Stan ekstratselyulyarnogo matryksu i mizhklitynnoyi adgeziyi v embrionalnomu raku yayechka [State of extracellular matrix and cell adhesion in testicular embryonal carcinoma]. *Bulletin of problems biology and medicine.* 2019; 4(153): 246-54. [Ukrainian]
33. Potapov SM, Pliten OM, Halata DI, Kryvoshapka OV. Mizhklitynna adgeziya v germinogennykh pukhlynakh yayechka [Intercellular adhesion in testicular germ cell tumors]. *Bukovinian Medical Herald.* 2019; 23(4): 98-107. [Ukrainian]
34. Kandala PK, Srivastava SK. DIMming ovarian cancer growth. *Curr Drug Targets.* 2012 Dec; 13(14): 1869-75. PMID: 23140296. <https://doi.org/10.2174/138945012804545650>
35. Taylor-Harding B, Agadjanian H, Nassanian H, Kwon S, Guo X, Miller C, et al. Indole-3-carbinol synergistically sensitizes ovarian cancer cells to bortezomib treatment. *Br J Cancer.* 2012 Jan 17; 106(2): 333-43. PMID: 22166800. PMCID: PMC3261668. <https://doi.org/10.1038/bjc.2011.546>
36. Ashrafyan LA, Kiselev VI, Muizhnek EL, Antonova IB, Kuznetsov IN, Aleshikova OI, et al. Rak yaychnykov: kontseptsyya patogeneza y pryntsyipy terapyi [Ovarian cancer: pathogenesis concept and therapy principles]. *PA Herzen Journal of Oncology.* 2015; 3: 23-32. [Russian]
37. Vartanyan AA. Molekulyarnyye mekhanizmy vaskulogennoy mimikrii pri zlokachestvennykh zabolevaniyakh. Abstr. PhD. (Med.). M: Rossiyskiy onkologicheskiy nauchnyy tsentr imeni HH Blokhina; 2012. 39 s. [Russian]
38. Vartanyan AA. Alternativnoe krovosnabzheniye v kostnom mozge pri onkogematologicheskikh zabolevaniyakh [Supplemental Blood Circulation System in Hematologic Malignancies]. *Klin Onkogematol.* 2014; 7(4): 491-500. [Russian]
39. Kadagidze ZG, Chertkova AI. Immunnaya sistema i rak [Immunity and cancer]. *Practical oncology.* 2016; 17(2): 62-73. [Russian]
40. Haworth KB, Leddon JL, Chen CY, Horwitz EM, Mackall CL, Cripe TP. Going back to class I: MHC and immunotherapies for childhood cancer. *Pediatr Blood Cancer.* 2015 Apr; 62(4): 571-6. PMID: 25524394. PMCID: PMC4339346. <https://doi.org/10.1002/pbc.25359>
41. Gabrielson A, Wu Y, Wang H, Jiang J, Kallakury B, Gatalica Z, et al. Intratumoral CD3 and CD8 T-cell Densities Associated with Relapse-Free Survival in HCC. *Cancer Immunol Res.* 2016 May; 4(5): 419-30. PMID: 26968206. PMCID: PMC5303359. <https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-15-0110>
42. Li F, Zhu T, Yue Y, Zhu X, Wang J, Liang L. Preliminary mechanisms of regulating PD-L1 expression in non-small cell lung cancer during the EMT process. *Oncol Rep.* 2018 Aug; 40(2): 775-82. <https://doi.org/10.3892/or.2018.6474>
43. Quezada SA, Peggs KS. Exploiting CTLA-4, PD-1 and PD-L1 to reactivate the host immune response against cancer. *Br J Cancer.* 2013 Apr 30; 108(8): 1560-5. PMID: 23511566. PMCID: PMC3668483. <https://doi.org/10.1038/bjc.2013.117>
44. Tumei PC, Harview CL, Yearley JH, Shintaku IP, Taylor EJ, Robert L, et al. PD-1 blockade induces responses by inhibiting adaptive immune resistance. *Nature.* 2014 Nov 27; 515(7528): 568-71. PMID: 25428505. PMCID: PMC4246418. <https://doi.org/10.1038/nature13954>
45. Mao Y, Li W, Chen K, Xie Y, Liu Q, Yao M, et al. B7-H1 and B7-H3 are independent predictors of poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer. *Oncotarget.* 2015 Feb 20; 6(5): 3452-61. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.3097>
46. Lyford-Pike S, Peng S, Young GD, Taube JM, Westra WH, Akpeng B, et al. Evidence for a role of the PD-1:PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 2013 Mar 15; 73(6): 1733-41. PMID: 23288508. PMCID: PMC3602406. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2384>
47. Maine CJ, Aziz NH, Chatterjee J, Hayford C, Brewig N, Whilding L, et al. Programmed death ligand-1 over-expression correlates with malignancy and contributes to immune regulation in ovarian cancer. *Cancer Immunol Immunother.* 2014 Mar; 63(3): 215-24. PMID: 24297569. <https://doi.org/10.1007/s00262-013-1503-x>
48. Miyasato Y, Takashima Y, Takeya H, Yano H, Hayano A, Nakagawa T, et al. The expression of PD-1 ligands and IDO1 by macrophage/microglia in primary central nervous system lymphoma. *J Clin Exp Hematop.* 2018; 58(2): 95-101. PMID: 29998979. PMCID: PMC6413151. <https://doi.org/10.3960/jslr.18001>
49. Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity.* 2013 Jul 25; 39(1): 1-10. PMID: 23890059. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2013.07.012>
50. He J, Huo L, Ma J, Zhao J, Bassett RL, Sun X, et al. Expression of Programmed Death Ligand 1 (PD-L1) in Posttreatment Primary Inflammatory Breast Cancers and Clinical Implications. *Am J Clin Pathol.* 2018 Feb 17; 149(3): 253-61. PMID: 29425258. PMCID: PMC6322426. <https://doi.org/10.1093/ajcp/axq162>
51. Kushlinskii NE, Fridman MV, Morozov AA, Gershtein ES, Kadagidze ZG, Matveev V.B. Sovremennyye podkhody k ymmunoterapii raka pochky [Modern approaches to kidney cancer immunotherapy]. *Cancer Urology.* 2018; 14(2): 54-67. [Russian] <https://doi.org/10.17650/1726-9776-2018-14-2-54-67>
52. Samoilenko IV, Demidov LV. Pembrolizumab v lecheniiy metastaticheskoy melanomy [Pembrolizumab in the treatment of metastatic melanoma]. *Medical Council.* 2017; 6: 8-23. [Russian] <https://doi.org/10.21518/2079-701X-2017-6-8-23>

53. Hamid O, Robert C, Daud A, Hodi FS, Hwu WJ, Kefford R, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*. 2013 Jul 11; 369(2): 134-44. PMID: 23724846. PMCID: PMC4126516. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1305133>
54. Avksentev NA, Frolov MYu, Makarov AS. Farmakoeconomicheskoye issledovaniye primeneniya pembrolizumaba y nivolumaba vo vtoroy linyi terapii rasprostranennogo nemelkokletochnogo raka legkogo [Pharmacoeconomic study of pembrolizumab and nivolumab in the second line of therapy of advanced non-small cell lung cancer]. *Effective Pharmacotherapy*. 2019; 15(24): 38-46. [Russian] <https://doi.org/10.33978/2307-3586-2019-15-24-38-46>
55. Chen DS, Irving BA, Hodi FS. Molecular pathways: next-generation immunotherapy-inhibiting programmed death-ligand 1 and programmed death-1. *Clin Cancer Res*. 2012 Dec 15; 18(24): 6580-7. PMID: 23087408. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-12-1362>
56. Ashrafyan LA. Sporadicheskiy rak yachnykov: veroyatnaya model patogeneza [Sporadic ovarian cancer: probable pathogenesis model]. *Journal of Obstetrics and Female Diseases*. 2012; 61(4): 3-10. [Russian] <https://doi.org/10.17816/JOWD6143-10>
57. Khvastunov RA, Skrypnikova GV, Usachev AA. Targetnaya terapiya v onkologiy [Target therapy in oncology]. *Lekarstvennyy vestnyk*. 2014; 4(56): 3-10. [Russian]

УДК 616.681-006.6-002.18-091-08

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННОЙ (ТАРГЕТНОЙ) ТЕРАПИИ ГЕРМИНОГЕННЫХ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧКА

Потапов С. Н., Горголь Н. И., Плитень О. Н., Галата Д. И.

Резюме. Несмотря на достижения современной медицины, заболеваемость и смертность при герминогенных опухолях яичка занимают ведущее место среди онкологической патологии у молодых мужчин. Одной из многих причин неудовлетворительных результатов лечения отдельных больных герминогенными опухолями яичка является отсутствие персонализированного подхода, который базируется на исследованиях экспрессии молекулярно-биологических маркеров, определении факторов прогноза и тактики лечения заболевания у конкретного пациента.

Целью исследования было теоретическое обоснование персонализированной (таргетной) терапии герминогенных опухолей яичка на основании изучения молекулярно-биологических маркеров, характеризующих пролиферативно-апоптотические процессы, состояние экстрацеллюлярного матрикса, межклеточную адгезию, опухолевый ангиогенез и иммунологические свойства опухоли.

Исследование выполнено на материале 54 наблюдений герминогенных опухолей яичка. Все опухоли были распределены по типу гистологического строения и в соответствии с pTNM классификацией. Были сформированы группы: «0» (опухоли стадии $T_1N_0S_0$), «1» (опухоли стадий $T_1N_0S_{0-2}$), «2» (опухоли стадий $T_2N_{1-3}S_{0-2}$), «3» (опухоли стадий $T_3N_{1-3}S_{0-2}$), «4» (опухоли стадий $T_{2-3}N_{0-3}S_{0-2}$). По стандартным иммуногистохимическим методикам исследовали экспрессию маркеров, характеризующих пролиферативно-апоптотические процессы (Ki-67, Вах, Bcl-2 и p53), состояние межклеточной адгезии (E-cadherin и β -catenin), экстрацеллюлярного матрикса (MMP-1, MMP-3, MMP-9 и TIMP-1), опухолевый ангиогенез (CD31 и CD34) и иммунологические свойства опухоли (PDL-1).

На основании проведенного исследования экспрессии указанных маркеров в различных гистологических типах герминогенных опухолей яичка и освещенных в научной литературе достижений по тактике таргетной терапии у больных с опухолями других локализаций сделано теоретическое обоснование целесообразности ее проведения у больных герминогенными опухолями яичка. Высказаны соображения, что в таргетной терапии герминогенных опухолей яичка могут быть применены антиангиогенные препараты, препараты, которые блокируют металлопротеиназы и молекулы, отвечающие за деление клеток, а также препараты, стимулирующие апоптоз и удаление мутировавших клеток. Среди перспективных мишеней могут быть и терапевтические антитела, которые активируют противоопухолевый иммунитет.

Исследование экспрессии молекулярно-биологических маркеров является важным для более четкого стадирования онкологического заболевания и прогнозирования выживания больного. Разработка и изучение действия соединений для таргетной терапии герминогенных опухолей яичка является перспективным направлением современной онкологии. Есть надежда, что сочетание данных препаратов с традиционными лекарственными стандартами способно значительно повысить эффективность медикаментозного лечения герминогенных опухолей яичка.

Ключевые слова: герминогенные опухоли яичка, персонализированная (таргетная) терапия.

UDC 616.681-006.6-002.18-091-08

Theoretical Substantiation of Personalized (Target) Therapy of Testicular Germ Cell Tumors

Potapov S. M., Gorgol N. I., Pliten O. M., Halata D. I.

Abstract. Despite the achievements of modern medicine, morbidity and mortality of testicular germ cell tumors stand at the head among oncological pathologies in young men. One of the many reasons of unsatisfactory treatment results in particular patients with testicular germ cell tumors is the lack of personalized approach, which is based on studies of molecular biological markers expression, determination of prognosis factors and treatment tactics.

The purpose of the study was the theoretical justification of personalized (target) therapy of testicular germ cell tumors based on the investigation of molecular biological markers characterizing proliferative and apoptotic processes, the state of extracellular matrix, intercellular adhesion, tumor angiogenesis and immunological properties of the tumor.

Material and methods. The study was performed on 54 observations of testicular germ cell tumors. All tumors were sorted by kind of histological structure and in accordance with the pTNM classification. Following groups were formed: «0» (tumors of the stage $T_1N_0S_0$), «1» (tumors of the stages $T_1N_0S_{0-2}$), «2» (tumors of the stages $T_2N_{1-3}S_{0-2}$), «3» (tumors of the stages $T_3N_{1-3}S_{0-2}$), «4» (tumors of the stages $T_{2-3}N_{0-3}S_{0-2}$). According to standard immunohistochemical methods the expression of markers characterizing proliferative and apoptotic processes (Ki-67, Bax, Bcl-2 and p53), the state of intercellular adhesion (E-cadherin and β -catenin), extracellular matrix (MMP-1, MMP-3, MMP-9 and TIMP-1), tumor angiogenesis (CD31 and CD34) and tumor immunological properties (PDL-1) were studied.

Results and discussion. On the basis of performed research of the mentioned markers expression in various histological types of testicular germ cell tumors and described in literature achievements of target therapy tactics in patients with tumors of other localizations, the theoretical substantiation of its expediency in patients with testicular germ cell tumors was made. We suggested that anti-angiogenic drugs, drugs that block metalloproteinases and molecules responsible for cell division, as well as drugs that stimulate apoptosis and remove mutated cells, can be used in target therapy of testicular germ cell tumors. Among the perspective targets may be therapeutic antibodies which activate antitumor immunity.

Conclusion. Investigation of molecular biological markers expression is important for a more efficient staging of cancer and predicting of a patient survival. The elaboration and investigation of the effects of compounds for target therapy of testicular germ cell tumors is a promising area of modern oncology. We believe that combination of mentioned drugs with traditional medicinal standards can significantly increase the effectiveness of testicular germ cell tumors treatment.

Keywords: testicular germ cell tumors, personalized (target) therapy.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 13.01.2020 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування