

Использование биомаркеров для ранней диагностики рака яичников

М.А. Антошечкина, Е.Б. Савинова

ФГБУ «Центральная клиническая больница с поликлиникой» УД Президента РФ

Злокачественные опухоли яичников являются ведущей причиной смертности среди новообразований гениталий. Высокая летальность обусловлена трудностью диагностики рака яичников на ранних стадиях, когда возможно эффективное лечение. Наиболее перспективным подходом в диагностике ранних стадий рака яичников является использование биомаркеров, способных с высокой чувствительностью и специфичностью выявлять опухоли. Поиск биомаркеров ведется с помощью новейших молекулярно-генетических и аналитических методов. В настоящее время известно более 30 сывороточных биомаркеров рака яичников. В данном обзоре приведены сведения о наиболее перспективных маркерах, их чувствительности, специфичности и комбинированном использовании.

Ключевые слова: диагностика рака яичников, биомаркеры, стратегия скрининга, панель биомаркеров.

Ovarian cancer is leading mortality reason among genital tumors. High mortality is a consequence of difficulties of ovarian cancer diagnostics in early-stages when effective treatment is available. Most perspective approach in detecting early-stage ovarian cancer is the use of biomarkers that are capable to reveal tumors with high sensitivity and specificity. Search for biomarkers is carried out using modern molecular-genetic and analytical methods. At the present time more than 30 serum biomarkers of ovarian cancer are known. In this review the information about most perspective markers, their sensitivity, specificity and combining use is presented.

Key words: ovarian cancer diagnostics, biomarkers, screening strategy, biomarker panel.

Злокачественные опухоли яичников являются ведущей причиной смертности среди новообразований гениталий [1, 27, 40, 42, 43, 50, 66]. В России показатель заболеваемости злокачественными опухолями яичников за последнее десятилетие возрос с 9,5 до 11,0 на 100 тыс. женского населения, занимая седьмое место в структуре общей онкологической заболеваемости (4,9%) и третье — среди гинекологических опухолей после рака тела и шейки матки [3, 11]. В России за период 1992–2007 гг. отмечалось увеличение смертности от рака яичников в расчете на 100 тыс. населения с 5,1 до 5,9. Высокая летальность связана с тем, что более 70% случаев диагностируются в поздних стадиях заболевания и только у 20–30% больных диагноз ставится на начальных (I–II) стадиях процесса [1, 7, 10, 90, 92]. Показатель 5-летней относительной выживаемости находится на уровне выше 90% при I стадии, 70–80% при II стадии, 20–30% при III стадии и менее 5% при IV стадии [13, 44, 66].

Значительные трудности в диагностике обусловлены отсутствием патогномичных признаков заболевания на ранних стадиях заболевания [8, 97]. Ретроспективная оценка начальных симптомов при опухолях яичников свидетельствует о наличии болей в области живота, вздутии и увеличении живота, чувстве быстрого перенасыщения, учащенном мочеиспускании примерно у 85% больных за несколько месяцев до установления диагноза. Они объединены под названием “Индекс симптомов рака яичников” (“Ovarian Cancer Symptom Index, OCSI”) [38, 46, 73, 105, 106]. Однако выявляемые клинические симптомы, как правило, свидетельствуют о далеко зашедшем процессе либо могут быть признаками других, более часто встречающихся заболеваний. [76]. Так, среди 1725 женщин с диагнозом “рак яичников” 95% вышеуказанных симптомов наблюдались только за 3 мес до обращения к врачу [39]. Тем не менее врачами часто недооценивается подобная симптоматика и не выполняются необходимые стандарты обследования больных.

Учитывая отсутствие заметных клинических проявлений на ранних стадиях развития опухоли, возникает

необходимость ежегодного профилактического обследования населения — скрининга на предмет выявления ранних стадий рака.

В связи с тем что заболевание нечасто встречается у женщин в пременопаузе, массовое обследование рекомендуется ограничивать постменопаузальным периодом. Сравнительно невысокая частота рака яичников (30–40 случаев в год на 100 000 женщин старше 50 лет) [116] обуславливает определенные требования к скрининговым тестам. Они должны иметь высокую чувствительность (не менее 75%) и специфичность (более 99,6%), а уровень положительного прогноза (УПП) — не менее 10% [18]. Это означает, что среди 10 женщин, подвергнутых хирургическому вмешательству в связи с подозрением на злокачественный процесс, выявляется по меньшей мере один случай рака яичников. Все это следует иметь в виду при оценке методов скрининга [10, 20, 24, 29, 58].

В настоящее время наиболее перспективным подходом в диагностике ранних стадий рака яичников является использование биомаркеров. Было выявлено несколько маркеров в клетках опухолей яичников, однако не все они оказались пригодными для диагностического скрининга. Непригодными являются маркеры, которые не секретируются в кровь и могут быть определены только в биопсийном материале. Для скрининговой диагностики необходимы маркеры, обнаруживаемые в сыворотке крови. Техника должна быть неинвазивной и недорогой для того, чтобы могла быть широко использована [36]. Поиск сывороточных белков при раке яичников привел к обнаружению антигена СА-125 [21, 23].

В процессе эмбриогенеза СА-125 экспрессируется в клетках эпителия серозных оболочек плода и в их производных, а также обнаруживается в эпителии целома, экстракте плаценты. У взрослых людей сохраняется незначительная экспрессия этого белка в тканях, производных серозных оболочек плода — в мезотелии брюшины и плевральных полостях, в эндокарде, эндометрии, эпителии маточных труб и эндоцервиксе [5, 9]. СА-125 не является строго специфичным для рака яичников,

и уровень его может быть повышен при эндометриозе, циррозе печени, хронических воспалительных заболеваниях легких, эктопической беременности и некоторых других. Содержание СА-125 выше 35 Е/мл определяется почти у 80% больных раком яичников, что чаще, чем при неопухолевых патологических состояниях (5–10%) или у здоровых женщин (1%) [9, 19, 56]. Установлено, что этот маркер является стадийноспецифичным, т.е. частота и его уровень тем выше, чем выше стадия заболевания [9, 56]. Кроме того, экспрессия СА-125 варьирует в зависимости от гистотипа опухоли. Так, с помощью техники “ДНК микроэрейд” (“DNA microarray”) была выявлена повышенная экспрессия гена, кодирующего белок СА-125, в 85% случаев серозных опухолей, в 65% случаев эндометриодных опухолей, в 40% случаев светлоклеточных, в 36% случаев недифференцированных аденокарцином и в 12% случаев муцинозных опухолей [51].

Однако определение СА-125 с целью ранней диагностики малоэффективно, так как при минимальном злокачественном поражении показатели СА-125 практически мало отличаются от нормы или повышены не более чем у 50% больных с I стадией рака яичников, т.е. обладает недостаточно высокой чувствительностью и специфичностью [2, 31, 95, 110]. У женщин менопаузального возраста специфичность этого теста не превышает 99% при требуемых 99,6% для достижения положительного уровня прогноза в 10% [104]. Не выявлено различий в уровне СА-125 в случаях спорадически возникшего и наследственного рака яичников [69]. Тем не менее следует отметить, что неоднократное исследование уровня СА-125, особенно с учетом OSCI, повышает чувствительность в определении риска рака яичников с 62 до 86% [15]. Такая тактика у женщин менопаузального возраста позволила достигнуть УПП 19% [80].

В течение последних двух десятилетий было исследовано большое число сывороточных маркеров на предмет их способности выявлять ранние стадии рака яичников с помощью развивающихся диагностических технологий [58, 64].

Большую роль в открытии новых биомаркеров играет так называемая “ДНК микроэрейд” технология регистрации уровня экспрессии генов в клетках, в частности в клетках рака яичников [55, 60, 82, 83, 118]. Повышенная экспрессия того или иного гена, характерная для рака, приводит к повышению уровня продукта соответствующего гена — белка, который потенциально может служить биомаркером опухоли. Другим важным подходом для выявления биомаркеров является технология, называемая протеомиксом (proteomics), которая использует специальные модификации масс-спектрометров для идентификации белков [17, 20, 30, 79, 88, 123]. После выявления характерных для опухолей белков — биомаркеров с помощью этих технологий биомаркеры могут определяться более доступными для клинической практики методами с использованием специфических антител.

Продолжающийся поиск новых диагностических маркеров ранней стадии рака яичников выявил более 30 белковых биомаркеров в сыворотке крови. Наиболее перспективными являются простагин, остеопонтин, креатинкиназа Б, НЕ-4, мезотелин, аполипопротеин А-I, транстиретин и трансферрин, калликреины, эпидермальный фактор роста (epidermal growth factor, EGF),

фактор, стимулирующий рост макрофагов (macrophage colony stimulating factor, M-CSF) [6, 19, 20, 25, 26, 45, 54, 59, 60, 61, 82, 83, 100, 113, 114].

Простагин (сериновая протеаза) был выявлен в клетках рака яичников с использованием технологии «ДНК микроэрейд». Было установлено, что средний статистически достоверный уровень простагина в сыворотке крови больных раком яичников составляет 13,7 мкг/мл, в то время как у здоровых индивидов уровень простагина равен 7,5 мкг/мл. При совместном использовании простагина с СА-125 чувствительность детектирования опухолей достигает 92%, а специфичность — 94% [82, 83].

Остеопонтин (белковый продукт гена остеопонтина) был выявлен также при использовании технологии «ДНК микроэрейд» и обнаружен затем в сыворотке крови. У больных с эпителиальным раком яичников содержание остеопонтина в сыворотке было установлено на уровне 486,5 нг/мл, в контроле — 147,1 нг/мл, у больных с доброкачественными опухолями яичников — 254,4 нг/мл и у больных раком других гинекологических органов — 260,9 нг/мл [61]. Чувствительность составила 81% (при определении СА-125 чувствительность составляла 84%), а при сочетанном применении этих двух маркеров чувствительность повысилась до 94% [87]. Использование панели из 4 маркеров (остеопонтина, лептина, пролактина и инсулиноподобного фактора) позволило достичь чувствительности 96% и специфичности 94% у 24 пациенток с ранними (I–II) стадиями рака яичников [86, 87], а использование панели из 6 маркеров (те же плюс СА-125 и макрофагингибирующий фактор, MIF) чувствительность достигала 95,3% и специфичность — 99,4% [62].

Креатинкиназа Б (энзим) как биомаркер рака яичников в сыворотке крови была открыта также с использованием «ДНК микроэрейд» технологии. Как было показано, активность креатинкиназы Б в сыворотке больных эпителиальным раком яичников в среднем составляет 24,7 ЭЕ/мл при 9,6 ЭЕ/мл у больных с доброкачественной опухолью и 8,5 ЭЕ/мл у здоровых индивидов [55].

НЕ-4 (human epididymis protein-4) — новый перспективный биомаркер рака яичников [48]. Средняя концентрация НЕ-4 составляет 99,2 пМ при раке эндометрия и 1125,4 пМ при раке яичника, что значительно выше, чем его концентрация в контроле (40,5 пМ) [52]. У части больных раком яичников, у которых отсутствует экспрессия СА-125, наблюдается экспрессия НЕ-4. Повышенный уровень НЕ-4 был выявлен в сыворотке больных как с ранними, так и с поздними стадиями рака яичников. При этом уровень чувствительности сравним с показателями СА-125, а специфичность была значительно выше [54, 70, 96, 98, 100, 111, 112]. Так, Е. Anastasi и соавт. [14] при обследовании 32 пациенток, страдающих раком яичников, обнаружили высокий уровень экспрессии обоих маркеров с чувствительностью 96,9% при НЕ-4 и 85,7% при СА-125. А комбинированное применение НЕ-4 и СА-125 значительно повышает чувствительность выявления рака яичников [49, 84, 85].

Мезотелин — другой перспективный кандидат для раннего выявления рака яичников [48]. Так, мезотелин был выявлен у 40–67% больных раком яичников всех стадий, включая и ранние. Совместное применение СА-125 и мезотелина увеличивает чувствительность до 98% при специфичности 86,5% [47, 78]. С помощью иммуно-

логических тестов была определена концентрация сывороточных маркеров у 34 больных раком яичника и 70 женщин контрольной группы. Обнаружено, что концентрация трех маркеров (CA-125, HE-4 и мезотелин) повышалась за 3 года до установления диагноза рака яичников, но значимый уровень концентрации, позволяющий заподозрить заболевание, зарегистрирован менее чем за 1 год до установления диагноза [16].

Семейство эпидермальных факторов роста (epidermal growth factor, EGF) — рецепторов тирозинкиназы (также обозначаемое как HER или ERBB 1–4), состоит из 4 членов: EGFR, HER2, HER3, HER4. Они имеют важное значение в физиологических процессах клеточной пролиферации, выживания, адгезии, подвижности, инвазии и ангиогенеза [65]. Было показано, что они играют ключевую роль в развитии нормального фолликула яичника и регуляции клеточного роста поверхностного эпителия яичника. Нарушение этих процессов, включая гиперэкспрессию и/или мутацию членов EGFR семейства, является одной из составляющих в этиологии и прогрессировании рака яичников [77, 108]. Повышенная концентрация EGFR зарегистрирована в 9–62% наблюдений злокачественных опухолей яичников [67, 68, 107] и наблюдается при всех гистологических субтипах [34, 72]. При раке яичников активация EGFR связана с фенотипом более высокой злокачественности и худшим прогнозом [28, 67, 93]. Однако в отличие от EGFR-положительных солидных опухолей других органов анти-EGFR-агенты, используемые при раке яичников, дают минимальный терапевтический эффект [102].

Калликреины (нК) представляют собой семейство сывороточных протеаз. Калликреины 6, 10, 11, 13 были идентифицированы как потенциальные маркеры при раке яичников [101, 119]. Так, обнаружено повышение уровня нК 10 у 56% больных раком яичников, а нК 11 — у 70% со специфичностью 95% [33, 75]. Калликреины 6 и 13 являются индикаторами плохого прогноза [114].

M-CSF (фактор, стимулирующий колонии макрофагов) обнаружен у 68% больных раком яичников со специфичностью 98% [117]. Использование панели маркеров M-CSF, CA-125, CA-72-4 позволило достичь чувствительности 70%, специфичности 98% при I стадии рака яичников в отличие от чувствительности 45% при использовании одного CA-125 [104].

Васкулярный эндотелиальный фактор роста (VEGF) является доминантным ангиогенным фактором. Ангиогенез играет критичную роль в прогрессии рака яичников и прогнозе [12, 37, 53, 91]. Уровень VEGF значительно повышен у больных раком яичников по сравнению со здоровыми. Включение этого маркера в панель исследований позволяет диагностировать рак яичников с чувствительностью 84% и специфичностью 95% [41].

Аполипопротеин А-I (апоА-I), транстиретин (ТТР) и трансферрин (ТФ) были идентифицированы в сыворотке крови с помощью масс-спектрометрии. Совместная регистрация этих трех биомаркеров позволяет существенно улучшить диагностику рака яичников на ранней стадии. Так, при сравнении эффективности выявления различия между образцами сыворотки крови здоровых женщин и женщин с ранней стадией муцинозного рака яичников было показано, что определение уровня CA-125 выявляет различие между нормой и начальным раком с чувствительностью 47%, тогда как комбинация всех

этих биомаркеров выявляет это различие с чувствительностью 95% при специфичности 86% [109]. Наибольшая чувствительность (98%) выявлена при эндометриоидном раке яичника [89]. Использование этих маркеров совместно с CA-125 позволило достичь чувствительности 83% и специфичности 93% при I стадии рака яичников.

Приведенные выше данные свидетельствуют о том, что нахождение одного индивидуального маркера ранней стадии рака яичников с высокой чувствительностью и специфичностью маловероятно. Причиной этого является разнообразие источников происхождения и гистологических субтипов опухолей яичников (серозные, муцинозные, эндометриоидные) [4, 32]. Кроме того, культуры клеток, полученные из одного субтипа, могут иметь отличия в метаболизме, определяющие, в частности, активность пролиферации [8]. Отсюда следует необходимость использования панелей биомаркеров. Группой авторов [121] проведен анализ 96 маркеров у 139 больных с ранней стадией рака яичников, 149 — с поздней стадией и 1102 здоровых женщин. Наиболее высокие показатели чувствительности: 86% — при ранней стадии и 93% — при поздней стадии при специфичности в 98% продемонстрировала панель маркеров CA-125, HE-4, CEA и VCAM-1. Другие исследователи пришли к выводу, что 5 генов (CA-125, HE-4, MUC I, VEGF и клаудин 3) позволят отличать рак яичников различных гистотипов от нормальных эпителиальных клеток яичника. При анализе 158 случаев рака яичника комбинация антител против клаудина 3 и MUC I выявляла заболевание в 98% случаев (155/158), клаудина 3, CA-125 и MUC I — в 99,4% (157/158), а комбинация антител ко всем 5 генам — в 100% случаев [74]. Как сказано выше, панели маркеров, состоящие из CA-125, HE-4, мезотелина или апоА-I, ТТР, ТФ и CA-125, демонстрируют значительно лучшие результаты, чем каждый маркер в отдельности. Такой подход позволит надежно осуществлять диагностику рака яичников на ранней стадии, а также помочь в развитии новых лечебных стратегий и прогнозе ответа на терапию [63, 74, 98, 120].

Диагностика рака яичников на начальных стадиях является ключевым подходом к проблеме повышения эффективности лечения этой патологии. Приведенные в настоящем обзоре данные использования биомаркеров для ранней диагностики рака яичников свидетельствуют о значительных успехах этого направления и стимулируют более широкое его внедрение в клиническую практику.

Литература

1. Аксель Е.М., Козаченко В.П., Ушакова Т.И. Статистика злокачественных опухолей яичников. Современные экспериментальные и клинические подходы к диагностике и рациональному лечению рака яичников. Сб. статей. Москва. — 2001. — С. 4–9.
2. Алексеева М.Л., Фанченко Н.Д., Новиков Е.А., Маргиани Ф.Р. Опухолевые маркеры в гинекологии. Акуш Гин. — 1995. — Т. 5. — С. 35–37.
3. Верморкен Я. Эпителиальный рак яичников: состояние проблемы. Материалы 2-й ежегодной Российской онкологической конференции. Москва. — 1999. — С. 85–88.
4. Глазунов М.Ф. Опухоли яичников (морфология, гистогенез, вопросы патогенеза). Ленинград. — 1961.

И др. авторы.