

# ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ БИОМАРКЕРЫ В ОНКОГИНЕКОЛОГИИ: КРИТИЧЕСКИЙ ВЗГЛЯД

**Дмитрий Полев<sup>1</sup>, Анча Баранова<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ «Медико-генетический научный центр» РАМН, Москва, Россия

<sup>3</sup> Center for the Study of Chronic Metabolic Diseases and School of Systems Biology,  
College of Science, George Mason University, Fairfax, VA, 22030

*Раннее обнаружение злокачественных новообразований — это ключ к эффективному лечению рака. Достижения последних лет в области клеточной биологии и развитие молекулярных технологий облегчают выявление биомаркеров, которые позволят диагностировать рак на ранних бессимптомных стадиях. Введение онкомаркеров в клиническую практику целесообразно и для неинвазивного мониторинга течения заболевания как во время лечения, так и в период ремиссии. Кроме того, биомаркеры позволяют подбирать эффективные и даже индивидуализированные методы терапии опухолей. Несмотря на перспективность биомаркеров для раннего обнаружения опухолей, имеющиеся сегодня опухолевые маркеры недостаточно чувствительны и специфичны для популяционного скрининга злокачественных заболеваний. В связи с этим важной задачей в онкологии остается обнаружение более специфических биомаркеров и/или создание панелей опухолевых маркеров. В обзоре рассмотрены общие принципы создания биомаркерных панелей, IVDMLA-тесты (In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays), применимые в онкогинекологии: MammaPrint, OncotypeDx, Tissue of Origin, OVA1 и ROMA, а также некоторые новые биомаркерные комбинации, клинические испытания пока не закончены.*

**Ключевые слова:** биомаркеры, биомаркерные панели, чувствительность, специфичность, диагностика опухолей.

## DIAGNOSTIC BIOMARKERS IN ONCOGYNECOLOGY: A CRITICAL LOOK

**Dmitry Polev<sup>1</sup>, Ancha Baranova<sup>2,3</sup>**

<sup>1</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> Federal State Budgetary Institution «Research Centre of Medical Genetics»  
of the Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Center for the Study of Chronic Metabolic Diseases and School of Systems Biology,  
College of Science, George Mason University, Fairfax, VA, 22030

*Early detection of malignant tumors is a key to the efficient cancer treatment. The achievements in recent years in the field of cell biology and the development of molecular technologies facilitate the detection of the biomarkers which will enable to diagnose cancer in early asymptomatic stages. Introduction of tumor markers into clinical practice is effectual also for the non-invasive monitoring of disease progression both during the treatment and the period of remission. Moreover, biomarkers enable to select efficient and even individualized methods of tumor therapy. Despite the prospects of biomarkers for early detection of tumors, the existing tumor markers are not sufficiently sensitive nor are they specific enough to conduct population based screening of malignant diseases. Thereby the discovery of more specific biomarkers and/or the development of panels of tumor markers remain the essential objective of oncology. This review presents and discusses the general principles of discovery and development of biomarker panels, IVDMLA — tests (In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays), used in oncogynecology: MammaPrint, OncotypeDx, Tissue of Origin, OVAJ and ROMA, as well as some new biomarker combinations which have not yet passed clinical trials.*

**Key words:** biomarkers, biomarker panels, sensitivity, specificity tumor diagnosis.

**Благодарности:** Авторы благодарны проф. К.И. Жордания за критический анализ текста статьи. Работа выполнена в рамках гранта Министерства образования и науки РФ (мероприятие 1.3.1, шифр 2012-1.3.1.-12-000-1001).

### Что такое опухолевые маркеры?

Опухолевыми маркерами называют вещества, обычно белки или их части, которые производятся самой опухолью или организмом в ответ на ее развитие и которые можно аналитически выявить в сыворотке, моче или других жидкостях и тканях организма [1, 17, 19]. Лучшим способом раннего выявления опухолей был бы способ, основанный на применении простого неинвазивного теста, исключающего необходимость биопсии. В таблице 1 показаны примеры уже внедренных онкомаркеров [1, 17, 19].

Большинство из перечисленных выше онкомаркеров не специфичны для конкретного вида опухоли, за исключением ПСА, который позволяет выявлять ранние стадии карциномы предстательной железы. Однако и ПСА несовершенен — его уровень повышается при доброкачественных воспалительных заболеваниях простаты [1]. На примере ПСА очевидно, что ткани человека могут производить опухолевые маркеры при целом ряде состояний, в особенности при воспалении, поэтому диагностическим критерием обычно служат концентрации, а не наличие опухолевых маркеров. Поскольку воздействие воспалительного фона стимулирует деление покоящихся предраковых

клеток, граница между злокачественными и нормальными состояниями ткани оказывается размытой [20] и часто описывается как «общее озлокачествление тканевого поля» («field cancerization») [4, 8]. Поэтому возрастание уровня онкомаркеров часто наблюдают при таких хронических воспалительных заболеваниях, как плевриты и асциты [12], простатит [22], панкреатит [10], урогенитальные инфекции [14, 23], а также бронхиты и фиброз легких [21].

### Принципы оценки надежности диагностических биомаркеров

Диагностические тесты, используемые в клиническом обследовании, не идеальны, хотя в большинстве случаев и отражают объективное наличие или отсутствие заболевания. Для оценки пригодности каждый новый диагностический тест должен быть сопоставлен с имеющимся референтным методом диагностики — так называемым «золотым стандартом», по определению обладающим стопроцентной точностью. Например, для диагностики стеатоза печени и стеатогепатита «золотым стандартом» служит биопсия печени. Применение этого эталонного метода диагностики ограничивается его неудобствами, в частности,

Таблица 1

Некоторые опухолевые маркеры, используемые в клинической практике

Онкомаркер	Описание	Происхождение опухоли
ПСА (PSA)	Простатический специфический антиген (Prostate-Specific Antigen)	Предстательная железа
РАР	Простатическая кислая фосфатаза (Prostatic Acid Phosphatase)	Предстательная железа
СА 125	Раковый антиген 125 (Cancer Antigen 125)	Яичник
РЭА (CEA)	Раковый эмбриональный антиген (Carcinoembryonic Antigen)	Толстый кишечник
АФП (AFP)	Альфа-фетопроtein (Alpha-Fetoprotein)	Печень/ герминальные клетки
ХГЧ (HCG)	Хорионический гонадотропин человека (Human Chorionic Gonadotropin)	Яичко, трофобластические опухоли матки
СА 19-9	Раковый антиген 19-9 (Cancer Antigen 19-9)	Колоректальный рак, рак поджелудочной железы, муцинозный рак яичников
СА 15-3	Раковый антиген 15-3 (Cancer Antigen 15-3)	Молочная железа/яичник/легкие/ предстательная железа
СА 27-29	Раковый антиген 27-29 (Cancer Antigen 27-29)	Молочная железа
СА 72-4	Раковый антиген 72-4 (Tumor-associated glycoprotein TAG72)	Муцинозный рак яичников, колоректальный рак, рак желудка
ЛДГ (LDH)	Лактатдегидрогеназа (Lactate Dehydrogenase)	Большинство типов опухолей
НСЕ (NSE)	Нейроспецифическая энлаза (Neuron Specific Enolase)	Нейробластома/легкие (плоскоклеточный рак)
Ингибин В	Нестероидный гормон из семейства TGFβ-пептидов	Гранулезоклеточные опухоли яичника
Антиген SCC	Антиген плоскоклеточного рака (Serum squamous cell carcinoma antigen)	Плоскоклеточный рак шейки матки

высоким риском осложнений, стоимостью процедуры и невозможностью ее регулярно повторять. В случае онкологических заболеваний совершенного «золотого стандарта» просто не существует; в сомнительных и пограничных случаях правильность диагноза, поставленного в результате гистологического исследования биопсии, подтверждается путем длительного наблюдения больного. Поскольку опухоли весьма гетерогенны, биопсия участка опухоли часто не отражает характеристики цельной опухоли, что приводит к недооценке ее злокачественности.

Наконец, способность клиницистов к правильному гистологическому описанию препаратов также варьирует: различие мнений при оценке злокачественности — скорее норма, чем исключение. Хорошим примером является недавнее исследование, проведенное в Brigham and Women's Hospital (Бостон, США) и оценившее правильность диагноза внутриэпителиальной серозной карциномы фаллопиевых труб (Serous tubal intraepithelial carcinoma, STIC). Этот тип опухоли обнаруживают у 5–7% женщин с наследственными мутациями генов BRCA1 и BRCA2, подвергшихся профилактическому удалению яичников.

В слепом исследовании Carlsson с соавторами 14 окрашенных препаратов с опухолью и 16 препаратов нормального эпителия труб были рандомизированы и предложены для оценки шести опытным гистопатологам, практикующим в области онкогинекологии, и шести дипломированным гистопатологам-новичкам. Точность диагноза, подтвержденная при помощи каппа-статистики, оценивающей расхождение между статистическими распределениями, оставляла желать лучшего. Степень совпадения диагноза у опытных гистопатологов была от средней до хорошей (каппа = 0,453), а у гистопатологов с малым опытом — плохой (каппа = 0,253). Даже в группе опытных гистопатологов только три из 14 STIC-опухолей были правильно диагностированы всеми шестью врачами [5].

Для определения гистологического типа «очевидной» опухоли яичника ситуация немного лучше, чем для дифференциальной диагностики «пограничных» опухолей. Так, межцентровое исследование, предпринятое в Канаде, выявило, что совпадение диагнозов гистологического типа опухоли яичника, поставленных двумя опытными гистологами, составляет от 85 до 97,5%, в то время как каппа-индикатор находится в пределах от 0,80 до 0,97 (в среднем, 0,89). Дополнительное иммуногистохимическое окрашивание улучшило совпадение диагнозов лишь незначительно [13].

При ультразвуковой диагностике опухоли придатков матки хорошая степень совпадения диагнозов доброкачественной, пограничной или злокачественной опухоли наблюдается лишь в случаях, когда эксперты выражают уверенность в своем диагнозе. В случаях, когда эксперты менее уверены, степень совпадения диагнозов падает до 71–78% [28]. Как и при гистопатологических исследованиях, уровень квалификации операторов сильно влияет на сходство результатов диагностики [9]. Важно понимать, что ни один биомаркерный метод диагностики по определению не может быть более точным, чем имеющийся несовершенный, но необходимый «золотой стандарт».

Каждый новый неинвазивный тест оценивается с помощью показателей чувствительности (Sensitivity) и специфичности (Specificity), а также характеристики, называемой Area Under the Curve (площадь под кривой). **Чувствительностью** называют долю позитивных результатов теста в группе (в популяции) больных пациентов, а **специфичностью** — долю негативных результатов теста в группе здоровых пациентов (табл. 2). Чувствительный тест высокоинформативен и редко допускает ошибки, поэтому «отрицательный» результат с высокой вероятностью подтверждает, что заболевания нет. Напротив, специфичный тест редко дает ложноположительный результат при отсутствии заболевания, позволяя клиницисту быть уверенным, что если тест положителен, то пациент болен.

Таблица 2

Четырехпольная таблица чувствительности и специфичности

		Заболевание	
		Присутствует (по «золотому стандарту»)	Отсутствует (по «золотому стандарту»)
Биомаркерный тест	Положительный	a	b
	Отрицательный	c	d

Для определения чувствительности (Sensitivity) и специфичности (Specificity) в данном случае обследовалось  $a+c$  пациентов и  $b+d$  здоровых лиц (по результатам тестирования с помощью «золотого стандарта»). Биомаркерный тест правильно выявил  $a$  больных (из  $a+c$  всего больных) и  $d$  здоровых (из  $b+d$  всего здоровых). Чувствительность (Se) определяется как  $a/(a+c)$ , а специфичность (Sp) — как  $d/(b+d)$ .

Нетрудно понять, что при использовании высокочувствительного диагностического теста высока вероятность гипердиагностики, т.е. стремление точно поставить диагноз максимальному числу больных приводит к тому, что в группу больных попадает небольшой процент здоровых людей. С другой стороны, высокоспецифичный тест удобен тем, что позволяет выявлять исключительно больных, при этом часть из них ошибочно причисляется к группе здоровых. Высокая специфичность теста важна в случаях, когда лечение больного связано с серьезными побочными эффектами, а высокая чувствительность — в случаях, когда отсутствие лечения грозит скорым неблагоприятным исходом. Разработчики диагностических тестов стремятся добиться сочетания высокой специфичности с высокой чувствительностью, что особенно важно в случаях заболеваний с высокой «ценой ошибки», в частности, в области онкогинекологии.

Именно для оптимизации соотношения специфичности и чувствительности и разработана упоминавшаяся выше характеристика Area Under the Curve (площадь под кривой). Эта площадь измеряется под так называемой **кривой ошибок** или **ROC-кривой (рис. 1)** — графической характеристикой, отражающей качество бинарного классификатора, а именно зависимость доли верных положительных классификаций от доли ложных положительных классификаций при варьировании порога диагностического критерия (cut-off value). В качестве порогового критерия может выступать, например, концентрация биомаркера в плазме крови. Чем выше показатель AUC, тем качественнее классификатор. Значение AUC может находиться в пределах от 0,5 до 1, при этом 0,5 демонстрирует полную непригодность диагностического метода классификации, поскольку соответствует результату случайного гадания, а AUC=1 соответствует полному совпадению с результатами тестирования больных с помощью «золотого стандарта». Еще раз отметим, что «золотой стандарт» полностью определяет максимально возможный показатель пригодности биомаркера. Если биомаркер «работает» лучше, чем

общепринятый, но несовершенный «золотой стандарт», мы никогда об этом не узнаем с помощью ROC-кривой. Наоборот, ROC-кривая обманет нас, показав, что новый биомаркер «работает» отличаясь от «золотого стандарта» образом, то есть «хуже», чем гистологическое описание биопсии.

Заметьте, что понятие о «прогностической ценности» диагностического теста основано на понятиях чувствительности и специфичности, но включает еще одну крайне важную переменную — распространенность заболевания в исследуемой популяции. Один и тот же биомаркер может иметь высокую прогностическую ценность в популяции больных с увеличенными придатками (значительная часть из которых окажется больными с карциномой яичника), но быть совершенно непригодным для скрининга карциномы яичника среди всей популяции пациентов, проходящих гинекологический осмотр. Формула, связывающая чувствительность, специфичность и распространенность заболевания с прогностической ценностью положительного результата биомаркерного теста, выводится из теоремы Байеса:

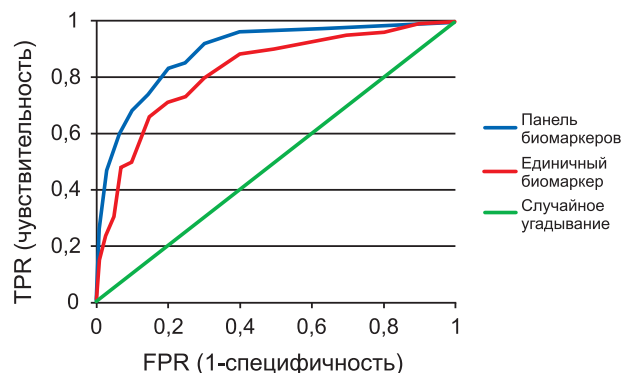
$$+PV = (Se \times P) / [(Se \times P) + (1 - Se) \times (1 - P)]$$

где

+PV — прогностическая ценность положительного результата;

Se — чувствительность;

P — распространённость заболевания в исследуемой популяции.



**Рис. 1.** Кривая ошибок или ROC-кривая, отражающая зависимость доли верных положительных классификаций от доли ложных положительных классификаций при варьировании порога диагностического критерия (cut-off value). Увеличение специфичности сопровождается снижением чувствительности и наоборот. Панели, состоящие из нескольких биомаркеров, обладают более оптимальным соотношением чувствительности и специфичности по сравнению с единичными биомаркерами

Важность правильного выбора популяции для применения биомаркерного теста ясна из следующих примеров. Если тест оказался положительным у больной, принадлежащей к популяции с низкой вероятностью наличия заболевания, скорее всего данный тест — ложноположительный. Более того, в популяции, в которой нет изучаемого заболевания, все положительные результаты будут ложноположительными. Например, положительный результат биомаркерного теста на карциному яичника, примененного к 20-летней посетительнице кабинета гинеколога при нормальных результатах ультразвукового исследования и без семейной истории рака молочной железы и яичников (что указывает на отсутствие наследственной мутации BRCA1/BRCA2), скорее всего ложноположителен. В данных условиях применение биомаркерного теста не оправданно, а скорее, наносит вред, поскольку служит причиной ненужных эмоций.

Чрезвычайно важно понимать, что относительно небольшое увеличение уровня маркера не может служить надежным основанием для дифференциальной диагностики. Так называемый «нормальный» уровень экспрессии маркера зависит от состояния генетического полиморфизма, а поэтому может быть разным в разных популяциях. К примеру, уровень ПСА в сыворотке здоровых людей зависит от A/G-полиморфизма в элементе ARE1 (от англ. androgen responsive element 1) гена KLK3 и/или числа повторов CAG в первом экзоне гена рецептора андрогена (AR) [26, 27]. В этой связи увеличение чувствительности и специфичности опухолевой диагностики за счет обнаружения отдельного «идеального» маркера или за счет углубленного понимания биологии уже существующих опухолевых биомаркеров представляется маловероятным.

По всей видимости, будущее принадлежит диагностическим панелям, включающим десятки и сотни маркерных молекул. Есть надежда, что использование таких панелей составит надежную основу для дифференциальной диагностики, основанной на измерении кумулятивного повышения экспрессии целой группы разнородных опухолевых маркеров [11]. Так, чувствительность и специфичность панели для злокачественных опухолей яичника, основанной на измерении концентраций CA125, С-реактивного белка (CRP), амилоида-А (SAA), а также интрелейкинов 6 и 8 (IL6 и IL8) в плазме, значительно выше, чем для единичного маркера CA125 [2]. Другая биомаркерная панель

для выявления злокачественных опухолей яичника представляет собой комбинацию CA125 с белком эпидидимиса человека HE4,  $\alpha$ -субъединицей рецептора IL-2,  $\alpha$ 1-антитрипсина, С-реактивного белка, YKL-40, фибронектина, CA-72-4 и простазина [29].

### Примеры одобренных биомаркерных панелей

Специально для тестов такого типа Управлением контроля качества продуктов и лекарственных средств США (Food and Drug Administration, FDA) был создан групповой классификатор IVDMIAs (In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assays). В список одобренных FDA IVDMIA-тестов в области онкологии входят MammaPrint (февраль 2007 г.), Tissue of Origin (июль 2008 г., модифицирован в 2010 г.), OVA1 (сентябрь 2009 г.) и ROMA (сентябрь 2011 г.). Кроме того, еще до создания группы IVDMIA в рамках более широкой классификационной группы тестов Laboratory Developed Tests (LDTs) был одобрен OncotypeDx (2004 г.), впоследствии выполнивший условия для отнесения в категорию IVDMIA.

### *Прогностические панели, определяющие вероятность метастазирования карциномы молочной железы: MammaPrint и OncotypeDx*

Тест MammaPrint (Agendia Inc, Netherlands) основан на количественном измерении экспрессии 70 генов, проводимом в замороженных биопсийных образцах карциномы молочной железы. Тест одобрен для оценки вероятности метастазирования у женщин не старше 61 года с опухолями молочной железы размером <5 см и отсутствием метастазов в лимфатических узлах (в Европе этот тест доступен и для больных с метастазами не более, чем в трех лимфатических узлах). Тест представляет собой специальный олигонуклеотидный экспрессионный микрочип (Agilent Technologies), разработанный на основе результатов исследования, опубликованного в 2002 году [25]. По результатам теста пациент может быть отнесен к группе высокого (вероятность отсутствия метастазирования в течение пяти лет — 78%) или низкого риска (вероятность — 95%). Интересно, что в апреле 2010 года тест был отозван из-за множества технологических и административных проблем, в частности, неверной формы оповещения о риске метастазирования, приведшей к почти трехкратному завышению риска для 15% больных и, соответственно, ненужному применению агрессивного лечения. До отзыва

с рынка США стоимость данного теста составляла \$4,200. В Европе тест по-прежнему доступен.

Тест OncotypeDx (Genomic Health, USA) предназначен для выявления больных ER-положительной карциномой молочной железы без признаков метастазирования в лимфатических узлах, требующих послеоперационного адъювантного курса химиотерапии, дополняющего стандартное лечение тамоксифеном. В отличие от MammaPrint, OncotypeDx применим и для парафинизированных образцов ткани, фиксированной в формалине. Тест основан на количественном ПЦР-определении уровней экспрессии 21 гена, впоследствии суммируемых в показатель, отражающий вероятность рецидива опухоли в течение 10 лет после установления диагноза (показатель рецидива, или Recurrence Score), представляющий собой число от 0 до 100. Важно, что при этом клинически валидизированной величиной является не сам показатель, а приблизительное (категорическое) разделение рисков на низкий (показатель рецидива <11), промежуточный (от 11 до 25) и высокий (>25). Знание о принадлежности опухоли к той или иной категории риска позволяет принять решение о необходимости адъювантного курса химиотерапии. Стоимость теста в настоящее время — \$4,175.

Интересно, что и MammaPrint, и OncotypeDx, в сущности, направлены на выявление одной и той же группы больных карциномой молочной железы — группы высокого риска метастазирования. Так как оба теста опираются на результаты длительных научных исследований, в ходе которых были выявлены гены с наибольшей способностью к дискриминации групп риска, логично было бы ожидать, что большинство из 21 генов, входящих в тест OncotypeDx, также должны входить и в MammaPrint, описывающий уровни экспрессии 70 генов. Однако это не так: общим для этих тестов является только один ген. Работа, сравнивающая чувствительность и специфичность тестов OncotypeDx и MammaPrint, была опубликована в 2006 году в одном из лучших медицинских журналов — «New England Journal of Medicine» [6]. В этой работе показано, что при исследовании одной и той же группы из 295 больных обоими тестами их конкордантность составляет 80%.

Пристальный взгляд на опубликованные данные вызывает тревогу: 15 из 33 больных, классифицированных как относящихся к промежуточной группе риска по тесту OncotypeDx (показатель рецидива от 11 до 25), в соответствии с результатами теста MammaPrint были отнесены к группе

высокого риска. Другими словами, для больных промежуточной группы рисков дискордантность тестов составила 50%. Оценка этого результата в соответствии с реалиями клинической практики означает, что если врач посоветует больному один из тестов — MammaPrint — его результат укажет на необходимость послеоперационной химиотерапии, а если врач выберет другой тест — OncotypeDx — необходимость химиотерапии будет оценена как невысокая. В такую абсурдную ситуацию попадет ровно половина больных из группы промежуточного риска, то есть как раз те больные, для которых прогноз с помощью традиционных методов оценки вероятности метастазирования затруднен. Другими словами, IVDMA-тесты хорошо справляются с классификацией больных, которые могут быть и так классифицированы традиционными методами клинической гистопатологии, но становятся дискордантными при оценке трудноклассифицируемых больных, а значит, не слишком-то и помогают клиницисту. Детальный анализ тестов MammaPrint и OncotypeDx выполнен в работе Koscielny S. из Института Гюстава Русси, Франция [15].

#### *Tissue of Origin: выявление тканевого типа метастатических опухолей неизвестного происхождения*

Тест **Tissue of Origin** (Pathwork Diagnostics, USA) основан на определении профиля экспрессии РНК в парафинизированных или замороженных образцах ткани с помощью экспрессионного микрочипа Affymetrix. Тест предназначен для выявления тканевого типа метастатических опухолей неизвестного происхождения с потерей дифференцировки и представляет собой одновременный анализ 1668 генов с последующей количественной оценкой сходства паттерна экспрессии этих генов в исследуемом образце и 15 известных типах опухолей.

Слепые клинические испытания панели Tissue of Origin показали, что в среднем совпадение с истинным диагнозом составляет 88,5%, варьируя от 72% для рака желудка до 96,5% для карциномы молочной железы. Для классификации первичных опухолей яичника и эндометрия по дедифференцированным образцам, фиксированным в формалине, недавно была разработана модификация теста Tissue of Origin, включающая определение уровней экспрессии 316 генов [16]. Модификация клинически испытана и показала хорошие результаты, но пока не одобрена.

**Прогностические панели, определяющие наличие злокачественной опухоли яичника**

Первым одобренным IVDMI-тестом, основанном на одновременном анализе нескольких белков, стал тест OVA1, разработанный Vermillion и впоследствии приобретенный крупной компанией Quest Diagnostics. Тест суммирует уровни экспрессии пяти белковых биомаркеров в единый показатель, варьирующий от 1 до 10 и отражающий вероятность наличия карциномы яичника у женщин старше 18 лет, направляемых на операцию по поводу опухоли придатков неизвестной природы. Тест OVA1 включает пять сывороточных биомаркеров — преальбумин, аполипопротеин А-1, трансферрин, в-2-микроглобулин и СА125, измеряемых с помощью двух различных платформ иммунохимии: Roche Diagnostics' Elecsys 2010 для СА125 и Siemens Healthcare Diagnostics' BNII System для остальных компонентов теста. Уровни каждого из биомаркеров объединяются в общий показатель, вычисляемый специальной программой OvaCalc software, доступной в виде веб-приложения ([www.he4test.com/](http://www.he4test.com/)), а также в качестве локального приложения для персональных компьютеров и смартфонов. Для женщин, не достигших менопаузы, уровнем отсечения высокой вероятности наличия злокачественной опухоли является 5,0; для женщин, находящихся в менопаузе, — 4,4 или выше. Разработка технологии OVA1 потребовала тестирования более 2500 образцов сыворотки больных с доброкачественными и злокачественными новообразованиями придатков [7].

В 2007 году Vermilion провел клинические испытания теста, позволившие сравнить результаты клинического диагноза, поставленного до этапа хирургии, и теста OVA1. В контрольной группе клиницисты проводили гинекологический осмотр и ультразвуковое исследование, а также получали результат единичного биомаркерного теста СА125, что позволило выявить 72% всех злокачественных опухолей яичников на предоперационном этапе. В случае, когда лечащему врачу были доступны результаты тех же самых рутинных исследований,

но тест СА125 был заменен на OVA1, правильный диагноз был поставлен для 92% опухолей, в то время как диагноз доброкачественной опухоли придатков матки был подтвержден в 93% наблюдений. В 80% случаев «ошибок клиницистов», давших предоперационное заключение о доброкачественном характере опухоли, использование OVA1 позволило «исправить» диагноз. Наиболее важными оказались результаты, полученные у больных с ранними стадиями карциномы яичника — только 68% таких опухолей были выявлены с помощью СА125, в то время как панель OVA1 корректно выявила 98% опухолей этой стадии. Еще более заметной была разница для ранних стадий рака яичника у молодых больных (до менопаузы) — 36% и 93% [24].

Панель OVA1 предназначена для выявления злокачественных опухолей яичника в высокорисковой популяции женщин, направленных на операцию по поводу имеющейся опухоли придатков. В этой популяции, где частота злокачественных опухолей составляет порядка 30%, цена ложноотрицательного и ложноположительного результатов не так высока — ведь яичник так или иначе будет удален. Правда, и стоимость теста OVA1 составляет около 650 долларов.

В сентябре 2011 года FDA одобрило еще один тест, выявляющий злокачественные опухоли яичника, — так называемый Risk of Malignancy Algorithm (ROMA), разработанный японской компанией Fujirebio Inc. Тест основан на комбинации уровней секреторного белка 4 эпидидимиса человека (HE4), принадлежащего к семейству сывороточных кислых белков, и хорошо известного биомаркера СА125. При этом необходимо учитывать, достигла ли пациентка менопаузы. В качестве единичного биомаркера для послеоперационного мониторинга карциномы яичника HE4 был одобрен еще в 2008 году.

Тест ROMA может быть выполнен только с использованием наборов ThunderBolt EIA для HE4 и ARCHITECT для СА 125 II, разработанных компанией Gold Standard Diagnostics (GSD), Дэвис,

Таблица 3

**Оценка прогностического индекса (ПИ) по критерию ROMA [18]**

Группа	Формула оценки прогностического индекса (ПИ)	Предсказанная вероятность	Пороговое значение высокого риска
Женщины до менопаузы	$-12,0+2,38 \times \ln(\text{HE4})+0,0626 \times \ln(\text{CA125})$	$e(\text{ПИ})/(1+e(\text{ПИ})) \times 100\%$	12,5%
Женщины после менопаузы	$-8,09+1,04 \times \ln(\text{HE4})+0,732 \times \ln(\text{CA125})$		14,4%

Калифорния. Как и OVA1-панель, сочетанный ROMA-тест должен быть предложен только женщинам, уже направленным на операцию по поводу опухоли придатков матки. Стоимость ROMA-теста составляет порядка 100 долларов.

А как же диагностировали больных карциномой яичника до эпохи ROMA и OVA1? Двадцать лет назад в Великобритании для этого был разработан так называемый индекс RMI (the Risk of Malignancy Index), включавший результат ультразвукового исследования, менопаузальный статус и уровень СА125. Чувствительность британского RMI составляла 71%–88% при специфичности 74%–97%. В США диагностику осуществляли с помощью критериев, установленных Обществом онкогинекологов США и Американским колледжем акушерства и гинекологии, правда, эти критерии отличались меньшей чувствительностью и специфичностью по сравнению с RMI. Сравним RMI и новые биомаркерные панели.

Использование OVA1 обеспечивает чувствительность от 85% до 96% при специфичности от 28% до 40%, в зависимости от наличия или отсутствия менопаузы, в то время как ROMA обладает чувствительностью 93%–94% при специфичности 75% [3]. Падение специфичности тестов, наблюдаемое как в случае ROMA, так и в случае OVA1, не влияет на исход заболевания (так или иначе, опухоль будет удалена), однако, очевидно, должно приводить к существенному увеличению числа больных, направляемых на химиотерапевтическое лечение, а значит, увеличению медицинских расходов. Для предоперационной диагностики карциномы яичника комбинация чувствительности и специфичности ROMA-теста (Area Under the Curve) не отличается от таковой для единичного биомаркера HE4 [18]. Однако биомаркер HE4 не одобрен для данной группы больных как единичный и не будет одобрен, поскольку для получения такого одобрения диагностическая компания должна провести дорогие испытания биомаркерной панели. Посколь-

ку компания-правообладатель уже провела такие испытания для ROMA-комбинации биомаркеров и получила лицензию на ее использование, проведение испытаний единичного биомаркера — более дешевого диагностического средства, чем комбинация, экономически невыгодна для компании-правообладателя.

Новым игроком на рынке неинвазивных биомаркерных панелей для диагностики карциномы яичника недавно стала компания Arrayit, начавшая разработку теста OvaDx, направленного на предсимптоматическую диагностику этого заболевания. Тест, требующий в качестве исходного материала только несколько высушенных капель крови, которые могут быть пересланы по почте, основан на микрочиповом анализе состояния активации иммунной системы, возникающего в результате развития опухоли. Первая тысяча тестов OvaDx была предложена участникам 102-го ежегодного съезда Американской ассоциации исследователей рака в апреле 2011 года. Сегодня тест проходит клинические испытания и доступен исключительно в исследовательских целях по цене 650 долларов.

### Заключение

Использование молекулярных биомаркеров онкологических заболеваний имеет широкую перспективу. Уже сейчас в ряде случаев биомаркеры позволяют заменить инвазивные методы диагностики на менее болезненные анализы жидкостей организма, давая при этом достаточно надежные результаты. Учитывая большой интерес научного сообщества к этому вопросу и возрастающий спрос со стороны клиницистов, можно ожидать появления все большего количества тест-систем и улучшения их характеристик. Тем не менее при использовании таких тестов необходимо четко понимать их сильные и слабые стороны, грамотно оценивать возможности биомаркеров и ставить адекватные диагностические задачи.

## ЛИТЕРАТУРА

1. ACS. American Cancer Society | Information and Resources for Cancer: Breast, Colon, Lung, Prostate, Skin [Online]. URL: <http://www.cancer.org/index> (accessed: 11.09.2012).
2. Autelitano D.J., Raineri L., Knight K., Bannister K., Rice G.E. Performance of a multianalyte test as an aid for the diagnosis of ovarian cancer in symptomatic women, *J Transl Med.* 10 (2012) 45.
3. Bast R.C. Jr, Skates S., Lokshin A., Moore R.G. Differential diagnosis of a pelvic mass: improved algorithms and novel biomarkers, *Int. J. Gynecol. Cancer.* 22 Suppl 1 (2012) S5–8.
4. Braakhuis B.J.M., Tabor M.P., Kummer J.A., Leemans C.R., Brakenhoff R.H. A genetic explanation of Slaughter's concept of field cancerization: evidence and clinical implications, *Cancer Res.* 63 (2003) 1727–1730.



5. Carlson J.W., Jarboe E.A., Kindelberger D., Nucci M.R., Hirsch M.S., Crum C.P. Serous tubal intraepithelial carcinoma: diagnostic reproducibility and its implications, *Int. J. Gynecol. Pathol.* 29 (2010) 310–314.
6. Fan C., Oh D.S., Wessels L., Weigelt B., Nuyten D.S.A., Nobel A.B. et al., Concordance among gene-expression-based predictors for breast cancer, *N. Engl. J. Med.* 355 (2006) 560–569.
7. Fung E.T. A recipe for proteomics diagnostic test development: the OVA1 test, from biomarker discovery to FDA clearance, *Clin. Chem.* 56 (2010) 327–329.
8. Graham T.A., McDonald S.A., Wright N.A. Field cancerization in the GI tract, *Future Oncol.* 7 (2011) 981–993.
9. Guerriero S., Alcazar J.L., Pascual M.A., Ajossa S., Gerada M., Bargellini R. et al., Intraobserver and interobserver agreement of grayscale typical ultrasonographic patterns for the diagnosis of ovarian cancer, *Ultrasound Med Biol.* 34 (2008) 1711–1716.
10. Halm U., Rohde N., Klapdor R., Reith H.B., Thiede A., Etzrodt G. et al., Improved sensitivity of fuzzy logic based tumor marker profiles for diagnosis of pancreatic carcinoma versus benign pancreatic disease, *Anticancer Res.* 20 (2000) 4957–4960.
11. Hutchinson E. Screening: Fingerprinting cancer cells, *Nature Reviews Cancer.* 2 (2002) 557–557.
12. Kalantri Y., Naik G., Joshi S.P., Jain A., Phatak S., Chavan R. et al., Role of cancer antigen-125 from pleural & ascitic fluid samples in non malignant conditions, *Indian J. Med. Res.* 125 (2007) 25–30.
13. Köbel M., Kalloger S.E., Baker P.M., Ewanowich C.A., Arseneau J., Zherebitskiy V., et al., Diagnosis of ovarian carcinoma cell type is highly reproducible: a transcanadian study, *Am. J. Surg. Pathol.* 34 (2010) 984–993.
14. Konety B.R., Getzenberg R.H. Urine based markers of urological malignancy, *J. Urol.* 165 (2001) 600–611.
15. Koscielny S. Critical review of microarray-based prognostic tests and trials in breast cancer, *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 20 (2008) 47–50.
16. Lal A., Panos R., Marjanovic M., Walker M., Fuentes E., Kapp D.S. et al., A gene expression profile test for the differential diagnosis of ovarian versus endometrial cancers, *Oncotarget.* 3 (2012) 212–223.
17. LTOL. Lab Tests Online: Welcome! [Online]. URL: <http://labtestsonline.org/> (accessed: 11.09.2012).
18. Montagnana M., Danese E., Ruzzenente O., Bresciani V., Nuzzo T., Gelati M. et al., The ROMA (Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) for estimating the risk of epithelial ovarian cancer in women presenting with pelvic mass: is it really useful?, *Clin. Chem. Lab. Med.* 49 (2011) 521–525.
19. NCI. Tumor Markers — National Cancer Institute [Online]. URL: <http://nci.nih.gov/cancertopics/factsheet/detection/tumor-markers> (accessed: 11.09.2012).
20. Okada F. Inflammation and free radicals in tumor development and progression, *Redox Rep.* 7 (2002) 357–368.
21. Oremek G.M., Sauer-Eppel H., Bruzdziak T.H. Value of tumour and inflammatory markers in lung cancer, *Anticancer Res.* 27 (2007) 1911–1915.
22. Sandhu J.S. Management of elevated prostate-specific antigen in men with nonbacterial chronic prostatitis, *Curr Urol Rep.* 10 (2009) 302–306.
23. Sarandakou A., Phocas I., Botsis D., Rizos D., Trakakis E., Chryssikopoulos A. Vaginal fluid and serum CEA, CA125 and SCC in normal conditions and in benign and malignant diseases of the genital tract, *Acta Oncol.* 36 (1997) 755–759.
24. Ueland F.R., Desimone C.P., Seamon L.G., Miller R.A., Goodrich S., Podzielinski I. et al., Effectiveness of a multivariate index assay in the preoperative assessment of ovarian tumors, *Obstet Gynecol.* 117 (2011) 1289–1297.
25. van't Veer L.J., Dai H., van de Vijver M.J., He Y.D., Hart A.A.M., Mao M. et al., Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer, *Nature.* 415 (2002) 530–536.
26. Xu J., Meyers D.A., Sterling D.A., Zheng S.L., Catalona W.J., Cramer S.D. et al., Association studies of serum prostate-specific antigen levels and the genetic polymorphisms at the androgen receptor and prostate-specific antigen genes, *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 11 (2002) 664–669.
27. Xue W., Irvine R.A., Yu M.C., Ross R.K., Coetzee G.A., Ingles S.A. Susceptibility to prostate cancer: interaction between genotypes at the androgen receptor and prostate-specific antigen loci, *Cancer Res.* 60 (2000) 839–841.
28. Yazbek J., Ameje L., Testa A.C., Valentin L., Timmerman D., Holland T.K. et al., Confidence of expert ultrasound operators in making a diagnosis of adnexal tumor: effect on diagnostic accuracy and interobserver agreement, *Ultrasound Obstet Gynecol.* 35 (2010) 89–93.
29. Yip P., Chen T.-H., Seshiah P., Stephen L.L., Michael-Ballard K.L., Mapes J.P. et al., Comprehensive serum profiling for the discovery of epithelial ovarian cancer biomarkers, *PLoS ONE.* 6 (2011) e29533.