

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ИММУНОДИАГНОСТИКИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ ЯИЧНИКОВ

С.О. Никогосян, З.Г. Кадагидзе, В.М. Шелепова, В.В. Кузнецов

ФГБУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

В обзорной статье представлен исторический очерк, посвященный развитию и внедрению в клиническую онкологию методов иммунодиагностики злокачественных опухолей яичников, рассмотрено диагностическое значение опухолевых маркеров, ведущих для рака яичников.

Ключевые слова: рак яичников, иммунодиагностика, опухолевые маркеры.

MODERN METHODS OF IMMUNOLOGICAL DIAGNOSIS OF MALIGNANT OVARIAN TUMORS

S.O. Nikogosyan, Z.G. Kadagidze, V.M. Shelepova, V.V. Kuznetsov

Federal State Budgetary Institution «N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center»
of the Russian Academy of Medical Sciences

This review article presents a historical review of the development and implementation of the immunodiagnostic methods of malignant ovarian tumors in clinical oncology. The diagnostic value of the leading tumor markers for ovarian cancer and a new marker of epithelial ovarian cancer (protein-4 of human epidermis, HE4) have been described in the article. The biochemical and clinical characteristics of this marker, as well as information about its diagnostic and prognostic value in combination with the CA-125 marker, has been also analyzed. The risk assessment model (ROMA – Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) for women with ovarian space-occupying process, depending on the concentrations CA-125 and HE4 in serum and reproductive status of a patient, has been described in details.

Key words: ovarian cancer, markers, Ca-125, HE4, ROMA, monitoring.

Морфофункциональные особенности яичников предопределили множество разных по эмбриогенезу и биологическим свойствам новообразований. Процесс канцерогенеза может начаться из клеток эпителиального покрова (эпителиальные опухоли), из мезенхимальных (опухоли стромы и полового тяжа) и зародышевых (герминогенные опухоли) клеток. Успешное лечение злокачественных опухолей и, в частности, рака яичников (РЯ) зависит в первую очередь от степени распространенности опухоли. Пятилетняя выживаемость больных при начальных стадиях РЯ составляет 70–85% и только лишь 18–35% при поздних стадиях заболевания. В этой связи ранняя диагностика РЯ становится ведущим фактором прогноза заболевания.

Алгоритм диагностики злокачественных опухолей яичников, принятый в 1988 г. обществом

онкологов-гинекологов (Society of Gynecologic Oncology, SGO) и Американской коллегией акушеров и гинекологов (American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG), включает клинический осмотр, лучевые методы визуализации и иммунологический анализ крови [16]. Эти исследования позволяют определить состояние половых органов пациентки, наличие и характер новообразования. При этом ключевое значение для диагностики рака яичников имеет иммунологическое исследование.

Эра иммунодиагностики опухолей началась с 60-х годов прошлого века. В 1962 г. Г.И. Абе-лев и соавторы изучали белковый состав злокачественных и нормальных гепатоцитов у мышей для выявления белковых антигенов вирусов, которые могли бы стать индуктором малигнизации нормальной клетки. В ходе этих исследований было обнаружено, что открытый

ранее в лаборатории Л.А. Зильбера специфический антиген перевиваемой гепатомы мышей, отсутствующий в органах и сыворотке здоровых особей, идентичен с глобулином сыворотки плода. В ходе исследований, проведенных на экспериментальных и спонтанных образцах злокачественных опухолей, было установлено, что злокачественные опухоли вырабатывают антигены, идентичные эмбриональным антигенам человека. В 1963 г. Абелев Г.И. выделил альфа-фетопротеин (АФП) из злокачественных клеток печени. Этот антиген стал одним из первых серологических маркеров опухолей, вошедших в широкую клиническую практику. Вслед за АФП был открыт раково-эмбриональный антиген (РЭА) [1, 2, 3, 6, 7, 13].

Последующими исследованиями было показано, что опухоли продуцируют не только эмбриональные белки и специфические антигены, но и гормоны, которые могут быть обнаружены в сыворотке крови больных, а также продукты обмена и/или распада опухоли (белки, ферменты и т.п.). При этом степень экспрессии этих веществ в сыворотке крови у онкологических больных зависит не только от гистологической структуры, но и степени распространенности опухоли [5, 6, 7]. Оказалось, что разные по гистогенезу опухоли продуцируют разные антигены. Например, альфа-фетопротеин (АФП), раково-эмбриональный антиген (РЭА), лактатдегидрогеназа (ЛДГ) продуцируются опухолью печени, опухолевые антигены 199 (СА-199) и РЭА являются ведущими маркерами рака толстой кишки, СА-153 и РЭА — рака молочной железы и т.п. Определение концентрации опухолевых маркеров в сыворотке крови и сопоставление полученных данных с результатами клинико-морфологических исследований привели к внедрению в клиническую онкологию методов специфической иммунодиагностики [1, 2, 3, 13].

Диагностика рака яичников перешла на качественно новый уровень с открытием опухолевого антигена-125 (СА-125). Этот антиген был обнаружен в 1981 г. Bast В.С. и соавторами [19]. Оказалось, что СА-125 является гликопротеином с молекулярной массой 220kD и происходит из дериватов целемического эпителия тканей плода, присутствует в нормальной ткани эндометрия, яичников, подже-

лудочной железы, желчного пузыря, желудка, бронхов, почек, кишечника. В последующем было показано, что СА-125 присутствует в организме в двух формах: свободной и мембранно-связанной.

В свободной форме СА-125 выявляется во внутрибрюшной, плевральной и амниотической жидкостях, в слюне, грудном молоке и влагалищном секрете [16, 38].

Мембранно-связанная форма антигена идентифицирована путем обработки гистологических срезов специфическими антителами. В дальнейшем на мембранах исследуемых клеток был обнаружен трансмембранный домен СА 125 [40] как результат реакции между антигеном и антителом. Эта форма СА-125 характерна для клеток железистого эпителия женских половых органов, молочных желез и дыхательной системы [31, 37, 41].

СА-125 в небольшом количестве определяется в сыворотке крови у 95% здоровых женщин, составляя в среднем 35,916,25 МЕ/мл. В связи с этим уровень СА-125 ≤ 35 МЕ/мл принято считать референсным или дискриминационным.

В норме повышенная концентрация СА-125 в сыворотке крови наблюдается в первом триместре беременности и во время менструации. Есть предположение, что у женщин детородного возраста основным источником СА-125, по всей вероятности, является эндометрий. Это объясняет циклическое изменение концентрации маркера в зависимости от фазы менструального цикла. Кроме того, СА-125 синтезируется в мезотелии брюшины, плевры, перикарда, эпителии бронхов, маточных труб, яичников, в эпителии яичек у мужчин [19, 20, 21].

Превышение уровня 35 МЕ/мл — весомый аргумент в пользу злокачественности опухоли яичников. Повышенный уровень СА-125 наблюдается более чем у 80% всех больных РЯ. При этом чувствительность метода колеблется от 50% до 95% и зависит от стадии заболевания и гистологической структуры опухоли [19, 23, 15, 17, 18, 39]. Так, например, повышение уровня СА-125 в крови чаще всего наблюдается при эпителиальных новообразованиях яичников: у 90% больных серозной цистаденокарциномой и у 82% больных низкодифференцированной карциномой. Сравнительно реже повышенная

концентрация СА-125 в крови наблюдается при эндометриоидной (30–60%) и муцинозной (30%) карциномах (табл. 1) [16].

Чувствительность СА-125 при ранних стадиях рака яичников составляет всего 50%. Это означает, что в половине случаев начальной стадии РЯ уровень СА-125 не превышает норму и, следовательно, не может стать весомым фактором скрининга [21, 25, 27, 35, 36]. При этом у пациенток с более поздними стадиями заболевания (II–IV) чувствительность теста возрастает до 96 % [21, 30].

Показано, что уровень СА-125 повышается только у 55% больных при размерах опухоли менее 1 см, у 80% больных — 1–5 см и у 92% больных — более 5 см [9, 26]. Наряду с этим концентрация СА-125 может достичь 10–20 тыс. МЕ/мл при первичной опухоли малых размеров. Подобная закономерность отмечается при возникновении метастазов по брюшине или наличию асцита. Показано, что пораженная опухолью брюшина становится новым дополнительным источником экскреции антигена [6, 7, 9, 22, 26].

Однако повышение уровня СА-125 характерно не только для опухолевого процесса, повышение его уровня в сыворотке крови выявляется при перитонитах туберкулезной этиологии и пневмониях [17]. При доброкачественных опухолях яичников увеличение уровня СА-125 отмечено у 8 % больных [18, 33].

Этот антиген выявляется также при эндометриозе и миоме матки, причем при этих патологиях его средний уровень повышается примерно до одних и тех же величин. Высокие показатели СА-125 отмечены даже после пангистерэтомии. Отмечается небольшое повышение уровня СА-125 также при раке молочной желе-

зы, тела матки, предстательной железы, легких, поджелудочной железы и некоторых опухолях других локализаций. Показано, что при этих состояниях уровень СА-125 в основном колеблется в пределах так называемой «пограничной зоны» и повышается не более 65 МЕ/мл. Концентрация СА-125 в крови выше 65 МЕ/мл считается более достоверным признаком наличия злокачественного новообразования. Подобная интерпретация результатов уровня СА-125 весьма условна и не всегда отражает истинную картину болезни. Есть наблюдения чрезмерного повышения концентрации СА-125 (свыше 500 МЕ/мл при воспалении придатков матки или выраженном специфическом колите). Наряду с этим почти у половины больных I стадией РЯ уровень маркера не превышает 35 МЕ/мл. Таким образом, СА-125 не является абсолютно специфичным маркером РЯ [12, 28, 32] и не обладает высокой диагностической ценностью при ранних стадиях заболевания [21, 25, 36, 41]. Вместе с тем устойчивое повышение концентрации СА-125 в крови здоровых женщин можно расценивать как ранний признак возможного развития РЯ. В широкомасштабных исследованиях показано, что велика вероятность РЯ у женщин, у которых концентрация СА-125 в сыворотке крови превышает норму в два и более раза.

Повышенный уровень маркера после менопаузы с большей вероятностью сопряжен со злокачественными эпителиальными опухолями яичников. У этих женщин рак подтверждается в 90% наблюдений [5, 24, 29]. Следовательно, СА-125 имеет высокую диагностическую ценность для скрининга РЯ у женщин менопаузального возраста. Маркер информативен также в группе женщин репродуктивного

Таблица 1

Частота повышения уровня СА-125 в зависимости от гистологического типа злокачественной опухоли яичников

Гистологический тип опухоли	Частота повышения уровня СА-125 (%)
Серозная аденокарцинома	90
Эндометриоидная аденокарцинома	30–60
Муцинозная аденокарцинома	32
Светлоклеточная аденокарцинома	40
Низкодифференцированный рак	82

возраста с риском возникновения рака яичников (наследственная форма РЯ, мутация гена BRCA-1 или BRCA-2, женщины, подвергшиеся гиперстимуляции яичников, и др.) [5].

В случаях, когда ультразвуковая картина подозрительна в отношении неэпителиальной опухоли яичников, помимо СА-125 уместно изучать уровень других сывороточных маркеров. К ним относятся онкофетальные антигены (АФП, РЭА), гликопротеиды (Cancer antigen, СА-125, СА-153, СА-199), ферменты (лактат-дегидрогеназа — ЛДГ) и гормоны (эстрадиол, тестостерон, β субъединица хорионического гонадотропина (ХГ), ингибин, фактор регрессии мюллеровых протоков) [4, 8, 13].

Для опухолей стромы полового тяжа характерно повышение концентрации ингибина, эстрадиола, тестостерона и фактора регрессии мюллеровых протоков. Повышенная экскреция ЛДГ, ХГ, АФП и РЭА более характерна для герминогенных опухолей яичников.

Маркеры АФП и РЭА у больных злокачественными опухолями яичников информативны для дифференциальной диагностики между метастазами в печени и доброкачественными образованиями печени у больных РЯ.

При подозрении на муцинозные опухоли яичников помимо СА-125 показано определение маркера СА-199. Этот маркер специфичен для опухолей желудочно-кишечного тракта, в то же время его уровень может повышаться и при муцинозном РЯ, особенно когда клетки опухоли имеют кишечный тип строения.

Определение уровня маркера СА-153 в совокупности с маммографией и ультразвуковым исследованием позволяет провести дифференциальную диагностику первичных эпителиальных опухолей яичников с метастазами рака молочной железы. В то же время подобная тактика позволяет исключить первично-множественные злокачественные новообразования яичников и молочной железы.

В последние годы в клиническую практику кроме существующих маркеров внедрен новый маркер злокачественных эпителиальных новообразований яичников. Белок-4 эпидермиса человека (HE4) впервые был выделен из эпителиальных клеток эпидидимиса. Он принадлежит к семейству ингибиторов протеиназ, представляет собой кислый гли-

копротеин с молекулярной массой 25 кДа с четырьмя дисульфидными связями. Биологическая функция HE4 неизвестна. Предполагается, что он обладает антипротеиназной активностью, при этом мишень протеиназы не установлена. В нормальном эпидидимисе он вовлечен в созревание спермы, обладает антимикробной и противовоспалительной активностью [24, 29, 34, 35, 39].

В норме HE4 экспрессируется эпителиальными клетками органов репродуктивной системы, верхних дыхательных путей и поджелудочной железы. Этот белок продуцируется также у пациенток с доброкачественными опухолями яичников и матки и при эндометриозе.

Повышенная продукция этого белка выявлена при раке яичников и эндометрия, реже — при распространенных формах аденокарциномы легких. Показано, что чувствительность HE4 при раке яичников составляет 67%, а специфичность — 96%. При дальнейшем изучении установлено, что уровень HE4 имеет наибольшую чувствительность на ранних стадиях РЯ. Кроме того, международными многоцентровыми исследованиями установлено, что вероятность наличия злокачественной опухоли яичников с максимальной точностью можно определить при изучении уровня HE4 в сочетании с СА-125. Впервые Moore R.G. и соавторами была разработана и предложена модель подсчета степени вероятности РЯ [34, 35], то есть риска наличия РЯ (ROMA — Risk of Ovarian Malignancy Algorithm) у женщин с объемными образованиями яичников в зависимости от значений концентраций СА-125 и HE4 в сыворотке крови. При этом учитывается репродуктивный статус пациентки. Предложенная методика позволяет рассчитать вероятность РЯ и разделить женщин на группы низкого и высокого риска.

В основе расчета ROMA лежит определение так называемого прогностического индекса (ПИ, Predictive Index, PI). При этом формула подсчета разработана отдельно для женщин репродуктивного возраста и в постменопаузе. Для женщин репродуктивного возраста еще до наступления менопаузы прогностический индекс рассчитывается по формуле:

$$ПИ = -12,0 + 2,38 \times \ln(HE4) + 0,0626 \times \ln(СА-125).$$

Для женщин постменопаузального возраста жизни ПИ рассчитывается по формуле:

$$ПИ = -8,09 + 1,04 \times \ln(HE4) + 0,732 \times \ln(CA-125),$$

где \ln — натуральный логарифм, \exp — экспонента.

Расчет ROMA:

$$ROMA (\%) = \exp(ПИ) / [1 + \exp(ПИ)] \times 100.$$

Установлено, что для женщин репродуктивного возраста референсные значения ROMA, равные или более 11,4%, указывают на высокий риск РЯ, тогда как значения ROMA менее 11,4% свидетельствуют о низком риске РЯ.

У женщин постменопаузального возраста жизни референсные значения ROMA, равные или более 29,9%, указывают на высокий риск,

а значения ROMA менее 29,9% говорят о низком риске РЯ.

Вместе с тем, согласно данным авторов, использование одного лишь СА-125 в диагностике РЯ у женщин репродуктивного возраста более информативно, чем использование комбинации HE4+ СА-125 (Moore et al, [37, 38]). Предварительные исследования показали, что ROMA может стать важным звеном в скрининге РЯ и дифференциальной диагностике опухолей яичников.

Таким образом, с развитием онкоиммунологии и внедрением в клиническую практику новых опухолевых маркеров значительно возрастают шансы ранней и более точной диагностики злокачественных опухолей яичников.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Абелев Г.И.* Изучение антигенной структуры опухолей // Труды 8 Международного противоракового конгресса — 1963. Т. 3. — С. 224–227.
2. *Абелев Г.И., Альбрехтсен Р., Бегшоу К.* и др. Клиническое применение фетопротеина и хориогонного гонадотропина при герминальных опухолях яичка // Вопросы онкологии. — 1979. — № 9. — С. 111.
3. *Абелев Г.И.* Эмбриональные антигены в опухолях. Анализ в системе фетопротеина // Опухолевый рост как проблема биологии развития. — М.: Наука, 1979. — С. 148–173.
4. *Винокуров В.Л.* Рак яичников: закономерности метастазирования и выбор адекватного лечения больных. — СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2004.
5. *Имянитов Е.Н.* Молекулярные нарушения в опухолях яичников // Диагностика и лечение рака яичников / Под ред. В.А. Горбуновой. — М., 2011.
6. *Канцерогенез* / Под ред. чл.-корр. РАМН Д.Г. Заридзе. — М., 2000.
7. *Косьяненко С.Н.* Современные аспекты использования онкомаркеров в диагностике опухолей яичников // Онкология на заметку ликару — 12АСи 13.04.2012.
8. *Никогосян С.О., Жордания К.И., Кедрова А.Г., Паниченко И.В.* Рак яичников // Лекции по онкогинекологии / Под ред. М.И. Давыдова и В.В. Кузнецова. — М., 2009.
9. *Никогосян С.О.* Серозная цистаденокарцинома яичников (факторы риска, клиника, прогноз): Дисс. ... канд. мед. наук. — М., 1991.
10. *Никогосян С.О., Каирбава М.Ж., Козаченко В.П., Жордания К.И., Кузнецов В.В.* Хирургическое лечение рака яичников // Диагностика и лечение рака яичников / Под ред. В.А. Горбуновой. — М., 2011.
11. *Никогосян С.О., Кузнецов В.В.* Рак яичников: вопросы диагностики и современные методы лечения // Врач. — 2010. — № 9. — С. 16.
12. *Шелепова В.М., Паяниди Ю.Г., Огай Д.С., Камурников А.Ю., Казимирчук В.В., Сельчук В.Ю.* Использование опухолевых маркеров в диагностике первично-множественных злокачественных новообразований яичников и молочной железы // Онкогинекология. — 2012. — № 4. — С. 58–61.
13. *Abelev G.I.* Alpha-fetoprotein in onkogenesis and its association with malignant tumors // Adv.Cancer. Res. 1971. — V. 14. — p. 295–358.
14. ACOG Committee Opinion: Number 280: The role of the generalist obstetrician-gynecologist in the early detection of ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 100:1413–1416, 2002 (suppl 280).
15. *Altas M.M., Golderg G.L., Levin W., Radio F.F., Blosch B., Darg L., Smith J.A.* The role of cancer antigen 125 in management of ovarian epithelial carcinomas // *Gynecol.oncol.* 1988. V. 30. № 1. P. 26–34.
16. *Barbati A., Lauro V., Orlacchio A.* e.a. *Anticancer Res.* 1996. V. 16. №. 6 B. P. 3621–3624 1.
17. *Bartel U., Gohannsen B., Elliny D.* The value of CA-125 Bestimmungen in serum von patientinnen mit ovarialkazinomen // *Zentralbl-Gynakol.* 1989. 111(5). P. 301–309.

18. Bast R.C. Jr., Urban N., Shridhar V. e.a. *Cancer Treat. Res.*, 2002, V. 107. P. 61–97.
19. Bast R.C., Klug T.L., St.Jonh E., Jenson L., Niloff J.M. et al. A.Radioimmunoassey using a monoclonal antibody to monitor course of epithelial ovarien cancer // *New. Engl. J.Med.* 1983. V. 309. P. 883–887.
20. Bast R.C.G., Felney M., Lasatus H., Nadler L.M., Colvin R.B., Knepp R.C. Reaktivity of monoelenal antibody with human ovarlen carcinoma // *J. Clin. Invest.* 1981. V. 68. P. 1331–1337.
21. Berek J.S., Bast R.C. Jr., *Cancer*, 1995, V. 15, № 76 (10 Suppl.). P. 2092–2096.
22. Cooper B.C., Sood A.K., David C.S., et al: Preop-erative CA-125 levels: An independent prognostic factor for epithelial ovarian cancer. *Obstet Gynecol* 100:59–64, 2002.
23. Davis H.M., Zurawaki V.R., Bast R.C., Klug T.L. Characterization of the CA-125 antigen associated with human epithelial ovarian carcinomas // *Cancer.Res.* 1986. № 46. P. 6143–6148.
24. Drapkin R., von Horsten H.H., Lin Y., et al.: Human epididymis protein 4 (HE4) is a secreted glycoprotein that is overexpressed by serous and endometrioid ovarian carcinomas. *Cancer Res* 2005, 65:2162–2169.
25. Duffly M.J. *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 2001. V. 38. № 3. P. 225–262.
26. Estevas E., Gasap E., Fittipapdo A. et al. CA-125: value in clinical follow-up for ovarian cancer (meting abstract) *Proc. Ann.Med.Am.Soc.Clin.Oncol.* 1989. 8. A 35.
27. Fritsche H.A., Bast R.C. *Clin. Chem.* 1998. V. 44. № 7. P. 1379–1380.
28. Halila H., Stonman U.H., Seppala M. Ovarian cancer antigen CA-125 on pelvic inflam Heffler L.A., Rosen A.C., Graf A.H. e.a. *Cancer.* 2000. V. 89. № 7. P. 1555–1560.
29. Hellstrom I, Hellstrom KE: SMRP and HE4 as biomarkers for ovarian carcinoma when used alone and in combination with CA125 and/or each other. *Adv Exp Med Biol* 2008, 622:15–21.
30. Kenemans P., Verstraeten A.A., van Kamp G.J. e.a. *Ann. Med.* 1995. V. 27. № 1. P. 107–113.
31. Lloyd K.O., Yin B.W., Kudryashov V. *Int. J. Cancer.* 1997. V. 71. № 5. P. 842–850.
32. Maggino T., Gadducci A. *Eur. J. Gynaecol. Oncol.* 2000. V. 21. № 1. P. 64–69.
33. Molina R., Filella X., Jo J. e.a. *Int. J. Biol. Markers*, 1998. V. 13. № 4. P. 224–230.
34. Moore R.G., Brown A.K., Miller M.C., et al.: Utility of a novel serum tumor biomarker HE4 in patients with endometrioid adenocarcinoma of the uterus. *Gynecol Oncol* 2008, 110:196–201.
35. Moore R.G., McMeekin D.S., Brown A.K., et al.: A novel multiple marker bioassay utilizing HE4 and CA125 for the prediction of ovarian cancer in patients with a pelvic mass. *Gynecol Oncol.* 2009, 112:40–46.
36. Münstedt K., Krisch M., Sachsse S. e.a. *Arch. Gynecol. Obstet.* 1997. V. 259. № 3. P. 117–123.
37. O'Brien T.J., Beard J.B., Underwood L.J. e.a. *Tumor Biol.* 2001. V. 22. № 6. P. 348–366.
38. O'Brien T.J., Tanimoto H., Konishi I. e.a. *Int. J. Biol. Markers.* 1998. V. 13. № 4. P. 188–195.
39. O'Brien T., Raymond L., Bannon G., Ford D., Hardardottir H., Miller F., Quirk J. (1991). New monoclonal antibodies identify the glycoprotein carrying the CA125 epitope. *Am J Obstet Gynecol* 165: 1857–1864.
40. Ogmundsdottir H.M., Gudlaugsdottir S., Bjornsson J. e.a. *APMIS.* 1996. V. 104. № 1. P. 47–53.
41. Yin B.W., Lloyd K.O. *J. Biol. Chem.* 2001. V. 20. N. 276. № 29. P. 27371–27375.