

Применение ингибина В при рецидивах гранулезоклеточных опухолей яичников

А.М. Бейшембаев¹, Н.В. Любимова², В.М. Абаев², К.И. Жордания², В.А. Хайленко¹

¹Кафедра онкологии ФУВ ГОУ ВПО РГМУ Росздрава; ²ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва

Контакты: Алмаз Мукашевич Бейшембаев almazyaaka@yandex.ru

Ранняя диагностика рецидивов гранулезоклеточных опухолей яичников (ГКОЯ) остается актуальной проблемой современной онкогинекологии. Ингибин В является одним из наиболее потенциально важных маркеров ГКОЯ. Тем не менее на сегодняшний день в мире существуют лишь единичные исследования, посвященные оценке клинического значения ингибина В. Представлены результаты определения концентрации ингибина В в сыворотке крови пациенток с рецидивами ГКОЯ. Полученные данные свидетельствуют о высокой (80–100%) диагностической чувствительности ингибина В при специфичности 100%.

Ключевые слова: ингибин В, гранулезоклеточные опухоли яичников, рецидивы

Use of inhibin B in recurrent ovarian granulosa cell tumors

A.M. Beishembayev¹, N.V. Lyubimova², V.M. Abayev², K.I. Zhordania², V.A. Khailenko¹

¹Department of Oncology, Russian State Medical University, Russian Agency for Health Care;

²N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Early diagnosis of recurrent ovarian granulosa cell tumors (OGCT) remains an urgent problem of modern oncogynecology. Inhibin B is one of the most potentially important markers of OGCT. Nevertheless, in the world there are today only single studies evaluating the clinical value of inhibin B. The paper presents serum inhibin B measurements in patients with recurrent OGCT. The findings suggest that inhibin B has a high (80–100%) diagnostic sensitivity and 100% specificity.

Key words: inhibin B, ovarian granulosa cell tumors, recurrences

Введение

Злокачественные опухоли репродуктивной системы являются наиболее частыми в структуре онкологической заболеваемости женщин. По данным Международного агентства по изучению рака, ежегодно в мире регистрируется более 165 тыс. новых случаев новообразований яичников. В России ежегодно опухоли яичников выявляют более чем у 12,3 тыс. женщин (16,5 на 100 тыс.). Новообразования яичников занимают 7-е (7%) место в структуре общей онкологической заболеваемости и 3-е — среди гинекологических новообразований после рака эндометрия и шейки матки [1].

Неоспоримый интерес представляют гранулезоклеточные опухоли яичников (ГКОЯ), которые, по данным разных авторов, составляют от 1,5 до 4% всех опухолей данной локализации, а среди гормонопродуцирующих новообразований яичников являются самыми распространенными (около 85%). В соответствии с Международной гистологической классификацией ВОЗ (1995) ГКОЯ относят к новообразованиям стромы и полового тяжа, к группе гранулезо-стромально-клеточных опухолей яичника. Они значительно преоблада-

ют над другими морфологическими вариантами гранулезо-стромально-клеточных опухолей яичников (текомы, фибромы, андро- и гинандробластомы), составляя 50–55% [2].

ГКОЯ относят к группе «непрогнозируемых опухолей», так как до сих пор оценка их злокачественного потенциала на основе имеющихся клинико-морфологических и биологических факторов прогноза затруднена. Рецидивы заболевания наблюдаются у 40% пациенток, при этом стадия заболевания и размер опухоли — единственные клинические факторы прогноза ГКОЯ. Клеточная атипия, митотическая активность, степень злокачественности и тела Колла-Экснера являются общепринятыми патоморфологическими параметрами ГКОЯ, однако при использовании этих критериев предсказать развитие рецидивов часто не представляется возможным [3].

Следует отметить, что ГКОЯ продуцируют ряд стероидных (прежде всего эстрогены, реже — прогестерон и андрогены) и пептидных (ингибин, муллеровская ингибирующая субстанция) гормонов, в связи с чем были разработаны тест-системы и проведен ряд исследований по их использованию в качестве маркеров новообразований яичников.

В настоящее время установлено, что ингибины — это целое семейство гликопротеидных гормонов, уровень которых в крови зависит от фазы менструального цикла у женщин репродуктивного возраста [4].

Наряду с ингибирующей субстанцией Мюллера и активином, ингибины относят к суперсемейству трансформирующего фактора роста- β . По молекулярной структуре ингибины представляют гликопротеины, состоящие из 2 полипептидных цепей. Формирование гетеродимеров из α -субъединицы и одной из двух β -субъединиц (β_A и β_B), находящихся в клетке в неактивном состоянии, сопровождается их активацией. При этом α -субъединица, связанная дисульфидным мостиком с β_A -субъединицей, представляет собой ингибин А, а димер α - и β_B -субъединиц — ингибин В. Кроме того, в биологических жидкостях были выявлены также свободная α -субъединица, не конъюгированная с β -субъединицей — циркулирующий в избытке физиологически инертный мономер, а также ее предшественники (про- α_c , про- α_n). В целом в виде димеров идентифицировано 6 различных молекулярных форм ингибина, лишь 2 из которых с молекулярной массой 33 и 66 кДа проявляют свою эндокринную, а также паракринную активность.

То, что в организме женщины основным местом синтеза ингибина являются яичники, подтверждает тот факт, что его концентрации в крови кастрированных, а также здоровых постменопаузальных женщин неопределимы или крайне низки. В настоящее время установлено, что ингибин А продуцируется в основном доминантным фолликулом, тогда как ингибин В — развивающимися антральными фолликулами, и его главный эндокринный эффект заключается в регуляции гаметогенеза в соответствии с механизмом обратной связи в ответ на продукцию гипофизом фолликулостимулирующего гормона. У женщин репродуктивного возраста концентрация ингибинов в сыворотке крови колеблется в зависимости от фазы менструального цикла. При этом для ингибина А характерен пик секреции в овуляторную и раннюю лютеиновую фазы. В то же время уровень ингибина В сыворотки крови повышается в ранней фолликулярной фазе с достижением максимума в середине и небольшим снижением к концу этой фазы и последующим подъемом концентрации гормона в овуляцию, а в лютеиновой фазе содержание ингибина В постепенно снижается до фоновых уровней, соответствующих пределам аналитической чувствительности используемого иммуноферментного метода детекции [5].

Сведения о том, что в норме у женщин источником ингибина является фолликулярный эпи-

телий яичников, послужили основанием для проведения исследования его экспрессии в опухолях яичников, а также определения в сыворотке крови больных для его оценки как маркера ГКОЯ [6]. Следует, однако, отметить, что большая часть работ была выполнена в ходе исследования иммунореактивного ингибина, включающего как димеры ингибина, так и его свободную α -субъединицу, с использованием появившихся коммерческих, а также разработанных отдельными группами исследователей радиоиммунных, иммунофлуориметрических или иммуноферментных тест-систем [7–10]. Исследованию роли ингибина В в диагностике и мониторинге ГКОЯ посвящены лишь отдельные работы, что обусловлено определенными методическими трудностями и более поздним появлением стандартизированной тест-системы на основе двух высокоспецифичных антител, обладающих высокой аналитической чувствительностью к димерам ингибина В и низкой перекрестной чувствительностью к присутствующей в крови в виде мономера его α -субъединицы [11]. Следует также добавить, что до сих пор отсутствуют стандартизированные нормы ингибина В, которые необходимо учитывать при интерпретации результатов определения гормона у больных с новообразованиями яичников. Решение этой задачи затруднено в связи с достаточно широкой вариабельностью концентраций ингибина, а также методических подходов, используемых при его исследовании.

Цель исследования — изучение клинической значимости ингибина В при рецидивах ГКОЯ.

Материалы и методы

В исследование были включены 33 пациентки с ГКОЯ взрослого типа в возрасте от 18 до 68 лет, которые наблюдались в РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН в период с января 2005 г. по март 2010 г., из них 5 (в возрасте 28–57 лет) — с первичными ГКОЯ, 19 (18–68 лет) — с рецидивами и 9 (23–56 лет) — без признаков прогрессирования заболевания. У всех больных с рецидивами ГКОЯ объем первичной операции всегда включал кастрацию. Диагноз был установлен на основании гистологического исследования послеоперационного материала. В контрольную группу вошли 20 практически здоровых женщин: 10 — с ненарушенным менструальным циклом в возрасте от 24 до 47 лет и 10 — в постменопаузе (46–70 лет). Группы сравнения составили 9 пациенток с доброкачественными опухолями яичников в возрасте от 17 до 68 лет и 5 больных раком яичников — РЯ (22–67 лет).

Определение уровня ингибина В в сыворотке крови обследованных женщин проводили с применением стандартного набора ACTIVE Inhibin В

ELISA («Diagnostic System Laboratories», США). Тест-система основана на прямом двухступенчатом иммуоферментном анализе в плащечном варианте с использованием двойных высокоспецифичных моноклональных антител к α - и β -субъединицам ингибина и стрептавидиновой технологии, что делает возможным определение только димерного содержания ингибина В. Детекция осуществлялась при помощи универсального ридера Elx 800 («Bio-Tek Instruments», США).

Статистический анализ данных проводили при помощи метода Краскела—Уоллеса. Корреляционные зависимости оценивали при использовании непараметрического критерия Спирмена. Пороговые значения определяли на основе ROC-анализа. Различия частот в группах оценивали с помощью непараметрического критерия χ^2 . Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

С учетом зависимости концентрации ингибина В в сыворотке крови у женщин репродуктивного возраста от фазы менструального цикла, а также в связи с наличием в исследуемой группе пациенток с ГКОЯ женщин молодого возраста (от 18 до 45 лет) с сохранной менструальной функцией на I этапе нами был выполнен анализ результатов определения содержания ингибина В у вошедших в контрольную группу практически здоровых женщин для стандартизации условий его исследования в группах больных. В соответствии с данными, представленными в табл. 1, вариабельность концентрации гормона была наименьшей у пациенток, находящихся в периоде постменопаузы: у 10 из 20 практически здоровых женщин в постменопаузе уровень ингибина В не выходил за пределы аналитической чувствительности метода (6 пг/мл), а медиана соответствовала нулю. В то же время у пациенток с сохранной менструальной функцией отмечена выраженная вариабельность содержания ингибина В. При этом наиболее высокие концентрации гормона были обнаружены у женщин, находящихся в фолликулярной фазе (18,4–115,8 пг/мл), что получило отражение в рассчитанной медиане, которая составила 47,1 пг/мл, тогда как в середине цикла она была существенно ниже (4,6 пг/мл), а в конце лютеиновой фазы соответствовала нулю при минимальных индивидуальных значениях (0–6 пг/мл).

Сходные результаты были получены у включенных в качестве группы сравнения больных с доброкачественными опухолями яичников в возрасте от 17 до 68 лет, у которых минимальные уровни ингибина В были выявлены в лютеиновой фазе менструального цикла. Полученные данные позволили сделать вывод о зависимости уровня инги-

бина В от фазы менструального цикла с характерным снижением его секреции практически до нуля у здоровых женщин в конце лютеиновой фазы, а также в постменопаузе. Полученные нами данные согласуются с указанной в тест-системе аналитической чувствительностью метода определения содержания ингибина В (6 пг/мл): максимальные рассчитанные по калибровочной кривой концентрации гормона у практически здоровых женщин в постменопаузе, а также в лютеиновой фазе менструального цикла были $\leq 5,8$ –6 пг/мл, что соответствовало отсутствию его секреции. Выявленная закономерность делает необходимой рекомендацию по определению концентрации ингибина В у пациенток с ГКОЯ с сохранной менструальной функцией в конце лютеиновой фазы цикла при использовании в качестве порогового уровня 6 пг/мл.

Таблица 1. Концентрация ингибина В в сыворотке крови практически здоровых женщин и пациенток с доброкачественными опухолями яичников в зависимости от фазы менструального цикла

Состояние менструального цикла	Концентрация ингибина В, пг/мл	
	Практически здоровые женщины (n=20)	Пациентки с доброкачественными опухолями яичников (n=9)
Дни цикла:		
5–7	47,1 (18,4–115,8)	35 (32,7–47)
12–16	4,6 (0–91,1)	–
26–28	0 (0–6)	0 (0–1,6)
Постменопауза	0 (0–5,8)	0 (0–4,1)

В соответствии с представленными выше данными оценку секреции ингибина В у пациенток с ГКОЯ проводили при определении его содержания в конце менструального цикла (26–30-й дни), когда продукция ингибина В эпителием яичников снижается до нулевых значений. Как следует из табл. 2, для больных с рецидивами и первичными ГКОЯ характерна выраженная вариабельность уровня ингибина В, при этом его медианы были высокими и составляли 188 и 300 пг/мл соответственно. В то же время у пациенток, находящихся в стадии ремиссии, медиана соответствовала нулю при минимальной вариабельности гормона. Аналогичные результаты получены для включенных в качестве группы сравнения больных РЯ, у которых продукция ингибина В не была обнаружена. Следует отметить, что увеличение концентрации ингибина В в группах больных с рецидивами и первичными ГКОЯ было достоверным по отношению к группе пациенток, не имевших признаков заболевания ($p < 0,05$). При анализе результатов определения содержания

ингибина В в зависимости от числа рецидивов достоверных различий между группами пациенток с первым, вторым и третьим рецидивами не зарегистрировано, и, несмотря на различную выраженность секреции гормона, его медианы практически не различались (188, 214 и 188 пг/мл соответственно). Анализ диагностической значимости ингибина В проводили с учетом рекомендованного выше порогового уровня (6 пг/мл), при этом во всех группах пациенток с рецидивами или первичными ГКОЯ частота повышения концентрации гормона была высокой. В соответствии с данными, представленными на рис. 1, отмечено, что уровни ингибина В, превышавшие пороговое значение, обнаружены в 80 и 87,5% случаев в группе больных с первичной опухолью и первым рецидивом ГКОЯ соответственно и у всех пациенток со вторым и третьим рецидивами. В то же время у пациенток, не имевших признаков наличия ГКОЯ, а также у больных с доброкачественными опухолями и РЯ значений, превышавших пороговое, не выявлено.

Таблица 2. Концентрация ингибина В в группах пациенток с ГКОЯ и РЯ

Группа пациенток	Концентрация ингибина В,
Первичные ГКОЯ (n = 5)*	300 (0–488)
Рецидивы ГКОЯ (n = 25) *	188,1 (0–3000)
Без признаков заболевания (n = 9)	0 (0–2,2)
РЯ (n = 5)	0 (0–2)

*Различия достоверны по отношению к группе больных, не имевших признаков заболевания.

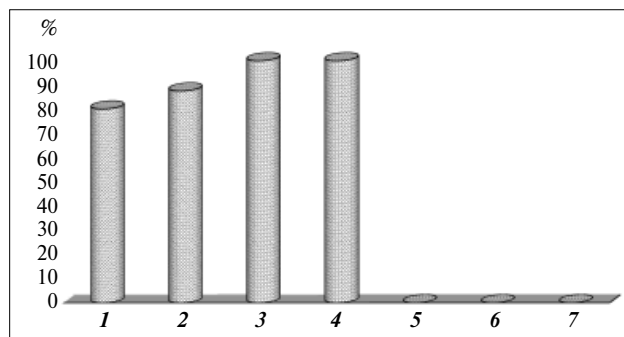


Рис. 1. Частота повышения (%) уровня ингибина В у пациенток с первичными опухолями (1), первым (2), вторым (3) и третьим (4) рецидивами и в фазе ремиссии (5) ГКОЯ, а также с доброкачественными опухолями (6) и РЯ (7) — определение концентрации ингибина В проводилось в конце менструального цикла

Представленные выше данные свидетельствуют о высокой диагностической чувствительности ингибина В (80–100%) при специфичности

100%. Это заключение нашло свое подтверждение и при анализе результатов определения у пациенток с ГКОЯ содержания гормона в динамике. Показано, что в 28% (у 7 из 25 больных) наблюдений ингибин В был первым признаком возврата ГКОЯ, при этом увеличение его концентрации выявлялось на 2–12 мес ранее клинического рецидива. Как следует из рис. 2, рецидив ГКОЯ по результатам определения ингибина В обнаруживался раньше (медиана 5 мес) и при более низких его концентрациях (от 14,5 до 600 пг/мл, медиана 89 пг/мл), чем возврат заболевания, по данным инструментальных методов обследования, при использовании которых медиана сроков выявления рецидивов составила 9 мес, а содержание гормона — 37–2200 (медиана 188) пг/мл.

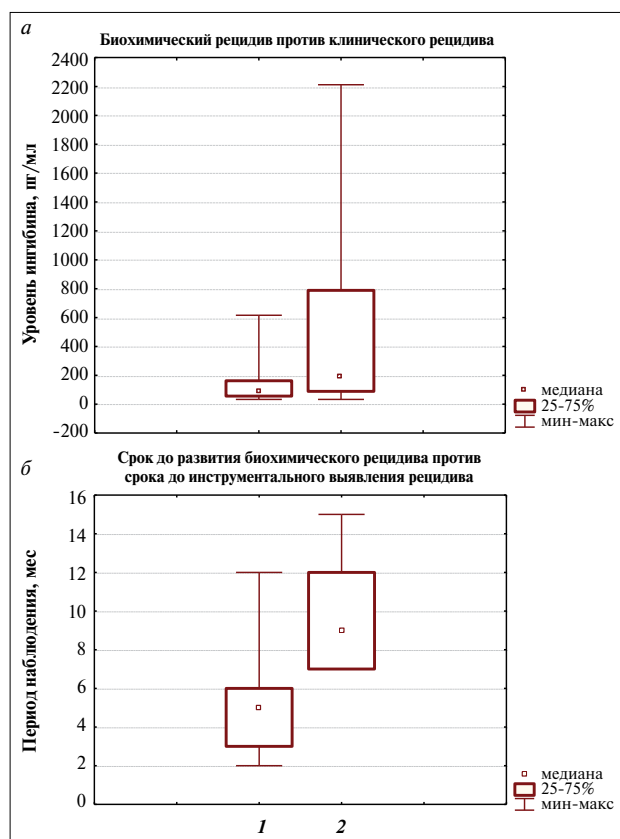


Рис. 2. Концентрация ингибина В (а) и сроки выявления рецидивов (б) — медиана и интервалы — при динамическом наблюдении больных с ГКОЯ

Заключение

Установлено, что концентрация ингибина В в сыворотке крови пациенток с рецидивами ГКОЯ была достоверно выше, чем у больных, не имевших признаков заболевания, и у практически здоровых женщин в конце менструального цикла. Увеличение уровня ингибина В наблюдалось на 2–13 мес раньше

клинического проявления возврата заболевания, что свидетельствует о высокой диагностической чувствительности этого маркера и позволяет рекомендовать его для использования в диагностике и мониторинге ГКОЯ. Определение содержания ингибина В в сыворотке крови в сочетании с другими клиническими и морфологическими показателями имеет важное значение в первичной и дифференциальной диагностике

ГКОЯ и способствует нахождению индивидуального подхода к выбору методов лечения данной категории пациенток, проведению оценки прогноза заболевания и выявлению рецидива на ранних стадиях. Результаты выполненного анализа свидетельствуют о том, что ингибин В является высокочувствительным и специфичным маркером ГКОЯ, особенно в доклиническом периоде развития рецидивов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М., Давыдов М.И. и др. Статистика злокачественных опухолей яичников. М.: РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН, 2009.
2. Карселадзе А.И. Морфология неэпителиальных опухолей яичников: Методические рекомендации. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена, 1994.
3. Ranganath R. Clinical and pathologic prognostic factors in adult granulosa cell tumors of the ovary. *Int J Gynecol Cancer* 2008;18(5):929–33.
4. Robertson D.M., Cahir P., Burger H.G. et al. Inhibin forms in serum from postmenopausal women with ovarian cancer. *Clin Endocrinol* 1999;50:381–6.
5. Lee Y.K., Park N.H., Kim J.W. et al. Characteristics of recurrence in adult-type granulosa cell tumor. *Int J Gynecol Cancer* 2008;18(4):642–7.
6. Boggess J.F., Soules M.R., Goff B.A. et al. Serum inhibin and disease status in women with ovarian granulosa cell tumors. *Gynecol Oncol* 1997;64:64–9.
7. Healy D.L., Burger H.G., Marnett P. et al. Elevated serum inhibin concentrations in postmenopausal women with ovarian tumors. *N Engl J Med* 1993;329:1539–1542.
8. Jobling T., Marnett P., Healy D.L. et al. A prospective study of inhibin in granulosa cell tumors of the ovary. *Gynecol Oncol* 1994;55:285–9.
9. Lappohn R.E., Burger H.G., Bouma J. et al. Inhibin as a marker for granulosa cell tumors. *N Engl J Med* 1989;321:790–3.
10. Robertson D.M., Cahir N., Burger H.G. et al. The development of a two-site immunofluorometric assay for serum inhibins and application to women with ovarian cancer. *Proc 39th Ann Sci Meet Endocrin Soc. Australia, Sydney*, 1996.
11. Mom C.H., Engelen M.J., Willemse P.H. et al. Granulosa cell tumors of the ovary: the clinical value of serum inhibin A and B levels in a large single center cohort. *Gynecol Oncol* 2007;105(2):365–72.