

Современное состояние проблемы ранней диагностики рака яичников и пути ее решения (обзор литературы)

О.В. Макаров¹, С.А. Мошковский², М.А. Карпова², М.Р. Нариманова¹

¹ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России; Россия, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1;

²ФГБНУ «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича»; Россия, 119121, Москва, ул. Погодинская, 10

Контакты: Метанат Рафиговна Нариманова safarovametanat@yandex.ru

Рак яичников (РЯ) является одной из наиболее распространенных злокачественных опухолей органов репродуктивной системы. Пятилетняя выживаемость остается крайне низкой. Это заболевание трудно поддается верификации вследствие отсутствия патогномичных симптомов и своевременной диагностики. Ключевым вопросом для увеличения выживаемости при РЯ является поиск новых методов ранней диагностики. Таким образом, разработка новых методов диагностики РЯ — это одна из наиболее актуальных проблем современной онкологии. Основным подходом в данном вопросе является поиск новых биомаркеров РЯ, которые будут характеризоваться такими понятиями, как чувствительность и специфичность. Имеющиеся в арсенале современной онкологии биомаркеры, в том числе и СА-125, обладают недостаточной специфичностью и имеют невысокую чувствительность. Доказано преимущество использования сочетания нескольких диагностических биомаркеров вместо одного или панелей маркеров. Современные протеомные технологии, такие как двумерный электрофорез, масс-спектрометрические методы, являются значимым инструментом для поиска новых биомаркеров при различных злокачественных заболеваниях, в частности РЯ. Наилучшие результаты достигнуты при использовании технологии SELDI-TOF (surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight — усиленная поверхностью лазерная десорбция/ионизация с регистрацией времени пролета), совмещающей применение хроматографических белковых чипов с масс-спектрометрической детекцией. Из всех биомаркеров, идентифицированных с использованием масс-спектрометрических методов, наибольшее внимание заслуживает сывороточный амилоид А1, так как доказана его способность оказывать непосредственное влияние на развитие опухоли. Также выявлено повышение его уровня в сотни раз при заболевании по сравнению с другими биомаркерами-кандидатами, выявленными при помощи масс-спектрометрии. Проанализированы основные характеристики сывороточного амилоида А1 как одного из перспективных маркеров для комбинированного определения в целях своевременной диагностики РЯ.

Ключевые слова: рак яичников, ранняя диагностика, биомаркер, протеомика, масс-спектрометрия, двумерный электрофорез, белковые чипы, сывороточный амилоид А1

DOI: 10.17650/1994-4098-2015-1-76-82

Current status of problem of early diagnosis of ovarian cancer and its solutions (literature review)

O. V. Makarov¹, S. A. Moshkovskiy², M. A. Karpova², M. R. Narimanova¹

¹N. I. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia; 1 Ostrovityanova St., Moscow, 117997, Russia;

²V. N. Orekhovich Research Institute of Biomedical Chemistry; 10 Pogodinskaya St., Moscow, 119121, Russia

Ovarian cancer (OC) is one of the most common malignant tumors of the reproductive system. The five-year survival rate is extremely low. This disease is difficult to verify due to lack of pathognomonic symptoms and timely diagnosis. The key issue to increase survival in ovarian cancer is finding new methods for early diagnosis. Thus, the development of new methods for diagnosis of ovarian cancer is one of the most urgent problems in modern oncology. The basic approach in this matter is searching for new biomarkers of ovarian cancer, which will be characterized by such concepts as sensitivity and specificity. Biomarkers present in modern oncology, including CA-125, have insufficient specificity and have low sensitivity. The advantage of using a combination of several diagnostic biomarkers instead of one or panels of markers has been proved. Modern proteomic technologies such as two-dimensional electrophoresis, mass spectrometric methods are a valuable tool for finding new biomarkers for various malignancies, particularly ovarian cancer. The best results are achieved by using SELDI-TOF technology (Surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight), combining the use of chromatographic protein chips with mass spectrometric detection. Serum amyloid A1 deserves the greatest attention between all of the biomarkers identified using mass spectrometric methods, as its ability to have a direct influence on the development of the tumor has been proved. Also its increase by hundreds of times during the disease has been found compared to the other candidate biomarkers identified by mass spectrometry. The main characteristics of serum amyloid A1 have been analyzed and found as one of the most promising markers for the combined determination for prompt diagnosis of ovarian cancer.

Key words: ovarian cancer, early diagnosis, biomarkers, proteomics, mass spectrometry, two-dimensional electrophoresis, protein chips, serum amyloid A1

Опухоли яичников занимают 3-е место среди новообразований женских половых органов. У подавляющего большинства больных (около 85 %) диагностируются эпителиальные формы опухолей. Среди них преобладают доброкачественные опухоли (около 70–80 %), а злокачественные опухоли составляют около 20–30 % [1].

Ежегодно в мире регистрируются 165 тыс. новых случаев злокачественных новообразований яичников и 101 тыс. смертей от них, в том числе: в США – 23,4 и 13,9 тыс. соответственно; в России – 11,7 и 7,3 тыс. соответственно. Во многих странах, включая Россию, рак яичников (РЯ) занимает 6-е ранговое место среди злокачественных новообразований у женщин всех возрастных групп, начиная с младенчества [2].

Весьма неудовлетворительной остается выживаемость больных РЯ. Уже на первом году после установления диагноза погибает каждая третья пациентка. Обобщенные данные популяционных раковых регистров стран Европы свидетельствуют, что 1-летняя выживаемость больных РЯ в целом составляет 63 %, 3-летняя – 41 %, 5-летняя – 35 % [2].

Основными причинами столь низкой выживаемости больных РЯ являются: бессимптомное течение заболевания на ранних стадиях, отсутствие достоверной диагностики, малоэффективное лечение, особенно при рецидивах заболевания [3].

Главная роль ранней диагностики РЯ в выживаемости больных не вызывает сомнений. По приблизительным оценкам, если бы 75 % случаев РЯ были обнаружены на I или II стадии, то смертность снизилась бы на 50 % [4, 5].

Одним из наиболее перспективных направлений в диагностике злокачественных новообразований яичников является определение опухолевых маркеров. Изучение этих белков представляет большой интерес не только с практической, но и с теоретической точки зрения.

Основными характеристиками биомаркеров являются: чувствительность, специфичность и положительная оценка предсказания (positive predictive value, PPV). Чувствительность – это доля пациентов, классифицированных с использованием определенного маркера как «больные раком», от общего числа действительно больных пациентов. Специфичность – это доля пациентов, классифицированных с использованием маркера как «здоровые», от общего числа действительно здоровых пациентов [6].

Для того чтобы маркер можно было использовать в практике, должны быть достаточно велики показатели его чувствительности и специфичности. Удобно использовать для характеристики биомаркеров понятие точности диагностики, под которым подразумевается доля правильных диагнозов [7]. Распространенным подходом к увеличению чувствительности

и специфичности метода диагностики является совместное использование нескольких маркеров. Для создания системы диагностики на основе набора биомаркеров необходимо использовать методы многомерной статистики и вырабатывать более сложный алгоритм классификации [8].

Для диагностики РЯ предпринимались многочисленные попытки использовать в комбинации с СА-125 белки, известные как маркеры рака разных локализаций:

- СА-15-3 (маркер рака молочной железы) [8–10];
- СА-72-4 (маркер рака поджелудочной железы) и М-CSF (macrophage colony stimulating factor – цитокин, стимулирующий пролиферацию лимфоцитов);
- липид-ассоциированную сиаловую кислоту (LASA) (маркер рака мозга [11] и рака молочной железы [12]);
- OVX1 (маркер рака эндометрия) [13];
- СА-54/61 (маркер РЯ) [14].

Однако все упомянутые маркеры обладают низкой специфичностью для рака конкретной локализации, а их концентрация во многих случаях меняется по сравнению с нормой и при РЯ.

Использование панелей из 4–5 указанных белков позволило улучшить специфичность и чувствительность метода по сравнению с использованием только СА-125. Так, удалось повысить чувствительность с 45 до 70 % при неизменной специфичности [8], для распознавания доброкачественных и злокачественных опухолей яичников с 78,1 и 76,8 % до 90,6 и 93,2 % соответственно [10]. Таким образом, была показана целесообразность использования не одного, а нескольких биомаркеров.

Поиск панелей биомаркеров, а также комбинирование биомаркеров, обнаруженных разными методами, является основной идеологией большинства современных исследований в области разработки биохимических диагностических методов. Существует множество различных подходов к поиску биомаркеров злокачественных опухолей. Часть из них основана на анализе непосредственно опухолевой ткани и выявлении опухоль-специфических продуктов, другие направлены на выявление биомаркеров в крови. Современные высокопроизводительные биотехнологические методы позволяют проводить транскриптомное и протеомное профилирование биологического материала, что позволяет получать информацию одновременно о большом количестве генов или белков. Транскриптомное профилирование (ДНК-микрочипы) позволяет сравнивать профиль экспрессии генов в клетках больных и здоровых людей. Анализ профиля экспрессии генов в основном используют для исследования молекулярных механизмов развития рака [15], определения молекулярных различий между гистологическими подтипами рака [16, 17]. Достаточно широко

транскриптомное профилирование используют в исследованиях устойчивости опухолей к тем или иным видам терапии, при этом ставится цель разработки индивидуализированного подхода к лечению злокачественных опухолей [18].

Однако использование транскриптомного профилирования для разработки новых диагностических методов достаточно ограничено, так как путь от выявления отличий на уровне транскриптома до выявления биомаркера, доступного для измерения малоинвазивными методами, достаточно сложен. Примером успешного обнаружения биомаркера путем транскриптомного профилирования является работа С. Le Page et al. Обнаружив повышение экспрессии генов *IL-18* и *FGF-2* в тканях РЯ, авторы измерили методом иммуноферментного анализа концентрацию соответствующих белков и обнаружили достоверное повышение их уровня как в ткани яичника, так и в крови [19].

С развитием протеомных технологий открылись совершенно новые перспективы по выявлению белковых маркеров рака. Протеомные технологии позволяют получать информацию сразу о больших совокупностях белков и сравнивать наборы белков у больных и здоровых людей, что дает возможность выявлять не один, а сразу несколько маркеров. В применении протеомных технологий к выявлению биомаркеров можно условно выделить два разных подхода. Первый подход использует новые технические возможности только для поиска новых маркеров с лучшими характеристиками и их дальнейшей идентификации. После этого можно использовать найденные маркеры иммунными или аффинными методами. Другой подход основан на сравнении протеомного профиля в целом для больных и здоровых людей с привлечением статистических методов для выявления значимых различий, не выявляя их причин [20]. При этом диагностическим признаком является сам состав протеомного профиля, т. е. исследования и непосредственная диагностика могут проводиться одним и тем же методом [21].

Среди протеомных методов, используемых для непосредственного обнаружения и идентификации биомаркеров, существенную роль играет двумерный электрофорез с последующей масс-спектрометрической идентификацией белков. Метод двумерного электрофореза позволяет осуществлять разделение белков в одном направлении путем изоэлектрофокусирования, а в другом — по массе [22]. В качестве материала для двумерного электрофореза часто используют не кровь, а непосредственно опухолевые и нормальные ткани исследуемого органа. Однако как здоровые, так и опухолевые ткани представлены различными типами клеток, что усложняет воспроизводимость и интерпретацию результатов. Решить эту проблему в значительной степени позволило изобретение метода лазерной микродиссекции, с помощью которого

можно отделить интересующую клеточную популяцию от окружающих тканей [23, 24]. Помимо классического двумерного электрофореза для обнаружения маркеров заболеваний используют также его усовершенствованные варианты, например дифференциальный электрофорез в геле (difference gel electrophoresis, DIGE). Белковые экстракты из больной и здоровой тканей метят двумя различными флуоресцентными зондами и смешивают. Затем проводят двумерный электрофорез, после чего для каждого пятна измеряют интенсивность флуоресценции и определяют различие в интенсивности между двумя флуоресцентными метками. Такой подход позволяет достичь полной идентичности условий проведения электрофореза и за счет этого повысить воспроизводимость результатов [25, 26]. Двумерный электрофорез также применяют для скрининга сыворотки больных раком в целях выявления белков, связывающихся с аутоантителами к белкам раковых клеток [24].

Большие перспективы имеет технология микрочипов на основе антител, которая представляет собой одновременный анализ сотен белков в пробе на микрочипах с иммобилизованными антителами. Пример успешного поиска биомаркеров РЯ с использованием микрочипов на основе антител представляет собой работа G. Mor et al. С их помощью были проанализированы уровни 169 белков у 28 здоровых женщин, 18 женщин с впервые диагностированным РЯ и 40 женщин с рецидивом РЯ. Были обнаружены достоверные отличия между сыворотками больных раком и сыворотками здоровых женщин в концентрациях 35 из 169 исследованных белков. Затем концентрации белков с наиболее выраженными различиями между раком и нормой, а также с достаточно ясной потенциальной ролью в процессе злокачественного перерождения были определены с помощью иммуноферментного анализа. В результате в качестве биомаркеров были отобраны лептин, пролактин, остеокальцин (OPN) и инсулиноподобный фактор роста II (IGF II). Уровень пролактина и OPN существенно повышен у больных РЯ, в то время как уровень лептина и IGF II понижен. Совместное использование 4 перечисленных биомаркеров позволило достичь чувствительности и специфичности диагностики 95 %. Недостатком использования микрочипов на основе антител являются высокая стоимость расходных материалов и необходимость иметь антитела ко всем анализируемым белкам. Кроме того, использование антител в большинстве случаев не позволяет дифференцировать между собой различные посттрансляционные модификации белков и их фрагментов [26].

Этими недостатками не обладают масс-спектрометрические методы, которые очень активно развиваются и с успехом применяются для поиска биомаркеров злокачественных опухолей, в том числе РЯ.

Масс-спектрометрические методы позволяют получать спектры распределения белков в смеси по массе. При этом каждому белку соответствует определенный пик, положение которого определяется соотношением массы и заряда белка, а интенсивность неявным образом отражает его количество. Во всех масс-спектрометрических методах белки должны быть предварительно ионизованы. В случае так называемой MALDI-TOF (matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight – опосредованная матрицей времяпролетная лазерная десорбция/ионизация) это достигается добавлением к белкам органической матрицы, являющейся донором протонов. Матрица взаимодействует с белками и формирует кристаллоидную структуру. При облучении этой структуры лазером ионизованные индивидуальные молекулы белков отрываются от поверхности и движутся к катоду. Чем меньше по массе и чем сильнее заряжен белок, тем быстрее он достигает противоположно заряженного электрода, по времени движения иона до электрода определяют соотношение массы и заряда белка. При облучении лазером образуются преимущественно однозарядные ионы, и для них соотношение массы и заряда примерно совпадает с массой [21]. Методы масс-спектрометрии позволяют очень быстро анализировать большое количество образцов, требуют сравнительно небольшого количества биологического материала, обладают высокой чувствительностью и хорошим разрешением для низкомолекулярных белков и пептидов, что делает особенно перспективным их использование для поиска биомаркеров [28].

Из прямых масс-спектрометрических методов для обнаружения биомаркеров заболеваний лучше всего приспособлена технология SELDI-TOF (surface-enhanced laser desorption/ionization time-of-flight – усиленная поверхностью лазерная десорбция/ионизация с регистрацией времени пролета), совмещающая в себе масс-спектрометрическую детекцию белков с использованием их чипов. Белковый чип представляет собой пластинку с 8 пятнами хроматографической поверхности, на которую наносят образцы исследуемой жидкости перед анализом. Используются чипы с различной хроматографической поверхностью: гидрофильной (нормально-фазовой), гидрофобной (обращенно-фазовой), анионообменные, катионообменные или металлоаффинные. Кроме того, существуют чипы с активированной поверхностью для связывания любого аффинного сорбента. В зависимости от типа чипа и используемого буфера с активной поверхностью связывается разный набор белков, а не связавшиеся белки отмываются. После отмывки чип со связавшимися белками высушивают и наносят на матрицу, помещают в вакуумную камеру, а пятна облучают лазером. Ионизованные за счет энергии лазера белки отрываются от поверхности чипа, по вакуумной труб-

ке летят к противоположно заряженному электроду и там детектируются [22].

Использование чипов позволяет проводить упрощенное хроматографическое фракционирование биологической жидкости перед масс-спектрометрическим анализом. В результате полученные спектры содержат более или менее хорошо разрешенные пики. Применение масс-спектрометрии SELDI-TOF началось с разработки компьютерных методов классификации спектров, рассматриваемых как «черные ящики», т. е. без идентификации биомаркеров, и в первых же работах были достигнуты высокие значения чувствительности и специфичности диагностики [20, 29]. В других работах некоторые дискриминаторные пики были идентифицированы [30–33].

Метод SELDI-TOF имеет очень высокую производительность. В течение дня могут быть проанализированы десятки образцов. Кроме того, процедура может быть автоматизирована, и тогда производительность повышается еще во много раз. В качестве биологического материала для исследования с помощью SELDI-TOF могут быть использованы как биологические жидкости (плазма крови, моча), так и белковые экстракты из тканей. Технологию SELDI-TOF можно использовать как альтернативу двумерному электрофорезу для поиска биомаркеров и их дальнейшей идентификации [34, 35].

Несмотря на множество преимуществ технологии SELDI-TOF, реальные ее возможности являются предметом ожесточенных дискуссий в научном сообществе. На данном этапе технология SELDI-TOF широко применяется для разработки диагностики различных видов рака, оставаясь при этом в значительной степени эмпирическим методом [36].

Для разработки адекватного диагностического метода большое значение имеет правильный подбор выборки. Прежде всего, не должно быть статистически значимых отличий между сравниваемыми выборками по другим признакам, кроме наличия или отсутствия болезни [37]. Для этого во всех исследованиях используют сыворотки крови пациентов с впервые диагностированным раком, еще не проходивших никаких курсов терапии, так как результаты лечения сами по себе могут существенно отразиться на структуре белка. Исследуемые группы не должны заметно различаться по среднему возрасту, иначе найденные отличия могут быть следствием не болезни, а возрастных изменений. Другим источником систематических отличий могут быть несоответствия в методиках получения или хранения образцов сыворотки вследствие того, что контрольные сыворотки получены из другого источника, чем сыворотки больных раком [37].

Из всех биомаркеров, идентифицированных с использованием масс-спектрометрических мето-

дов, наибольший интерес вызывает сывороточный амилоид A1 (SAA), так как, по последним данным, он может оказывать непосредственное влияние на развитие опухоли. SAA острой фазы (A-SAA) впервые был обнаружен как растворимый предшественник амилоида А – белка, образующего амилоидные накопления при хроническом воспалении [38]. Концентрация A-SAA в крови при воспалении повышается до 1 мг/мл и более при норме 1–10 мкг/мл [39].

Известно, что концентрация A-SAA повышается при инфекционных заболеваниях бактериальной и вирусной природы (Nakayama et al., 1993), остром панкреатите [11], инфаркте миокарда [40], после ожогов [41]. В большинстве случаев повышенный уровень SAA коррелирует с тяжестью протекания и неблагоприятным исходом заболевания [40–42].

Уже несколько десятилетий назад было замечено повышение уровня A-SAA в крови у больных РЯ [43, 44], раком простаты [45] и раком толстой кишки [46]. Более того, уровень A-SAA коррелирует со стадией заболевания и достигает наибольших значений на стадии образования метастазов [43, 45].

Было проведено исследование уровня A-SAA при раке желудка, в результате которого обнаружена тенденция к увеличению концентрации A-SAA в сыворотке при увеличении размера и стадии опухоли. Через месяц после операции концентрация A-SAA достигала уровня, характерного для здоровых женщин ($0,0034 \pm 0,0028$ г/л). Позже повышение концентрации A-SAA ($0,17 \pm 0,6$ г/л) свидетельствовало о наличии рецидива, при этом новым очагом опухоли могли служить различные органы: печень, лимфоидная ткань, кость [47].

Неоднократно исследовали влияние повышенной концентрации A-SAA на прогноз заболевания. Было показано, что для больных раком на поздней стадии при концентрации A-SAA выше 0,01 г/л средняя продолжительность жизни существенно меньше, чем при концентрации A-SAA ниже 0,01 г/л [43].

По данным D.C. Chan et al., у пациентов с концентрацией A-SAA более 0,097 г/л риск летального исхода увеличивался почти в 4 раза. Эти наблюдения свидетельствуют в пользу того, что повышенный уровень A-SAA может оказывать влияние на прогрессию злокачественной опухоли [47].

При использовании протеомных методов поиска биомаркеров A-SAA был выявлен как один из потенциальных биомаркеров РЯ [48], рака легких [49], почки [50], носоглотки [51].

A-SAA был идентифицирован в качестве маркера метастазирования аденокарциномы простаты в костную ткань [48]. Для рака легкого показано прогрессирующее увеличение концентрации A-SAA с прогрессированием рака. При этом показано, что после

операции или химиотерапии уровень A-SAA снижается [52].

Сначала считалось, что A-SAA у пациентов со злокачественными опухолями синтезируется в печени, и повышение его концентрации в крови является следствием системного ответа организма на сопутствующее злокачественной опухоли воспаление. Однако для рака толстой кишки было показано, что повышенная экспрессия A-SAA наблюдается в опухолевой ткани [53]. Повышенная экспрессия A-SAA была также обнаружена в клетках хориокарциномы и в трофобласте I триместра беременности [54]. В то же время для рака желудка иммуногистохимическое окрашивание показало наличие A-SAA в основном в кровеносных сосудах, а не непосредственно в опухолевых клетках [47].

Связь A-SAA с разнообразными заболеваниями человека, включая ревматоидный артрит, атеросклероз и злокачественные опухоли, привлекла к нему внимание специалистов. Данные о свойствах A-SAA, накопленные в последние годы, позволяют предположить, что этот белок может играть активную роль в патогенезе упомянутых заболеваний. К настоящему времени накоплено большое количество разносторонней информации о взаимодействиях белка A-SAA с различными белками-партнерами и их последствиях. A-SAA оказывает влияние на воспалительный процесс, индуцирует экспрессию ряда матриксных металлопротеиназ, изменяет липидный метаболизм, взаимодействует с межклеточным матриксом. Наибольший интерес вызывает способность A-SAA активировать экспрессию транскрипционного фактора NF-κB и матриксных металлопротеиназ [11].

Способность A-SAA стимулировать пролиферацию клеток, ингибировать апоптоз, а также стимулировать ангиогенез была напрямую продемонстрирована на синовиоцитах больных ревматоидным артритом. Доказано, что за реализацию этих свойств отвечает рецептор FPRL1. Следует отметить, что патологические процессы, характерные для ревматоидного артрита, имеют много общего с развитием злокачественной опухоли [55].

На основании вышесказанного можно предположить, что A-SAA при злокачественных опухолях не является просто маркером воспаления, а тесно связан с процессом опухолевой трансформации. Кроме того, A-SAA имеет еще ряд важных для потенциального маркера преимуществ. Во-первых, его концентрация в сыворотке в норме в 10–100 раз ниже, чем у других кандидатных маркеров. Во-вторых, при болезни концентрация A-SAA увеличивается в 100 раз и более, тогда как концентрация других маркеров, выявленных масс-спектрометрическими методами, меняется сравнительно слабо [53, 54].

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаров О.В., Борисенко С.А. Профилактика, диагностика, лечение рака яичников. *Российский медицинский журнал* 1996;3:36–40. [Makarov O.V., Borisenko S.A. Prevention, diagnosis and treatment of ovarian cancer. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal* 1996;3:36–40. (In Russ.)].
2. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женской половой сферы. *Онкогинекология* 2012;1:18–24. [Aksel E.M. Statistics of malignant neoplasms of female genitalia. *Onkogynecology* 2012;1:18–24. (In Russ.)].
3. Жордания К.И., Герштейн Е.С., Кушлинский Н.Е. и др. Опухоли яичников. Клиническая онкогинекология. Под ред. В.П. Козаченко. М.: Медицина, 2005. С. 220–69. [Jordania K.I., Gerstein E.S., Kushlinsky N.E. et al. Ovarian tumors. *Clinical oncogynecology*. Under ed. of V.P. Kozachenko. Moscow: Medicine, 2005. Pp. 220–69. (In Russ.)].
4. Siegel R., Ward E., Brawley O., Jemal A. Cancer statistics 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011;61(4):212–36.
5. Ueland F.R., Depriest P., Desimone C. et al. The accuracy of examination under anesthesia and transvaginal sonography in evaluating ovarian size. *Gynecol Oncol* 2005;99(2):400–3.
6. Adam B.L., Qu Y., Davis J.W. et al. Serum protein fingerprinting coupled with a pattern-matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. *Cancer Res* 2002;62(13):3609–14.
7. Jacobs I.J., Menon U. Progress and challenges in screening for early detection of ovarian cancer. *Mol Cell Proteomics* 2004;3(4):355–66.
8. Skates S.J., Horick N., Yu Y. et al. Preoperative sensitivity and specificity for early-stage ovarian cancer when combining cancer antigen CA-125II, CA 15-3, CA 72-4, and macrophage colony-stimulating factor using mixtures of multivariate normal distributions. *J Clin Oncol* 2004;22(20):4059–66.
9. Jacobs I.J., Rivera H., Oram D.H., Bast R.C. Jr. Differential diagnosis of ovarian cancer with tumour markers CA 125, CA 15-3 and TAG 72.3. *Br J Obstet Gynaecol* 1993;100(12):1120–4.
10. Woolas R.P., Conaway M.R., Xu F. et al. Combinations of multiple serum markers are superior to individual assays for discriminating malignant from benign pelvic masses. *Gynecol Oncol* 1995;59(1):111–6.
11. Jijon H.B., Madsen K.L., Walker J.W. et al. Serum amyloid A activates NF-kappaB and proinflammatory gene expression in human and murine intestinal epithelial cells. *Eur J Immunol* 2005;35(3):718–26.
12. Brower S.T., Tartter P., Weiss S. et al. Breast cancer and family history: levels of lipid-associated sialic acid in plasma and absent family history of breast cancer in women who have breast tumors. *Mt Sinai J Med* 1995;62(6):419–21.
13. Xu F.J., Yu Y.H., Daly L. et al. OVX1 as a marker for early stage endometrial carcinoma. *Cancer* 1994;73(7):1855–8.
14. Nozawa S., Aoki D., Yajima M. et al. CA54/61 as a marker for epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 1992;52(5):1205–9.
15. Wamunyokoli F.W., Bonome T., Lee J.Y. et al. Expression profiling of mucinous tumors of the ovary identifies genes of clinicopathologic importance. *Clin Cancer Res* 2006;12(3 Pt 1):690–700.
16. Baranova A., Gowder S., Naouar S. et al. Expression profile of ovarian tumors: distinct signature of Sertoli-Leydig cell tumor. *Int J Gynecol Cancer* 2006;16(6):1963–72.
17. Skubitz A.P., Pambuccian S.E., Argenta P.A., Skubitz K.M. Differential gene expression identifies subgroups of ovarian carcinoma. *Transl Res* 2006;148(5):223–48.
18. Agarwal R., Kaye S.B. Expression profiling and individualisation of treatment for ovarian cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2006;6(4):345–9.
19. Le Page C., Ouellet V., Madore J. et al. From gene profiling to diagnostic markers: IL-18 and FGF-2 complement CA125 as serum-based markers in epithelial ovarian cancer. *Int J Cancer* 2006;118(7):1750–58.
20. Petricoin E.F., Ardekani A.M., Hitt B.A. et al. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002;359(9306):572–7.
21. Xiao Z., Prieto D., Conrads T.P. et al. Proteomic patterns: their potential for disease diagnosis. *Mol Cell Endocrinol* 2005;230(1–2):95–106.
22. Говорун В.М., Арчаков А.И. Биохимия 2002;67:1341–59. [Govorun V.M., Archakov A.I. *Biokhimiya = Biochemistry* 2002;67:1341–59. (In Russ.)].
23. Craven R.A., Totty N., Harnden P. et al. Laser capture microdissection and two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis: evaluation of tissue preparation and sample limitations. *Am J Pathol* 2002;160(3):815–22.
24. Wulfkuehl J.D., Liotta L.A., Petricoin E.F. Proteomic applications for the early detection of cancer. *Nat Rev Cancer* 2003;3(4):267–75.
25. Unlu M., Morgan M.E., Minden J.S. Difference gel electrophoresis: a single gel method for detecting changes in protein extracts. *Electrophoresis* 1997;18(11):2071–7.
26. Zhou G., Li H., DeCamp D. et al. 2D differential in-gel electrophoresis for the identification of esophageal scans cell cancer-specific protein markers. *Mol Cell Proteomics* 2002;1(2):117–24.
27. Mor G., Visintin I., Lai Y. et al. Serum protein markers for early detection of ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(21):7677–82.
28. Petricoin E. 3rd, Liotta L.A. Counterpoint: The vision for a new diagnostic paradigm. *Clin Chem* 2003;49(8):1276–8.
29. Kozak K.R., Amneus M.W., Pusey S.M. et al. Identification of biomarkers for ovarian cancer using strong anion-exchange ProteinChips: potential use in diagnosis and prognosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(21):12343–8.
30. Rai A.J., Zhang Z., Rosenzweig J. et al. Proteomic approaches to tumor marker discovery. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126(12):1518–26.
31. Kozak K.R., Su F., Whitelegge J.P. et al. Characterization of serum biomarkers for detection of early stage ovarian cancer. *Proteomics* 2005;5(17):4589–96.
32. Moshkovskii S.A., Serebryakova M.V., Kuteykin-Teplyakov K.B. et al. Ovarian cancer marker of 11.7 kDa detected by proteomics is a serum amyloid A1. *Proteomics* 2005;5(14):3790–7.
33. Zhang Z., Bast R.C. Jr., Yu Y. et al. Three biomarkers identified from serum proteomic analysis for the detection of early stage ovarian cancer. *Cancer Res* 2004;64(16):5882–90.
34. Petricoin E.F., Liotta L.A. SELDI-TOF-based serum proteomic pattern diagnostics for early detection of cancer. *Curr Opin Biotechnol* 2004;15(1):24–30.
35. Rodland K.D. Mass spectrometry and biomarker development. *Dis Markers* 2004;20(3):129–30.
36. Diamandis E.P. Point: Proteomic patterns in biological fluids: do they represent the future of cancer diagnostics? *Clin Chem* 2003;49(8):1272–5.
37. White C.N., Zhang Z., Chan D.W. Quality control for SELDI analysis. *Clin Chem Lab Med* 2005;43(2):125–6.
38. Rau B., Steinbach G., Baumgart K. et al. Serum amyloid A versus C-reactive protein in acute pancreatitis: clinical value of an alternative acute-phase reactant. *Crit Care Med* 2000;28(3):736–42.
39. Uhlar C.M., Whitehead A.S. Serum amyloid A, the major vertebrate acute-phase reactant. *Eur J Biochem* 1999;265(2):501–23.
40. Casl M.T., Surina B., Glojnaric-Spasic I. et al. Serum amyloid A protein in patients with

- acute myocardial infarction. *Ann Clin Biochem* 1995;32(Pt 2):196–200.
41. Casl M.T., Coen D., Simic D. Serum amyloid A protein in the prediction of postburn complications and fatal outcome in patients with severe burns. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34(1):31–5.
42. Larson M.A., Wei S.H., Weber A. et al. Induction of human mammary-associated serum amyloid A3 expression by prolactin or lipopolysaccharide. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;301(4):1030–7.
43. Biran H., Friedman N., Neumann L. et al. Serum amyloid A (SAA) variations in patients with cancer: correlation with disease activity, stage, primary site, and prognosis. *J Clin Pathol* 1986;39(7):794–7.
44. Rosenthal C.J., Franklin E.C., Frangione B., Greenspan J. Isolation and partial characterization of SAA-an amyloid-related protein from human serum. *J Immunol* 1976;116(5):1415–8.
45. Kaneti J., Winikoff Y., Zimlichman S., Shainkin-Kestenbaum R. Importance of serum amyloid A (SAA) level in monitoring disease activity and response to therapy in patients with prostate cancer. *Urol Res* 1984;12(5):239–41.
46. Glojnaric I., Casl M.T., Simic D., Lukac J. Serum amyloid A protein (SAA) in colorectal carcinoma. *Clin Chem Lab Med* 2001;39(2):129–33.
47. Chan D.C., Chen C.J., Chu H.C. et al. Evaluation of serum amyloid A as a biomarker for gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2007;14(1):84–93.
48. Havrilesky L.J., Sanders G.D., Kulasingam S. et al. Development of an ovarian cancer screening decision model that incorporates disease heterogeneity. *Cancer* 2011;117(3):545–53.
49. Gao W.M., Kuick R., Orzechowski R.P. et al. Distinctive serum protein profiles involving abundant proteins in lung cancer patients based upon antibody microarray analysis. *BMC Cancer* 2005;5:110.
50. Engwegen J.Y., Mehra N., Haanen J.B. et al. Validation of SELDI-TOF MS serum protein profiles for renal cell carcinoma in new populations. *Lab Invest* 2007;87(2):161–72.
51. Cho W.C., Yip T.T., Yip C. et al. Identification of serum amyloid a protein as a potentially useful biomarker to monitor relapse of nasopharyngeal cancer by serum proteomic profiling. *Clin Cancer Res* 2004;10(1 Pt 1):43–52.
52. Liu D.H., Wang X.M., Zhang L.J. et al. Serum amyloid A protein: a potential biomarker correlated with clinical stage of lung cancer. *Biomed Environ Sci* 2007;20(1):33–40.
53. Gutfeld O., Prus D., Ackerman Z. et al. Expression of serum amyloid A, in normal, dysplastic, and neoplastic human colonic mucosa: implication for a role in colonic tumorigenesis. *J Histochem Cytochem* 2006;54(1):63–73.
54. Kovacevic A., Hammer A., Sundl M. et al. Expression of serum amyloid A transcripts in human trophoblast and fetal-derived trophoblast-like choriocarcinoma cells. *FEBS Lett* 2006;580:161–7.
55. Lee I.N., Chen C.H., Sheu J.C. et al. Identification of complement C3a as a candidate biomarker in human chronic hepatitis C and HCV-related hepatocellular carcinoma using a proteomics approach. *Proteomics* 2006;6(9):2865–73.