

Диагностика серозного рака яичников высокой степени злокачественности Ia–Ic стадии по липидному профилю сыворотки крови

М.В. Юрова^{1,2}, В.Е. Франкевич¹, С.В. Павлович^{1,2}, В.В. Чаговец¹, Н.Л. Стародубцева¹, Г.Н. Хабас¹, Л.А. Ашрафян¹, Г.Т. Сухих^{1,2}

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Минздрава России, Москва, Россия;

²ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Аннотация

Обоснование. Эпителиальный рак яичников (РЯ) занимает первое место по числу смертей среди заболеваний женских репродуктивных органов. Выявление более ранних стадий РЯ ассоциировано с улучшением исходов, однако сопряжено со сложностями.

Цель. Изучить возможность выявления РЯ на Ia–Ic стадиях при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией липидного профиля сыворотки крови.

Материалы и методы. С ноября 2019 по июль 2020 г. на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» проведено наблюдательное исследование «случай-контроль». В него включили 41 пациента: 1-я группа (основная) – 28 больных серозным РЯ высокой степени злокачественности I–IV стадии, 2-я группа (контрольная) – 13 условно здоровых женщин. Экстракты липидов сыворотки крови получали в соответствии с модифицированным методом Фолча. Анализ состава образцов проводили с помощью масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением. Непараметрическим методом Манна–Уитни выявлены статистически значимо различимые липиды. При использовании дискриминантного анализа ортогональных проекций на скрытые структуры (OPLS-DA) выполнялось построение дифференциальных OPLS-моделей.

Результаты. Первая OPLS-модель позволила кластеризовать пациентов с РЯ и без него на основании 128 липидов ($R^2=0,87$, $Q^2=0,80$, площадь под ROC-кривой $AUC=1$, чувствительность и специфичность 100%). Вторая модель ранжировала пациентов с I–II стадией РЯ и обследуемой группой контроля (108 липидов, $R^2=0,97$, $Q^2=0,86$). Третья модель построена для дифференциации ранних (Ia–Ia; $n=5$) и распространенных (IIa–IVa; $n=23$) стадий РЯ: $R^2=0,96$, $Q^2=1,00$, $AUC=0,99$. Содержание липидов ряда классов (диглицериды, триглицериды, фосфатидилхолины, этаноламины, сфингомиелины, церамиды, фосфатидилсерин, фосфоинозитолы, простагландины) значимо различалось в изучаемых группах.

Заключение. Идентификация липидного профиля крови с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрической детекцией липидного профиля сыворотки крови позволяет отличить здорового человека от пациентов с II–IV и Ia–Ic стадиями РЯ, что свидетельствует о возможности использования в составе диагностической панели в качестве маркерных онколипидов более ранних стадий РЯ.

Ключевые слова: липидом, масс-спектрометрия, омиксные технологии, онколипиды, серозный рак яичников

Для цитирования: Юрова М.В., Франкевич В.Е., Павлович С.В., Чаговец В.В., Стародубцева Н.Л., Хабас Г.Н., Ашрафян Л.А., Сухих Г.Т. Диагностика серозного рака яичников высокой степени злокачественности Ia–Ic стадии по липидному профилю сыворотки крови. Гинекология. 2021; 23 (4): 335–340. DOI: 10.26442/20795696.2021.4.200911

ORIGINAL ARTICLE

Diagnosis of Ia–Ic stages of serous high-grade ovarian cancer by the lipid profile of blood serum

Mariia V. Iurova^{1,2}, Vladimir E. Frankevich¹, Stanislav V. Pavlovich^{1,2}, Vitaliy V. Chagovets¹, Nataliya L. Starodubtseva¹, Grigory N. Khabas¹, Lev A. Ashrafyan¹, Gennady T. Sukhikh^{1,2}

¹Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Moscow, Russia;

²Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

Abstract

Background. Ovarian cancer is the first fatal malignancy of the female reproductive system. Early detection is associated with better outcomes, but is significantly difficult because of asymptomatic or low-symptomatic course.

Aim. To study the possibility of detecting of OC in early stages (Ia–Ic) by the lipid profile of blood serum obtained using high-performance liquid chromatography with mass spectrometric (MS) detection.

Информация об авторах / Information about the authors

✉ Юрова Мария Владимировна – аспирант каф. акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктивного здоровья ИПО ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет), специалист ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: m_yurova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-0179-7635

Франкевич Владимир Евгеньевич – канд. физ.-мат. наук, рук. отд. системной биологии в репродукции ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: v_frankevich@oparina4.ru

✉ Mariia V. Iurova – Graduate Student, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: m_yurova@oparina4.ru; ORCID: 0000-0002-0179-7635

Vladimir E. Frankevich – Cand. Sci. (Phys.-Math.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: v_frankevich@oparina4.ru

Materials and methods. An observational "case-control" study was conducted in period November 2019 – July 2020 in the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. 41 patients were included: group 1 (main) – 28 patients with histologically verified high grade serous ovarian cancer of I–IV FIGO stage, group 2 (control) – 13 conditionally healthy women. Venous blood samples were collected immediately before the operation. Extracts of serum lipids were obtained in accordance with the modified Folch method. The composition of the samples was analyzed by electrospray ionization MS. Using the method of discriminant analysis and orthogonal projections to latent structures (OPLS-DA) were building OPLS-models based on profile of significant lipids. The comparison based on the non-parametric Mann–Whitney test.

Results. The presence of 128 lipids in blood serum samples makes a major contribution to the OPLS-models, that are different for patients with I–IV OC stage and controls. The OPLS-model parameters are: $R^2=0.87$ and $Q^2=0.80$, the area under the ROC curve reached 1, sensitivity and specificity of the model – 100%. The second OPLS-model was developed to assign patients to 13 blood serum samples of the control group or to 5 blood samples of patients with I–II stages of OC: 108 lipids made the main contribution to this model ($R^2=0.97$, $Q^2=0.86$). The third OPLS-model was constructed to distinguish patients with earlier (Ia–Ia stages; $n=5$) and advanced (IIa–IVa; $n=23$) stages: $R^2=0.96$ and $Q^2=1.00$, $AUC=0.99$. Diglycerides, triglycerides, phosphatidylcholines, ethanolamines, sphingomyelins, ceramides, phosphatidylserines, phosphoinositols and prostaglandins significantly differ in the blood serum samples of patients with Ia–Ic stages of OC and patients with II–IV stages and controls, that indicates the diagnostic value.

Conclusion. It is possible to distinguish a healthy person from patient with Ia–Ic or II–IV stages of OC. Serum oncolipids profile obtained by high-performance liquid chromatography with MS detection can be used as markers of early stages of OC, that are associated with better prognosis.

Keywords: lipidome, mass spectrometry, omics technologies, oncolipids, ovarian cancer

For citation: Iurova MV, Frankevich VE, Pavlovich SV, Chagovets VV, Starodubtseva NL, Khabas GN, Ashrafyan LA, Sukhikh GT. Diagnosis of Ia–Ic stages of serous high-grade ovarian cancer by the lipid profile of blood serum. *Gynecology*. 2021; 23 (4): 335–340. DOI: 10.26442/20795696.2021.4.200911

Введение

Злокачественные опухоли яичников занимают значимое место в структуре онкогинекологических заболеваний. По данным Центра по контролю и профилактике заболеваний (USCS Data Visualizations – CDC), рак яичников (РЯ) занимает 2-е место по распространенности онкологических заболеваний у женщин [1], 1-е – по числу смертей от злокачественных новообразований репродуктивных органов и 4-е – в структуре смертей, обусловленных онкологическими заболеваниями [2].

В связи с отсутствием эффективных мер, направленных на выявление РЯ на ранних стадиях, в 2/3 случаев диагноз устанавливается на III–IV стадии [3], когда 5-летняя выживаемость не превышает 27%, в то время как при обнаружении в I–II она достигает 74% [4, 5]. Возраст 80–90% больных составляет 20–65 лет [6].

Вследствие недостаточной информативности какого-либо одного биомаркера необходимо рассматривать возможность выявления набора веществ, отличающих одно состояние пациента от другого [7]. Одним из самых перспективных подходов для диагностики данного онкологического заболевания на сегодняшний день является метаболомный анализ, осуществляемый методами масс-спектрометрии (МС). Метабо-

ломный подход включает комбинированное использование хроматографических, спектрометрических и спектроскопических методов анализа образцов совместно со статистической и биоинформатической обработкой экспериментальных данных. Основным аналитическим методом в липидомике является высокоэффективная жидкостная хроматография – масс-спектрометрия – ВЭЖХ-МС (HPLC – High performance liquid chromatography), позволяющая выполнить предварительное разделение веществ анализируемой пробы. Анализ и интерпретация данных предполагают методы создания мультипараметрических классификационных моделей для проверки диагностической точности выявленных биомаркеров.

Ярд липидов обладает опухоль-иницирующей активностью, в связи с чем введен термин «онколипид» [8]. Показано, что высокое содержание разнообразных онколипидов в микроокружении опухоли отображает их способность инициировать и поддерживать процессы инвазии [8, 9].

МС-подходы для определения изменений липидома крови характеризуются малыми временами и относительной простотой приготовления образцов, а также высокой информативностью получаемых результатов. Регистрируемые в процессе эксперимента характеристические масс-спектры, называемые также «отпечатки пальцев» (fingerprints),

Павлович Станислав Владиславович – канд. мед. наук, ученый секретарь ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова», зав. учебной частью каф. акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). E-mail: s_pavlovich@oparina4.ru

Чаговец Виталий Викторович – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр. лаб. протеомики и метаболомики репродукции человека отд. системной биологии в репродукции ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: vvchagovets@gmail.com

Стародубцева Наталия Леонидовна – канд. биол. наук, зав. лаб. протеомики репродукции человека ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: n_starodubtseva@oparina4.ru

Хабас Григорий Николаевич – канд. мед. наук, рук. отд-ния инновационной онкологии и гинекологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: g_khabas@oparina4.ru

Ашрафян Левон Андреевич – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., дир. Института онкогинекологии и маммологии ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова». E-mail: levaa2004@yahoo.com; ORCID: 0000-0001-6396-4948

Сухих Геннадий Тихонович – акад. РАН, д-р мед. наук, проф., дир. ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова», зав. каф. акушерства, гинекологии, перинатологии и репродуктологии ИПО ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет). E-mail: g_sukhikh@oparina4.ru

Stanislav V. Pavlovich – Cand. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). E-mail: s_pavlovich@oparina4.ru

Vitaliy V. Chagovets – Cand. Sci. (Phys.-Math.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: vvchagovets@gmail.com

Nataliya L. Starodubtseva – Cand. Sci. (Biol.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: n_starodubtseva@oparina4.ru

Grigory N. Khabas – Cand. Sci. (Med.), Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: g_khabas@oparina4.ru

Lev A. Ashrafyan – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. E-mail: levaa2004@yahoo.com; ORCID: 0000-0001-6396-4948

Gennady T. Sukhikh – D. Sci. (Med.), Prof., Acad. RAS, Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University). E-mail: g_sukhikh@oparina4.ru

позволяют создать классификационную модель для отнесения данного образца сыворотки или плазмы крови к группе нормы или патологии.

Поскольку в настоящее время отсутствуют адекватные способы высокоточной ранней и предоперационной диагностики РЯ (Ia–Ic стадия по классификации Международной федерации гинекологов и акушеров – FIGO), очевидна необходимость разработки неинвазивных методов объективной диагностики.

Цель исследования – изучение возможности выявления эпителиального серозного РЯ высокой степени злокачественности (high grade) на более ранних (Ia–Ic) стадиях.

Материалы и методы

С ноября 2019 по июль 2020 г. на базе ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова» проведено наблюдательное клиническое исследование «случай-контроль». Объект исследования: 1-я группа (основная) – 28 пациентов отделения инновационной онкологии и гинекологии с гистологически верифицированным РЯ Ia–Ic (1-я подгруппа) и IIa–IVa (2-я подгруппа) стадий по классификации FIGO, у которых до оперативного вмешательства выполнили взятие сыворотки крови; 2-я группа (контрольная) – 13 условных женщин, добровольно принявших участие в исследовании, отобранных на основании данных анкетирования и стандартного клинического обследования (клинический анализ крови, ультразвуковое исследование органов малого таза).

Критерии включения: возраст пациентов от 18 до 55 лет и информированное согласие на участие в исследовании.

Критерии невключения: первично-множественный опухолевый процесс, гистотип опухоли, отличающийся от серозного РЯ высокой степени злокачественности (high grade), BRCA-мутация (ген рака молочной железы), сопутствующая патология (сахарный диабет, острый или хронический воспалительный процесс и/или инфекционное заболевание и пр.), беременность на момент взятия крови.

Сбор образцов венозной крови в пробирки осуществляется непосредственно перед операцией до введения антибактериальных, обезболивающих и других препаратов. Во избежание погрешностей при получении результатов анализа крови доставку образцов в биобанк выполнили в течение 30 мин.

До проведения анализа липидного состава сыворотки крови все образцы распределили по группам. Забранная кровь центрифугируется 20 мин при 300 g (g – единица относительного центробежного ускорения, гравитационная постоянная, равная 980 м/с²) и 4°C. Затем надосадочная жидкость отбирается и центрифугируется 10 мин при 12 000 g и комнатной температуре. После центрифугирования полученная сыворотка крови разливается в пробирки по 0,5 мл. Все пробирки маркируются и замораживаются при температуре -80°C и могут храниться до 2 лет.

Экстракты липидов получали в соответствии с модифицированным методом Фолча. В ходе данного эксперимента к 40 мкл образца сыворотки добавляли 480 мкл смеси хлороформ-метанол (2:1), смесь подвергалась действию ультразвука на протяжении 10 мин, после чего ее дополнили 150 мкл воды. Смесь центрифугировали в течение 5 мин при 13 000 g и температуре окружающей среды. Отбирали органический слой, содержащий липиды, подвергали его вакуумной сушке, затем повторно растворяли в смеси 100 мкл изопропанола и 100 мкл ацетонитрила для последующего МС-анализа.

Липидные экстракты анализировали на жидкостном хроматографе Dionex UltiMate 3000 (Thermo Scientific, Герме-

ринг, Германия), соединенном с анализатором Maxis Impact qTOF, снабженным источником с электрораспылительной ионизацией (Bruker Daltonics, Бремен, Германия). В колонку Zorbax XDB-C18 (250×0,5 мм, 5 мкм, Agilent, США) вводили 3 мкл образца. Разделение липидов проводили при скорости потока 35 мкл/мин, используя воду-ацетонитрил (при соотношении объемов 40:60) с 0,1% муравьиной кислоты и 10 ммоль/л формиата аммония в качестве растворителя А и изопропанол/ацетонитрил/воду (при соотношении объемов 90:8:2) с 0,1% муравьиной кислоты и 10 ммоль/л формиата аммония в качестве растворителя В путем линейного градиента от 30 до 95% растворителя В в течение 25 мин. Температура колонки 50°C. Масс-спектры получали в режиме положительных ионов в диапазоне отношения массы к заряду, равному 400–1000, со следующими настройками: напряжение на капилляре 4,1 кВ, давление распыляющего газа 0,7 баррелей, скорость потока осушающего газа 6 л/мин, температура осушающего газа 200°C. Tandемные МС-эксперименты проводились со следующими параметрами: 3 наиболее интенсивных пика выбраны после полного сканирования в полном диапазоне масс и фрагментированы столкновительной диссоциацией с энергией 35 электро-вольт. Время исключения иона из анализа составило 1 мин.

Полученные данные подверглись дискриминантному анализу ортогональных проекций на скрытые структуры (OPLS-DA) с предварительным масштабированием по Парето [10]. Затем произведены оценка чувствительности и специфичности, а также ожидаемой точности классификации новых показателей для определения диагностической ценности этой классифицирующей модели и анализ важности вклада независимых переменных в проекции (VIP – variable importance in projection), полученных в OPLS-моделях. Для идентификации соединений, наиболее существенных для создания фенотипической классификации в исследовании, использовали их точную массу и характерные тандемные масс-спектры.

Статистическую обработку полученных экспериментальных данных проводили с помощью скриптов, написанных на языке R [11] в RStudio [12]. Статистическую значимость отличия уровней исследуемых метаболитов между группами анализировали по результатам теста Манна-Уитни и методу логистической регрессии с оценкой площади под ROC-кривой (AUC). При величине p -value $\leq 0,05$ отличие принимали за статистически значимое, $\leq 0,01$ – очень значимое, $\leq 0,001$ – максимально значимое.

Результаты

Отбрали 41 образец сыворотки крови пациентов с РЯ Ia–Ic (n=5) и IIa–IVb стадиями (n=23) по FIGO, а также наблюдаемых из группы контроля (n=13).

Для выявления пациентов со злокачественным серозным новообразованием яичников построили OPLS-модель по данным, полученным в результате МС-анализа образцов сыворотки, взятых у больных I–IV стадией РЯ (n=28) и наблюдаемых из группы контроля (n=13).

На рис. 1 представлен график счетов построенной OPLS-модели. Зеленые точки соответствуют наблюдаемым из группы контроля, красные точки – пациентам с РЯ I–IV стадиями по FIGO. На графике счетов наблюдается четкая группировка точек в 2 кластера вдоль первой главной компоненты. На качество созданной статистической модели указывают рассчитанные для нее характеристики. Оценочный параметр модели R^2 , который отображает долю данных, описанных созданной моделью с использованием скрытых переменных, достиг 0,87 и превышает нижнюю допустимую для этой

Рис. 1. График счетов, построенный по результатам OPLS-DA-анализа МС-данных, полученных в режиме положительных ионов для образцов из групп контроля (зеленые точки) и основной – РЯ I–IV стадии (красные точки).

Fig. 1. Score plot built on the results of OPLS-DA analysis of mass spectrometric (MS) data obtained in the positive ion mode for samples from the control group (green dots) and the main group – I–IV stage ovarian cancer – OC (red dots).

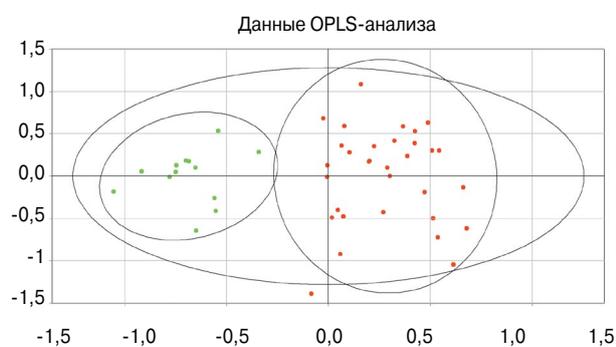
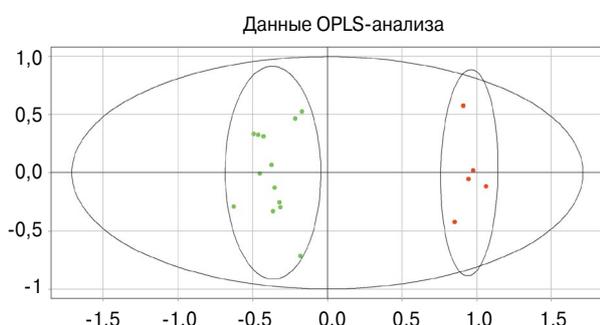


Рис. 2. График счетов, построенный по результатам OPLS-DA-анализа МС-данных, полученных в режиме положительных ионов для образцов из групп контроля (зеленые точки) и основной – РЯ Ia–Ic стадии (красные точки).

Fig. 2. Score plot built on the results of OPLS-DA analysis of MS- data obtained in the positive ion mode for samples from the control group (green dots) and the main group – Ia–Ic stage OC (red dots).



величины границу, равную 0,5. Оценочный параметр Q^2 , показывающий ожидаемую точность прогнозирования новых данных, поднялся до значения 0,80, что выше допустимой границы, равной 0,4, более чем в 2 раза. Чувствительность и специфичность ROC-кривой этой OPLS-модели достигли 1. Таким образом, данная модель может быть использована для отнесения анализируемых образцов к той или иной клинической подгруппе.

На рис. 2 приведен график счетов, построенный по результатам OPLS-анализа МС-данных образцов крови пациентов из группы контроля ($n=13$) и пациентов с Ia–Ic стадией РЯ ($n=5$). На высокое качество данной модели указывают рассчитанные величины $R^2=0,97$ и $Q^2=0,86$. Наибольший вклад в данную модель дают 108 из 345 идентифицированных липидов с $VIP>1$. Уровни 58 липидов в образцах сыворотки больных на ранних стадиях статистически значимо снижены в 2–4 раза по сравнению с пациентами из группы контроля, уровни 9 липидов повышены при РЯ.

Рис. 3. График счетов, построенный по результатам OPLS-DA-анализа МС-данных, полученных в режиме положительных ионов для образцов из групп больных РЯ Ia–Ic (красные точки) и IIa–IVa (синие точки) стадий.

Fig. 3. Score plot built on the results of OPLS-DA analysis of MS data obtained in the positive ion mode for samples from groups of patients with Ia – Ic stage OC (red dots) and IIa–IVa stage OC (blue dots).

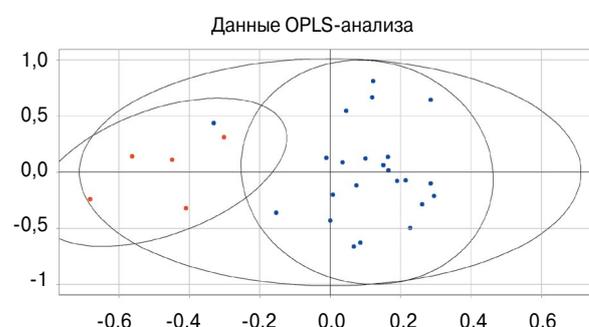
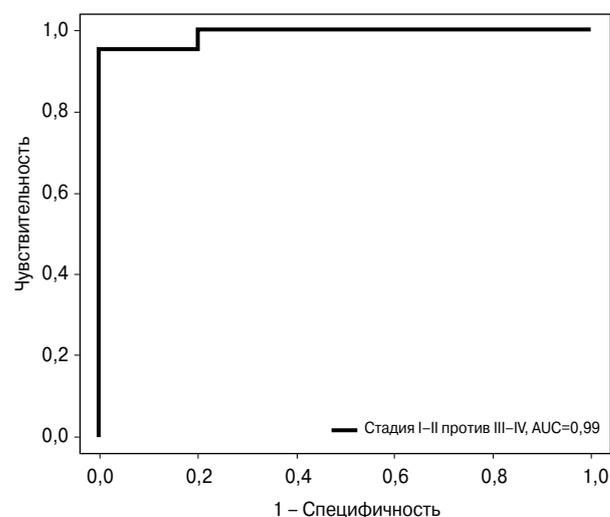


Рис. 4. ROC-кривая модели OPLS-DA, разработанной на основании уровней липидов в крови в группах больных РЯ Ia–Ic и IIa–IVa стадий.

Fig. 4. ROC-curve of the OPLS-DA model, developed on the basis of blood lipid levels in groups of patients with Ia–Ic OC and IIa–IVa stage OC.



Проведено сравнение липидных профилей в образцах сыворотки крови 28 больных из группы более ранних (Ia–Ic стадии; $n=5$) и распространенных стадий (IIa–IVa; $n=23$). Построенная в ходе сравнения OPLS-модель характеризовалась чувствительностью 0,96, специфичностью 1 и $AUC=0,99$. Наиболее существенными для создания данной модели были 99 липидов. Таким образом, предлагаемый метод демонстрирует точность в дифференциации различных стадий серозного РЯ методом ВЭЖХ-МС.

На рис. 3 представлен график счетов, построенный по результатам OPLS-анализа МС-данных, полученных в режиме положительных ионов для образцов из групп РЯ Ia–Ic (красные точки) и IIa–IVa стадии (синие точки). В данной модели $VIP>1$ было у 99 липидов. ROC-анализ модели (рис. 4) показал, что ее чувствительность равна 0,96, специфичность 1 и $AUC=0,99$.

Обсуждение

В настоящем исследовании показана возможность идентификации различий липидного состава сыворотки крови пациентов с более ранними стадиями серозного РЯ посредством анализа образцов с помощью ВЭЖХ-МС. Весомый вклад в построение различных классификационных моделей внесли диглицериды, триглицериды, фосфатидилхолины, этаноламины, сфингомиелины, церамиды, фосфатидилсерин, фосфоинозитолы и простагландин.

Несмотря на то, что метод ВЭЖХ-МС не является рутинным для использования в клинической практике, он один из наиболее точных для установления биохимических изменений метаболома [8]. Липиды представляют собой «удобный» объект для изучения и построения наглядных диаграмм: например, фосфолипиды хорошо ионизируются и поэтому представлены в масс-спектре интенсивными пиками. В масс-спектре определяют разнообразные молекулярные виды липидов, как было отмечено, некоторые из которых специфичны для РЯ.

Полученные данные сопоставлены с результатами исследований, изложенных в доступной мировой литературе, и, согласно проведенному анализу, имеют ряд преимуществ. М. Nilvo и соавт. (2016 г.) обнаружили повышение уровня гидроксипутирата (2,4-дигидроксипутират, 3,4-дигидроксипутират) в сыворотке крови больных серозным РЯ высокой степени злокачественности по сравнению с образцами из группы контроля, а также ученые предположили прогностическое значение данного потенциального маркера [9, 13]. Однако ограничением этого исследования и многих других является преобладание в структуре исследуемых пациентов с III–IV стадией, что сужает спектр возможностей настоящего метода для диагностики более ранних стадий.

М. Buas и соавт. (2016 г.) провели исследование «случай-контроль», в процессе которого проанализировали по 50 образцов плазмы крови пациентов, подвергшихся оперативному лечению по поводу объемного образования яичников серозного гистотипа, – рака или доброкачественной опухоли (группа контроля). Образцы исследовали с помощью ВЭЖХ-МС. Установлено, что 34 метаболита из 372 обнаруженных статистически значимо отличались в группах. Авторы пришли к выводу, что выявленные отличия метаболического профиля могут способствовать повышению точности дифференциальной диагностики доброкачественных и злокачественных заболеваний яичников [14]. После исключения образцов плазмы пациентов, у которых не изучен маркер СА-125, в исследовании осталось лишь 84 образца (44 – РЯ; 40 – доброкачественные опухоли в группе контроля). В исследовании включили только женщин постменопаузального возраста, что также следует отнести к важному ограничению дизайна рассматриваемого анализа. Помимо этого, использование крови пациентов с наличием доброкачественного объемного образования яичников в качестве группы контроля не исключает «химизм» липидного профиля, который может быть характерен для каждого заболевания. В связи с чем более информативные и точные данные могут быть получены при сравнении с исследуемой группой пациентов, где при скрининго-диагностическом обследовании отсутствовали результаты, указывающие на объемные образования яичников («здоровые добровольцы»). Аналогично описанному исследованию в работе У. Ноу и соавт. (2016 г.) группу контроля составили пациенты с наличием патологии репродуктивных органов: несмотря на достаточно большую выборку пациентов, сопоставление липидных профилей крови проводилось между группами пациентов с РЯ, доброкачественными образованиями яичников и мио-

мой матки [15], – ранее доказан вклад каждого из заболеваний в изменение липидного профиля крови, что необходимо учитывать при наборе группы контроля. Однако авторы получили важные сведения об изменении липидома – снижение в плазме крови пациентов с РЯ уровня глицеролипидов наряду с повышением сфинголипидов.

Принципиальной особенностью, которую также следует учитывать при планировании исследования, посвященного диагностике РЯ, является этапность, заключающаяся в возможности выявить группу пациентов со злокачественным процессом, радикально отличимую от пациентов группы контроля, состоящей из обследованных женщин с исключенной патологией. Затем вторым этапом необходимо провести внутригрупповое сравнение больных Ia–Ic и IIa–IVa стадий, чтобы различить пациентов с более ранними стадиями и из группы контроля. Данная последовательность позволяет дифференцировать ранние стадии заболевания от нормы и прогрессирующих стадий РЯ.

Это исследование имеет некоторые ограничения. Во-первых, оно проведено на малой выборке пациентов, и полученные данные являются предварительными. Однако модели логистической регрессии продемонстрировали высокую ценность AUC, в связи с чем полученные результаты можно учитывать для определения наличия тенденций. Во-вторых, группы различаются по коморбидности (пациенты с РЯ имеют более отягощенный соматический анамнез по наличию ишемической болезни сердца, атеросклероза и прочих состояний). Указанные факторы могут являться конфаундерами, т.е. оказывать существенное влияние на качественный и количественный состав липидного профиля крови. Для преодоления ограничений данного исследования требуются дальнейшее изучение с включением большего числа пациентов в исследуемую группу, а также проведение валидирующего этапа.

Заключение

В представленном исследовании изучена возможность выявления эпителиального серозного РЯ высокой степени злокачественности на более ранних (Ia–Ic) стадиях посредством двухэтапного попарного сравнения выборок с применением многомерного OPLS-анализа. Суммарно методом ВЭЖХ-МС идентифицировано 345 липидов различных классов. Наиболее значимыми при создании моделей можно назвать фосфатидилхолины, этаноламины, диглицериды, триглицериды, сфингомиелины, фосфатидилсерин, церамиды, фосфоинозитолы и простагландин.

Регистрация изменений липидного профиля, ассоциированных с опухолевым процессом при РЯ в виде МС-отпечатков пальцев, и дальнейшее создание классифицирующих моделей продемонстрировали возможность различать липидный профиль здорового человека, а также больных РЯ IIa–IVa стадии заболевания от пациентов с Ia–Ic, выявление которых с помощью стандартных методов диагностики сопряжено с существенными трудностями наряду с тем, что именно их лечение сопровождается более благоприятным прогнозом.

Внедрение предлагаемого метода в практическое здравоохранение позволит усовершенствовать алгоритмы обследования и ведения пациентов со злокачественными серозными новообразованиями яичников.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Благодарность. Все материалы, использованные для проведения представленного исследования, подверглись обработке и хранились в биобанке ФГБУ «НМИЦ АГП им. акад. В.И. Кулакова».

Acknowledgment. All materials used for this study were processed and stored in the biobank of Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology. Расшифровка National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology.

Финансирование. Работа выполнена при финансовой поддержке госзадания Минздрава России «Разработка подходов для неинвазивной диагностики эндометриоза на основе омиксных технологий». Номер госрегистрации: АААА-А19-119021490132-9 на период 01.01.19–31.12.21.

Funding. This work was carried out with the financial support of the state assignment of the Ministry of Health of Russia "Development of approaches for non-invasive diagnosis of endometriosis based on omix technologies". State registration number: АААА-А19-119021490132-9 for the period 01.01.19–31.12.21.

Литература/References

1. USCS Data Visualizations – CDC. 2020 Available at: <https://gis.cdc.gov/Cancer/USCS/DataViz.html> Accessed: 15.04.2021.
2. Koirala P, Moon AS, Chuang L. Clinical Utility of Preoperative Assessment in Ovarian Cancer Cytoreduction. *Diagnostics (Basel)*. 2020;10(8):568.
3. Schorge JO, Clark RM, Lee SI, Penson RT. Primary debulking surgery for advanced ovarian cancer: Are you a believer or a dissenter? *Gynecol Oncol*. 2014;135(3):595-605.
4. Maringe C, Walters S, Butler J, et al. Stage at diagnosis and ovarian cancer survival: Evidence from the international cancer benchmarking partnership. *Gynecol Oncol*. 2012;127(1):75-82.
5. Warren LA, Shih A, Renteira SM, et al. Analysis of menstrual effluent: Diagnostic potential for endometriosis. *Mol Med*. 2018;24(1):1.
6. Devouassoux-Shisheboran M, Genestie C. Pathobiology of ovarian carcinomas. *Chin J Cancer*. 2015;34(1):50-5.
7. Pavlovich SV, Yurova MV, Melkumyan AG, et al. Biomarkers in ovarian neoplasms: opportunities, limitations, and prospects for using in reproductive-aged women. *Obstetrics and Gynecology*. 2019;11:65-73. DOI:10.18565/aig.2019.11.65-73
8. Xu Y. Lysophospholipid signaling in the epithelial ovarian cancer tumor microenvironment. *Cancers (Basel)*. 2018;10(7):227.
9. Hilvo M, de Santiago I, Gopalacharyulu P, et al. Accumulated metabolites of hydroxybutyric acid serve as diagnostic and prognostic biomarkers of ovarian high-grade serous carcinomas. *Cancer Res*. 2016;76(4):796-804.
10. Trygg J, Wold S. Orthogonal projections to latent structures (O-PLS). *J Chemometrics*. 2002;16(3):119-28.
11. R CoreTeam (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at: <https://www.R-project.org/> Accessed: 15.04.2021.
12. RStudio Team (2016). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, Inc., Boston, MA. Available at: <http://www.rstudio.com/> Accessed: 15.04.2021.
13. Braicu EI, Darb-Esfahani S, Schmitt WD, et al. High-grade ovarian serous carcinoma patients exhibit profound alterations in lipid metabolism. *Oncotarget*. 2017;8(61):102912-22.
14. Buas MF, Gu H, Djukovic D, et al. Identification of novel candidate plasma metabolite biomarkers for distinguishing serous ovarian carcinoma and benign serous ovarian tumors. *Gynecol Oncol*. 2016;140(1):138-44.
15. Hou Y, Li J, Xie H, et al. Differential plasma lipids profiling and lipid signatures as biomarkers in the early diagnosis of ovarian carcinoma using UPLC-MS. *Metabolomics*. 2016;12(2):1-12.

Статья поступила в редакцию / The article received: 21.04.2021

Статья принята к печати / The article approved for publication: 24.08.2021



OMNIDOCTOR.RU