

ВЫЯВЛЕНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ БИОМАРКЕРОВ ОПУХОЛЕЙ ЯИЧНИКОВ С ПОМОЩЬЮ ОМИК-ТЕХНОЛОГИЙ

**А. Д. Джарбаева¹, Е. А. Мурашко¹, Е. Д. Кессених¹, М. А. Мигунова¹,
М. И. Кривошеина¹, И. Е. Говоров¹, Э. В. Комличенко¹, Е. А. Ульрих^{1,2,3}, С. И. Ситкин^{1,3}**

¹ ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова», Санкт-Петербург

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н. Н. Петрова»,
Санкт-Петербург

³ ФГБУ ВПО Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова,
Санкт-Петербург

Актуальность. Раннее выявление злокачественных новообразований яичников затруднено отсутствием неинвазивных методов диагностики. Изучение омик-технологий может позволить выявить новые биомаркеры этого заболевания, предикторы их развития, которые смогут определить этиологию ЗНО, а также разработать подходы к персонализированному ведению больных с новообразованиями яичников.

Цель исследования: улучшение результатов лечения злокачественных опухолей яичника путем разработки и внедрения программы предикции с комплексной оценкой, включающей прогностически значимые метаболомные биомаркеры.

Материалы и методы. Проанализированы клинико-морфологические данные 44 пациенток с доброкачественными ($n = 20$), пограничными ($n = 3$) и злокачественными новообразованиями яичников ($n = 21$), получавших лечение в ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова за период 2023–2024 гг. Метаболомное исследование плазмы крови проведено с использованием техник хроматомасс-спектрометрии — газовой хроматомасс-спектрометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографией в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения.

Результаты. Средний возраст больных раком яичника и пограничными опухолями составил 51 год, доброкачественными новообразованиями — 53 года. Морфологически рак яичников в большинстве случаев был представлен серозными опухолями (57,1 %), на долю муцинозного рака пришлось 19,04 % случаев, эндометриоидного — 9,52 %, светлоклеточного — 9,52 %, в одном случае встретился смешанный рак. Распределение по стадиям: III стадия заболевания — 52,4 %, I стадия — 28,5 %, II стадия — 14,3 %, IV стадия — 4,8 %. На основании анализа первичного экспериментального и нормированного массива осуществлена математическая фильтрация данных с использованием иерархических тепловых карт и неконтролируемых методов классификации (k -средних и *Random Forest*), которые выявляют наиболее вероятные «выбросы» образцов для построения более достоверной модели. По результатам t -теста полученного массива данных при $q < 0,01$ было обнаружено 116 значимых переменных. При $q < 0,05$ — 199 (кратность изменений 2,0 и частота ложных открытий 0,01).

Заключение. В результате высокоэффективного жидкостного хроматографического-масс-спектрометрического анализа в режиме обращенной хроматографии дополнительно выявлены метаболиты, которые характеризуются небольшими временами удерживания, близкими к мертвому времени. Идентификация данных метаболитов, предположительно относящихся к полярным липидам, может дополнить метаболомный профиль новообразований яичников. Необходимо проводить дальнейшие метаболомные исследования рака яичников на более широкой выборке и с привлечением методов липидомики в дополнение к метаболомике.

Ключевые слова: рак яичников, опухоли яичников, метаболом, омик-технологии

DETECTION OF OVARIAN TUMOR BIOMARKERS BASED ON OMICS TECHNOLOGIES

A. D. Dzharbayeva¹, E. A. Murashko¹, E. D. Kessenikh¹, M. A. Migunova¹,
M. I. Krivosheina¹, I. E. Govorov¹, E. V. Komlichenko¹, E. A. Ulrikh^{1,2,3}, S. I. Sitkin^{1,3}

¹ Federal State Budgetary Institution V.A.Almazov National Medical Research Center, Saint-Petersburg, St. Petersburg

² Federal State Budgetary Institution N. N.Petrov National Medical Research Center of Oncology, St. Petersburg

³ Federal State Budgetary Research Institution of Higher Professional Education I.I.Mechnikov North-Western State Medical University, St. Petersburg

Significance. Early detection of malignant ovarian neoplasms is impeded due to the lack of non-invasive diagnostic techniques. The study of omics technologies can allow to find novel biomarkers of this disease, predictors of its progression, that will contribute to the identification of the etiology of malignant ovarian neoplasms, as well as to the development of approaches to personalized management of patients with ovarian neoplasms.

Objective of the study is to improve the results of treatment of malignant ovarian tumors by developing and introducing of a prediction program with comprehensive assessment including prognostically significant metabolomic biomarkers.

Materials and Methods. The clinical and morphological data of 44 patients with benign ($n = 20$), borderline ($n = 3$) and malignant ($n = 21$) ovarian neoplasms who had received treatment at Federal State Budgetary Institution V.A.Almazov National Medical Research Center for the period from 2023 to 2024, were analyzed. Metabolomic study of blood plasma was performed using chromatography-mass spectrometry techniques — gas chromatography–mass spectrometry and high-performance liquid chromatography in combination with high resolution mass spectrometry.

Results. The average age of patients with ovarian cancer and borderline tumors was 51 years, with benign neoplasms — 53 years. Morphologically, ovarian cancer in the majority of cases was represented by serous tumors (57,1%), mucinous cancer accounted for 19,04% of cases, endometrioid cancer — for 9,52% of cases, clear cell cancer — 9,52%, in one case there was mixed tumor. Distribution of patients by stages was: stage III patients made up 52,4% of cases, stage I — 28,5%, stage II — 14,3%, stage IV — 4,8%. Mathematical filtering of data using hierarchical heat maps and unsupervised classification methods (K-means and Random Forest) that identify the most likely “outliers” of samples to build a more reliable model, was carried out based on the analysis of the primary experimental and normalized array. According to the results of t-test of the obtained data array 116 significant variables were found at $q < 0,01$. At $q < 0,05$ — 199 (fold change is 2 and false discovery rate is 0,01).

Conclusions. As a result of high-performance liquid chromatography–mass spectrometry analysis performed in the inverse chromatography mode, metabolites, that are characterized by short retention times, close to the dead time, were additionally identified. Identification of these metabolites, presumably related to polar lipids, can complement a metabolomic profile of ovarian neoplasms. It is necessary to carry out further metabolomic studies of ovarian cancer on a larger cohort and with the involvement of lipidomics techniques in addition to metabolomics.

Keywords: ovarian cancer, ovarian tumors, metabolome, omics technologies

Введение

В 2023 году в Российской Федерации зарегистрировано 13 220 больных раком яичников (РЯ) с впервые в жизни установленным диагнозом злокачественного новообразования яичников. Этот показатель практически совпадает с показателем за 2013 г., где число зарегистрированных с впервые выявленными злокачественными новообразованиями (ЗНО) яичников составляло 13 262 случая.

Ежегодно в мире диагностируется примерно 314 000 случаев РЯ, он является причиной смерти около 207 000 женщин. В Российской Федерации в 2023 г., по данным государственной статистической отчетности, зарегистрировано более 7000 случаев смерти от злокачественных новообразований яичников [1].

Ранняя диагностика рака яичников остается главной нерешенной проблемой в онкогинекологии. К сожалению, предлагаемые скрининговые программы для выявления рака яичников не отвечают большинству требований, сформулированных экспертами ВОЗ к скринингам в онкологии [2].

В последние годы в научных исследованиях было выявлено множество серологических опухолевых маркеров, применяемых для мониторинга состояния больных раком яичников. К числу этих маркеров относятся СА-125 (cancer antigen 125), HE4 (human epididymis protein 4), СА19-9, СА72-4, раково-эмбриональный антиген (РЭА), СА15-3, HMFG-2, CASA, LAS A, CYFRA 21-1 и ТАТ1. Однако СА-125 по-прежнему является наиболее предпочтительным маркером, особенно при серозном

раке яичников. Хотя данный маркер часто используется для вспомогательной диагностики рака яичников, его уровень может повышаться и при других, неонкологических состояниях, что приводит к возможности ложноположительных результатов. Поэтому его нельзя рассматривать в качестве критерия для постановки диагноза. Несмотря на наличие современных диагностических методов, таких как физикальное и гинекологическое обследование, ультразвуковое исследование, магнитно-резонансная томография (МРТ), компьютерная томография (КТ), предоперационная диагностика рака яичников остается сложной задачей [3]. В качестве примера можно привести крупное рандомизированное контролируемое исследование, проведенное в Великобритании, в котором приняли участие 1 243 282 женщины. В этом исследовании авторы проанализировали различные методики, предлагаемые для раннего обнаружения заболевания, включая молекулярные маркеры и усовершенствованные визуализирующие технологии. Результаты показали, что в группах с проведением скрининга не наблюдалось значительного снижения смертности от рака яичников и маточных труб по сравнению с контрольной группой без скрининга [4]. В связи с недостаточной чувствительностью и специфичностью имеющихся методов в диагностике рака яичников в настоящее время эксперты ВОЗ не рекомендуют проводить скрининг всего населения из-за его низкой эффективности [4]. Наряду с этим подчеркивается необходимость разработки новых биомаркеров, которые могли бы не только предсказывать исход заболевания на различных этапах лечения, но и способствовать раннему выявлению рака яичников. Это подчеркивает актуальность их исследования для улучшения клинической практики и прогнозирования в области онкогинекологии, что стало важной задачей для медицинского сообщества [2–5].

В данной ситуации важным направлением является исследование и внедрение дополнительных молекулярно-генетических параметров, которые помогут в дифференциальной диагностике и определении прогностической ценности. Одним из наиболее многообещающих методов для диагностики этого онкологического заболевания на сегодняшний день является метаболомный анализ, выполняемый с использованием масс-спектрометрии (МС). Метаболомный подход под-

разумеет сочетание хроматографических, спектрометрических и спектроскопических методов анализа образцов с последующей статистической и биоинформатической обработкой полученных данных. Поскольку в настоящее время отсутствуют адекватные высокоточные методы для ранней и предоперационной диагностики рака яичников, существует необходимость разработки неинвазивных методов объективного диагностирования. Липидное профилирование в сочетании с метаболомным анализом и другими молекулярно-генетическими параметрами может значительно улучшить возможности диагностики и мониторинга течения заболевания, обеспечивая более раннее вмешательство и, следовательно, улучшая прогноз для пациентов. Вместе с современными подходами, такими как масс-спектрометрия, эти методы имеют потенциал для практического применения в клинической онкологии [5].

Метаболомика, в отличие от других «омик», предоставляет возможность функциональной оценки метаболических процессов и, как следствие, является отражением фенотипа. Правильная интерпретация данных метаболомики позволяет проследить общий итог изменений на уровне ДНК, РНК и белков. В некоторых случаях метаболомика может стать самым чувствительным методом для выявления патологий, поскольку даже незначительные изменения в экспрессии или структуре белков могут существенно повлиять на их активность, что, в свою очередь, затрагивает большинство биологических процессов [6, 7].

Методы выявления метаболомных биомаркеров на основе масс-спектрометрии (МС) представляются наиболее перспективными, поскольку этот подход позволяет определить соединения в любых биологических жидкостях или экстрактах клеток и тканей в жидкой фазе [8].

Использование оригинального метода пробоподготовки и ГХ-МС анализа позволит существенно расширить круг изучаемых метаболитов с обычного для метаболомного анализа количества 80–100 метаболитов до 200 и более соединений. Кроме того, это позволит произвести поиск не одного единственного биомаркера, а разработать панель биомаркеров для улучшения показателей чувствительности и специфичности в предикции злокачественных новообразований яичников.

Материалы и методы

Материалом исследования послужили данные 44 пациенток с доброкачественными и злокачественными новообразованиями яичников, получавших лечение в ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова за период 2023–2024 гг. Проанализированы клинико-морфологические особенности. В качестве материала для масс-спектрометрического анализа использована венозная кровь больных натощак, после этого пробирки незамедлительно центрифугировались при скорости 3000 об/мин в течение 10 мин. Микропипеткой отбирались аликвоты сыворотки объемом 500 мкл и помещались в отдельные пробирки типа Эппендорф. Затем пробирки с образцами сыворотки и холостые пробы замораживались в морозильнике при температуре -80°C . В таких условиях образцы хранились до момента проведения анализа. Использованы следующие реактивы и материалы для поиска биомаркеров: Ацетонитрил, код 1.00029 по каталогу Sigma-Aldrich; Метанол, код 1.06018.2500 по каталогу Sigma-Aldrich; Гексан, код 1007952500 по каталогу Sigma-Aldrich; Изопропанол, код 1.01040.1000 по каталогу Sigma-Aldrich; Пальмитиновая кислота-D31, дейтерированный стандарт, код 366897-100MG по каталогу Sigma-Aldrich; N-метил-N-триметил-силилтрифторацетамид (MSTFA), экстрактивный, 98 %, код 92009 по каталогу SRL; O-метилгидроксиламин гидрохлорид, код 2BOLJ-ZT по каталогу TCI; Пиридин безводный, код C14788794 по каталогу Macklin; Муравьиная кислота, код 5.33002 по каталогу Sigma-Aldrich; Уксусная кислота, код 5.33001 по каталогу Sigma-Aldrich; Вода деионизированная; Стандарт n-алканов ASTM D2887, код 48882 по каталогу Sigma-Aldrich; Набор стандартов метаболитов для масс-спектрометрии, код MSMLS по каталогу Sigma-Aldrich; Хроматографический шприц SGE 10мкл, код 12854 по каталогу SGE; Лайнеры для ГХ SGE OD (mm) 5 ID (mm) 3.4 Length (mm), код 0920831 по каталогу SGE; Пальмитиновая кислота-D31, Palmitic acid-D31, 100 мг, дейтерированный стандарт; Формиат натрия, код 247596 по каталогу Sigma-Aldrich; Ацетат натрия, код 241245 по каталогу Sigma-Aldrich; Хроматографическая колонка Intensity Solo 1.8 C18-2 $100^{\wedge} \times 2,1$ mm с предколонкой Acquity VEN C18 $1,7 \mu\text{m}$; Хроматографическая колонка HP-5MS $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \text{ мкм}$.

На основании имеющихся данных выделены основные группы низкомолекулярных метаболитов — потенциальных кандидатов в биомаркеры.

Для приготовления растворов стандартов метаболитов был использован набор MSMLS (MSMLS, Sigma-Aldrich), состоящий из семи 98-луночных планшетов, содержащих индивидуальные аналитические стандарты в каждой ячейке. Планшеты № 1–5 набора стандартов метаболитов для масс-спектрометрии содержат водорастворимые метаболиты. В каждой маркированной A1-H12 лунке содержится 5 мкг лиофилизированного метаболита, согласно описанию к набору. В лунку, содержащую интересующий метаболит, вносили 25 мкл метанола, затем 475 мкл деионизированной воды. Перемешивали пробу путем пипетирования, затем аликвоты раствора стандарта метаболита объемом 100 мкл переносили в микропробирки. Концентрация стоковых растворов метаболитов составляла 10 мкг/мл. Аликвоты хранили до анализа при -20°C .

Смеси стандартов для ГХМС анализа готовили смешением 50 мкл каждого стандарта, концентрированием досуха под током азота и последующей двуступенчатой дериватизации. Предварительно осуществлялся поиск литературных и библиотечных хроматографических и масс-спектрометрических характеристик всех стандартов (литературный индекс удерживания, библиотечные масс-спектры) с использованием NIST20, HMDB и других баз данных. На основании полученной информации были сформированы группы аналитических стандартов, учитывающие пересечения в аналитических характеристиках, которые могут привести к ошибочной идентификации и количественной оценке.

Результаты

Клинико-морфологические особенности пациенток представлены в табл. 1. Из 44 больных на долю доброкачественных заболеваний пришлось 20 случаев, на долю злокачественных и пограничных новообразований яичников — 21 и 3 случая соответственно.

Все включенные в исследование пациентки получили лечение в условиях ФГБУ НМИЦ им. В. А. Алмазова в период с 2023 г. Клинико-морфологические особенности пациенток представлены в табл. 1.

Средний возраст больных раком яичника и пограничными опухолями составил 51 год, доброкачественными новообразованиями — 53 года.

Таблица 1

Клинико-морфологические особенности больных с опухолями яичников

Рак яичников		n	%	Средний возраст
		21	47,67	51,14
Морфологический тип	Серозный	12	57,12	54,2
	Муцинозный	4	19,04	46,25
	Светлоклеточный	2	9,52	48
	Эндометриоидный	2	9,52	55,5
	Смешанная	1	4,76	39
Стадия FIGO	I	6	28,56	46,8
	II	3	14,28	60,5
	III	11	52,36	46,6
	IV	1	4,76	52
Grade	Low grade	1	4,76	51
	High grade	14	66,64	54,4
	Неприменимо	6	28,56	39
Пограничные опухоли яичников		n	%	Средний возраст
		3	6,81	51
Морфологический тип	Серозный	2	66,7	56
	Муцинозный	1	33,3	41
Доброкачественные образования яичников		n	%	Средний возраст
		20	45,4	53,3

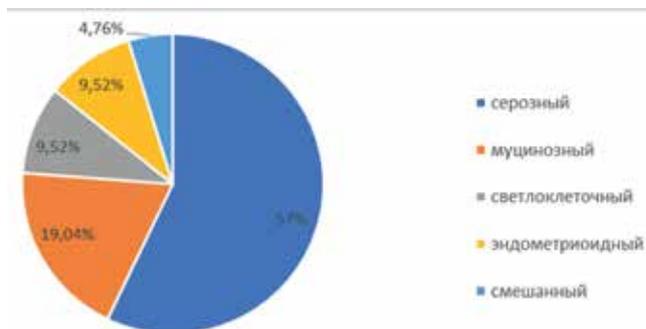


Рис. 1. Распределение больных раком яичника в зависимости от морфологического типа опухоли

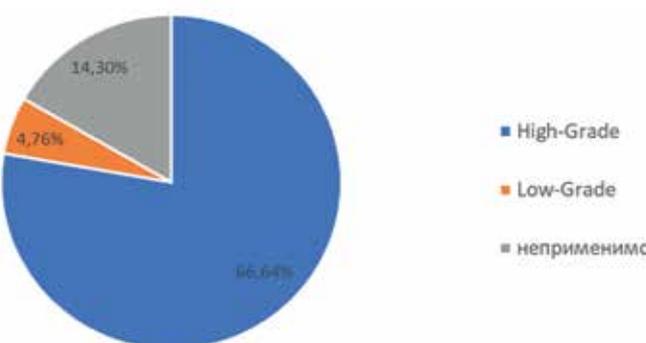


Рис. 2. Распределение больных раком яичника в зависимости от степени дифференцировки опухоли

Морфологически рак яичников в большинстве случаев представлен серозными опухолями (57,1 %), на долю муцинозного рака пришлось 19,04 % случаев, эндометриоидного — 9,52 %, светлоклеточного — 9,52 %, в одном случае встретился смешанный рак (рис. 1).

Среди пограничных опухолей яичника преобладали серозные опухоли (66,7 %).

Большинство злокачественных эпителиальных опухолей имели высоко-злокачественную степень дифференцировки (High-Grade) — 66,64 % (рис. 2).

Значительную долю больных раком яичника составили пациентки с III стадией заболевания (50 %), несмотря на регулярное наблюдение гинекологом по месту жительства, что подчеркивает актуальность данного исследования (рис. 3).

Всем пациенткам с новообразованиями яичников было выполнено хирургическое лечение, которое дополнялось лекарственной противоопухолевой терапией у пациенток со ЗНО. Из числа 21 пациентки со злокачественными новообразованиями яичников только две выписаны из стационара под динамическое наблюдение без проведения химиотерапии, при выявлении ран-

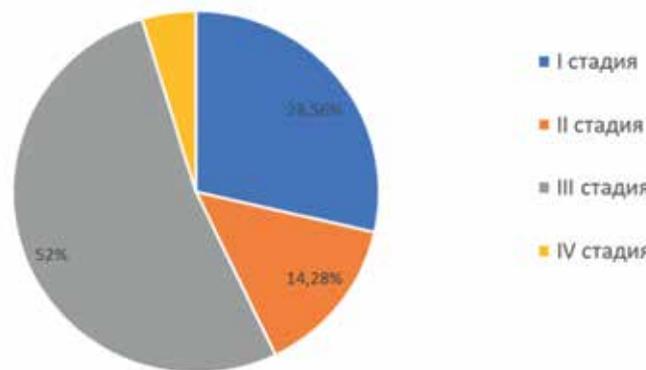


Рис. 3. Распределение больных раком яичника в зависимости от стадии заболевания

ней стадии заболевания и низкой степени злокачественности опухоли при гистологическом исследовании. 20 получали химиотерапию либо перед хирургическим лечением (n = 8), либо после его выполнения (n = 11) (рис. 4).

Из гинекологического анамнеза известно, что средний возраст менархе составил 13 лет, нарушения менструального цикла не наблюдались. У 22 пациенток на момент выявления новообразований яичников зарегистрирована менопауза, средний

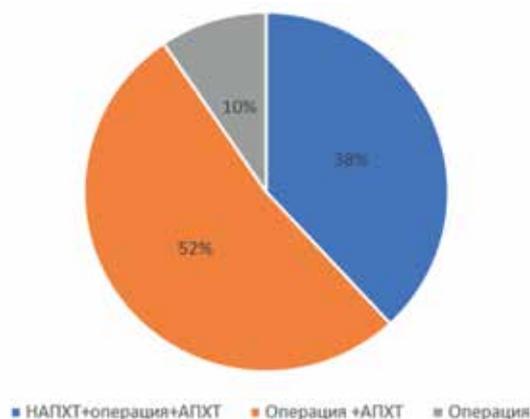


Рис. 4. Методы лечения пациенток с ЗНО

возраст наступления менопаузы — 50 лет; беременности и роды были практически у всех ($n = 41$); одна пациентка ($n = 1$) наблюдалась у репродуктологов с первичным бесплодием, после хирургического лечения направлена для планирования беременности; две пациентки ($n = 2$) молодого возраста, которые в ближайшие два года беременность не планировали. Также всем пациенткам определялся СА 125, повышенный показатель СА 125 был у 19 (43,13 %) пациенток с ЗНО и у четырех (9,08 %) с доброкачественными новообразованиями яичников. Нормальные показатели СА 125 были у 16 (36,31 %) пациенток с доброкачественными образованиями яичников и у пяти (11,35 %) пациенток со ЗНО, что еще раз демонстрирует клиническую незначимость онкомаркера для первичной постановки диагноза.

В результате статистической и хемометрической обработки данных, полученных при анализе образцов пациентов с доброкачественными, злокачественными и пограничными образованиями яичников методом ГХМС, в рамках нецелевого и полуметодического метаболомного исследования образцов их плазмы крови были проведены:

1) рандомизированная подготовка проб к анализу (депротеинизация, экстракция, концентрирование, очистка, двуступенчатая дериватизация);

2) рандомизированный ГХМС анализ полученных экстрактов исследуемых образцов, образцов контроля качества и образцов отрицательного контроля;

3) полуметодическая обработка полученных результатов с использованием аналитических стандартов метаболитов;

4) нецелевая обработка полученных результатов с использованием ПО MZmine и онлайн-сервиса Metaboanalyst;

5) аннотирование наиболее значимых переменных с использованием масс-спектрометрических библиотек и аналитических стандартов метаболитов;

6) функциональный анализ полученных данных.

Применение обзорного подхода метаболомных исследований методом газовой хромато-масс-спектрометрии не позволило выявить метаболитов для построения статистической модели, в которой бы разделялись группы патологий. Диапазон изменений метаболитов в группе контроля перекрывает наблюдаемые изменения в группе сравнения.

Исходная выборка была также проанализирована методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии. Только с применением математической нормализации данных Random Forest (исключение выпадающих образцов из статистической обработки) и нормализации на концентрацию белка удалось построить математическую модель, которая валидируется методами статистики. Однако стоит отметить, что из групп контроля и злокачественных новообразований отброшены примерно половина образцов.

Метаболиты, выявленные в результате такой статистической обработки, слабо удерживаются в режиме обращенно-фазовой хроматографии. Следовательно, эти метаболиты полярные, причем не дающие летучие производные при проведении дериватизации для анализа методом ГХ-МС. Найденные метаболиты можно отнести к липидам. Следовательно, для поиска биомаркеров рака яичников необходимо привлекать методы липидомики, а также значительно увеличивать объем выборки.

Результаты статистического анализа сокращенного массива экспериментальных данных

На основании анализа первичного экспериментального и нормированного массива была осуществлена математическая фильтрация данных с использованием иерархических тепловых карт и неконтролируемых методов классификации (k -средних и Random Forest), которые выявляют наиболее вероятные «выбросы» образцов для построения более достоверной модели. Так, результатом такой фильтрации стали экспериментальные группы ДОЯ (шесть образцов) и ЗНО (16 образцов).

По результатам *t*-теста полученного массива данных при $q < 0,01$ было обнаружено 116 значимых переменных. При $q < 0,05$ — 199. Результаты представлены в диаграмме Volcano

(кратность изменений 2,0 и частота ложных открытий 0,01) (рис. 5).

На рисунках 6–8 приведены результаты анализа сокращенного массива экспериментальных

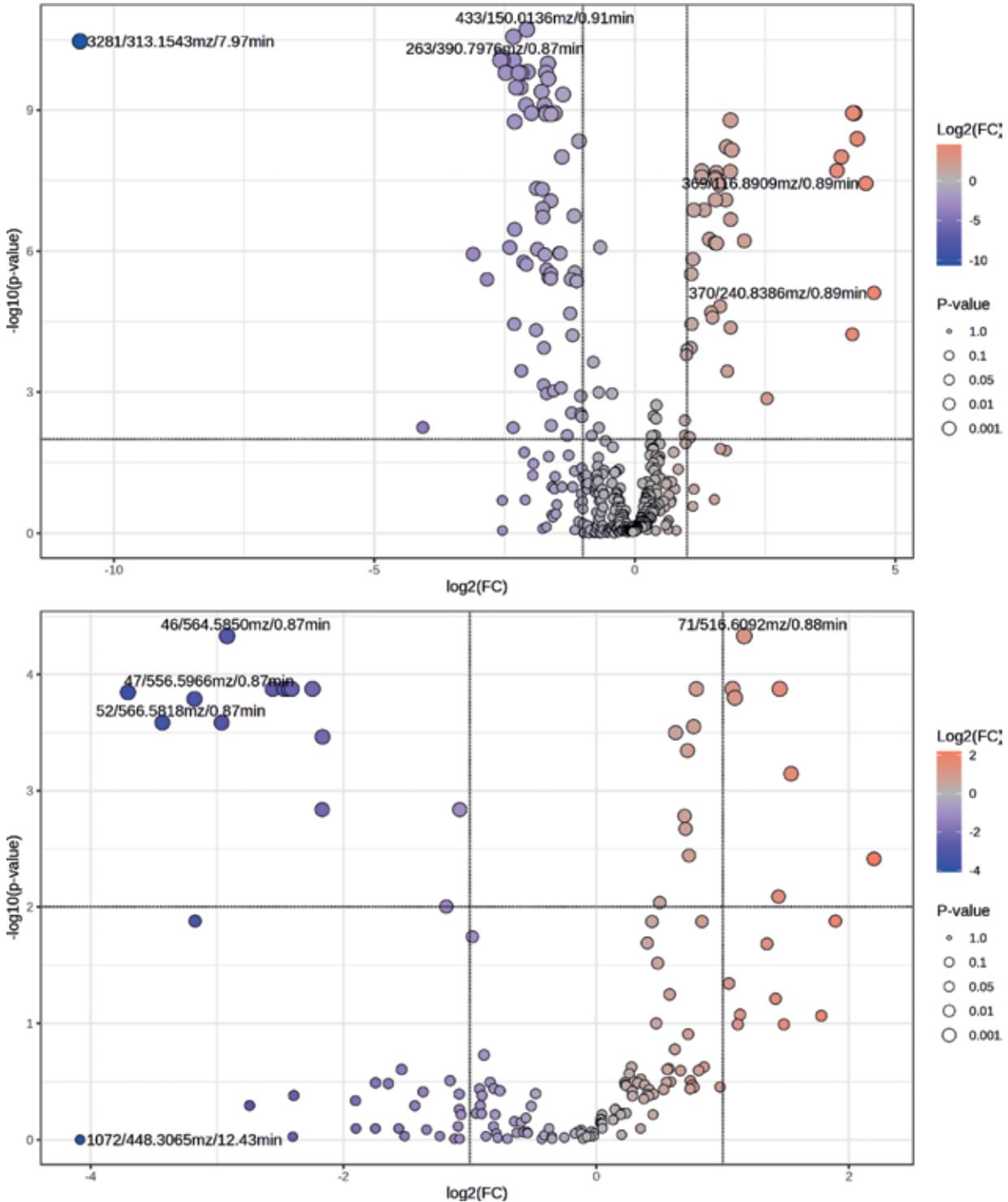


Рис. 5. Диаграмма Volcano (кратность изменений 2,0 и частота ложных открытий 0,01) в положительной и отрицательной ионизации соответственно

Опухоли придатков матки

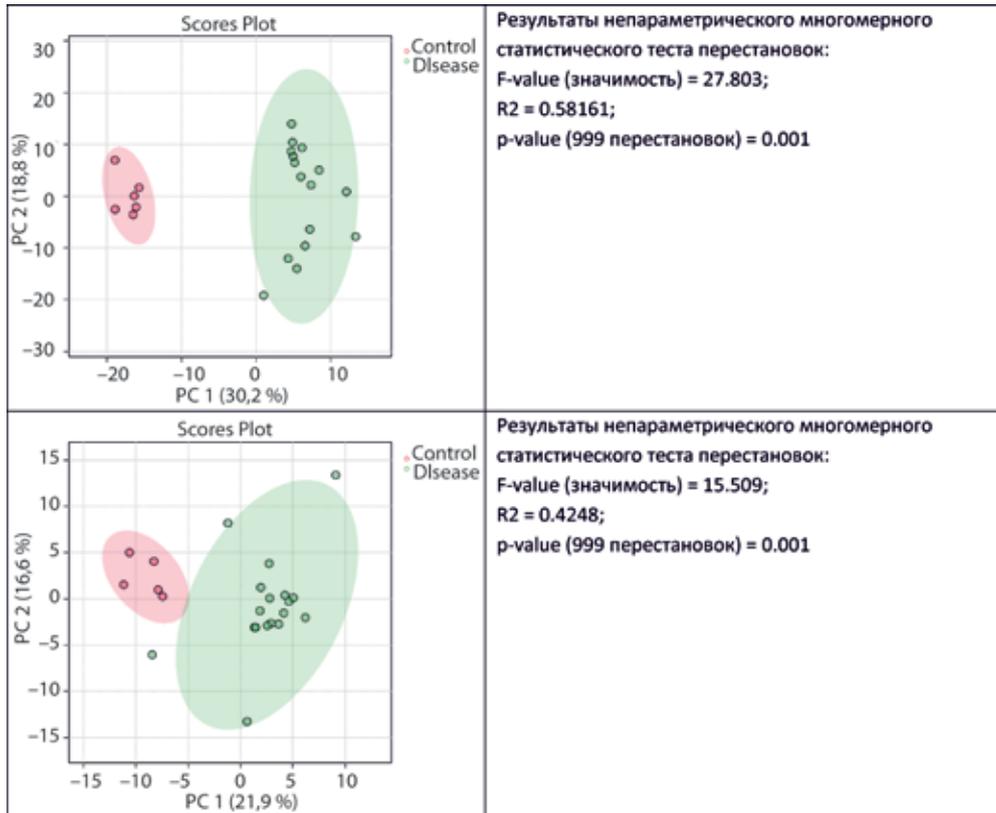


Рис. 6. Результаты анализа массива данных, включающего группы ДОЯ (Control) и ЗНО (Disease) после фильтрации, с использованием метода главных компонент (PCA) в положительной и отрицательной ионизации соответственно

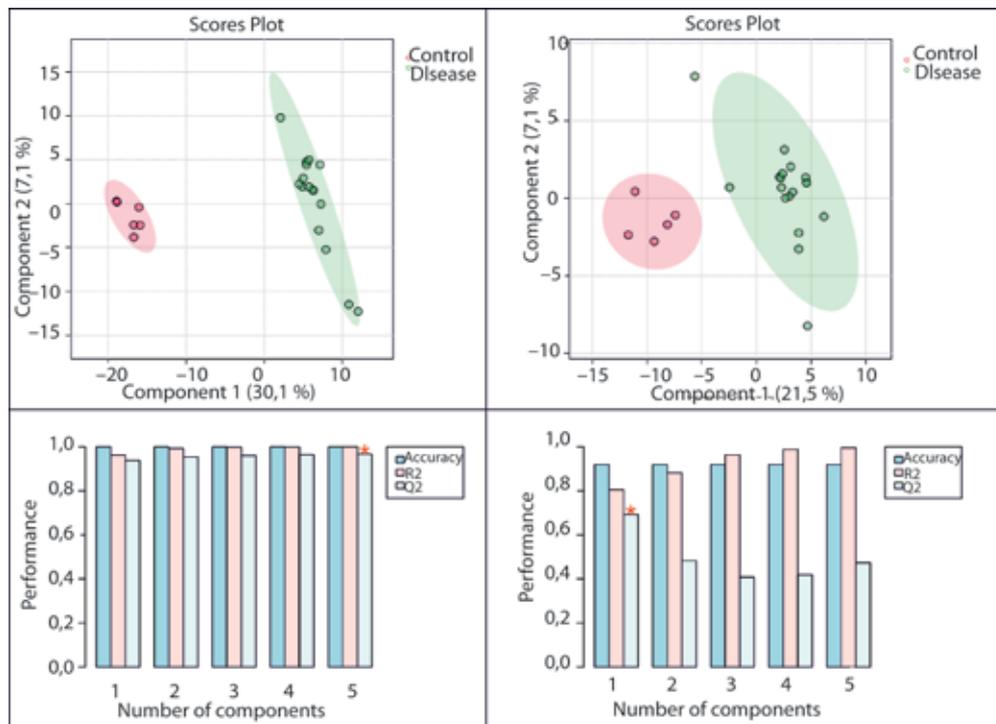


Рис. 7. Результаты анализа массива данных, включающего группы ДОЯ (Control) и ЗНО (Disease) после фильтрации, с использованием дискриминантного анализа на основе частных наименьших квадратов (PLS-DA) в положительной и отрицательной ионизации соответственно

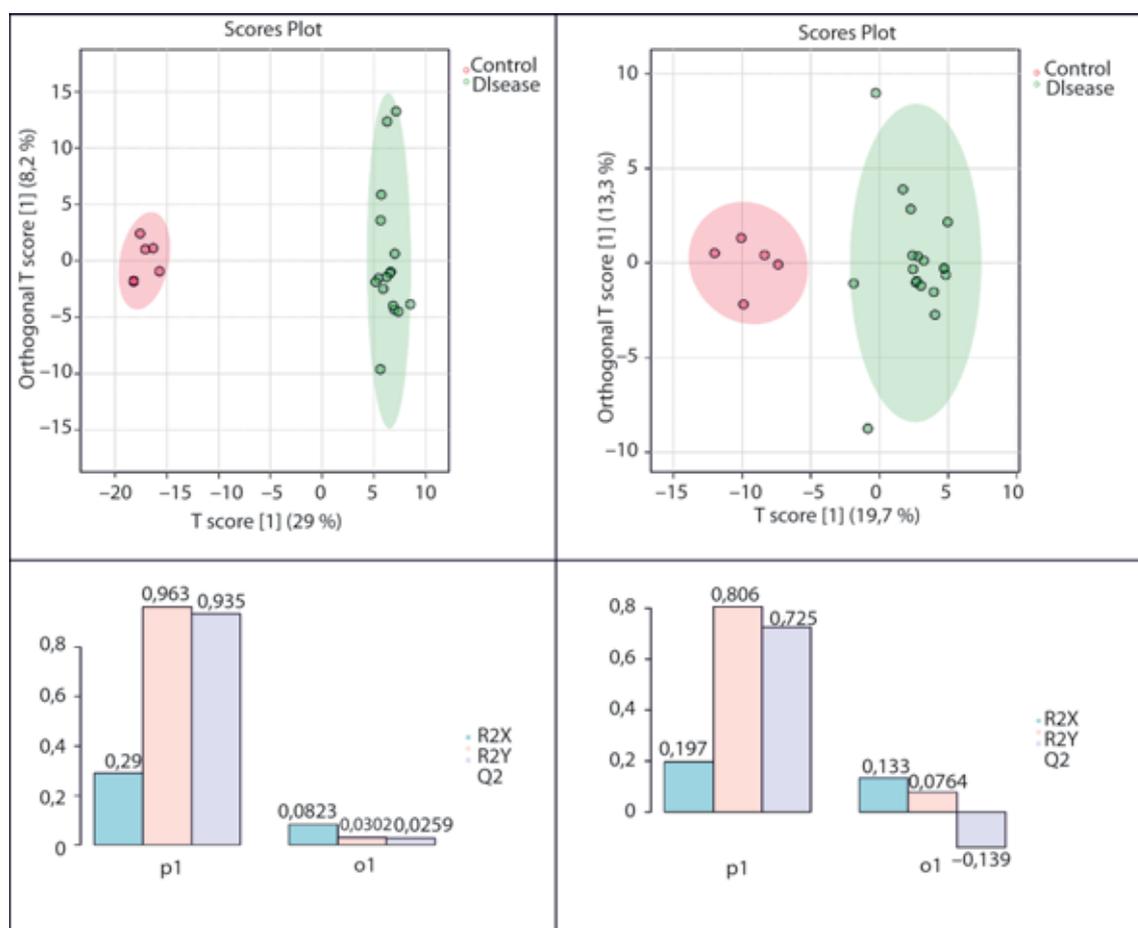


Рис. 8. Результаты анализа массива данных, включающего группы ДОЯ (Control) и ЗНО (Disease) после фильтрации, с использованием дискриминантного анализа ортогональных проекций на скрытые структуры (OPLS-DA) в положительной и отрицательной ионизации соответственно

данных методами PCA, PLS-DA и OPLS-DA. Полученные модели достоверно описывают экспериментальные данные. Точность, коэффициент детерминации и предсказательная способность говорят о значимости полученных результатов в рамках статистического анализа предложенными методами и о возможности использовать переменные, вносящие наибольший вклад в построение модели, в качестве кандидатов на диагностические маркеры.

На рис. 9 представлены результаты кластеризации полученного массива экспериментальных данных. Полученные данные достоверно и значимо кластеризуются.

В результате анализа сокращенного массива данных в положительной ионизации с использованием алгоритма случайного леса ООВ

ошибка составила 0,00. При этом ошибка классификации образцов составила: 0,00 для группы ЗНО и 0,00 для группы ДОЯ. В отрицательной ионизации ошибка составила 0,0435 (0,0556 для ЗНО и 0,00 для ДОЯ).

Это также подтверждается с помощью неконтролируемого анализа *k*-средних (рис. 10).

Полученные модели достоверно описывают экспериментальные данные в сокращенной выборке образцов и могут быть использованы для последующего функционального анализа.

Заключение

В современной медицинской науке продолжается активное развитие омик-технологий, которые позволяют проводить нецеленаправленный поиск изменений на уровне генома, транскриптома, про-

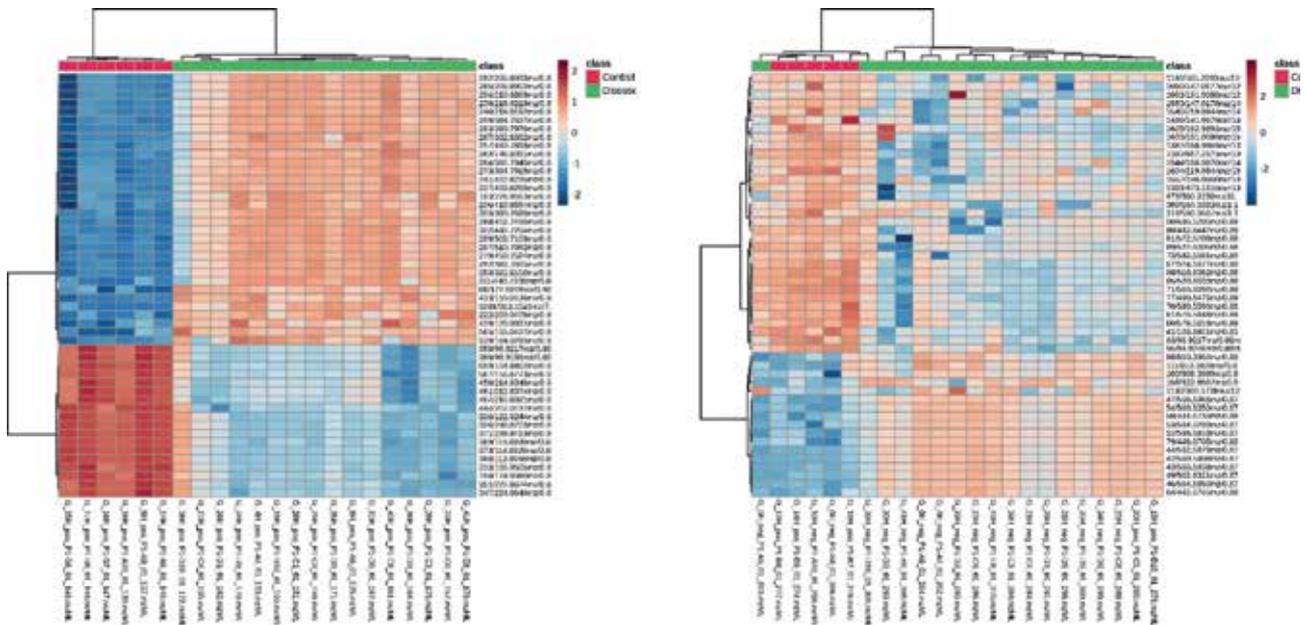


Рис. 9. Тепловая карта с иерархической кластеризацией для сокращенного массива данных, построенная по 50 наиболее значимым переменным в PLS-DA в положительной и отрицательной ионизации соответственно. Построены для нормализованных данных. Кластеризации: расстояние Пирсона; метод Уорда

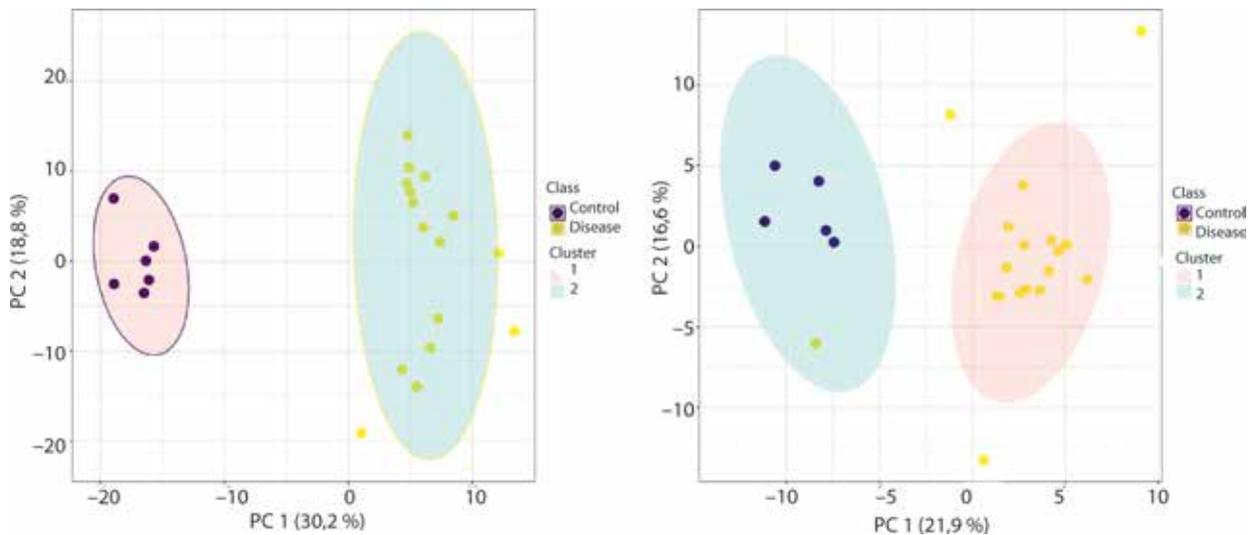


Рис. 10. Кластеризация экспериментальных образцов в сокращенной выборке с использованием метода k-средних в положительной и отрицательной ионизации соответственно

теома и метаболома, сопровождающих различные патологические состояния. Одной из сфер клинической медицины, где новые технологии занимают место в авангарде, является поиск биомаркеров заболеваний. Биомаркеры необходимы для ранней диагностики заболеваний, стратификации пациентов, прогнозирования успеха от проводимого лечения. Все это приближает современную медицину к персонализированному подходу, а значит, повышению эффективности лечения.

Проблема своевременного выявления рака яичников ввиду отсутствия эффективных методов диагностики диктует необходимость поиска надежных биомаркеров [13, 17]. Несмотря на интенсивную научную деятельность, прогресс в поиске биомаркеров гинекологических заболеваний развивается неравномерно — часть из предложенных биомаркеров показывают низкую чувствительность, другие оказываются недостаточно специфичными, третьи проигрывают современным методам диагностики в цене или простоте использования. Одновременно были получены обнадеживающие результаты в отношении ряда потенциальных биомаркеров, которые, разумеется, требуют подтверждения в крупных клинических исследованиях.

В ходе текущего этапа исследования собраны образцы 44 пациенток с доброкачественными ($n = 20$), злокачественными ($n = 21$) и пограничными ($n = 3$) новообразованиями яичников.

Метаболомное исследование плазмы крови пациентов с различными типами новообразований было проведено с использованием различных техник хроматомасс-спектрометрии — газовой хроматомасс-спектрометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографией в сочетании с масс-спектрометрией высокого разрешения. Применяли нецелевой и полуметодический подходы для получения массивов данных метаболитов. Аннотирование пиков при нецелевом подходе проводили с использованием базы данных HMDB. Полуметодический подход заключался в определении метаболитов, для которых в лаборатории создана внутренняя база данных метаболитов

на основании хроматографических (RT) и масс-спектрометрических (m/z , фрагментные масс-спектры при ионизации электронами) характеристик. Базы данных KEGG Pathway Database и RaMP-DB были использованы для выявления метаболических путей, задействованных при патологии. Выявленные различия в группах с ДОЯ и ЗНО связаны с изменением метаболизма аминокислот, пурина и пиримидина, что согласуется с результатами работ [19, 20, 21, 22]. В результате высокоэффективного жидкостного хроматографо-масс-спектрометрического анализа в режиме обращенной хроматографии дополнительно выявлены метаболиты, которые характеризуются небольшими временами удерживания, близкими к мертвому времени. Идентификация данных метаболитов, предположительно относящихся к полярным липидам, может дополнить метаболомный профиль новообразований яичников. Необходимо проводить дальнейшие метаболомные исследования рака яичников на более широкой выборке и с привлечением методов липидомики в дополнение к метаболомике [23, 24].

Метаболомика представляет собой перспективную область исследования в онкологии, обладающую потенциалом для идентификации специфических биомаркеров, улучшения диагностики и прогнозирования заболеваний. Несмотря на ее важность, текущие знания о метаболитах в биожидкостях остаются недостаточными и существует необходимость в дополнительных исследованиях для лучшего понимания их роли в метаболической активности рака. Интерпретация данных требует глубокого анализа в контексте клинических и биологических процессов, а также многоцентровых исследований для получения более объемных и надежных данных. Успешная интеграция метаболомики в клиническую практику требует дальнейших усилий в области научных изысканий и усовершенствования методов анализа, чтобы она могла реально повлиять на диагностику и лечение рака.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность) / Под ред. А. Д. Каприна [и др.] – М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024. – илл. — 276 с. ISBN 978-5-85502-298-8
2. Тюляндина А. С., Коломиец Л. А., Морхов К. Ю., и соавт. Практические рекомендации по лекарственному лечению рака яичников, первичного рака брюшины и рака маточных труб. Практические рекомендации RUSSCO, часть 1. Злокачественные опухоли, 2023 (том 13), #3s2, стр. 201–215 Yang H, Lau WB, Lau B et al. A mass spectrometric insight into the origins of benign gynecological disorders. *Mass Spectrom Rev*. 2017;36(3):450-470.
3. Онкогинекология: Национальное руководство / Г. Р. Абузарова, И. И. Алентов, С. В. Анпилов [и др.]; Под редакцией А.Д. Каприна, Л.А. Ашрафяна, И.С. Стилиди. — Москва: Общество с ограниченной ответственностью Издательская группа «ГЭОТАР-Медиа», 2019. — 384 с. — (Национальные руководства). — ISBN 978-5-9704-5329-2. — DOI 10.33029/9704-5329-2-ONR-2019-1-384. — EDN RCNLIG.
4. Menon U., Gentry-Maharaj A., Burnell M., et al. Ovarian cancer population screening and mortality after long-term follow-up in the UK Collaborative Trial of Ovarian Cancer Screening (UKCTOCS): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2021 Jun 5;397(10290):2182-2193. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00731-5. Epub 2021 May 12. PMID: 33991479; PMCID: PMC8192829.
5. Юрова М. В., Франкевич В. Е., Павлович С. В., и др. Диагностика серозного рака яичников высокой степени злокачественности Ia–Ic стадии по липидному профилю сыворотки крови // Гинекология. — 2021. — Т. 23. — № 4. — С. 335—340. doi: 10.26442/20795696.2021.4.200911
6. Ahn H. S. et al. Convergence of plasma metabolomics and proteomics analysis to discover signatures of high-grade serous ovarian cancer // *Cancers*. — 2020. — Т. 12. — № 11. — С. 3447. doi:10.3390/cancers12113447
7. Wang X. et al. Serum metabolite signatures of epithelial ovarian cancer based on targeted metabolomics // *Clinica Chimica Acta*. — 2021. — Т. 518. — С. 59—69. doi.org/10.1016/j.cca.2021.03.012
8. Hishinuma E. et al. Wide-targeted metabolome analysis identifies potential biomarkers for prognosis prediction of epithelial ovarian cancer // *Toxins*. — 2021. — Т. 13. — №. 7. — С. 461. doi.org/10.3390/toxins13070461

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Джарбаева Аминат Джарбаевна, младший научный сотрудник НИЛ репродуктивных технологий Института перинатологии и педиатрии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; врач акушер-гинеколог Клиники материнства и детства ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, e-mail: dzharbaeva2011@mail.ru, ORCID: 0000-0002-2817-2977

Dzharbaeva Aminat D., Junior Researcher at SRL of Reproductive Technologies, Institute of Perinatology and Pediatrics Almazov National Medical Research Centre; Obstetrician-Gynecologist at the Mother and Child Clinic Almazov National Medical Research Centre, 2 Akkuratova street, St. Petersburg, 197341, Russia, e-mail: dzharbaeva2011@mail.ru, ORCID: 0000-0002-2817-2977

Мурашко Екатерина Александровна, кандидат химических наук, заведующий НИЛ метаболомного и метаболического профилирования НЦМУ «Центр персонализированной медицины» ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; ассистент кафедры математики и естественнонаучных дисциплин Института медицинского образования ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, e-mail: kate.murashko@xmail.ru, ORCID: 0000-0002-8723-8622

Murashko Ekaterina A., Ph.D, head of Laboratory of metabolomic and metabolic profiling, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre; assistant at the Department of Mathematics and Natural Sciences, Institute of Medical Education, Almazov National Medical Research Centre, 2 Akkuratova street, St. Petersburg, 197341, Russia, e-mail: kate.murashko@xmail.ru, ORCID: 0000-0002-8723-8622

Кессених Елизавета Дмитриевна, научный сотрудник НИЛ метаболомного и метаболического профилирования НЦМУ «Центр персонализированной медицины» ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, e-mail: e.kessenikh@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8700-9590

Kessenikh Elizaveta D., researcher, Laboratory of metabolomic and metabolic profiling, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre, 2 Akkuratova street, St. Petersburg, 197341, Russia, e-mail: e.kessenikh@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8700-9590

Кривошеина Мария Игоревна, лаборант-исследователь НИЛ метаболомного и метаболического профилирования НЦМУ «Центр персонализированной медицины» ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России, 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, e-mail: krivosheina_maria@mail.ru, ORCID: 0009-0005-8107-7572

Krivosheina Maria I., Laboratory of metabolomic and metabolic profiling, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre, 2 Akkuratova street, St. Petersburg, 197341, Russia, e-mail: krivosheina_maria@mail.ru, ORCID: 0009-0005-8107-7572

Мигунова Маргарита Александровна, младший научный сотрудник лаборатории регенеративной биомедицины ФГБУН «Институт цитологии РАН», 194064, Россия, Санкт-Петербург, Тихорецкий пр. д.4, e-mail: chizhmig@gmail.com, ORCID: 0009-0007-6572-7058

Migunova Margarita A., junior researcher, L Laboratory of regenerative biomedicine, Institute of Cytology Russian Academy of Science, 4 Tikhoretsky Avenue, 194064 Saint Petersburg, Russia, email: chizhmig@gmail.com, ORCID: 0009-0007-6572-7058

Говоров Игорь Евгеньевич, доктор философии по медицине (PhD, Karolinska Institutet), кандидат медицинских наук, заведующий НИЛ оперативной гинекологии ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; врач акушер-гинеколог Клиники материнства и детства ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, д. 2, e-mail: govorov.igor.med@gmail.com, ORCID: 0000-0003-1809-0270

Govorov Igor E., PhD in Medicine, CMS, Head of the Research Laboratory of Operative Gynecology, Almazov National Medical Research Centre; Obstetrician-Gynecologist at the Mother and Child Clinic Almazov National Medical Research Centre, 2 Akkuratova street, St. Petersburg, 197341, Russia, e-mail: govorov.igor.med@gmail.com, ORCID: 0000-0003-1809-0270

Комличенко Эдуард Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, заместитель главного врача по онкологии Университетской клиники ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России, 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, д. 2, e-mail: komlichenko_ev@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0002-3790-0446

Komlichenko Eduard V., MD, PhD, Deputy Chief Physician for Oncology of the University Clinic, Almazov National Medical Research Centre, 2 Akkuratova street, St. Petersburg, 197341, Russia, e-mail: komlichenko_ev@almazovcentre.ru, ORCID: 0000-0002-3790-0446

Ульрих Елена Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая НИЛ онкогинекологии, НЦМУ «Центр персонализированной медицины», ФГБУ «НМИЦ им. В. А. Алмазова» Минздрава России; ведущий научный сотрудник, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н. Н. Петрова» Минздрава России; профессор кафедры онкологии, ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава России, 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, д. 2, e-mail: elenaulrikh@gmail.com, ORCID: 0000-0002-2701-8812.

Ulrikh Elena A., MD, PhD, Head of the Research Laboratory of Oncogynecology, World-Class Research Centre for Personalized Medicine, Almazov National Medical Research Centre; Leading Researcher; chief researcher Federal State Budgetary Institution «N. N. Petrov National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of Russia; chief researcher, professor of the department of oncology, Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov»; 197341, Russia, St. Petersburg, Akkuratova St., 2, e-mail: elenaulrikh@gmail.com, ORCID: 0000-0002-2701-8812.

Ситкин Станислав Игоревич, кандидат медицинских наук, заведующий научно-исследовательской группой эпигенетики и метагеномики Института перинатологии и педиатрии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Минздрава России; 197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Акkuratова, 2; доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней, гастроэнтерологии и диетологии им. С. М. Рысса ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Минздрава России; Россия, Санкт-Петербург, ул. Кировная, 41,; e-mail: drsitkin@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0331-0963>

Sitkin Stanislav I., MD, PhD, Head of the Epigenetics & Metagenomics Research Group, Institute of Perinatology and Pediatrics, Almazov National Medical Research Centre; Associate Professor, Chair of Propaedeutics of Internal Diseases, Gastroenterology and Dietetics named after S.M. Ryss; e-mail: drsitkin@gmail.com; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0331-0963>