Биомедицинская химия, 2017 том 63, вып. 5, с. 369-372.

ОМИКС-ТЕХНОЛОГИИ

©Мошковский

ОМИКС-БИОМАРКЕРЫ И РАННЯЯ ДИАГНОСТИКА

***С.А. Мошковский*[1,2]**

[1]Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича,
119121, Москва, ул. Погодинская, 10; эл. почта: smosh@mail.ru
[2]Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва

Одной из важных целей омикс-технологий, в том числе протеомики, транскриптомики, в медицине является разработка биомаркеров для диагностики распространенных неинфекционных заболеваний. В статье обсуждаются диагностические параметры, которые ограничивают использование таких маркеров, в том числе, диагностическая ценность положительного результата, и условия, при каких они могли бы применяться для ранней диагностики заболеваний. С использованием примеров из протеомики отмечается, что омикс-технологии, исследующие продукты генной экспрессии, находят себе место в поиске прогностических и предиктивных маркеров для подразделения пациентов с поставленным диагнозом на группы для оптимизации терапии.

Ключевые слова: протеомика, транскриптомика, метаболомика, биомаркер, диагностическая ценность положительного результата, персонализированная медицина

DOI: 10.18097/PBMC20176305369

ВВЕДЕНИЕ

Одна из главных целей постгеномных, или омиксных технологий в медицине – разработка биомаркеров для диагностики заболеваний [1]. Под постгеномными технологиями обычно подразумевают технологии высокопроизводительного измерения продуктов генной экспрессии – транскриптомику и протеомику. Косвенными продуктами генной экспрессии являются метаболиты, и их анализ – метаболомику – также часто рассматривают в качестве постгеномного метода, хотя, строго говоря, в составе метаболитов человеческого организма немало ксенобиотиков, которые к работе генома прямого отношения не имеют [2].

Технологии идентификации биомолекул различных классов в высокопроизводительном режиме стремительно прогрессируют. Совершенствуются и усложняются вычислительные методы обработки “больших данных”. Тем не менее, технологический прогресс не отменяет баланса омиксных методов и подготовительной клинической работы. Идея этой статьи, приуроченной к конференции по клиническим постгеномным технологиям, возникла в результате рецензирования проектов, поданных отечественными научными коллективами по теме поиска биомаркеров сложными мультиплексными методами. Существенная часть исследований использует в качестве групп сравнения пациентов с заболеваниями, например, с интересующей авторов злокачественной опухолью, а в качестве контроля – испытуемых без опухолей, по сути, практически здоровых людей или людей с хроническими патологиями, не имеющими отношения к интересующему заболеванию. Иными словами, с помощью омикс-технологий разрабатывают тесты для скрининга, или ранней диагностики, чтобы отличить здоровых от больных, или впервые обнаружить заболевание на его ранней стадии [3].

1. ЧТО НУЖНО, ЧТОБЫ ТЕСТ МОГ ИСПОЛЬЗОВАТЬСЯ ДЛЯ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ

Не пересказывая учебники, напомним читателю о широко используемых параметрах диагностических тестов – точности, чувствительности и специфичности. Важным параметром, характеризующим новый тест, также служит диагностическая ценность положительного результата (positive predictive value, PPV) [4]. Она представляет собой частное числа истинно положительных результатов диагностики и суммы всех положительных результатов, включая истинные и ложные (формула 1):

$$PPV = \frac{TP}{TP + FP} \quad (1),$$

где PPV – диагностическая ценность положительного результата, TP – число истинно положительных результатов, а FP – число ложноположительных результатов диагностики.

Представим ситуацию, когда гипотетический омикс-тест (этим термином для краткости обозначим тест, разработанный при помощи геномных и постгеномных технологий) показал выдающиеся результаты и отличает пациентов от условно здоровых людей с чувствительностью и специфичностью 98%. Предположим, что речь идет о распространённой злокачественной опухоли с частотой возникновения в популяции 100 случаев на 100000 населения, как для рака предстательной железы в странах-лидерах по заболеваемости этим типом рака [5]. Подвергнем скринингу эти 100 тыс. человек. При чувствительности 98% из тех 100, что действительно больны, 98 будет правильно диагностировано, лишь 2 окажутся пропущенными. При специфичности 98% из 99900 здоровых людей, которых мы обследуем, диагноз “рак” будет ошибочно поставлен 2%, то есть, 1998 из числа обследуемых. Легко рассчитать,

что PPV в этом случае будет составлять всего 4,6%, а почти 2 тыс. человек получат моральный ущерб, и им будет назначено дорогостоящее и, возможно, травматичное обследование. Заметим, что 98%-ные чувствительность и специфичность – параметры, обычно в исследованиях не достижимые.

Напрашивающийся вывод – чтобы омикс-тест был пригоден для ранней диагностики заболевания, требуется выполнение нескольких условий (рисунок). Во-первых, в случае 100% специфичности PPV автоматически достигнет 100% (формула 1). Это возможно в том случае, когда биомаркер или их сочетание присутствует исключительно в патологии, а в норме быть не может, по качественному принципу “есть или нет”. Примером могут служить соматические мутации-водители, возникающие в геноме злокачественной опухоли [6]. Вероятность встретить их в герминативном геноме не имеющего злокачественной опухоли взрослого человека исчезающе мала. Если омикс-тесты используют для выявления рака, выявления мутантных последовательностей ДНК, РНК и белка в любом биологическом материале, у этих тестов есть шанс на использование для ранней диагностики. Другим примером веществ, выявление которых претендует на 100% диагностическую специфичность, служат онкометаболиты, синтезирующиеся исключительно в опухолевых клетках по причине модифицирующих активность ферментов мутаций [7]. Не стоит забывать, что при абсолютной специфичности тест должен сохранять приемлемую диагностическую чувствительность. Отметим, что к сегодняшнему дню до уровня выхода в практику дошли только тесты, основанные на мутантной опухолевой ДНК.

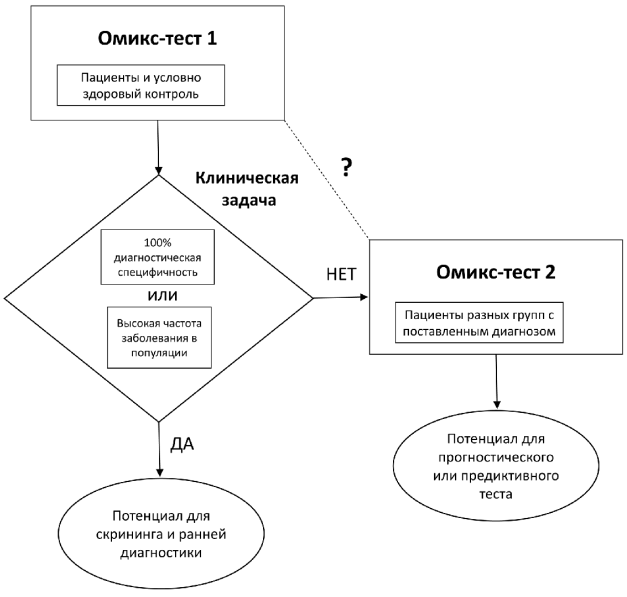

Рисунок. Выбор стратегии клинического исследования для разработки омикс-теста. Представлены условия, которые должны быть выполнены для того, чтобы тест мог рассматриваться для ранней диагностики. Клинические потребности управляют дизайном исследования – в зависимости от задачи следует выбирать разные когорты обследуемых.

Например, с некоторыми оговорками скрининговым тестом для колоректального рака может быть признан разрешённый к использованию в США тест для анализа кала Cologuard [8]. Этот тест мультиплексный и к тому же сочетает использование различных методов детекции разных молекулярных событий. В кале производят количественное измерение ДНК с мутацией в гене KRAS, оценку аномального метилирования генов NDRG4, BMP3 и β-актина, а также иммунный анализ на гемоглобин.

Если специфичность теста не абсолютна, он всё же может использоваться для скрининга при существенно более высокой заболеваемости, чем таковая для злокачественных опухолей. Однако, высокие цифры заболеваемости характерны для инфекционных болезней, принципы диагностики которых обычно хорошо определены и отличаются от омиксных.

В клинике используется ряд биомаркеров для диагностики злокачественных опухолей, которые иногда интерпретируются как скрининговые. Например, в таком качестве выступали различные формы простатаспецифичного антигена (PSA), измеряемые в плазме, различные другие “раковые антигены” (CA), обнаруженные в 80-е годы прошлого века иммунологическими методами. Однако, диагностические характеристики этих молекул таковы, что сегодня они не прошли бы регулирующие инстанции для большинства показаний, по которым их использовали ранее. Медицинские сообщества отреагировали на это, и, в подавляющем большинстве случаев, “старые” онкомаркеры уже не показаны для ранней диагностики. Например, PSA не рекомендуется для широкого скрининга на рак простаты [9]. Ведущую роль в ранней диагностике большинства опухолей выполняют методы визуализации и другие, зачастую очень простые подходы, вроде самообследования при раке молочной железы [10].

2. ОМИКС-ТЕСТЫ – ОТ РАННЕЙ ДИАГНОСТИКИ К ОЦЕНКЕ РИСКОВ

В большинстве случаев панели постгеномных биомаркеров дают результаты, которые не позволяют использовать их для ранней диагностики заболеваний. Однако, в медицине есть большая сфера, в которой их разработка и использование таких биомаркеров нужно и оправданно. Это прогностические и предиктивные биомаркеры [11], используемые уже при наличии заболевания. Применение таких маркеров необходимо в персонализированной медицине, одной из задач которой является разделить пациентов с одним диагнозом на группы, к которым рационально применить разные виды профилактики и лечения [12]. Несмотря на сходство приведённых терминов по смыслу, они приняты для того, чтобы различать биомаркеры, предсказывающие тяжесть заболевания и вероятность рецидива (прогностические), и биомаркеры, предсказывающие ответа на терапию (предиктивные).

Показательна история первых протеомных биомаркеров. В начале 2000-х годов для классификации образцов плазмы крови предложили использовать профили, полученные при помощи прямой MALDI-TOF-масс-спектрометрии [13]. Вначале такие профили, которые характеризовались скромными аналитическими возможностями масс-спектрометрии того времени, сравнивали как раз образцы от здоровых людей и от пациентов со злокачественными опухолями [14]. С клинической точки зрения такой анализ не прошёл. Подход справедливо критиковался за работу в формате штрих-кода, без идентификации компонентов диагностического профиля, а когда они всё же были идентифицированы, то оказались, в основном, высококопийными белками воспалительного ответа. Тем не менее, разработки перенеслись как раз в сторону прогностического теста. Находки, сделанные при помощи MALDI-TOF-профилей, легли в основу разрешенного к использованию теста OVA1, в котором сочетались воспалительные белки и ранее используемый маркер CA-125 [15]. Такой тест ни в коем случае не рассматривается как скрининговый, а предсказывает риск злокачественности опухоли у пациенток с ранее выявленными, например, в ходе ультразвукового обследования массами в малом тазу. Разумеется, речи о том, чтобы разделять при помощи этого теста больных и здоровых людей, нет. OVA1 помогает определить объём оперативного вмешательства и стратегию лечения. Этот тест не стал незаменимым на рынке из-за открытия уже биохимическими, а не протеомными методами конкурентного биомаркера – белка HE4 [16]. Он в сочетании с CA-125 выполняет аналогичные тесту OVA1 функции в составе дуплексного теста с оригинальным алгоритмом оценки риска ROMA [17], доступным и для российских пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Число проектов по созданию диагностических омикс-тестов, выполняемых в нашей стране, как представляется, растёт. Ими нередко управляют специалисты, отвечающие за сложную технологию, то есть физики, химики или биологи, которым помогают врачи. К сожалению, в ряде таких проектов, несмотря на огромные усилия, связанные с технической частью работы, современные приборы и реагенты, бывает некорректно и поверхностно поставлена клиническая задача, которая может оказаться заведомо невыполнимой. В этой статье к спецвыпуску, где я описываю некоторые эпизоды из развития научного направления, в котором участвовал [14, 18, 19], хочется призвать сообщество, занимающееся постгеномными технологиями, быть в эффективном контакте с просвещёнными клиницистами для постановки правильных, современных медицинских задач. Диагностические параметры омикс-тестов, обсуждаемые в этой работе применительно к злокачественным опухолям, относятся к любым неинфекционным заболеваниям, к которым имеет смысл применять молекулярные тесты. Во многих случаях, сегодняшние задачи омикс-технологий, в особенности, протеомики и метаболомики, связаны с разделением пациентов с уже поставленным диагнозом на группы для более корректного управления заболеванием, оценки рисков и назначения эффективной терапии.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 17-15-01229).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Yoo B.C., Kim K.H., Woo S.M., Myung J.K.* (2017) J. Proteomics, Epub ahead of print. DOI: 10.1016/j.jprot.2017.08.010.
2. *Лохов П.Г., Лисица А.В., Арчаков А.И.* (2017) Биомед. химия, **63**, 232-240. DOI: 10.18097/PBMC20176303232.
3. *Ribeiro I.P., Barroso L., Marques F., Melo J.B., Carreira I.M.* (2016) Mol. Cytogenet., **9**, 85.
4. *Shen H., Che K., Cong L., Dong W., Zhang T., Liu Q., Du J.* (2017) Oncotarget, **8**, 36812-36823.
5. *Ferlay J., Soerjomataram I., Dikshit R., Eser S., Mathers C., Rebelo M., Parkin D.M., Forman D., Bray F.* (2015) Int. J. Cancer, **136**, E359-E386.
6. *Lawrence M.S., Stojanov P., Mermel C.H., Robinson J.T., Garraway L.A., Golub T.R., Meyerson M., Gabriel S.B., Lander E.S., Getz G.* (2014) Nature, **505**, 495-501.
7. *Sciacovelli M., Frezza C.* (2016) Free Radic. Biol. Med., **100**, 175-181.
8. *Imperiale T.F., Ransohoff D.F., Itzkowitz S.H., Levin T.R., Lavin P., Lidgard G.P., Ahlquist D.A., Berger B.M.* (2014) N. Engl. J. Med., **370**, 1287-1297.
9. *Heidenreich A., Bastian P.J., Bellmunt J., Bolla M., Joniau S., van der Kwast T., Mason M., Matveev V., Wiegel T., Zattoni F., Mottet N.* (2014) Eur. Urol., **65**, 124-137.
10. *Godavarty A., Rodriguez S., Jung Y.J., Gonzalez S.* (2015) Breast Cancer (Dove Med Press), **7**, 193-209.
11. *Oldenhuis C.N., Oosting S.F., Gietema J.A., de Vries E.G.* (2008) Eur. J. Cancer, **44**, 946-953.
12. *Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П., Баклаушев В.П., Арчаков А.И., Мошковский С.А.* (2012) Вестн. Росс. акад. мед. наук, **67**, 4-12.
13. *Karpova M.A., Moshkovskii S.A., Toropygin I.Y., Archakov A.I.* (2010) J. Proteomics, **73**, 537-551.
14. *Moshkovskii S.A., Serebryakova M.V., Kuteykin-Teplyakov K.B., Tikhonova O.V., Goufman E.I., Zgoda V.G., Taranets I.N., Makarov O.V., Archakov A.I.* (2005) Proteomics, **5**, 3790-3797.
15. *Li D., Chan D.W.* (2014) Expert Rev. Proteomics, **11**, 135-136.
16. *Li J., Dowdy S., Tipton T., Podratz K., Lu W.G., Xie X., Jiang S.W.* (2009) Expert Rev. Mol. Diagn., **9**, 555-566.
17. *Van Gorp T., Cadron I., Despierre E., Daemen A., Leunen K., Amant F., Timmerman D., De Moor B., Vergote I.* (2011) Br. J. Cancer, **104**, 863-870.
18. *Moshkovskii S.A., Vlasova M.A., Pyatnitskiy M.A., Tikhonova O.V., Safarova M.R., Makarov O.V., Archakov A.I.* (2007) Proteomics Clin. Appl., **1**, 107-117.
19. *Moshkovskii S.A., Sokolova E.E., Brattseva E.V., Karpova M.A., Pyatnitskiy M.A., Kubanova A.A., Archakov A.I.* (2011) Proteomics Clin. Appl., **5**, 432-439.

Поступила: 31. 08. 2017.
Принята к печати: 19. 09. 2017.

OMICS BIOMARKERS AND EARLY DIAGNOSTICS

S.A. Moshkovskii[1,2]

[1]Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; e-mail: smosh@mail.ru
[2]Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

One of main goals for omics sciences, such as transcriptomics, proteomics and metabolomics, in medicine is biomarker discovery for diagnostics of common non-infectious diseases. The opinion paper discusses diagnostic parameters, which limit the use of the biomarkers, as well as a positive predictive value, and conditions providing possible application of the biomarkers for early diagnostics. Using some examples from proteomics, it is stated that omics technologies, which measure gene expression products, are more often used to discover prognostic and predictive biomarkers. These biomarkers help to classify already diagnosed patients to groups with different disease management.

Key words: proteomics, transcriptomics, metabolomics, biomarker, positive predictive value, personalized medicine