

DOI: <https://doi.org/10.17650/1726-9784-2023-22-3-43-50>

Изменение концентрации метаболитов в моче как малоинвазивный маркер серозной аденокарциномы яичников

О.Н. Гуськова¹, И.А. Аллилуев¹, Е.В. Вереникина¹, В.В. Половодова¹, М.А. Рогозин¹, Т.Ю. Мягкова¹, М.Л. Адамян¹, О.Е. Женило¹, Н.М. Абдуллаева¹, М.Р. Цандекова², Н.Д. Ушакова¹, Д.С. Кутилин¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Минздрава России; Россия, 344037 Ростов-на-Дону, ул. 14-я линия, 63;

²ГБУЗ «Клинический онкологический диспансер № 1» Минздрава Краснодарского края; Россия, 350040 Краснодар, ул. Димитрова, 146

Контакты: Денис Сергеевич Кутилин k.denees@yandex.ru

Введение. Приоритетной задачей онкогинекологии считается выявление рака яичников (РЯ) на максимально ранних стадиях, так как показатели 5-летней выживаемости значительно снижаются при прогрессировании заболевания. В настоящее время существует огромная потребность в более эффективных диагностических методах и подходах. В последние годы в прецизионной медицине все больше внимания уделяется жидкостной биопсии, поскольку она является минимально инвазивной и может повторяться многократно, что позволяет проводить мониторинг заболевания в режиме реального времени.

Цель исследования – изучение метаболомного профиля мочи пациентов с серозной карциномой яичников.

Материалы и методы. В работе для выполнения метаболомного анализа были отобраны 50 проб мочи пациенток с диагнозом «серозная карцинома яичников» и 20 проб условно здоровых индивидуумов. Для осаждения белков 300 мкл мочи смешивали с 600 мкл раствора ацетонитрила LC-MS (Merck, Германия) и метанола LC-MS (Merck, Германия) (соотношение 3:1). Хроматографическое разделение метаболитов проводили на хроматографе Vanquish Flex UHPLC System (Thermo Scientific, Германия). Хроматограф был сопряжен с масс-спектрометром Orbitrap Exploris 480 (Thermo Scientific, Германия), имеющим электроспрейный источник ионизации. Хроматографическое разделение проводили на колонке Hypersil GOLD™ C18 (1,9 мкм, 10 × 2,1 мм), используя следующие элюенты: А – 0,1 % муравьиная кислота, В – ацетонитрил, содержащий 0,1 % муравьиной кислоты.

Результаты. В ходе исследования методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием суммарно идентифицировано 417 метаболитов различных классов. Показано, что в моче у пациенток с РЯ 14 метаболитов (кинуренин, фенилаланил-валин, лизофосфатидилхолин (18:3), лизофосфатидилхолин (18:2), аланил-лейцин, лизофосфатидилхолин (20:4), L-фенилаланин, фосфатидилинозитол (34:1), 5-метокситриптофан, 2-гидроксимиристиновая кислота, 3-оксоолеовая кислота, лизофосфатидилхолин (14:0), индолакриловая кислота, лизофосфатидилсерин (20:4)) имеют значимо более высокую концентрацию по сравнению с условно здоровыми индивидуумами. Содержание 12 соединений, наоборот, понижено (L-бета-аспартил-L-фенилаланин, миристиновая кислота, деканоилкарнитин, аспартил-глицин, малонилкарнитин, 3-гидроксипутирилкарнитин, 3-метилксантин, 2,6-диметилгептаноилкарнитин, 3-оксододекановая кислота, N-ацетилпролин, L-октаноилкарнитин, каприлоилглицин). Это свидетельствует о значительном метаболомном дисбалансе у пациенток с РЯ.

Заключение. Проведенное исследование метаболомного профиля мочи методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием показало, что у пациенток с серозной карциномой яичников наблюдается дисбаланс в содержании некоторых жирных кислот и их производных, ацилкарнитинов, фосфолипидов, аминокислот и их производных, а также некоторых производных азотистых оснований. При этом 26 метаболитов с аномальной концентрацией в моче могут иметь определенный потенциал в качестве неинвазивных биомаркеров РЯ у женщин, относящихся к группам высокого риска.

Ключевые слова: метаболомный профиль, моча, высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-спектрометрическим детектированием, серозная аденокарцинома яичника

Для цитирования: Гуськова О.Н., Аллилуев И.А., Вереникина Е.В. и др. Изменение концентрации метаболитов в моче как малоинвазивный маркер серозной аденокарциномы яичников. Российский биотерапевтический журнал 2023;22(3):43–50. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-3-43-50

Changes in urine metabolite concentration as a minimally invasive marker of ovarian serous adenocarcinoma

Olga N. Guskova¹, Ilya A. Alliluyev¹, Ekaterina V. Verenikina¹, Veronica V. Polovodova¹, Ark A. Rogozin¹, Tatiana Yu. Myagkova¹, Mary L. Adamyan¹, Oksana E. Zhenilo¹, Nina M. Abdullaeva¹, Marietta R. Tsandekova², Denis S. Kutilin¹

¹National Medical Research Oncology Center, Ministry of Health of Russia; 63 St. 14th Liniya, Rostov-on-Don 344037, Russia;

²Clinical Oncological Dispensary No. 1; 146 Dimitrova St., Krasnodar 350040, Russia

Contacts: Denis Sergeevich Kutilin k.denees@yandex.ru

Introduction. Detection of ovarian cancer (OC) at the earliest possible stages is a priority for gynecological oncology, since 5-year survival rates decrease significantly with the progression of the disease. Currently, there is a huge need for more effective diagnostic methods and approaches. In recent years, fluid biopsy has received increasing attention in precision medicine because it is minimally invasive and can be repeated many times, allowing for real-time disease monitoring.

Aim. Study of the urine metabolomic profile of patients with ovarian carcinoma.

Materials and methods. To perform metabolomic analysis, 50 urine samples from patients with a diagnosis of serous ovarian carcinoma and 20 samples from apparently healthy individuals were selected. For protein precipitation, 300 mkl of urine was mixed with 600 mkl of a solution of acetonitrile LC-MS (Merck, Germany) and methanol LC-MS (Merck, Germany) (3:1 ratio). Chromatographic separation of metabolites was performed on a Vanquish Flex UHPLC System chromatograph (Thermo Scientific, Germany). The chromatograph was coupled to an Orbitrap Exploris 480 mass spectrometer (Thermo Scientific, Germany) equipped with an electrospray ionization source. Chromatographic separation was carried out on a Hypersil GOLD™ C18 column (1.9 mkm, 10 × 2.1 mm) using the following eluents: A, 0.1 % formic acid; B, acetonitrile containing 0.1 % formic acid.

Results. A total of 417 metabolites of various classes were identified by HPLC-MS. It was shown that in the urine of patients with OC 14 metabolites (kynurenine, phenylalanyl-valine, lysophosphatidylcholine (18:3), lysophosphatidylcholine (18:2), alanyl-leucine, lysophosphatidylcholine (20:4), L-phenylalanine, phosphatidylinositol (34:1), 5-methoxytryptophan, 2-hydroxymyristic acid, 3-oxocholic acid, lysophosphatidylcholine (14:0), indoleacrylic acid, lysophosphatidylserine (20:4)) had a significantly higher concentration compared to apparently healthy individuals. The content of 12 compounds, on the contrary, was reduced (L-beta-aspartyl-L-phenylalanine, myristic acid, decanoylcarnitine, aspartyl-glycine, malonylcarnitine, 3-hydroxybutyrylcarnitine, 3-methylxanthine, 2,6-dimethylheptanoylcarnitine, 3-oxododecanoic acid, N-acetylproline, L-octanoylcarnitine, capryloylglycine). This indicates a significant metabolomic imbalance in patients with OC.

Conclusion. The metabolomic profile study of urine by UHPLC-MS showed that in patients with serous ovarian carcinoma there is an imbalance in the content of certain fatty acids and their derivatives, acylcarnitines, phospholipids, amino acids and their derivatives, as well as some derivatives of nitrogenous bases. At the same time, 26 metabolites with abnormal concentrations in urine may have some potential as non-invasive biomarkers of OC in women belonging to high-risk groups.

Keywords: metabolomic profile, urine, high performance liquid chromatography with mass spectrometric detection, serous ovarian adenocarcinoma

For citation: Guskova O.N., Alliluyev I.A., Verenikina E.V. et al. Changes in urine metabolite concentration as a minimally invasive marker of ovarian serous adenocarcinoma. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal* = Russian Journal of Biotherapy 2023;22(3):43–50. DOI: 10.17650/1726-9784-2023-22-3-43-50

Введение

Рак яичников (РЯ) — одно из наиболее агрессивных гинекологических злокачественных новообразований, практически не имеющее клинических проявлений до поздних стадий, когда обычно проявляются неспецифические симптомы, такие как вздутие живота, боли в области таза или живота или нарушения менструального цикла [1].

Несмотря на большую распространенность и высокую летальность, до сих пор не существует эффективных методов ранней диагностики РЯ. Именно поэтому у большинства пациенток диагноз устанавливается на III–IV стадиях, в результате чего пяти-

летняя выживаемость не превышает 30 %. В то же время уровень выживаемости пациенток, диагноз которым был установлен на I стадии заболевания, составляет более 90 % [2]. Показатели рецидива у пациенток с РЯ очень высоки. По данным литературы, у 85 % пациенток с таким заболеванием, которые достигли полной ремиссии после первой линии терапии, возникает рецидив [1].

Одной из задач современной онкогинекологии является поиск эффективных биомаркеров — объективно измеряемых соединений, изменение уровня которых может быть использовано для ранней диагностики и прогнозирования успешности планируемого

лечения. Потенциальный биомаркер должен быть максимально чувствителен и специфичен, а его измерение — минимально инвазивным [3]. Среди онкомаркеров, применяемых для диагностики РЯ, используется определение уровней СА-125 (cancer antigen 125) и HE4 (human epididymis protein 4). Определение уровня HE4 является более чувствительным по сравнению с СА-125 в дифференциальной диагностике рака и доброкачественных новообразований яичников, а также при дифференциальной диагностике эпителиального рака и метастазов. Изменения уровня HE4 происходят на 2–3 месяца раньше, чем СА-125. Однако чувствительность и специфичность данных тестов зачастую недостаточны для выявления заболевания на ранней стадии [4].

Неотъемлемой частью скрининга РЯ является трансвагинальное ультразвуковое исследование (УЗИ), позволяющее точно определить аномалии объема и морфологии яичников, но менее надежное при дифференциации доброкачественных опухолей яичников от злокачественных. При этом УЗИ — метод субъективный, и его результаты в значительной степени зависят от опыта, навыков и умений специалиста [5].

Прижизненное патологоанатомическое исследование является решающим методом в установлении диагноза РЯ и выборе тактики лечения, а также в диагностике возможного рецидива. Однако этот метод анализа опухоли имеет определенные ограничения. Получение биологического материала для выполнения гистологического исследования как наиболее точного метода морфологической верификации РЯ требует проведения хирургического вмешательства [6].

По этой причине в последние годы в прецизионной медицине все больше внимания уделяется жидкостной биопсии, поскольку она является минимально инвазивной и может повторяться несколько раз, что облегчает мониторинг заболевания в режиме реального времени. Несмотря на то, что большинство исследований сосредоточены на идентификации биомаркеров в крови, простота получения такого биологического образца, как моча, предполагает, что этот подход может стать многообещающим для скрининга пациентов на РЯ [7]. По сравнению с кровью моча является абсолютно неинвазивным типом образца и доступна в больших количествах. Кроме того, моча более стабильна по сравнению с плазмой или сывороткой крови в отношении преданалитических процедур обработки [8].

Для поиска потенциальных биомаркеров используют различные подходы, среди них особую популярность в последнее время приобрели так называемые омик-технологии: геномика, транскриптомика, протеомика и метаболомика. С их помощью можно проводить ненаправленный анализ максимально полного спектра соответствующих соединений — нуклеиновых

кислот, белков, низкомолекулярных метаболитов. Метаболомика занимает среди них особое место по ряду причин. Во-первых, она занимается изучением метаболома, т. е. всей совокупности промежуточных или конечных продуктов обмена. Считается, что именно метаболиты наиболее точно отражают изменения фенотипа, поскольку их состав и концентрации непрерывно меняются с колоссальной скоростью. Таким образом, профиль метаболитов является уникальным биохимическим «отпечатком», отражающим протекающие патологические процессы в организме. Уточнение онкометаболитов и модифицированных биохимических путей может расширить пул онкомаркеров для скрининга РЯ [9].

В связи с вышеизложенным **целью исследования** стало изучение метаболомного профиля мочи пациенток с серозной карциномой яичников относительно условно здоровых индивидуумов.

Материалы и методы

Для выполнения метаболомного анализа были отобраны 50 проб мочи пациенток с диагнозом «серозная карцинома яичников» (T1-3cN0-1M0, G1-3) и 20 проб условно здоровых индивидуумов (без выявленных онкологических и гинекологических заболеваний). В каждом случае было получено добровольное информированное согласие на проведение исследований. Критерии исключения из исследования: мета-/синхронный рак, мутация в генах *BRCA1/2*, коморбидная патология (сахарный диабет, острый или хронический воспалительный процесс, и/или инфекционное заболевание), беременность, возраст старше 65 лет.

Для анализа собирали первую утреннюю мочу (среднюю порцию). Не позднее, чем через 25 мин после забора, 6,5 мл мочи центрифугировали при комнатной температуре в течение 10 мин при 1600 g, затем проводили центрифугирование в течение 10 мин при 16 000 g при температуре 4°C; 6 мл полученного образца разделяли на 3 аликвоты по 2 мл, которые помещали в пластиковые криопробирки. Хранение образцов до проведения метаболомного анализа осуществляли при температуре –80°C. Пробы аннотировали, указывая стадию заболевания, возраст больной и т. д. Используемые для анализа пробы замораживали или размораживали не более одного раза.

Для осаждения белков 300 мкл мочи смешивали с 600 мкл смеси ацетонитрила LC-MS (Merck, Германия) и метанола LC-MS (Merck, Германия) (3:1 по объему). Затем образец перемешивали с использованием вортекса и инкубировали в течение 12 ч при температуре –20°C, и осаждали белки на центрифуге MiniSpin plus (Eppendorf, Германия) в течение 15 мин при 16 000 g при 4°C. Супернатант переносили

в чистые пластиковые пробирки (типа Эппендорф), пробу упаривали на вакуумном испарителе SpeedVac (Eppendorf, Германия). Полученный сухой осадок растворяли в смеси ацетонитрила LC-MS (Merck, Германия) и воды (1:3) с 0,1 % муравьиной кислотой (Merck, Германия), затем пробы центрифугировали в течение 10 мин при 16 000 g при 20 °C и полученный супернатант использовали для хромато-масс-спектрометрического анализа.

Хроматографическое разделение метаболитов проводили на хроматографе Vanquish Flex UHPLC System (Thermo Scientific, Германия). Хроматограф был сопряжен с масс-спектрометром Orbitrap Exploris 480 (Thermo Scientific, Германия), имеющим электроспрейный источник ионизации. Хроматографическое разделение проводили на колонке Hypersil GOLD™ C18 (1,9 мкм, 10 × 2,1 мм), используя следующие элюенты: А – 0,1 % муравьиная кислота, В – ацетонитрил, содержащий 0,1 % муравьиной кислоты. Температура автосэмплера составляла 4 °C. Использовали следующий градиент элюции: 0–1 мин – 5 % элюента А, 1–5 мин – линейный градиент элюента В с 5 до 25 %, 5–7 мин – 25–55 % элюента В, 7–13 мин – 55–95 % элюента В, 13–14 мин – 95 % элюента В, 0,5 мин – смена элюирующего состава до 5 % элюента В, 1 мин – 5 % элюента В. Температуру колонки поддерживали равной 40 °C. Скорость потока подвижной фазы составляла 250 мкл/мин. Масс-спектры получали в диапазоне отношения массы к заряду, равному 90–900. Для идентификации метаболитов использовали МС/МС-данные пулированного образца мочи. Анализ данных проводили с использованием программного обеспечения Compound Discoverer Software (Thermo Fisher Scientific, США).

Результаты

В ходе проведенного метаболомного профилирования было проанализировано 50 образцов мочи пациенток с РЯ отделения онкогинекологии НМИЦ онкологии Минздрава России и 20 проб условно здоровых индивидуумов.

После контроля качества и предварительной обработки для дальнейшего анализа использовали 417 метаболитов. Путем статистического анализа были выявлены m/z-метаболиты, интенсивность которых в масс-спектрах статистически значимо изменяется. Для данных метаболитов были определены P-value и FoldChange (кратность отличий концентраций в моче пациентов относительно условно здоровых людей) (см. таблицу).

Общей чертой опухолевых клеток является их способность перепрограммировать свой метаболизм для поддержания производства АТФ и макромолекул, низкомолекулярных метаболитов, необходимых для роста, деления и выживания клеток. Согласно результатам исследования метаболом мочи пациенток с серозной карциномой яичников существенно отличался от образцов мочи условно здоровых индивидуумов. Показано, что у пациенток с РЯ концентрация 14 метаболитов (кинуренин, фенилаланил-валин, лизофосфатидилхолин (18:3), лизофосфатидилхолин (18:2), аланил-лейцин, лизофосфатидилхолин (20:4), L-фенилаланин, фосфатидилинозитол (34:1), 5-метокситриптофан, 2-гидроксимиристиновая кислота, 3-оксохоловая кислота, лизофосфатидилхолин (14:0), индолакриловая кислота, лизофосфатидилсерин (20:4)) в моче была значительно выше по сравнению с условно здоровыми индивидуумами. Концентрация 12 соединений (L-бета-аспартил-L-фенилаланин, миристиновая кислота,

Изменение метаболома мочи пациенток с серозной карциномой яичников относительно условно здоровых индивидуумов (12 соединений имели значимо более низкую концентрацию по сравнению с условно здоровыми индивидуумами, содержание 14 соединений повышалось ($p < 0,01$))

Change in the urine metabolome of serous ovarian carcinoma patients relative to apparently healthy individuals (12 compounds had a significantly lower concentration compared with apparently healthy individuals, the content of 14 compounds increased ($p < 0,01$))

Соединение Metabolite	m/z*	Кратность отличий (пациенты/здоровые) Fold Change (patients/healthy)	P-value
Кинуренин Kynurenine	209,09	5,49	$1,37 \times 10^{-5}$
Фенилаланил-валин Phenylalanyl-valine	265,15	1,55	$0,1 \times 10^{-3}$
L-бета-аспартил-L-фенилаланин L-beta-aspartyl-L-phenylalanine	281,11	0,39	$2,78 \times 10^{-9}$
Миристиновая кислота Myristic acid	231,25	0,28	$6,64 \times 10^{-7}$
Лизофосфатидилхолин (18:3) Lysophosphatidylcholine (18:3)	518,32	3,10	$1,78 \times 10^{-9}$

Окончание таблицы
End of table

Соединение Metabolite	m/z*	Кратность отличий (пациенты/здоровые) Fold Change (patients/healthy)	P-value
Лизофосфатидилхолин (18:2) Lysophosphatidylcholine (18:2)	521,33	7,05	$5,91 \times 10^{-12}$
Деканоилкарнитин Decanoylcarnitine	316,24	0,23	$2,29 \times 10^{-9}$
Аспартил-глицин Aspartyl-glycine	208,09	0,28	$1,91 \times 10^{-4}$
Малонилкарнитин Malonylcarnitine	230,10	0,72	$0,10 \times 10^{-3}$
Аланил-лейцин Alanyl-leucine	185,12	1,39	0,09
3-гидроксибутирилкарнитин 3-hydroxybutyryl carnitine	332,33	0,71	0,02
3-метилксантин 3-methylxanthine	167,05	0,61	0,01
Лизофосфатидилхолин (20:4) Lysophosphatidylcholine (20:4)	544,34	3,53	$6,64 \times 10^{-12}$
L-фенилаланин L-phenylalanine	166,08	1,44	$2,16 \times 10^{-5}$
Фосфатидилинозитол (34:1) Фосфатидилинозитол (34:1)	430,77	7,09	$1,45 \times 10^{-10}$
2,6-диметилгептаноилкарнитин 2,6-dimethylheptanoylcarnitine	304,24	0,27	$1,92 \times 10^{-8}$
5-метокситриптофан 5-methoxytryptophan	217,09	1,44	$6,64 \times 10^{-10}$
3-оксододекановая кислота 3-oxododecanoic acid	237,1475	0,65	0,01
2-гидроксимиристиновая кислота 2-hydroxymyristic acid	267,1943	1,29	0,09
3-оксохоловая кислота 3-oxocholic acid	407,2759	1,56	0,01
Лизофосфатидилхолин (14:0) Lysophosphatidylcholine (14:0)	468,3085	1,56	0,03
Индолакриловая кислота Indolacrylic acid	171,0637	1,36	0,03
N-ацетилпролин N-acetylproline	140,0699	0,52	$8,25 \times 10^{-4}$
L-октаноилкарнитин L-octanoylcarnitine	288,2153	0,06	$2,29 \times 10^{-15}$
Каприлоилглицин Capryloyl glycine	202,1437	0,74	0,01
Лизофосфатидилсерин (20:4) Lysophosphatidylserine (20:4)	526,3303	15,98	$1,19 \times 10^{-11}$

Примечание. m/z — соотношение массы и заряда выявленных ионов.
Note. m/z — mass and charge ratio of detected ions.

деканойлкарнитин, аспартил-глицин, малонилкарнитин, 3-гидроксibuтирилкарнитин, 3-метилксантин, 2,6-диметилгептаноилкарнитин, 3-оксодекановая кислота, N-ацетилпролин, L-октаноилкарнитин, каприлоилглицин), наоборот, была понижена.

По данным, представленным в таблице, концентрации в моче большинства производных жирных кислот — 3-гидроксibuтирилкарнитина (в 1,4 раза, $p < 0,05$), 2,6-диметилгептаноилкарнитина (в 3,7 раза, $p < 0,005$), миристиновой кислоты (в 3,6 раза, $p < 0,005$), L-октаноилкарнитина (в 16,7 раза, $p < 0,0001$), малонилкарнитина (в 1,4 раза, $p < 0,05$), деканойлкарнитина (в 4,3 раза, $p < 0,005$) — были снижены у пациенток с опухолью яичников по сравнению с контрольной группой (условно здоровые индивидуумы). В настоящее время широко известно, что раковые клетки демонстрируют значительную перестройку в своем метаболизме липидов и жирных кислот. Существуют убедительные доказательства того, что при некоторых типах рака утилизация жирных кислот увеличивается, в то время как при других этот путь подавляется. Однако изменения не ограничиваются только внутренними клеточными процессами, такими как синтез мембран или роль внутриклеточных вторичных мессенджеров, а также распространяются на ремоделирование всего микроокружения опухоли посредством паракринных сигнальных механизмов [10].

Согласно данным нашего исследования у пациенток с РЯ по сравнению с контрольной группой происходило увеличение концентрации лизофосфатидилсерина (20:4) в 16 раз ($p < 0,0001$, см. таблицу), что возможно, дополнительно указывает на нарушения иммунной системы. По данным W. Chang и соавт. в микроокружении опухоли содержание лизофосфатидилсерина значительно изменяется на поверхности опухолевых клеток или микровезикул, происходящих из опухолевых клеток, которые обладают иммунодепрессивными свойствами и способствуют росту опухоли и метастазированию [11].

Лизофосфолипиды секретируются различными типами клеток, в том числе раковыми клетками. Данные химические соединения играют важную роль в развитии, активации и регуляции иммунной системы [12]. Концентрация большинства фосфолипидов в настоящем исследовании возрастала у пациенток с опухолью яичников по сравнению с контрольной группой. Изменения состава и содержания фосфолипидов и лизофосфолипидов ранее были показаны при раке предстательной железы и могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров [13].

Концентрация индолакриловой кислоты была повышена в 1,4 раза ($p < 0,05$, см. табл. 1) у пациенток с опухолями яичников по сравнению с контрольной группой. Изменение содержания индолакриловой

кислоты может способствовать развитию противовоспалительных реакций [14].

В нашем исследовании повышение концентрации индолакриловой кислоты сопровождалось ростом содержания кинуренина в моче пациенток в 5,5 раза ($p < 0,0001$, см. таблицу). Кинурениновый путь метаболизма триптофана интенсифицируется в организме онкологических пациентов, его продукты имеют проонкогенное и иммуносупрессивное действия [15]. Изменение метаболизма другой ароматической аминокислоты — фенилаланина — и его производных также связано с воспалением и иммунной активацией. По полученным нами результатам концентрация L-фенилаланина возрастала в моче пациенток в 1,4 раза ($p < 0,0001$, см. таблицу). Ранее G. Neurauter и соавт. показали, что концентрация фенилаланина в сыворотке крови у больных карциномой яичников коррелирует с концентрацией маркеров иммунной активации и развитием оксидативного стресса [16].

Следует отметить, что настоящее исследование имеет свои ограничения. Оно выполнено на малой выборке пациенток, разработанная методика требует проведения валидации, а полученные данные являются предварительными. Тем не менее у пациенток с РЯ выявлен метаболический дисбаланс жирных кислот и их производных (миристиновой кислоты, 2-гидроксимиристиновой кислоты и 3-оксодекановой кислоты), ацилкарнитинов (деканойлкарнитина, малонилкарнитина, 3-гидроксibuтирилкарнитина, 2,6-диметилгептаноилкарнитина и L-октаноилкарнитина), фосфолипидов (лизофосфатидилхолина (18:3), лизофосфатидилхолина (18:2), лизофосфатидилхолина (20:4), фосфатидилинозитола, лизофосфатидилхолина (14:0) и лизофосфатидилсерина), аминокислот и их производных (кинуренина, фенилаланил-валина, аланил-лейцина, L-фенилаланина, 5-метокситриптофана, индолакриловой кислоты, N-ацетилпролина, каприлоилглицина, аспартил-глицина и аспартил-фенилаланина), производных азотистых оснований (3-метилксантина), что, очевидно, отражает изменения в метаболизме опухолевой ткани, а также изменения метаболизма в ответ на появление и развитие опухоли. Обнаруженные метаболиты с аномальной концентрацией могут иметь определенный потенциал в качестве биомаркеров РЯ.

Заключение

Современная клиническая онкогинекология испытывает потребность в эффективных биомаркерах, изменение уровней которых может служить доказательством возникновения и прогрессирования злокачественного процесса. Тестирование биомаркеров в моче может стать неинвазивным методом раннего выявления РЯ, а также обеспечить длительный мониторинг за состоянием этих пациентов. В данном

исследовании изучен метаболомный профиль мочи при серозной карциноме яичников методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, идентифицировано 417 соединений различных классов. Показано, что у пациенток с РЯ наблюдается метабо-

ломный дисбаланс жирных кислот и их производных, ацилкарнитинов, фосфолипидов, аминокислот и их производных, а также производных азотистых оснований. При этом 26 метаболитов с аномальной концентрацией в моче могут иметь определенный потенциал в качестве неинвазивных биомаркеров РЯ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Цандекова М.Р., Порханова Н.В., Кутилин Д.С. Молекулярная характеристика серозной аденокарциномы яичника: значение для диагностики и лечения. Современные проблемы науки и образования 2020;1:55. DOI: 10.17513/spno.29428 Tsandekova M.R., Porkhanova N.V., Kutilin D.S. Molecular characteristics of serous ovarian adenocarcinoma: significance for diagnosis and treatment. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern problems of science and education 2020;1:55 (In Russ.). DOI: 10.17513/spno.29428
2. Paoletti X., Lewsley L.A., Daniele G. et al. Assessment of progression-free survival as a surrogate end point of overall survival in first-line treatment of ovarian cancer: a systematic review and meta-analysis. JAMA network open 2020;3(1):e1918939. DOI: 10.1001/jamanetworkopen.2019.18939
3. Цандекова М.Р., Порханова Н.В., Кит О.И. и др. Малоинвазивная молекулярная диагностика серозной аденокарциномы яичника высокой и низкой степени злокачественности. Онкогинекология 2021;4:35–50. DOI: 10.52313/22278710_2021_4_35 Tsandekova M.R., Porkhanova N.V., Kit O.I. et al. Minimally invasive molecular diagnostics of high and low grade serous ovarian adenocarcinoma. Onkoginekologiya = Oncogynecology 2021;4:35–50 (In Russ.). DOI: 10.52313/22278710_2021_4_35
4. Quan Q., Liao Q., Yin W. et al. Serum HE4 and CA125 combined to predict and monitor recurrence of type II endometrial carcinoma. Sci Rep 2021;11(1):1–8. DOI: 10.1038/s41598-021-01263-w
5. Van Nagell Jr J.R., Hoff J.T. Transvaginal ultrasonography in ovarian cancer screening: current perspectives. Int J Womens Health 2013;6:25–33. DOI: 10.2147/IJWH.S38347
6. Lalwani N., Prasad S.R., Vikram R. et al. Histologic, molecular, and cytogenetic features of ovarian cancers: implications for diagnosis and treatment. Radiographics 2011;31(3):625–46. DOI: 10.1148/rg.313105066
7. Feeney L., Harley I.J., McCluggage W.G. et al. Liquid biopsy in ovarian cancer: Catching the silent killer before it strikes. World J Clin Oncol 2020;11(11):868–89. DOI: 10.5306/wjco.v11.i11.868
8. Petri A.L., Simonsen A.H., Yip T.T. et al. Three new potential ovarian cancer biomarkers detected in human urine with equalizer bead technology. Acta Obstet Gynec Scand 2009;88(1):18–26. DOI: 10.1080/00016340802443830
9. Dinges S.S., Hohm A., Vandergrift L.A. et al. Cancer metabolomic markers in urine: Evidence, techniques and recommendations. Nat Rev Urol 2019;16(6):339–62. DOI: 10.1038/s41585-019-0185-3
10. Koundouros N., Poulogiannis G. Reprogramming of fatty acid metabolism in cancer. Br J Cancer 2020;122(1):4–22. DOI: 10.1038/s41416-019-0650-z
11. Chang W., Fa H., Xiao D., Wang J. Targeting phosphatidylserine for Cancer therapy: prospects and challenges. Theranostics 2020;10(20):9214–29. DOI: 10.7150/thno.45125
12. Rolin J., Maghazachi A.A. Effects of lysophospholipids on tumor microenvironment. Cancer Microenviron 2011;4(3):393–403. DOI: 10.1007/s12307-011-0088-1
13. Li X., Nakayama K., Goto T. et al. High level of phosphatidylcholines / lysophosphatidylcholine ratio in urine is associated with prostate cancer. Cancer Sci 2021;112(10):4292–302. DOI: 10.1111/cas.15093
14. Wlodarska M., Luo C., Kolde R. et al. Indoleacrylic acid produced by commensal peptostreptococcus species suppresses inflammation. Cell host & microbe 2017;22(1):25–37. DOI: 10.1016/j.chom.2017.06.007
15. Venkateswaran N., Conacci-Sorrell M. Kynurenine: An oncometabolite in colon cancer. Cell Stress 2020;4(1):24–6. DOI: 10.15698/cst2020.01.210
16. Neurauter G., Grahmann A.V., Klieber M. et al. Serum phenylalanine concentrations in patients with ovarian carcinoma correlate with concentrations of immune activation markers and of isoprostane-8. Cancer Lett 2008;272(1):141–7. DOI: 10.1016/j.canlet.2008.07.002

Вклад авторов

О.Н. Гуськова: сбор биологического материала, проведение исследования методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием;
И.А. Аллилуев: дизайн исследования, разработка протоколов ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, необходимых для осуществления исследования, проведение первичной пробоподготовки;
Е.В. Вереникина: сбор биологического материала, редактирование текста статьи, анализ баз данных и литературных источников;
В.В. Половодова: проведение первичной пробоподготовки биологических образцов, сбор клинической информации о пациентах, проведение исследования методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием;
М.А. Рогозин: сбор биологического материала, проведение первичной пробоподготовки для высокоэффективной жидкостной хроматографии;
Т.Ю. Мягкова: сбор биологического материала и его криоконсервация;
М.Л. Адамян: сбор биологического материала, анализ результатов исследования;
О.Е. Женило: сбор биологического материала, редактирование текста статьи;
Н.М. Абдуллаева: сбор биологического материала, проведение первичной пробоподготовки биологических образцов;

М.Р. Цандекова: математическая обработка данных, полученных методом ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием;

Н.Д. Ушакова: сбор клинической информации о пациентах, редактирование текста статьи;

Д.С. Кутилин: разработка дизайна исследования, анализ данных, написание текста статьи и подготовка рукописи для подачи в печать.

Author's contribution

O.N. Guskova: collection of biological material, conducting a study by UHPLC-MS;

I.A. Alliluev: study design, development of UHPLC-MS protocols necessary for the study, carrying out initial testing;

E.V. Verenikina: collection of biological material, editing the text of the article, analysis of databases and literary sources;

V.V. Polovodova: carrying out primary sample preparation of biological samples, collection of clinical information about patients, conducting a study by UHPLC-MS;

M.A. Rogozin: collection of biological material; carrying out primary sample preparation for UHPLC;

T.Yu. Myagkova: collection of biological material and its cryopreservation;

M.L. Adamyan: collection of biological material; analysis of the research results;

O.E. Zhenilo: collection of biological material, editing the text of the article;

N.M. Abdullaeva: collection of biological material, conducting primary sample preparation of biological samples;

M.R. Tsandekova: mathematical processing of data obtained by UHPLC-MS;

N.D. Ushakova: collection of clinical information about patients, editing the text of the article;

D.S. Kutilin: development of study design, data analysis, writing a text article and preparing a manuscript for submission to print.

ORCID авторов /ORCID of authors

О.Н. Гуськова / O.N. Guskova: <https://orcid.org/0000-0001-8440-4341>

И.А. Аллилуев / I.A. Alliluev: <https://orcid.org/0000-0001-7654-0650>

Е.В. Вереникина / E.V. Verenikina: <https://orcid.org/0000-0002-1084-5176>

В.В. Половодова / V.V. Polovodova: <https://orcid.org/0009-0009-5739-1122>

М.А. Рогозин / M.A. Rogozin: <https://orcid.org/0009-0000-1242-3674>

Т.Ю. Мягкова / T.Yu. Myagkova: <https://orcid.org/0000-0002-9577-7896>

М.Л. Адамян / M.L. Adamyan: <https://orcid.org/0000-0003-4188-3746>

О.Е. Женило / O.E. Zhenilo: <https://orcid.org/0000-0002-9833-8530>

Н.М. Абдуллаева / N.M. Abdullaeva: <https://orcid.org/0000-0002-7364-1963>

М.Р. Цандекова / M.R. Tsandekova: <https://orcid.org/0009-0009-3046-5371>

Н.Д. Ушакова / N.D. Ushakova: <https://orcid.org/0000-0002-0068-0881>

Д.С. Кутилин / D.S. Kutilin: <https://orcid.org/0000-0002-8942-3733>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics. All patients signed informed consent to participate in the study.

Источник финансирования. Исследование проведено без спонсорской поддержки. Исследование выполнено на оборудовании ЦКП ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>.

Funding. The study was performed without external funding. The study was performed on the equipment of the Center for Collective Use FSBI "NMRC of Oncology" of the Ministry of Health of Russia, <https://ckp-rf.ru/catalog/ckp/3554742/>.

Статья поступила: 19.04.2023. Принята в печать: 12.07.2023

Article received: 19.04.2023. Accepted for publication: 12.07.2023