

ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛОМА ПЛАЗМЫ КРОВИ ПАЦИЕНТОВ С СЕРОЗНОЙ КАРЦИНОМОЙ ЯИЧНИКОВ

Гуськова О.Н.¹, Аллилueв И.А.^{1,2}, Вереникина Е.В.¹, Меньшенина А.П.¹,
Черкасова А.А.¹, Арджа А.Ю.¹, Абдуллаева Н.М.¹

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону;

²ФГАОУ ВО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, e-mail: alliluev@sfedu.ru

Злокачественные новообразования яичников занимают лидирующие позиции в структуре заболеваемости и смертности среди онкологических заболеваний у женщин. В связи с отсутствием роста выживаемости, а также наличием четкой тенденции к омоложению проблема злокачественных опухолей женской репродуктивной системы является актуальной. В настоящее время остро стоит вопрос поиска онкомаркера или комбинации онкомаркеров с высокой чувствительностью, специфичностью и прогностической значимостью, определяемых в биологической жидкости. В связи с этим цель исследования заключалась в выявлении и идентификации в плазме крови пациенток с серозной карциномой яичников диагностически значимых для этого заболевания изменений метаболитов. В ходе проведенного пилотного метаболомного профилирования методом УВЭЖХ-МС было проанализировано 30 образцов плазмы крови пациентов с серозной карциномой яичников отделения онкогинекологии ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава РФ Ростова-на-Дону и 15 образцов плазмы крови здоровых добровольцев. Суммарно методом УВЭЖХ-МС идентифицировано 1049 метаболитов различных классов. Показано, что у пациентов с серозной карциномой яичников 8 метаболитов имели значимо более низкую концентрацию по сравнению со здоровыми волонтерами, содержание 19 соединений повышалось. Выявленные изменения метаболома могут предоставить информацию для преодоления пробелов в понимании механизмов, участвующих в прогрессировании серозной карциномы яичников, и стать основой для совершенствования подходов диагностики.

Ключевые слова: онкометаболит, серозная карцинома яичников, онкомаркер.

FEATURES OF THE BLOOD PLASMA METABOLOM IN PATIENTS WITH SEROSE OVARIAN CARCINOMA

Guskova O.N.¹, Alliluyev I.A.^{1,2}, Verenikina E.V.¹, Menchenina A.P.¹,
Cherkasova A.A.¹, Ardga A.U.¹, Abdullaeva N.M.¹

¹National Medical Research Oncology Center, Rostov-on-Don;

²Southern Federal University, Rostov-on-Don, e-mail: alliluev@sfedu.ru

Malignant neoplasms of the ovaries occupy a leading position in the structure of morbidity and mortality among oncological diseases in women. Due to the lack of growth in survival, as well as the presence of a clear trend towards rejuvenation, the problem of malignant tumors of the female reproductive system is relevant. Currently, there is an acute issue of searching for a tumor marker or a combination of tumor markers with high sensitivity, specificity, and prognostic significance, determined in a biological fluid. In this regard, the aim of the study was to identify and identify changes in metabolites that are diagnostically significant for this disease in the blood plasma of patients with serous ovarian carcinoma. In the course of the pilot metabolomic profiling using the UHPLC-MS method, 30 blood plasma samples from patients with serous ovarian carcinoma of the oncogynecology department of the National Medical Research Center of Oncology of the Ministry of Health of the Russian Federation of Rostov-on-Don and 15 blood plasma samples from healthy volunteers were analyzed. A total of 1049 metabolites of various classes were identified by UHPLC-MS. It was shown that in patients with ovarian serous carcinoma, 8 metabolites had a significantly lower concentration compared to healthy volunteers, while the content of 19 compounds increased. The identified changes in the metabolome may provide information to overcome gaps in our understanding of the mechanisms involved in the progression of ovarian serous carcinoma and become the basis for improving diagnostic approaches.

Keywords: Oncometabolite, serous ovarian carcinoma, tumor marker.

Рак яичников (РЯ) занимает 7-е место по уровню заболеваемости и 8-е место по уровню смертности среди онкологических заболеваний женского населения в мире. Ежегодно регистрируется 225 500 новых случаев РЯ и 140 200 случаев смерти от данного онкологического заболевания [1]. В структуре онкологических заболеваний среди женского населения Российской Федерации РЯ занимает 9-е место, что соответствовало 4,2% в 2021 году. Показатель заболеваемости РЯ в России в 2021 году составил 17,05 на 100 тыс. женского населения. Прирост показателя заболеваемости за предшествующие 10 лет составил 2,9% [2, с. 4–16].

Ранняя диагностика и последующее своевременно оказанное лечение являются одной из самых сложных и при этом чрезвычайно актуальной задачей российской и мировой онкогинекологии. РЯ включает в себя гетерогенные группы заболеваний с несколькими различными подтипами. Среди них серозная карцинома представляется наиболее распространенным подтипом и составляет более 45% случаев злокачественных опухолей яичников. Выявление однородных групп в общей популяции является одним из возможных подходов к установлению причин, которые служат препятствием для разработки методов диагностики и лечения [3].

Диагностика РЯ включает в себя проведение клинического осмотра, применение лучевых методов визуализации и использование иммунологических методов определения уровня опухолевых маркеров. УЗИ является ведущим методом диагностики новообразований в малом тазу. Этот метод обладает высокой разрешающей способностью и позволяет установить локализацию, размеры и характер новообразования. Информативность УЗИ составляет 87%. Наряду с УЗИ одним из ведущих методов лучевой диагностики является рентгеновская компьютерная и магнитно-резонансная томография [4].

Как правило, рекомендуется выполнить исследование уровня опухолевого антигена (СА-125) и секреторного белка 4 эпидидимиса человека (HE-4). Однако F. Jacob et al. показали, что чувствительность диагностики при совместном применении двух тестов составляет 80%, а специфичность – 85,4% [5].

Прижизненное патологоанатомическое исследование является решающим методом в установлении диагноза заболевания, выборе тактики лечения, а также диагностике возможного рецидива. Однако получение биологического материала для выполнения гистологического исследования как наиболее точного метода морфологической верификации часто требует проведения хирургического вмешательства (лапароскопии, лапаротомии, биопсии) [6].

Негативный прогноз течения заболевания и, как следствие, низкий уровень выживаемости стимулируют интерес к использованию современных методических подходов

молекулярной биологии. Современные биомедицинские исследования характеризуются использованием технологических платформ, описывающих свойства биологического объекта на уровне генома, транскриптома, протеома и метаболома. Метаболом представляет собой совокупность низкомолекулярных метаболитов (<1500 Да) биологического образца, являясь уникальным биохимическим «отпечатком», отражающим протекающие в организме биохимические процессы [7].

Метаболомика позволяет выявить единичные специфические молекулы или их комбинации, которые в дальнейшем можно применять в диагностике заболевания. Для диагностики онкологических заболеваний такими соединениями являются онкометаболиты – соединения, концентрация которых заметно увеличивается в опухолях или биологических жидкостях. Ключевой особенностью данной группы веществ является существование четкого механизма, связывающего специфические характеристики опухоли с накоплением метаболита и его участием в развитии злокачественных новообразований. Онкометаболиты играют ключевую роль в неопластической трансформации, опухолевом метаболизме, агрессивности и терапевтической резистентности [7].

Таким образом, крайне актуальным в настоящее время является поиск онкомаркера или комбинации онкомаркеров с высокой чувствительностью, специфичностью и прогностической значимостью, определяемых в легкодоступном биологическом материале (плазме, сыворотке крови или моче). В связи с этим целью исследования заключалась в выявлении и идентификации в плазме крови пациенток с серозной карциномой яичников диагностически значимых для этого заболевания изменений метаболитов.

Материалы и методы исследования

Для выполнения метаболомного анализа были отобраны 30 проб плазмы крови пациентов с гистологически верифицированным РЯ (серозная карцинома яичников), средний возраст составил $46,1 \pm 7,6$ года, и 15 проб здоровых добровольцев со средним возрастом $45,1 \pm 7,9$ года. В каждом случае было получено добровольное информированное согласие. Мета/синхронный рак, мутация в *BRCA1/2*, коморбидная патология, беременность, возраст более 65 лет являлись критериями исключения из исследования.

Кровь отбирали в 8:00 натощак в пробирки с K_2EDTA в качестве антикоагулянта (BD Vacutainer, США). Не позднее чем через 20 мин после выполнения процедуры забора кровь центрифугировали при комнатной температуре в течение 10 мин 1800 g. Для удаления остаточных форменных элементов крови проводили дополнительное центрифугирование 10 мин 16000 g при 4°C. Полученную плазму крови аликвотировали по 1 мл в криопробирки. Хранение образцов до проведения анализа осуществляли при температуре $-75^\circ C$.

Для проведения депротеинизации 300 мкл плазмы крови смешивали с 900 мкл ацетонитрила LC-MS (Merck, Германия) и метанола LC-MS (Merck, Германия) в соотношении 3:1. Далее перемешивали с использованием вортекса и инкубировали 12 ч при температуре – 20°C. Затем проводили центрифугирование при 16000 g 4°C (5430R, Eppendorf, Германия) в течение 15 мин. Надосадочную жидкость переносили в пластиковые пробирки объемом 1,5 мл типа эппендорф и выпаривали их содержимое с применением SpeedVac (Eppendorf, Германия). Сухой осадок растворяли в смеси ацетонитрила LC-MS (Merck, Германия) и воды 1:3 с 0,1%-ной муравьиной кислотой (Merck, Германия).

Хроматографическое разделение проводили на VanquishFlex UHPLC System (ThermoScientific, Германия). Масс-спектрометрический анализ выполняли на Orbitrap Exploris 480 (ThermoScientific, Германия).

Хроматографическое разделение проводили на колонке Hypersil GOLD™ C18 (1,9 мкм, 10x2,1 мм), используя следующие элюенты: А – 0,1%-ная муравьиная кислота, В – ацетонитрил, содержащий 0,1% муравьиной кислоты. Температура автосэмплера составляла 4°C. Использовали следующий градиент элюции: 0–1 мин – 5% В, 1–5 мин – линейный градиент В с 5 до 25%, 5–7 мин – 25–55% В, 7–13 мин – 55–95% В, 13–14 мин – 95% В, 0,5 мин – смена состава до 5% В, 1 мин – 5% В. Температура колонки поддерживалась равной 40°C. Поток элюентов составлял 250 мкл/мин. Масс-спектры получали в диапазоне отношения массы к заряду 80–800. Для идентификации метаболитов использовали MS/MS данные пулированного образца плазмы крови. Анализ данных проводили с использованием программного обеспечения Compound Discoverer Software (ThermoFisher Scientific, США). Статистический анализ данных проводили с использованием Prism 10 - GraphPad (США).

Результаты исследования и их обсуждение

Известно, что изменения уровня метаболитов способствуют прогрессии опухоли путем реализации различных механизмов, таких как гликолиз, снижение окислительного фосфорилирования и повышенное образование промежуточных продуктов обмена веществ [7]. Обнаружение механизма метаболической трансформации может дать возможность диагностировать опухоль или даже остановить ее прогрессирование путем блокирования модифицированных биохимических путей.

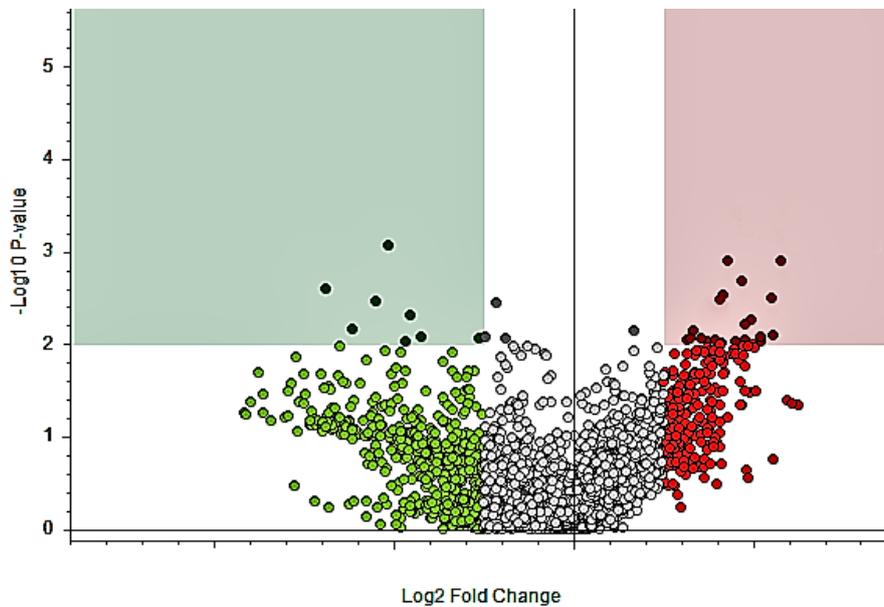
В настоящем исследовании показана возможность идентификации различий метаболома плазмы крови пациентов с серозной карциномой яичников и здоровых волонтеров с помощью метода УВЭЖХ-МС. Суммарно было идентифицировано 1049 метаболитов различных классов. Показано, что у пациентов с серозной карциномой яичников 8 метаболитов имели значимо более низкую концентрацию по сравнению с условно здоровыми добровольцами, содержание 19 соединений, наоборот, повышалось. Были выявлены

изменения в метаболизме липидов (эйкозодиеновая кислота, лизофосфатидилхолин (20:4), лизофосфатидилхолин (18:2), лизофосфатидилхолин (15:0), лизофосфатидилхолин (20:3), лизофосфатидилэтаноламин (18:3), лизофосфатидилхолин (22:5/0:0), фосфатидилхолин (18:2/0:0), фосфатидилхолин (14:0/22:4), 3-гидроксиоктаноилкарнитин, L-октаноилкарнитин, 2-гидроксилауроилкарнитин, O-деcanoил-L-карнитин); желчных кислот (3-гидрокси-5-холеновая кислота, гликурдезоксихолевая кислота); аминокислот и их производных (L-гомоцистеин, L-триптофан, 3-индолпропионовая кислота, кинуренин), L-тироксин, L-фенилаланин, гиппуровая кислота, глутамил-треонин, L-гомоцитруллин, b-аминоизомасляная кислота); азотистых оснований и их производных (гипоксантин, 3-метилуридин) (табл., рис.).

Изменение метаболома плазмы крови пациентов с серозной карциномой яичников
относительно здоровых добровольцев

Соединение	Log10P-value	Log2FoldChange
эйкозодиеновая кислота	2,6882	0,9325
лизофосфатидилхолин (20:4)	2,0162	1,0369
лизофосфатидилхолин (18:2)	2,5034	1,1065
лизофосфатидилхолин (15:0)	2,9066	0,8542
лизофосфатидилхолин (20:3)	2,4866	0,8107
лизофосфатидилэтаноламин (18:3)	2,0498	0,7846
лизофосфатидилхолин (22:5/0:0)	2,0498	0,628
фосфатидилхолин (18:2/0:0)	2,0666	-0,5291
фосфатидилхолин (14:0/22:4)	2,0666	0,6454
3-гидроксиоктаноилкарнитин	2,0834	-0,851
3-гидрокси-5-холеновая кислота	2,1002	1,1065
гликурдезоксихолевая кислота	2,033	-0,938
L-гомоцистеин	2,033	0,8977
3-индолпропионовая кислота	2,915	1,15
кинуренин	2,0498	0,9586
L-триптофан	2,4698	-1,1033
L-тироксин	2,0666	0,7063
L-фенилаланин	2,0834	1,0369
гиппуровая кислота	2,3186	-0,9119
глутамил-треонин	2,1506	0,6715
L-гомоцитруллин	2,2682	0,9847
b-аминоизомасляная кислота	2,537	0,8281

гипоксантин	2,033	0,7498
3-метилуридин	2,2178	0,9499
L-октаноилкарнитин,	2,6042	-1,3817
2-гидроксилауроилкарнитин	2,1674	-1,2338
O-деcanoил-L-карнитин	3,0746	-1,0337



Изменение метаболома плазмы крови пациентов с серозной карциномой яичников относительно здоровых добровольцев. 8 соединений (зеленый цвет) имели значимо более низкую концентрацию по сравнению со здоровыми добровольцами, содержание 19 (красный цвет) соединений повышалось

Триптофан и его метаболиты играют ключевую роль в различных физиологических процессах. Концентрация нескольких метаболитов, участвующих в метаболизме L-триптофана, отличалась у пациентов с серозной карциномой яичников по сравнению с контрольной группой. В частности, выявленное снижение содержания L-триптофана у пациентов с серозной карциномой яичников, вероятно, связано с его деградацией, катализируемой индоламин-(2,3)-диоксигеназой, о чем свидетельствует увеличение уровня кинуренина. Возможно, измененный метаболизм L-триптофана обеспечивает метаболическую микросреду, благоприятную для роста опухоли [8].

У пациентов с серозной карциномой яичников наблюдались сниженный уровень гипшуровой кислоты (бактериальный продукт метаболизма фенилаланина) и повышенный – фенилаланина. Возрастание концентрации фенилаланина в крови характерно для больных ВИЧ-инфекцией, при травмах, сепсисе, а также у больных раком. Zhang и коллеги

продемонстрировали, что у пациентов с раком пищевода повышен уровень фенилаланина в сыворотке крови по сравнению с контрольной группой [9].

В настоящей работе показано повышение содержания лизофосфатидилхолина (20:4), лизофосфатидилхолина (18:2), лизофосфатидилхолина (15:0), лизофосфатидилхолина (20:3), лизофосфатидилэтанолamina (18:3), лизофосфатидилхолина (22:5/0:0), фосфатидилхолина (14:0/22:4) в плазме крови пациенток с серозной карциномой яичников относительно значений контрольной группы. Уровень фосфатидилхолина (18:2/0:0), наоборот, снижался. Содержание лизофосфатидилхолинов в крови больных варьирует в зависимости от типа рака, при этом их концентрация снижена при раке молочной железы и повышена при гепатоцеллюлярной карциноме. Ранее было показано, что уровень лизофосфатидилхолина (16:0) коррелирует со стадией опухолевого процесса у пациентов с РЯ [10].

Другой широко представленной группой липидов, изменение содержания которых было обнаружено в настоящей работе, были ацилкарнитины. У пациентов с серозной карциномой яичников в плазме крови было выявлено снижение содержания гидроксиоктаноилкарнитина, L-октаноилкарнитина, 2-гидроксилауроилкарнитина и О-деканойл-L-карнитина. Эти результаты согласуются с исследованием, предполагающим, что карнитиновая система играет ключевую роль в метаболической гибкости раковых клеток. Ранее было показано, что уровень L-октаноилкарнитина в плазме был значительно ниже у пациентов с раком молочной железы по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует о высокой потребности в карнитине для метаболизма опухоли [11].

Также следует отметить повышение содержания эйкозодиеновой кислоты в плазме крови пациентов с серозной карциномой яичников по сравнению со здоровыми волонтерами. Эйкозодиеновая кислота снижает продукцию оксида азота, увеличивает образование простагландина E2 и фактора некроза опухоли альфа. Изменение содержания эйкозодиеновой кислоты ассоциировано с развитием злокачественного процесса. В частности, ее повышение характерно для глиальных опухолей низкой степени злокачественности [12].

В настоящей работе были выявлены повышение содержания 3-бета-гидрокси-5-холеновой кислоты и снижение гликурсодезоксихолевой кислоты в плазме кров пациентов с серозной карциномой яичников по сравнению с контрольными значениями. 3-бета-гидрокси-5-холеновая кислота относится к моногидроксижелчным кислотам, содержащим гидроксильную группу. Гликурсодезоксихолевая кислота представляет собой ацилглицин, конъюгат желчной кислоты с глицином. Это вторичная желчная кислота, вырабатываемая под действием ферментов, источником которых является микробная флора толстой кишки. Первичные и вторичные желчные кислоты являются известными участниками канцерогенеза. Изменения в пуле желчных кислот настолько характерны, что Guan с коллегами предложили

[13] набор из 12 желчных кислот для использования в качестве маркеров, позволяющих отделить здоровых добровольцев от больных РЯ.

При анализе изменения содержания нуклеотидов следует отметить повышение уровня гипоксантина у пациентов с серозной карциномой яичников. Результаты, полученные авторами, согласуются с данными J.H. Lee et al., которые показали, что уровень гипоксантина возрастал в злокачественных опухолях яичников относительно образцов доброкачественных опухолей и физиологически не измененной ткани. Результаты подтверждают предположение о том, что высокие уровни гипоксантина в сыворотке могут свидетельствовать о РЯ [14].

Следует отметить, что среди идентифицированных соединений гликурдезоксихолевая и гиппуровая кислоты являются метаболитами, связанными с кишечными бактериями [15]. Возможно, изменение содержания данных метаболитов связано с нарушениями микробиома кишечника у пациентов с серозной карциномой яичников.

Заключение

Таким образом, в плазме крови пациентов с серозной карциномой яичников установлено изменение содержания липидов (эйкозодиеновая кислота, лизофосфатидилхолин (20:4), лизофосфатидилхолин (18:2), лизофосфатидилхолин (15:0), лизофосфатидилхолин (20:3), лизофосфатидилэтанолламин (18:3), лизофосфатидилхолин (22:5/0:0), фосфатидилхолин (18:2/0:0), фосфатидилхолин (14:0/22:4), 3-гидроксиоктаноилкарнитин, L-октаноилкарнитин, 2-гидроксилауроилкарнитин, O-деcanoил-L-карнитин), желчных кислот (3-гидрокси-5-холеновая кислота, гликурдезоксихолевая кислота), аминокислот и их производных (L-гомоцистеин, L-триптофан, 3-индолпропионовая кислота, кинуренин, L-тироксин, L-фенилаланин, гиппуровая кислота, глутамил-треонин, L-гомоцитруллин, б-аминоизомасляная кислота), азотистых оснований и их производных (гипоксантин, 3-метилуридин). Выявленные изменения метаболома могут предоставить информацию для устранения пробелов в понимании механизмов, участвующих в прогрессировании серозной карциномы яичников, и стать основой для совершенствования подходов диагностики.

Список литературы

1. Lowe K.A., Chia V.M., Taylor A., O'Malley C., Kelsh M., Mohamed M., Goff B An international assessment of ovarian cancer incidence and mortality // Gynecologic oncology. 2013. Vol. 130. № 1. P. 107-114. DOI: 10.1016/j.ygyno.2013.03.026.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2020 году (заболеваемость и смертность). М.: МНИОИ им. П.А. Герцена – филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2022. 252 с.

3. 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. [Электронный ресурс]. URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=29428> (дата обращения: 13.06.2023). DOI:10.17513/spno.29428
4. Никогосян С.О., Кузнецов В.В. Современная диагностика рака яичников // *Российский онкологический журнал*. 2013. № 5. С. 52-55.
5. Jacob F., Meier M., Caduff R., Goldstein D., Pochechueva T., Hacker N., Heinzelmann-Schwarz V. No benefit from combining HE4 and CA125 as ovarian tumor markers in a clinical setting // *Gynecologic oncology*. 2011. Vol. 121. № 3. P. 487-491. DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.02.022.
6. Leskela S., Romero I., Cristobal E., Pérez-Mies B., Rosa-Rosa J. M., Gutierrez-Pecharroman A., Poveda A. The frequency and prognostic significance of the histologic type in early-stage ovarian carcinoma: a reclassification study by the Spanish Group for Ovarian Cancer Research (GEICO) // *The American Journal of Surgical Pathology*. 2020. Vol. 44. № 2. P. 149-161. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001365.
7. Schmidt D.R., Patel R., Kirsch D.G., Lewis C.A., Vander Heiden M.G., Locasale J.W. Metabolomics in cancer research and emerging applications in clinical oncology // *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2021. Vol. 71. № 4. P. 333-358. DOI: 10.3322/caac.21670.
8. Platten M., Nollen E.A., Röhrig U.F., Fallarino F., Opitz C. A. Tryptophan metabolism as a common therapeutic target in cancer, neurodegeneration and beyond // *Nature reviews Drug discovery*. 2019. Vol. 18. № 5. P. 379-401. DOI: 10.1038/s41573-019-0016-5.
9. Zhang X., Xu L., Shen J., Cao B., Cheng T., Zhao T., Zhang H. Metabolic signatures of esophageal cancer: NMR-based metabolomics and UHPLC-based focused metabolomics of blood serum // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2013. Vol. 1832. № 8. P. 1207-1216. DOI: 10.1016/j.bbadis.2013.03.009.
10. Xu Y. Lysophospholipid signaling in the epithelial ovarian cancer tumor microenvironment // *Cancers*. 2018. Vol. 10. № 7. P. 227. DOI: 10.3390/cancers10070227.
11. Melone M.AB., Valentino A., Margarucci S., Galderisi U., Giordano A., Peluso G. The carnitine system and cancer metabolic plasticity // *Cell death & disease*. 2018. Vol. 9. № 2. P. 228 DOI: 10.1038/s41419-018-0313-7.
12. Calder P.C. Eicosanoids // *Essays in Biochemistry*. 2020. Vol. 64. № 3. P. 423-441. DOI: 10.1042/EBC20190083.
13. Guan W., Zhou M., Hampton C. Y., Benigno B. B., Walker L., Gray A., Fernández F. M. Ovarian cancer detection from metabolomic liquid chromatography/mass spectrometry data by support vector machines // *BMC bioinformatics*. 2009. Vol. 10. № 1. P. 1-15. DOI: 10.1186/1471-2105-10-259.

14. Lee J.H., Kim Y.H., Kim K.H., Cho J.Y., Woo S.M., Yoo B.C., Kim S.C. Profiling of serum metabolites using MALDI-TOF and Triple-TOF mass spectrometry to develop a screen for ovarian cancer // *Cancer research and treatment: official journal of Korean Cancer Association*. 2018. Vol. 50. № 3. P. 883-893. DOI: 10.4143/crt.2017.275.
15. Tan J.K., Zakaria S.N.A., Gunasekaran G., Abdul Sani N.F., Nasaruddin M.L., Jaafar F., Wan Ngah W.Z. Metabolomics Profiling of Age-Associated Metabolites in Malay Population // *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2023. Vol. 2023. DOI: 10.1155/2023/4416410.