



Целевое метаболомное профилирование множественной миеломы: диагностика и оценка эффективности терапии

В. Г. Варзиева[✉], К. М. Шестакова, А. А. Болдин, Д. А. Куцакина, Ю. Ю. Кириченко,
Ю. Н. Беленков, И. С. Ильгисонис, В. В. Тарасов, С. А. Апполонова

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет). 119991, Россия, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

✉ Контактное лицо: Варзиева Валерия Георгиевна. E-mail: varzieva.valeria@gmail.com

ORCID: В. Г. Варзиева – <https://orcid.org/0000-0002-9067-8717>;
К. М. Шестакова – <https://orcid.org/0000-0001-6554-3936>;
А. А. Болдин – <https://orcid.org/0000-0001-6817-6270>;
Д. А. Куцакина – <https://orcid.org/0009-0001-7169-0577>;
Ю. Ю. Кириченко – <https://orcid.org/0000-0002-8271-7704>;
Ю. Н. Беленков – <https://orcid.org/0000-0002-3014-6129>;
И. С. Ильгисонис – <https://orcid.org/0000-0001-6817-6270>;
В. В. Тарасов – <https://orcid.org/0000-0002-9394-7994>;
С. А. Апполонова – <https://orcid.org/0000-0002-9032-1558>.

Статья поступила: 03.07.2025

Статья принята в печать: 31.10.2025

Статья опубликована: 01.11.2025

Резюме

Введение. Множественная миелома (ММ) представляет собой злокачественное заболевание плазматических клеток, характеризующееся выраженной гетерогенностью клинического течения и вариабельностью ответа на лечение. Метаболомный анализ, отражающий совокупность малых молекул в биологических жидкостях, открывает новые возможности для поиска диагностических и прогностических биомаркеров.

Цель. Оценить метаболомные профили пациентов с ММ и выявить метаболические маркеры, ассоциированные с эффективностью полихимиотерапии.

Материалы и методы. Исследование проводилось с сентября 2022 года по май 2025 года на базе кафедры госпитальной терапии № 1 Сеченовского Университета. Проведен целевой анализ метаболитов плазмы крови 29 пациентов с ММ до начала лечения и 30 здоровых добровольцев (контроль). Пациенты были разделены на группы с ответом и без ответа на основании результатов проведения трех курсов терапии первой линии по протоколу VCD.

Результаты и обсуждение. Обнаружены значительные различия в метаболомных профилях пациентов с ММ по сравнению с контрольной группой. У больных ММ отмечен повышенный катаболизм триптофана через кинурениновый путь (~41 % увеличение соотношения кинуренин/триптофан, ~80 % снижение уровня серотонина), изменения в метаболитах цикла мочевины и оксида азота (~28 % снижение аргинина, ~5,3-кратное увеличение асимметричного диметиларгинина), а также аминокислотный дисбаланс (снижение уровня серина, аспартата, ВСАА) и значительное увеличение общего количества ацилкарнитинов (в ~1,4 раза выше, чем в контроле). Исходный метаболический профиль также отличался у пациентов с различными результатами лечения: до лечения у пациентов, у которых впоследствии наблюдался клинический ответ, были снижены уровни некоторых ацилкарнитинов и продуктов распада триптофана (например, антралиновой кислоты), в то время как у пациентов без ответа были снижены уровни 5-гидрокситриптофана, индол-3-молочной кислоты и гистидина.

Заключение. Метаболомный анализ выявил характерные метаболические изменения при ММ, отражающие активацию иммунометаболических путей (триптофан-кинурениновый путь, метаболизм аргинина) и нарушение регуляции энергии и аминокислот. Полученные результаты указывают на потенциальную прогностическую значимость метаболитов: ряд биомаркеров (например, производные триптофана, ацилкарнитины) может быть связан с чувствительностью к химиотерапии. Полученные данные открывают перспективы для дальнейших исследований метаболических подходов в мониторинге и терапии ММ.

© Варзиева В. Г., Шестакова К. М., Болдин А. А., Куцакина Д. А., Кириченко Ю. Ю., Беленков Ю. Н., Ильгисонис И. С., Тарасов В. В., Апполонова С. А., 2025

© Varzieva V. G., Shestakova K. M., Boldin A. A., Kutsakina D. A., Kirichenko Yu. Yu., Belenkov Yu. N., Ilgisonis I. S., Tarasov V. V., Appolonova S. A., 2025

Ключевые слова: метаболомика, множественная миелома, биомаркер, эффективность лечения, прогноз, диагностика

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. В. Г. Варзиева, С. А. Апполонова спланировали эксперимент и проводили анализ образцов. И. С. Ильгисонис, Д. А. Куцакина – сбор образцов и клинических данных пациентов. К. М. Шестакова, А. А. Болдин участвовали в обработке данных. Ю. Н. Беленков, В. В. Тарасов осуществляли научное консультирование и редактирование статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов и написании текста статьи.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда: грант № 24-75-00062 «Изучение роли онкологических маркеров (микроРНК-155, микроРНК-146а, метаболомный профиль) как ранних предикторов васкулотоксичности полихимиотерапии».

Соответствие принципам этики. Исследование было одобрено этическим комитетом Сеченовского Университета (протокол № 25-22, 08.12.2022 г.) и проводилось в соответствии с этическими принципами медицинских исследований с участием людей, изложенными в Хельсинкской декларации.

Для цитирования: Варзиева В. Г., Шестакова К. М., Болдин А. А., Куцакина Д. А., Кириченко Ю. Ю., Беленков Ю. Н., Ильгисонис И. С., Тарасов В. В., Апполонова С. А. Целевое метаболомное профилирование множественной миеломы: диагностика и оценка эффективности терапии. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2025;14(4). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2138>

Targeted metabolomic profiling of multiple myeloma: diagnostics and treatment efficacy

Valeria G. Varzieva✉, Ksenia M. Shestakova, Andrey A. Boldin, Daria A. Kutsakina, Yulia Yu. Kirichenko, Yuri N. Belenkov, Irina S. Ilgisonis, Vadim V. Tarasov, Svetlana A. Appolonova

I. M. Sechenov First MSMU of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russia

✉ **Corresponding author:** Valeria G. Varzieva. **E-mail:** varzieva.valeria@gmail.com

ORCID: Valeria G. Varzieva – <https://orcid.org/0000-0002-9067-8717>;
Ksenia M. Shestakova – <https://orcid.org/0000-0001-6554-3936>;
Andrey A. Boldin – <https://orcid.org/0000-0001-6817-6270>;
Daria A. Kutsakina – <https://orcid.org/0009-0001-7169-0577>;
Yulia Yu. Kirichenko – <https://orcid.org/0000-0002-8271-7704>;
Yuri N. Belenkov – <https://orcid.org/0000-0002-3014-6129>;
Irina S. Ilgisonis – <https://orcid.org/0000-0001-6817-6270>;
Vadim V. Tarasov – <https://orcid.org/0000-0002-9394-7994>;
Svetlana A. Appolonova – <https://orcid.org/0000-0002-9032-1558>.

Received: 03.07.2025

Accepted: 31.10.2025

Published: 01.11.2025

Abstract

Introduction. Multiple myeloma (MM) is a malignant disease of plasma cells characterized by marked heterogeneity of the clinical course and variability in response to treatment. Metabolomic analysis, which reflects the totality of small molecules in biological fluids, opens up new possibilities for the search for diagnostic and prognostic biomarkers.

Aim. To evaluate metabolomic profiles of patients with multiple myeloma (MM) and to identify metabolic markers associated with the efficacy of polychemotherapy.

Materials and methods. The study was conducted from September 2022 to May 2025 at the Department of Hospital Therapy No. 1 of Sechenov University. We performed targeted analysis of plasma metabolites in 29 pre-treatment MM patients and 30 healthy volunteers (controls). Patients were divided into response and no response groups based on the results of therapy with VCD protocol after three courses.

Results and discussion. Significant differences in metabolomic profiles of MM patients compared to controls were found. MM patients showed increased tryptophan catabolism via the kynurenine pathway (~41 % increase in kynurenine/tryptophan ratio, ~80 % decrease in serotonin levels), changes in urea and nitric oxide cycle metabolites (~28 % decrease in arginine, ~5.3-fold increase in asymmetric dimethylarginine), and amino acid imbalances (decrease in serine, aspartate, BCAA) and a significant increase in total acylcarnitines (~1.4-fold higher than control). The baseline metabolomic profile also differed between patients with different treatment outcomes: before treatment, patients who subsequently showed a clinical response had lower levels of several acylcarnitines and tryptophan breakdown products (e.g. anthranilic acid), whereas patients without response showed decreased levels of 5-hydroxytryptophan, indole-3-lactic acid and histidine.

Conclusions. Metabolomic analysis revealed characteristic metabolic alterations in MM reflecting activation of immunometabolic pathways (tryptophan kynurenine pathway, arginine metabolism) and impaired energy and amino acid regulation. The results indicate the potential prognostic significance of metabolites: a number of biomarkers (e.g. tryptophan derivatives, acylcarnitines)

may be associated with chemotherapy sensitivity. The findings open the prospects for further research on metabolic approaches in MM monitoring and therapy.

Keywords: metabolomics, multiple myeloma, biomarker, treatment efficacy, prognosis, diagnosis

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Valeria G. Varzieva and Svetlana A. Appolonova designed the experiment and analyzed the samples. Irina S. Ilgisonis and Daria A. Kutsakina collected the samples and clinical data from the patients. Ksenia M. Shestakova and Andrey A. Boldin participated in data processing. Yuri N. Belenkov and Vadim V. Tarasov provided scientific advice and edited the article. All authors participated in the discussion of the results and in writing the text of the article.

Funding. The study was supported by the Russian Science Foundation: Grant No. 24-75-00062 "Investigation of the Role of Omic Markers (MicroRNA-155, MicroRNA-146a, Metabolomic Profile) as Early Predictors of Polychemotherapy Vasculotoxicity".

Compliance with the principles of ethics. The study was approved by the Ethics Committee of Sechenov University (Protocol No. 25-22, December 8, 2022) and was conducted in accordance with the ethical principles of medical research involving human subjects as set out in the Declaration of Helsinki.

For citation: Varzieva V. G., Shestakova K. M., Boldin A. A., Kutsakina D. A., Kirichenko Yu. Yu., Belenkov Yu. N., Ilgisonis I. S., Tarasov V. V., Appolonova S. A. Targeted metabolomic profiling of multiple myeloma: diagnostics and treatment efficacy. *Drug development & registration*. 2025;14(4). (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2025-14-4-2138>

ВВЕДЕНИЕ

Множественная миелома (ММ) – злокачественное заболевание плазматических клеток, характеризующееся их клональной пролиферацией в костном мозге и избыточной продукцией моноклонального иммуноглобулина [1]. В последние годы разработаны эффективные схемы полихимиотерапии (ПХТ) с использованием протеасомных ингибиторов (бортезомиб, карфилзомиб), иммуномодуляторов (талидомид, леналидомид) и моноклональных антител, что существенно улучшило выживаемость больных ММ [2, 3]. Тем не менее ММ остается неизлечимой: заболевание отличается высокой гетерогенностью и непредсказуемостью ответа на терапию, от полного ответа до лекарственной резистентности у разных пациентов [4]. В связи с этим актуален поиск новых прогностических биомаркеров и мишеней для терапии, включая молекулярные и метаболические характеристики опухоли.

Метаболическое перепрограммирование является одной из особенностей злокачественных клеток. Опухолевые клетки изменяют собственный метаболизм для поддержания собственного роста и уклонения от противоопухолевого иммунитета [5]. Изучение метаболических изменений при ММ представляет большой интерес по двум основным причинам. Во-первых, метаболомные маркеры имеют потенциал служить ранними диагностическими инструментами

и контролировать эффективность лечения. Во-вторых, они отражают патофизиологические процессы, которые могут быть жизнеспособными целями для новых методов лечения [4, 6, 7].

Метаболомика – совокупный анализ малых молекул метаболитов в биологических образцах – позволяет получить «отпечаток» метаболических нарушений, ассоциированных с заболеванием. Этот подход продемонстрировал значительный потенциал в выявлении характерных особенностей метаболизма, связанных с различными патологиями [8–11]. Недавний систематический обзор показал, что метаболический профиль крови у пациентов с ММ существенно отличается от такового у здоровых людей [12].

В частности, у больных ММ часто наблюдается активация кинуренинового пути метаболизма триптофана вследствие повышенной экспрессии триптофан-диоксигеназы 2 (TDO2) – фермента, превращающего триптофан в кинуренин [13]. Данный иммунометаболический сдвиг приводит к истощению запасов триптофана и накоплению иммуносупрессивных продуктов, способствуя угнетению противоопухолевого иммунитета [14]. Кроме того, у пациентов с ММ и другими гемобластозами описано изменение метаболизма аргинина: повышенная активность аргиназы в микроокружении опухоли и продукция метаболитов мочевинового цикла могут истощать L-аргинин, необходимый для нормальной Т-клеточной функции [15]. Нарушения энергетического обмена так-

же характерны для прогрессирования ММ: по данным метаболомных исследований, в плазме больных обнаруживаются повышенные уровни ряда ацилкарнитинов (производных жирных кислот), свидетельствующие о дисбалансе бета-окисления и митохондриальной функции [7]. В совокупности эти данные указывают на то, что метаболический фенотип ММ тесно связан с патогенезом болезни и реакцией на лечение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Дизайн исследования

Целью исследования являлся анализ метаболомных профилей пациентов с ММ для выявления метаболитов, связанных как с самим заболеванием, так и с ответом на терапию. Для этого в исследование были включены пациенты, соответствующие критериям включения, а также группа здоровых добровольцев, использованная в качестве контроля. У всех участников до начала лечения проводился забор

крови, после чего выполнялся таргетный метаболомный анализ плазмы. На первом этапе сравнивались профили пациентов с ММ и здоровых добровольцев, что позволило определить метаболиты, ассоциированные с заболеванием. На втором этапе пациенты с ММ были разделены на группы по наличию или отсутствию ответа на химиотерапию и их метаболомные профили сопоставлялись между собой для выявления потенциальных предикторов терапевтического ответа.

В исследование были включены 29 пациентов с впервые выявленной ММ и 30 здоровых добровольцев. Информированное согласие было получено от всех участников исследования. Исследование проводилось с сентября 2022 года по май 2025 года на базе кафедры госпитальной терапии № 1 Сеченовского Университета. Исследование было одобрено этическим комитетом Сеченовского Университета (протокол № 25-22, 08.12.2022 г.). Дополнительная информация о клинических характеристиках исследуемых групп представлена в таблице 1.

Таблица 1. Клинические данные участников исследования

Table 1. Clinical data of study participants

Параметр Parameter	Пациенты с ММ Patients with MM			Контроль Control	p-value
	Пациенты с ответом на терапию Patients with a response to therapy	Пациенты без ответа на терапию Patients with no response to therapy	Без конечных точек No endpoints		
Количество участников (М/Ж) Number of participants (M/F)	15 (8/7)	11 (2/9)	3 (2/1)	29 (9/20)	–
Возраст (ср. знач. +/- ст. откл.) Age (mean +/- standard deviation)	64,3 ± 2,6	63,9 ± 13,2	58,0 ± 19,8	46,7 ± 5,9	0.0002
ИМТ (ср. знач. +/- ст. откл.) BMI (mean +/- standard deviation)	25,7 ± 5,1	25,8 ± 4,7	25,0 ± 3,0	23,7 ± 3,5	0.009
Курение (да/нет) Smoking (yes/no)	3/12	1/10	1/2	0	–
Стадия на момент постановки диагноза по классификации ISS (I/II/III) Stage at diagnosis according to the ISS classification (I/II/III)	7/5/3	4/6/1	Нет данных No data	–	–
Тип секреции Ig Ig secretion type	IgG (Gk) – 12 IgG (G λ) – 2 IgA (Ak) – 1	IgG (Gk) – 8 IgG (G λ) – 1 IgA (A λ) – 2	Нет данных No data	–	–
Уровень парапротеина, мг/л (ср. знач. +/- ст. откл.) Paraprotein level, mg/L (mean +/- standard deviation)	35,1 +/- 13,1	33,3 +/- 19,6	Нет данных No data	–	–

Примечание. P-value – значение критерия Стьюдента при сравнении значений с контрольной группой.

Note. P-value is the value of the Student's t-test when comparing values with the control group.

В исследуемую группу вошли пациенты с подтвержденным диагнозом впервые выявленной множественной миеломы, определенной согласно клиническим рекомендациям, не имеющие других онкологических заболеваний в анамнезе и не являющиеся кандидатами для трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК)¹. В группу контроля вошли пациенты без злокачественных новообразований в анамнезе. Критериями исключения для обеих когорт были: возраст до 18 лет, наличие других заболеваний в острой фазе, обострение любых хронических заболеваний, сахарный диабет, острые респираторные инфекции, наркологическая и алкогольная зависимости, беременность и период лактации. Дополнительно критериями исключения для исследуемой группы были: макроглобулинемия Вальденстрема; острые коронарные и церебральные события в течение 6 месяцев до включения в исследование; морфологически подтвержденный амилоидоз; смена курса терапии; гиперчувствительность к компонентам терапии.

Образцы крови пациентов собирали в двух точках: до начала противоопухолевой терапии и после трех курсов лечения по протоколу VCD (бортезомиб, циклофосфамид, дексаметазон), когда оценивается первый ответ на терапию. Пациенты включались в группу ответа, если они соответствовали критериям частичного ответа, очень хорошего частичного ответа или полного ответа, согласно клиническим рекомендациям. Далее 2,5 мл образца крови отбирали в вакуумные пробирки с консервантом K₂-ЭДТА, после сбора образцы крови центрифугировали, а полученную плазму аликвотировали и хранили при –80 °C до проведения анализа.

Целевой метаболомный анализ

Анализ включал целевое количественное определение 98 эндогенных соединений. Аликвоты исследуемых образцов размораживали при комнатной температуре, отбирали 10 мкл и переносили в микропробирку типа «эппендорф» объемом 2,0 мл. Далее вносили смесь изотопно-меченых внутренних стандартов, которая включала стандартные образцы аминокислот и ацилкарнитинов для неонатального скрининга MassChrom (Chromsystems, Германия), а также производные триптофанового обмена (Toronto Research Chemicals, Канада). Затем пробы перемешивали на вортексе и упаривали досуха. К сухому остатку добавляли 50 мкл дериватирующей смеси фенилизотиоционата (Sigma-Aldrich, США) (ацетонитрил:вода:пиридин, 1:1:1) и оставляли при

комнатной температуре в течение 20 мин. Далее в образцы добавляли 100 мкл 5 мМ раствора ацетата аммония в метаноле (Sigma-Aldrich, США) и перемешивали на шейкере в течение 30 мин. Затем в пробы добавляли 100 мкл деионизированной воды из установки Milli-Q Plus (Millipore, Франция), перемешивали на вортексе, центрифугировали при 14 000 об/мин в течение 10 мин. Отбирали 100 мкл и отправляли на ВЭЖХ-МС/МС анализ.

Образцы анализировали с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) и масс-спектрометрического детектора с ионизацией электрораспылением Agilent 6460 (Agilent Technologies, США) с установленной аналитической колонкой для ВЭЖХ Acquity UPLC BEH C18, 2,1 × 50 мм, размер частиц 1,7 мкм (Waters Corporation, США). Подвижная фаза А – 0,1%-й раствор муравьиной кислоты (Sigma-Aldrich, США) и 0,01%-й раствор гептафтормасляной кислоты (Sigma-Aldrich, США) в воде деионизированной, подвижная фаза В – 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле для ВЭЖХ (Sigma-Aldrich, США). Градиентное элюирование проводили следующим образом: линейное изменение растворителя В составляло от 1 до 30 % в течение 0,5–1 мин; от 30 до 75 % – в течение 1–3 мин; от 75 до 95 % – в течение 3–3,5 мин и поддерживалось на уровне 95 % 4,5 мин; от 95 до 1 % – в течение 4,5–4,6 мин и поддерживалось на уровне 1 % в течение 4,6–6 мин. Скорость потока подвижной фазы составляла 0,5 мл/мин. Параметры масс-спектрометрического анализа: температура газа в источнике – 300 °C; расход распыляющего газа – 11 л/мин; давление на распылителе – 30 psi; напряжение на капилляре – 3500 кВ. Масс-спектрометрический анализ осуществлялся в режиме положительной ионизации методом мониторинга множественных реакций.

Статистическая обработка данных

Полученные масс-хроматограммы обрабатывались с применением программного обеспечения MassHunter (Agilent Technologies, США). Статистическая обработка и анализ экспериментальных данных проводились с помощью пакета Stats языка программирования Python, программ STATISTICA 10.0, SPSS 23.0, SIMCA 13.0. Выбросы в метаболомных данных оценивали с помощью метода IQR. Выбросы и пропущенные значения заменяли на медианные значения в данной группе. Оценку различия выборочных средних количественных переменных выполняли с помощью параметрического критерия Стьюдента или непараметрического критерия Манна – Уитни.

Метод главных компонент и ортогональный метод частичных наименьших квадратов для дискриминационного анализа (OPLS-DA) выполняли при помощи ПО Umetrics SIMCA P+ (Umeå, Швеция).

¹ Клинические рекомендации. Множественная миелома. Министерство здравоохранения Российской Федерации. Доступно по: https://cr.minzdrav.gov.ru/view-cr/144_2. Ссылка активна на 25.09.2025.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Общая характеристика исследования

В данном исследовании мы изучили целевые метаболомные профили пациентов с ММ и здоровых добровольцев. Пациентам в группе с ММ была проведена терапия первой линии по схеме VCD, по результатам которой они были разделены на подгруппы с ответом на терапию и без него. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Анализ методом главных компонент (МГК) позволил выявить значимые различия между группой контроля и группой пациентов с множественной миеломой (ММ), что свидетельствует о существенных метаболических отличиях между этими группами. Однако внутри группы ММ разделение пациентов относительно их ответа на ПХТ менее точное (рисунок 2).

Метаболомные маркеры множественной миеломы

В результате унивариантного анализа, включающего оценку различий выборочных средних и кратность изменений концентраций метаболомного профиля пациентов из исследуемых групп, а также на основе исследования насыщения метаболических путей было выявлено, что для пациентов с ММ харак-

терны изменения в метаболизме триптофана (в особенности метаболитов серотонинового пути), метаболитов цикла мочевины и оксида азота, а также аминокислотного и ацилкарнитинового профилей. Результаты анализа представлены в таблице 2.

На рисунке 3 представлены пузырьковые диаграммы, отражающие значимые различия в концентрациях метаболитов в плазме крови пациентов с ММ в сравнении с их уровнями в контрольной группе.

Метаболомные маркеры ответа на терапию

Далее выполняли ретроспективный анализ метаболомных профилей внутри группы пациентов с ММ, разделенных относительно их ответа на три курса терапии первой линии.

В результате унивариантного анализа было установлено, что в зависимости от ответа на терапию метаболомные профили пациентов с ММ до начала терапии различаются по концентрационным уровням продуктов катаболизма триптофана (индол-3-лактата, антранилловой кислоты, 5-ОН-триптофана), гистидина, таурина и ацилкарнитинов. В таблице 3 указаны метаболиты, позволяющие различить пациентов по ответу на терапию.

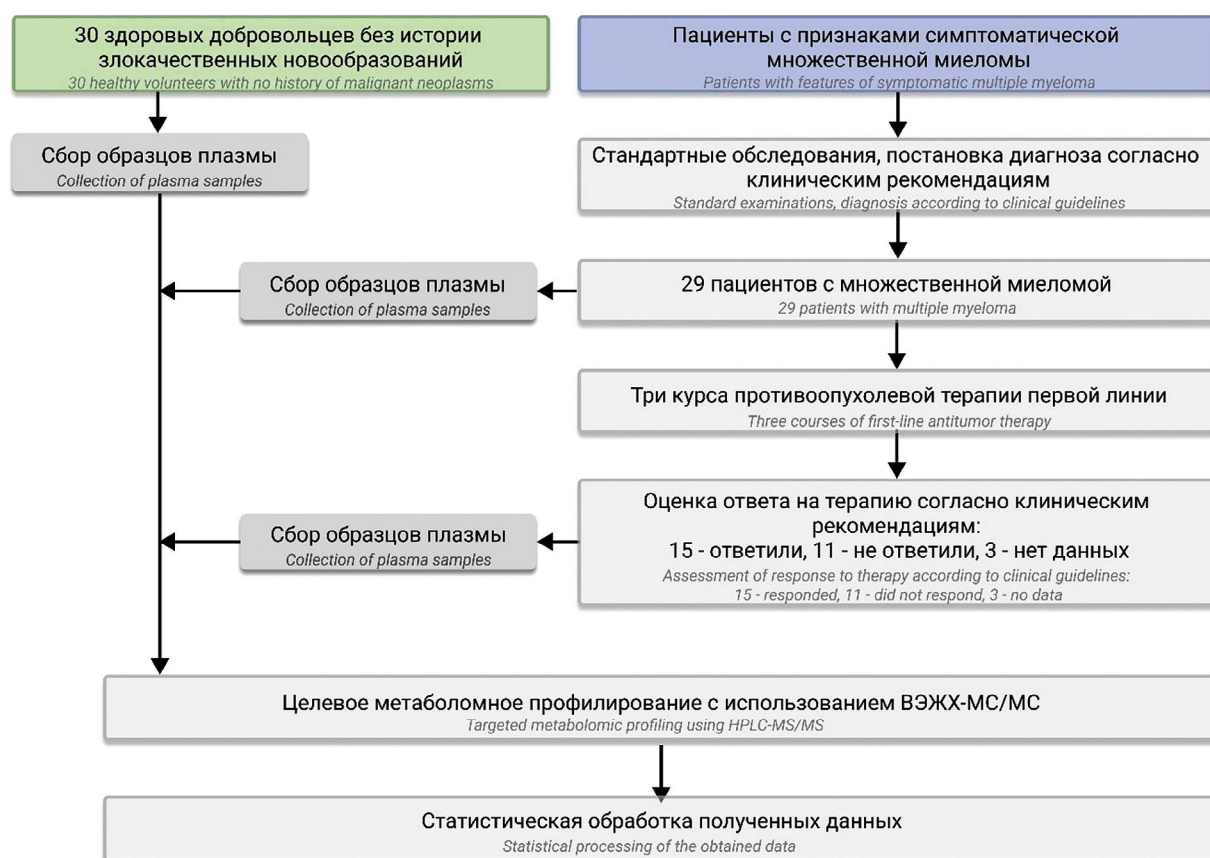


Рисунок 1. Блок-схема дизайна исследования

Figure 1. Study design flow-chart

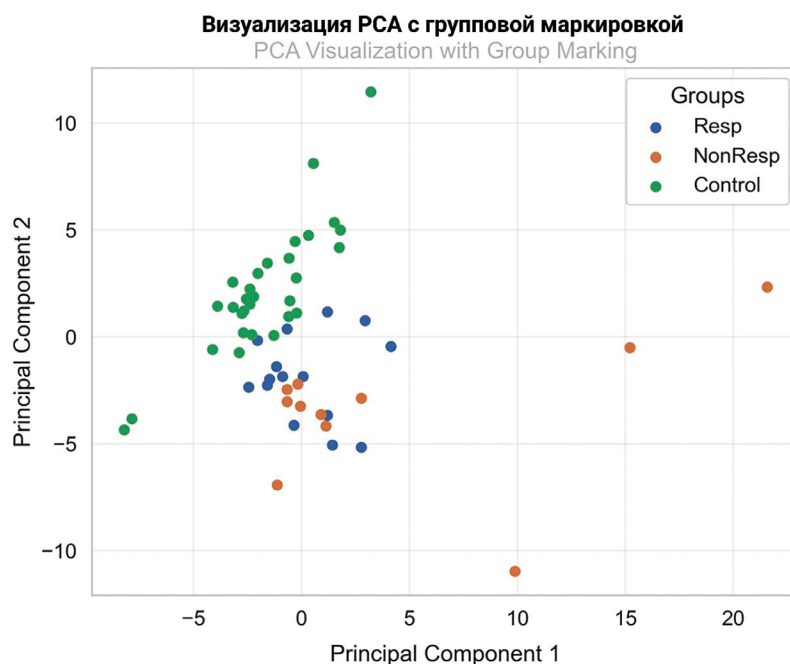


Рисунок 2. Распределение пациентов из экспериментальных групп относительно двух главных компонент с использованием метода МГК

Resp – группа с ответом на терапию; NonResp – группа без ответа на терапию; Control – контроль

Figure 2. Distribution of patients from the experimental groups with respect to the two principal components using the PCA method

Resp – group with response to therapy; NonResp – group without response to therapy; Control – control

Таблица 2. Результаты метаболомного профилирования пациентов

Table 2. Results of metabolomic profiling of patients

Метаболиты Metabolite	p-value	FC (MM vs Контроль) FC (MM vs Control)	log ₂ FC	Направленность изменения при MM Direction of change in MM
Метаболиты триптофана Tryptophan metabolites				
Триптофан Tryptophan	<0,00001	1,00	-0,32	↓
5-гидрокситриптофан 5-hydroxytryptophan	<0,00001	1,35	0,43	↑
Серотонин Serotonin	<0,00001	0,24	-2,07	↓
5-ГИУК 5-HIAA	<0,00001	49,75	5,64	↑
Мелатонин Melatonin	<0,00001	0,78	-0,36	↓
Кинуренин/триптофан Kynurenin/tryptophan	<0,00001	1,41	0,49	↑

Метаболиты Metabolite	p-value	FC (MM vs Контроль) FC (MM vs Control)	log ₂ FC	Направленность изменения при MM Direction of change in MM
Кинуреновая к-та Kynurenic acid	<0,00001	1,34	0,42	↑
Хиноленовая к-та Quinolinic acid	<0,00001	2,21	1,14	↑
Индол-3-карбоксальдегид Indole-3-carboxaldehyde	<0,00001	1,37	0,45	↑
Индол-3-молочная к-та Indole-3-lactic acid	<0,00001	1,46	0,54	↑
Метаболиты цикла мочевины и оксида азота Metabolites of the NO cycle				
Аргинин Arginine	<0,00001	0,72	-0,48	↓
АДМА ADMA	<0,00001	5,31	2,41	↑
СДМА SDMA	<0,00001	3,70	1,89	↑

Метаболиты Metabolite	p-value	FC (MM vs Контроль) FC (MM vs Control)	log ₂ FC	Направленность изменения при MM Direction of change in MM
N-MMA N-MMA	<0,00001	3,37	1,75	↑
Орнитин Ornithine	<0,00001	0,80	-0,32	↓
Цитруллин Citrulline	<0,00001	0,49	-1,03	↓
Аминокислоты Amino acids				
Лизин Lysine	<0,00001	1,93	0,95	↑
Серин Serine	<0,00001	0,47	-1,10	↓
Аспартат Aspartate	<0,0001	0,37	-1,43	↓
Фенилаланин Phenylalanine	<0,0001	0,77	-0,38	↓
Гидроксипролин Hydroxyproline	<0,0001	1,61	0,68	↑
Глутамат Glutamate	<0,0001	0,71	-0,50	↓
Метилгистидин Methylhistidine	<0,0001	0,50	-0,99	↓
Глутамин Glutamine	<0,001	0,86	-0,22	↓
Гистидин Histidine	<0,001	0,73	-0,46	↓
Валин Valine	<0,001	0,86	-0,22	↓
Пролин Proline	<0,001	1,25	0,32	↑
Аспарагин Asparagine	<0,001	1,20	0,26	↑
Суммарное содержание ВСАА Total BCAA content	<0,001	0,88	-0,19	↓
Лейцин + изолейцин Leucine + isoleucine	<0,001	0,88	-0,19	↓
Ацилкарнитины Acylcarnitines				
Сумма ацилкарнитинов Total acylcarnitine content	<0,01	1,44	0,53	↑
C0	<0,01	1,46	0,55	↑
C2	<0,05	1,35	0,44	↑
C3	<0,05	1,52	0,61	↑
C4	<0,05	2,04	1,03	↑

Метаболиты Metabolite	p-value	FC (MM vs Контроль) FC (MM vs Control)	log ₂ FC	Направленность изменения при MM Direction of change in MM
C5	<0,05	1,45	0,53	↑
C5-1	<0,05	1,59	0,67	↑
C5-OH	<0,05	0,74	-0,44	↓
C8-1	<0,01	0,50	-1,00	↓
C10-1	<0,01	4,00	2,00	↑
C10-2	<0,01	3,06	1,61	↑
C12-1	<0,05	0,53	-0,91	↓
C14-OH	<0,05	0,75	-0,42	↓
C16-1	<0,05	1,38	0,46	↑
C18-1	<0,05	1,43	0,51	↑
C18-1-OH	<0,01	4,97	2,31	↑
Другие метаболиты Other metabolites				
Цитидин Cytidine	<0,001	1,38	0,47	↑
Уридин Uridine	<0,001	0,29	-1,76	↓
Таурин Taurine	<0,001	0,26	-1,96	↓
Аденозин Adenosine	<0,01	0,40	-1,32	↓
Карнозин Carnosine	<0,01	0,53	-0,92	↓
Креатинин Creatinine	<0,01	0,75	-0,42	↓
Пантотеновая к-та Pantothenic acid	<0,01	1,36	0,44	↑
Рибофлавин Riboflavin	<0,01	1,33	0,41	↑
Бетаин Betain	<0,01	2,27	1,18	↑
Холин Choline	<0,01	1,44	0,52	↑
ТМАО TMAO	<0,01	2,69	1,43	↑

Примечание. FC – Fold Change; p-value – критерий Стьюдента; 5-ГИУК – 5-гидроксииндолуксусная кислота; АДМА – асимметричный диметиларгинин; СДМА – симметричный диметиларгинин; N-MMA – N-монометиларгинин; ВСАА – аминокислоты с разветвленной цепью; C – ацилкарнитин, ТМАО – триметиламин-N-оксид.

Note. FC – Fold Change; p-value – Student's t-test; 5-HIAA – 5-hydroxyindoleacetic acid; ADMA – asymmetric dimethylarginine; SDMA – symmetric dimethylarginine; N-MMA – N-monomethylarginine; BCAA – branched-chain amino acids; C – acylcarnitine, TMAO – trimethylamine-N-oxide.

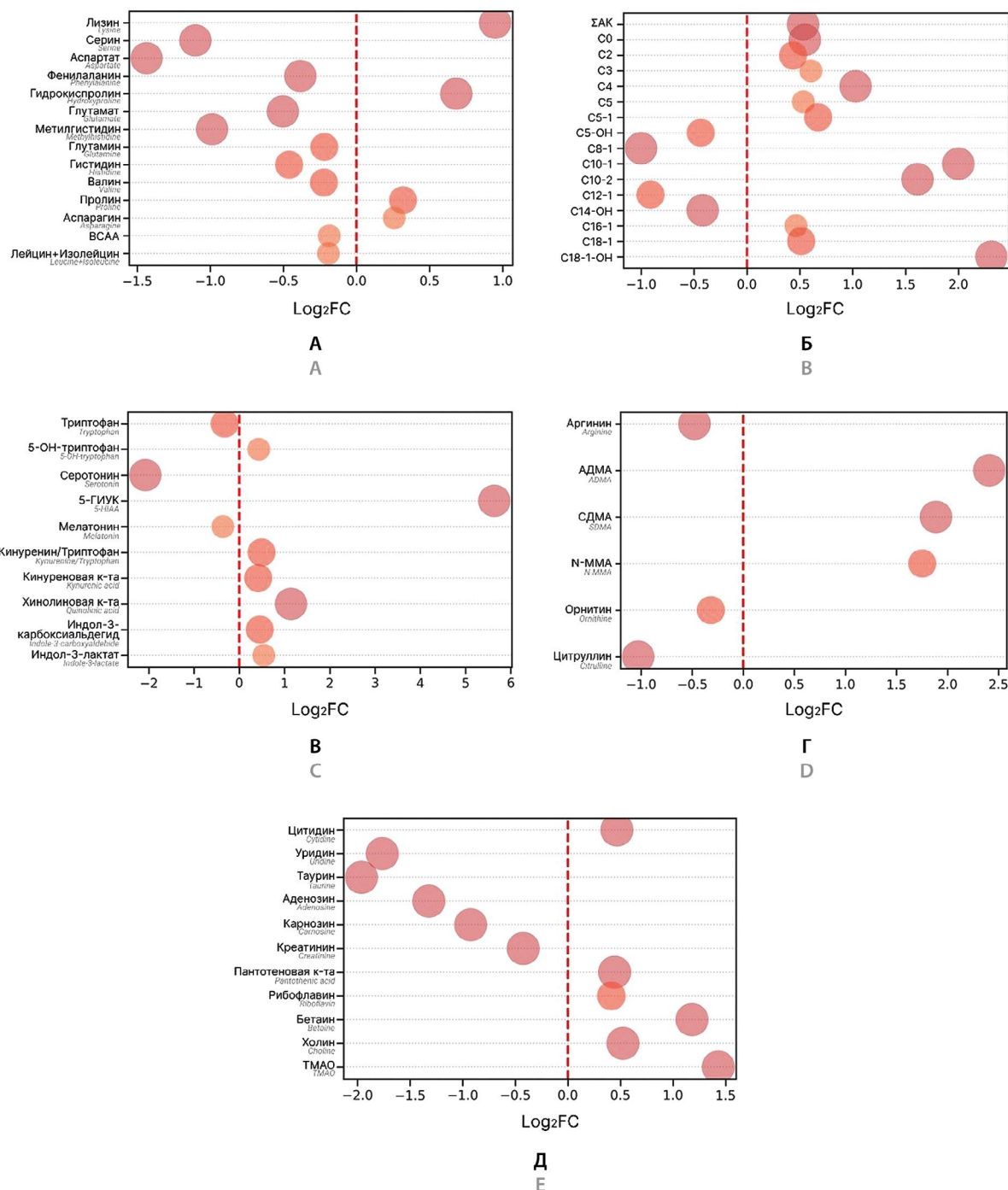


Рисунок 3. Пузырьковые диаграммы, иллюстрирующие метаболиты, концентрационные уровни которых существенно различались в исследуемых группах пациентов:

А – метаболиты аминокислотного профиля; **Б** – метаболиты ацилкарнитинового профиля; **В** – интермедиаты катаболизма триптофана; **Г** – метаболиты цикла оксида азота и мочевины; **Д** – другие метаболиты. Положение пузырей относительно оси *X* определяется значением логарифма кратности изменения концентрации метаболита в группе ММ по сравнению с группой контроля. Чем дальше пузырь расположен от красной линии, тем сильнее выражено различие по данному метаболиту между группами. Размер пузыря обратно пропорционален значению *p*-значения: чем больше пузырь, тем более статистически значимо различие

Figure 3. Bubble diagrams illustrating metabolites which concentration levels differed significantly in the studied groups: **A** – amino acids; **B** – acylcarnitines; **C** – intermediates of tryptophan catabolism; **D** – metabolites of NO cycle; **E** – other metabolites. The position of the bubbles relative to the *X*-axis is determined by the logarithm of the fold change in the metabolite concentration in the MM group compared to the control group. The further the bubble is from the red line, the greater the difference in this metabolite between the two groups

Таблица 3. Результаты метаболомного профилирования пациентов с делением на группы по ответу на терапию

Table 3. Results of metabolomic profiling of patients divided into groups according to response to therapy

Метаболит Metabolite	p-value	Log ₂ FC	Направленность изменения в группе без ответа Direction of change in the no response group
Анраниловая к-та Antranilic acid	<0,01	1,4	↑
Гистидин Histidine	<0,01	-0,8	↓
Лизин Lysine	<0,05	-0,4	↓
5-гидрокситриптофан 5-hydroxytryptophan	<0,05	-0,6	↓
Индол-3-молочная к-та Indole-3-lactic acid	<0,05	-0,5	↓
Таурин Taurine	<0,05	0,9	↑
N-MMA	<0,05	1,5	↑
C0	<0,05	0,5	↑
C2	<0,05	0,9	↑
C4	<0,05	1,3	↑
C5-DC	<0,05	0,9	↑
C6	<0,01	1,5	↑
C8	<0,01	1,2	↑
C10-1	<0,01	1,4	↑
C10	<0,05	1,1	↑
C14-2	<0,05	1,1	↑
C14-1	<0,05	1,0	↑
C16-1	<0,05	1,0	↑
C16-1-OH	<0,05	0,9	↑
C16-OH	<0,05	-0,3	↓
C18-1	<0,05	-0,8	↓
C18-1-OH	<0,05	1,0	↑
C18-2	<0,05	0,9	↑

Примечание. FC – Fold Change; p-value – критерий Стьюдента; N-MMA – N-monomethylarginine.

Note. FC – Fold Change; p-value – Student’s t-test; N-MMA – N-monomethylarginine.

На рисунке 4 представлены метаболиты, концентрационные уровни которых до начала лечения существенно различались у пациентов с ответом и без ответа на терапию. Точки, расположенные в верхней части графика, отражают метаболиты с высокой статистической значимостью (p -значение < 0,05) и значительными изменениями абсолютных значений ($|\log_2FC| > 0,58$). Положение точек относительно горизонтальной оси указывает на направление изменения: точки справа свидетельствуют о значимом повы-

шении уровня метаболита у пациентов с положительным ответом по сравнению с группой без ответа на терапию, а слева – о его снижении.

ОБСУЖДЕНИЕ

Общая характеристика и дизайн исследования

В исследование были включены 29 пациентов с подтвержденной множественной миеломой до начала лечения и 30 здоровых добровольцев без злокачественных новообразований в анамнезе. Средний возраст пациентов с ММ составил ~64 года, что значимо выше, чем в контроле (~47 лет, $p < 0,001$), также группа пациентов характеризовалась несколько большим средним ИМТ ($p < 0,01$), который был в пределах референтных значений. Пациентам проводилась терапия по протоколу VCD, содержащему бортезомиб, циклофосфамид и дексаметазон без снижения дозировок препаратов; по результатам ранней оценки эффективности терапии были выделены подгруппы больных, достигших ответа на терапию (частичная/полная ремиссия, $n = 15$), и с отсутствием ответа (стабилизация или прогрессия заболевания, $n = 11$). У 3 пациентов эффективность лечения не была оценена (они исключены при сравнении подгрупп). Рисунок 1 иллюстрирует общий дизайн исследования, включая разделение выборок и проведение метаболомного анализа. Для сравнительной оценки групп применялся многомерный статистический метод – анализ главных компонент (МГК). Рисунок 2 показывает распределение образцов на плоскости первых двух главных компонент: наблюдается четкое разделение контрольных образцов и образцов пациентов с ММ, что свидетельствует об общем различии метаболических профилей между здоровыми и больными. В то же время разделение внутри группы ММ по признаку ответа на терапию выражено менее отчетливо (частичное перекрытие точек подгрупп на графике), что указывает на более тонкие метаболические отличия между пациентами с различным ответом на терапию. Тем не менее дальнейший унивариантный анализ позволил выявить ряд отдельных метаболитов, концентрации которых статистически значимо различались между этими подгруппами до начала лечения (см. таблицу 3 и рисунок 4).

Метаболомные маркеры множественной миеломы

Результаты количественного метаболомного профилирования выявили широкий спектр метаболитов, измененных при ММ по сравнению со здоровыми. Наиболее выраженные различия затрагивают катаболизм триптофана по кинурениновому и серотониновому путям; метаболизм аргинина; профиль свободных аминокислот; уровень ацилкарнитинов. Полный список существенных метаболитов приведен в таблице 2. На рисунке 5 изображены наиболее во-

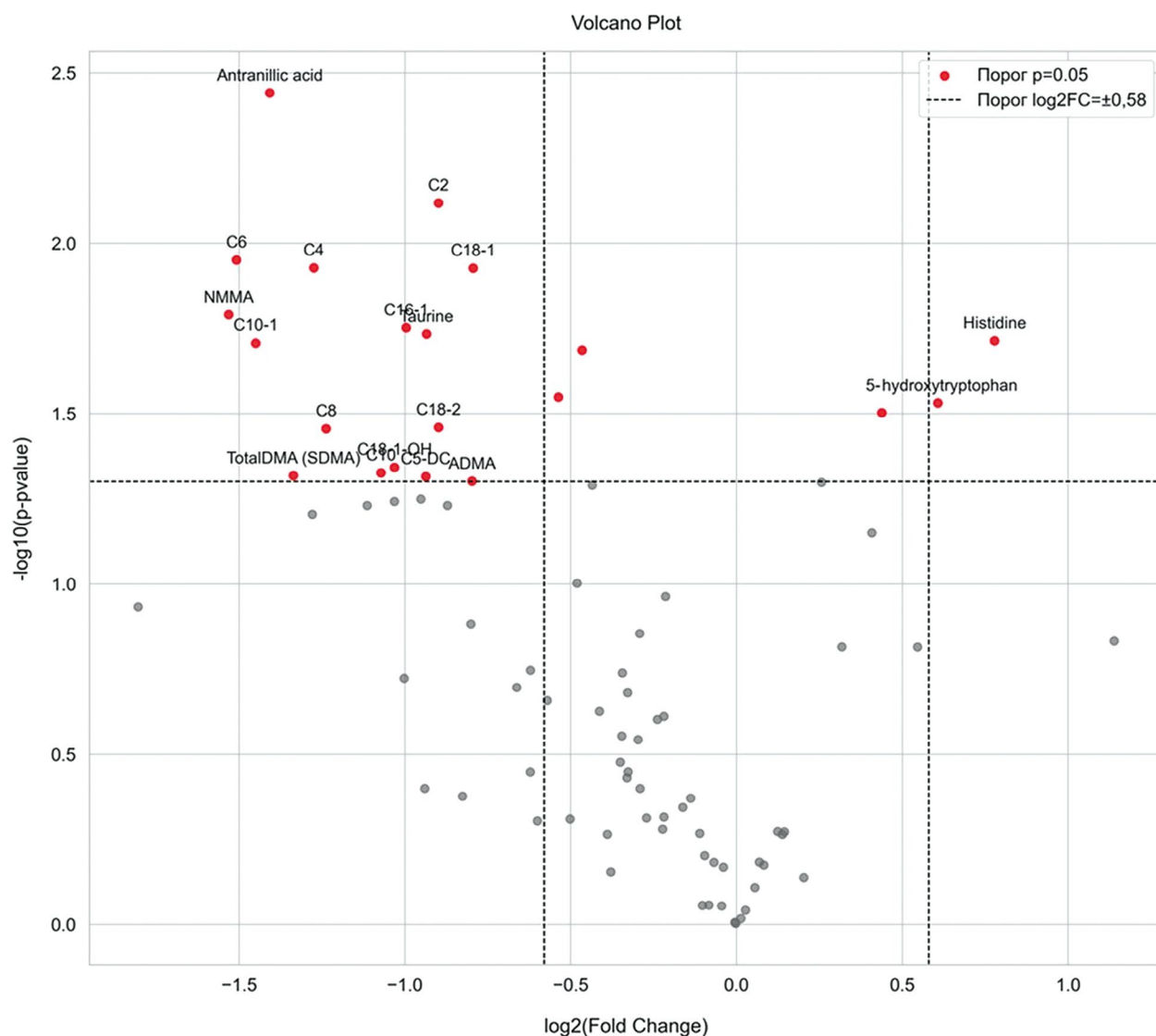


Рисунок 4. Вулканическая диаграмма, отражающая различия в концентрациях метаболитов между подгруппами пациентов с ответом и без ответа на терапию

Figure 4. Volcano plot showing differences in metabolite concentrations between subgroups of patients with and without response to chemotherapy

влеченные метаболические пути. Ниже обсуждаются ключевые изменения и их возможное биологическое значение.

Триптофановый путь

У пациентов с ММ обнаружены отчетливые нарушения обмена триптофана. На рисунке 6 изображена схема метаболизма триптофана с указанием изменений концентраций метаболитов.

Концентрация самого триптофана в плазме была несколько ниже, чем у здоровых ($\log_2FC = -0.32$; $p < 0.00001$), однако особенно заметны изменения в его производных. В образцах больных резко снижены уровни нейромедиатора серотонина ($\log_2FC = -2.07$; $p < 0.00001$) и его производного мелатонина. Одно-

временно значительно повышены метаболиты альтернативного кинуренинового пути (соотношение кинуренин/триптофан увеличено: $\log_2FC = 0.49$; $p < 0.00001$), а также абсолютные концентрации нескольких катаболитов триптофана – кинуреновой кислоты, хинолиновой кислоты, индол-3-карбоксальдегида, индол-3-молочной кислоты ($\log_2FC = 0.42-1.14$; $p < 0.00001$). Эти сдвиги указывают на активацию фермента TDO2 (триптофан-диоксигеназа 2), катализирующего превращение триптофана в кинуренин и экспрессирующегося клетками ММ, и, как следствие, усиление кинуренинового пути при ММ [7, 16]. Следствием является истощение пула триптофана, доступного для синтеза серотонина, что объясняет снижение уровня серотонина у больных.

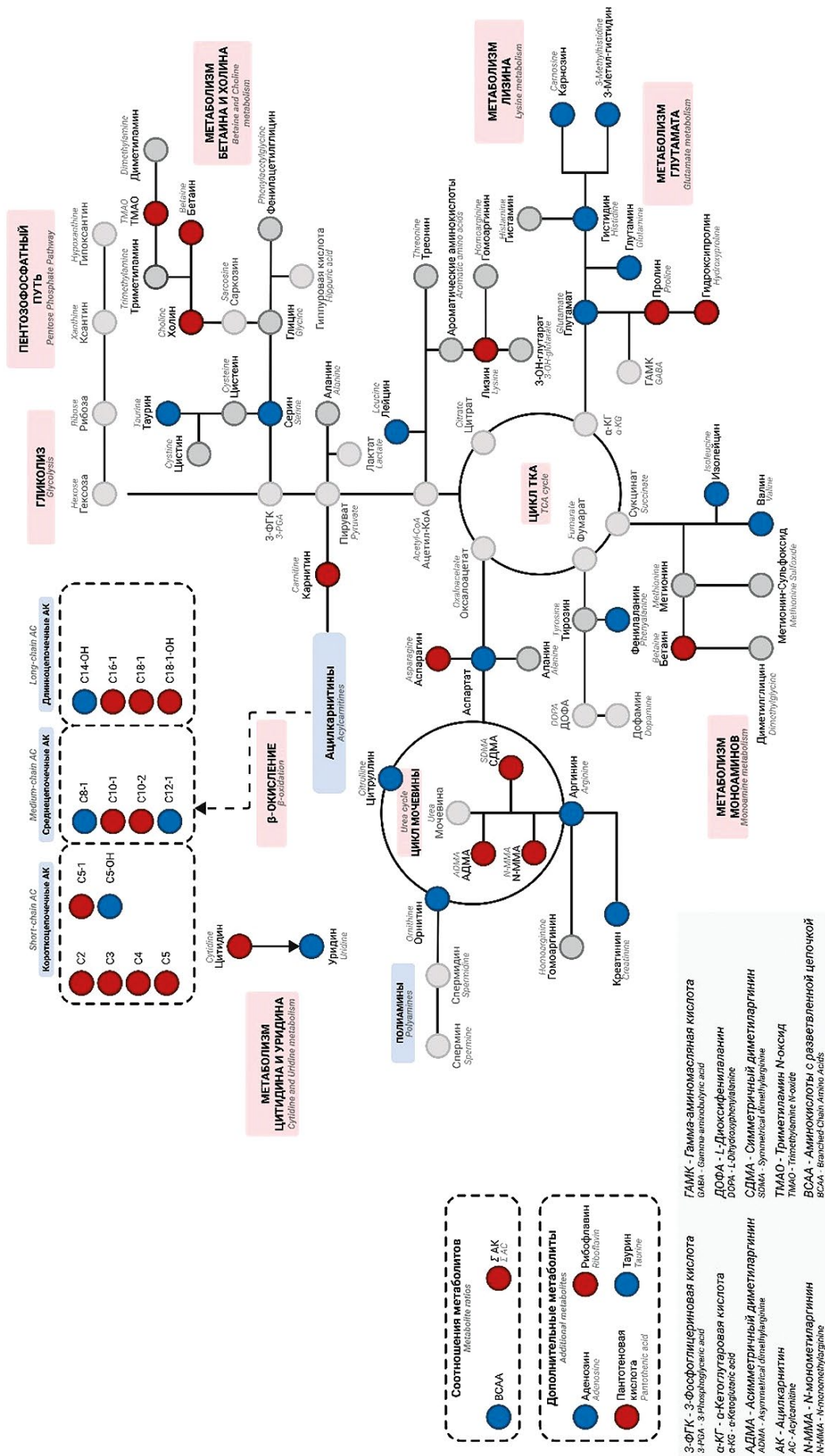


Рисунок 5. Общая схема метаболизма, отражающая изменения метаболического профиля, характерные для множественной миеломы.

Красным цветом отмечены метаболиты с повышенными концентрациями, синим – с пониженными

Figure 5. General outline of the changes in the metabolomic profile characteristic of MM.

Metabolites with increased concentrations are marked in red, and those with decreased concentrations are marked in blue

Полученные данные согласуются с результатами других исследований: так, показано, что активность TDO и повышение соотношения Куп/Трп являются характерными признаками ММ и коррелируют с агрессивностью течения заболевания [7]. Также было показано, что высокий уровень кинуренина и высокий коэффициент Куп/Трп ассоциированы с худшим прогнозом и сокращением выживаемости при ММ [13, 17]. В исследованиях на культуре клеток отмечалось, что накопление кинуренина и связанных метаболитов подавляет пролиферацию и функцию Т-клеток, что приводит к снижению противоопухолевого иммунитета [18].

Хинолиновая кислота представляет собой метаболит кинуренинового пути и одновременно является предшественником никотинамидадениндинуклеотида (NAD^+) – важного кофактора, участвующего в репарации ДНК и обеспечении выживания клеток [19]. Повышенные уровни хинолиновой кислоты могут быть связаны с усиленной продукцией NAD^+ , что способствует клеточной пластичности, инвазивности и хеморезистентности опухолевых клеток. Дополнительно синтез NAD^+ из хинолиновой кислоты повышает способность опухолевых клеток справляться с окислительным стрессом, индуцированным химио- или радиотерапией, снижая уровень апоптоза и повышая клеточную выживаемость. Более того, NAD^+ является критически важным кофактором для работы ферментов, таких как PPAR, которые участвуют в репарации ДНК. Повышенные уровни NAD^+ способствуют более эффективному восстановлению повреждений ДНК, вызванных химиотерапией, тем самым снижая эффективность лечения [20]. Таким образом, активация триптофанового обмена по кинуреновому пути у пациентов с ММ представляет важный механизм патогенеза, потенциально снижающий эффективность противоопухолевого иммунитета и обеспечивающий резистентность опухоли. Перспективным направлением является таргетирование данного пути (например, ингибиторами TDO или другими блокаторами кинуренинового каскада) с целью усиления иммунного ответа на опухоль [21, 22].

Метаболизм аргинина, цикл мочевины и оксида азота

Вторым значимым каскадом изменений при ММ стал цикл мочевины и связанные с ним пути синтеза оксида азота. На рисунке 7 изображена схема метаболизма с указанием измененных метаболитов.

В плазме пациентов обнаружено снижение уровня аргинина ($\log_2\text{FC} = -0,48, p < 0,00001$) при одновре-

менном повышении метилированных производных аргинина – асимметричного и симметричного диметиларгинина (АДМА и СДМА) и N-мометиларгинина (N-MMA), концентрации которых у больных увеличены в несколько раз (АДМА: $\log_2\text{FC} = 2,41, p < 0,00001$; N-MMA: $\log_2\text{FC} = 1,75, p < 0,00001$; СДМА: $\log_2\text{FC} = 1,89, p < 0,00001$). Орнитин – продукт распада аргинина под действием аргиназы – у пациентов был не повышен, а напротив, умеренно понижен ($\log_2\text{FC} = -0,32, p < 0,00001$). Также снижена концентрация цитруллина ($\log_2\text{FC} = -1,03, p < 0,00001$), образующегося из аргинина при реакции синтеза оксида азота. Снижение L-аргинина может быть следствием гиперактивации фермента аргиназы (например, вырабатываемой миелоидными супрессорными клетками в костном мозге), что приводит к превращению аргинина в орнитин и мочевины и истощению его пула [23]. Доказано, что при ММ повышенная активность аргиназы-1 в клетках микроокружения коррелирует с прогрессированием опухоли и сопровождается системным падением уровня L-аргинина, что ведет к угнетению Т-клеточного ответа [15]. В модельных экспериментах фармакологическое ингибирование аргиназы способствовало восстановлению функции Т-лимфоцитов и замедлению роста опухоли [15]. Таким образом, дефицит аргинина у наших пациентов, вероятно, вносит вклад в иммунодисфункцию при ММ.

Повышение концентрации АДМА – эндогенного ингибитора NO-синтазы – представляет другой важный фактор. АДМА образуется при распаде метилированных белков и конкурентно угнетает синтез оксида азота (NO) из аргинина [24]. Увеличение АДМА и СДМА согласуется с результатами предыдущих исследований [17, 25–27].

В нашем исследовании уровень АДМА в плазме пациентов в 5–6 раз превышал таковой у здоровых, что согласуется с имеющимися данными о роли АДМА как маркера эндотелиальной дисфункции и сердечно-сосудистых осложнений [25].

Последствия увеличения АДМА – снижение биодоступности NO – могут способствовать сосудистым нарушениям и гипотетически – иммунным сдвигам (NO участвует в цитотоксической активности иммунных клеток). В целом выявленные нами изменения указывают на дисбаланс в системе Arg-NO: дефицит аргинина и избыток ингибиторов NO-синтазы могут создавать проопухолевое, иммуносупрессивное микроокружение. Дальнейшие исследования необходимы для выяснения, можно ли использовать коррекцию этого пути (например, добавление L-аргинина или применение ингибиторов аргиназы) для улучшения иммунного статуса и эффективности лечения ММ.

Аминокислотный профиль

Большое количество изменений в аминокислотном профиле плазмы было связано с ММ. Уровни аминокислот, таких как серин ($\log_2FC = -1,10$, $p < 0,00001$), аспартат ($\log_2FC = -1,73$, $p < 0,0001$), глутамат ($\log_2FC = -0,50$, $p < 0,0001$), фенилаланин ($\log_2FC = -0,38$, $p < 0,0001$), гистидин ($\log_2FC = -0,46$, $p < 0,001$), метилгистидин ($\log_2FC = -0,99$, $p < 0,0001$), валин ($\log_2FC = -0,22$, $p < 0,001$), и общее содержание аминокислот с разветвленной цепью (BCAA, лейцин + изолейцин + валин, $\log_2FC = -0,19$, $p < 0,001$) были снижены в сравнении с контролем. В то же время уровни некоторых аминокислот были выше в группе с ММ. Так, наблюдалось увеличение лизина ($\log_2FC = 0,95$, $p < 0,00001$), гидроксипролина ($\log_2FC = 0,68$, $p < 0,0001$), пролина ($\log_2FC = 0,32$, $p < 0,001$) и аспарагина ($\log_2FC = 0,26$, $p < 0,001$) по сравнению с контролем. Увеличение гидроксипролина примечательно тем, что этот метаболит образуется при распаде коллагена [29]. Его избыток в плазме может указывать на активную деградацию костного матрикса, что согласуется с клинической картиной ММ, характеризующейся остеолитическими поражениями костей.

Снижение уровня BCAA при ММ соответствует данным литературы: у пациентов с ММ на момент диагностики концентрации BCAA в крови, как правило, ниже, чем у здоровых добровольцев [4, 17, 25, 29]. BCAA также могут указывать на метаболическое перепрограммирование клеток ММ в сторону получения энергии. В реакции, катализируемой трансферазой аминокислот с разветвленной цепью (BCAT), аминокислота BCAA переносится на α -кетоглутарат, в результате чего образуется глутамат и α -кетокислота с разветвленной цепью (BCKA). Затем BCKA метаболизируются через цепь реакций, которые приводят к синтезу сукцинил-КоА или ацетил-КоА [30]. Ранее BCAA были связаны с развитием и прогрессией опухолей [31, 32]. Помимо этого, экспрессия LAT1 – основного переносчика BCAA – коррелирует с прогрессией ММ и стадией заболевания. Также BCAA необходимы для бета-окисления жирных кислот, поскольку служат субстратом для синтеза короткоцепочечных ацилкарнитинов (АК) [33].

Ацилкарнитины и энергетический обмен

Одним из наиболее характерных отличий метаболического профиля ММ стало повышение уровня ацилкарнитинов в плазме. Ацилкарнитины представляют собой производные карнитина, связанные с различными ацильными группами (остатками жирных кислот); они являются промежуточными продуктами бета-окисления жирных кислот в митохондриях. У пациентов с ММ отмечено достоверное увеличение суммарной концентрации ацилкарнитинов примерно в 1,4 раза относительно контроля ($p < 0,01$). Уровни большинства определяемых ацилкарнитинов вне зависимости от длины ацильного радикала были

значительно повышены (см. таблицу 2.) В сумме карнитиновый профиль сместился в сторону накопления ряда ацильных остатков

Данные наблюдения совпадают с результатами предыдущих исследований [7, 27]. С помощью схожего целевого метаболомного анализа было показано, что в сыворотке больных ММ значительно повышены свободный карнитин (C0), ацетилкарнитин (C2) и несколько длинноцепочечных ацилкарнитинов (C14:1, C16, C18, C18:1, C18:2) по сравнению со здоровым контролем [7]. Предположительно, накопление ацилкарнитинов отражает перегрузку путей окисления жирных кислот и митохондриальную дисфункцию в условиях раковой кахексии или при непосредственном воздействии опухоли на метаболизм печени и мышц [7]. Избыток ацилкарнитинов может указывать на неполное расщепление жирных кислот: когда β -окисление не успевает полностью утилизировать поступающие жирные кислоты, избыточные ацильные фрагменты буферизуются в виде ацилкарнитинов. Отмечено, что даже на ранних стадиях ММ без тяжелой кахексии профили ацилкарнитинов отличаются от нормы, поэтому данные изменения, вероятно, являются частью опухоли-ассоциированного метаболического фенотипа [7].

Интересно, что в нашей работе повышены не только длинноцепочечные ацилкарнитины, но и короткие (C3, C4, C5). Рост пропионил- и бутирилкарнитинов может свидетельствовать об активации катаболизма BCAA (уровни которых были снижены) и некоторых других процессов, приводящих к образованию пропионил-КоА. Также увеличение C3- и C5-карнитинов ранее связывали с нарушениями микробиоты кишечника [34], приводящими к повышенному производству пропионата и масляной кислоты, однако в контексте ММ это пока не изучено.

Отличия метаболомных профилей в зависимости от ответа на терапию

Одной из задач исследования было выявить, существуют ли в исходном метаболомном профиле пациента маркеры, ассоциированные с будущей эффективностью терапии. Для этого мы сравнили уровни метаболитов до лечения у больных, впоследствии ответивших на терапию ($n = 15$), и у больных без эффекта ($n = 11$). Статистически значимые отличия между этими подгруппами представлены в таблице 3 и на рисунках 4 и 8.

Выявлено, что у пациентов без ответа на терапию концентрации ряда метаболитов были изначально выше по сравнению с пациентами, ответившими на лечение. В группе без ответа отмечались достоверно более высокие уровни некоторых метаболитов, в частности антракиловой кислоты ($\log_2FC = 1,4$; $p < 0,01$) и таурина ($\log_2FC = 0,9$, $p < 0,05$). Повышение уровня таурина представляет интерес, поскольку его обычно называют метаболитом, который модулирует

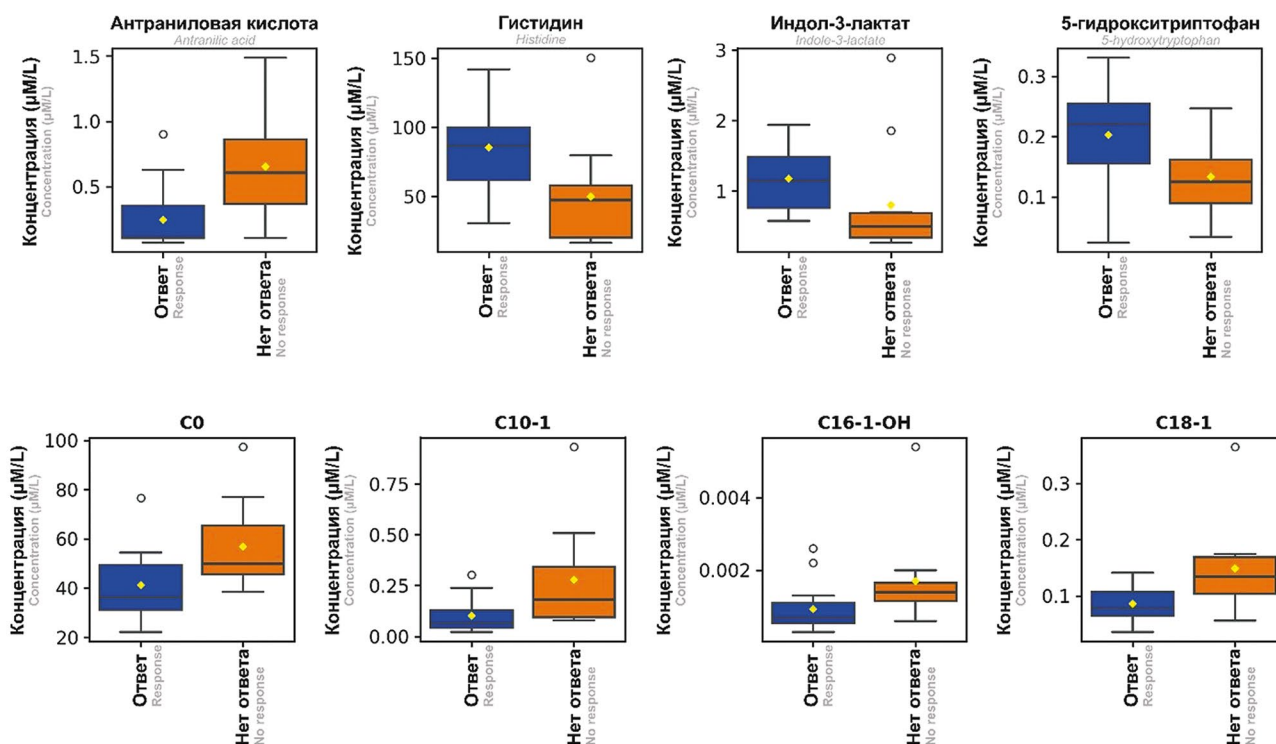


Рисунок 8. Коробчатые диаграммы значительно различающихся метаболитов в группах с различными ответами на терапию

Figure 8. Box-plots of significantly changed metabolites between different treatment responses

противоопухолевый иммунитет. Однако, когда опухолевые клетки сверхэкспрессируют белок-транспортер таурина SLC6A6, они могут успешно конкурировать за свободный таурин с CD8⁺-Т-клетками. Такое обкрадывание позволяет опухолевым клеткам использовать таурин для собственных нужд, одновременно снижая активность иммунных клеток [31].

Наибольшие различия затронули профиль ацилкарнитинов. Почти все значимые типы ацилкарнитинов показали более высокие исходные концентрации у пациентов, не ответивших на терапию, по сравнению с пациентами, достигшими ответа на терапию. Наши результаты коррелируют с результатами da Silva et al. (2020) [27], где с увеличением стадии заболевания по классификации ISS росли уровни ацилкарнитинов. В то же время в исследовании Lodi et al. (2013) [36] при сравнении пациентов с активным заболеванием, в стадии ремиссии и после рецидива заболевания уровень ацилкарнитинов значительно повышался на более поздних стадиях заболевания. Ацилкарнитины необходимы клетке для получения энергии путем окисления жирных кислот. Повышение их концентраций может отражать повышенную активность данного пути у пациентов без ответа. Клетки множественной миеломы существуют в области с высокой доступностью жиров и часто окружены большим количеством адипоцитов. В исследовании Falank et al. наблюдалась редукция адипоцитов костно-

го мозга при совместном культивировании этих клеток с клетками ММ, что говорит об активном процессе потребления липидов опухолевыми клетками [37].

Напротив, уровни некоторых других метаболитов были ниже в группе пациентов, не ответивших на лечение. В данной группе наблюдались тенденции к более низким исходным уровням 5-гидрокситриптофана (промежуточного продукта синтеза серотонина; $\log_2 FC = -0,6$; $p < 0,05$), индол-3-молочной кислоты ($\log_2 FC = -0,5$, $p < 0,05$) и лизина ($\log_2 FC = -0,4$, $p < 0,05$). Также в данной группе наблюдался низкий исходный уровень аминокислоты гистидина ($\log_2 FC = -0,8$; $p < 0,01$), важной для функционирования иммунной системы. Более низкие уровни индол-3-лактата – метаболита кишечной микробиоты – могут отражать влияние кишечной микробиоты на противоопухолевый иммунитет. Так, индол-3-лактат, полученный из бактерий рода *Lactobacillus*, подавляет развитие колоректального рака путем эпигенетической регуляции CD8⁺-Т-клеток [38]. Низкие уровни этого метаболита говорят об отсутствии этого эффекта в группе пациентов без ответа на терапию. При этом применение пробиотических *Lactobacillus reuteri* в исследовании на мышах увеличивало эффективность терапии ингибиторами иммунных контрольных точек [39]. Возможно, применение пробиотиков, относящихся к роду *Lactobacillus*, поможет увеличить эффективность терапии ММ.

Другой метаболит, для которого было описано применение как сенсibiliзирующего агента, – гистидин – был снижен в группе без ответа. Гистидин – незаменимая аминокислота, обладает множеством метаболических функций, в том числе влияет на прогрессирование опухоли, чувствительность к лекарствам и иммунные реакции при различных видах рака. Так, прием гистидина повышает эффективность химиотерапевтических препаратов, таких как гемцитабин и метотрексат, нарушая гомеостаз аминокислот в раковых клетках, усиливая окислительный стресс и истощая запасы глутатиона, что делает раковые клетки более уязвимыми к компонентам терапии [40–43]. Помимо этого, гистидин – богатый гликопротеин (HRGP), содержащий богатые гистидином участки, может модулировать опухолевое микроокружение, способствуя поляризации макрофагов в сторону противоопухолевого фенотипа, усиливая иммуноопосредованное подавление опухоли [42, 44] и снижая экспрессию PD-1, тем самым усиливая функции естественных клеток-киллеров [45].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Наше исследование подтверждает наличие характерного метаболического профиля при множественной миеломе, включающего активацию кинуренинового пути триптофана, дефицит аргинина, снижение BCAA и накопление ацилкарнитиннов. Эти сдвиги отражают нарушения иммунного и энергетического обмена и могут способствовать снижению эффективности противоопухолевого ответа. Впервые показано, что базовые уровни отдельных метаболитов (например, антралиновой кислоты и ацилкарнитиннов) коррелируют с ответом на химиотерапию, что позволяет рассматривать их как потенциальные прогностические маркеры. Перспективным направлением являются метаболомный мониторинг и таргетная коррекция нарушенных путей (ингибирование TDO2 и аргиназы), способные усилить эффективность терапии. Эти данные открывают перспективы для использования метаболомных биомаркеров в прогнозировании и персонализации лечения. Основным ограничением исследования была маленькая выборка пациентов и применение лишь одного протокола лечения. В связи с этим необходима валидация результатов на более широкой выборке пациентов с применением различных протоколов лечения.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Cowan A.J., Green D.J., Kwok M., Lee S., Coffey D.G., Holmberg L.A., Tuazon S., Gopal A.K., Libby E.N. Diagnosis and Management of Multiple Myeloma. *JAMA*. 2022;327(5):464–477. DOI: 10.1001/jama.2022.0003.
2. Rodríguez-Lobato L.G., De Daniel A., Pereira A., Fernández De Larrea C., Tovar N., Cibeira M.T., Moreno D.F., Mateos J.M., Llobet N., Carcelero E., Munárriz D., Bladé J., Rosiñol L. Attrition rates and treatment outcomes in multiple myeloma: real-world data over a 40-year period. *Blood Cancer Journal*. 2025;15(1):103. DOI: 10.1038/s41408-025-01311-y.
3. Mohty M., Facon T., Malard F., Harousseau J.-L. A roadmap towards improving outcomes in multiple myeloma. *Blood Cancer Journal*. 2024;14(1):135. DOI: 10.1038/s41408-024-01115-6.
4. Zhao R., Xie Y., Yang B., Wang C., Huang Q., Han Y., Yang L., Yan S., Wang X., Fu C., Wu D., Wu X. Identification of metabolic biomarkers to predict treatment outcome and disease progression in multiple myeloma. *American Journal of Cancer Research*. 2020;10(11):3935–3946.
5. Nong S., Han X., Xiang Y., Qian Y., Wei Y., Zhang T., Tian K., Shen K., Yang J., Ma X. Metabolic reprogramming in cancer: Mechanisms and therapeutics. *MedComm*. 2023;4(2):e218. DOI: 10.1002/mco2.218.
6. Wei Y., Wang J., Chen F., Li X., Zhang J., Shen M., Tang R., Huang Z. Serum Abnormal Metabolites for Evaluating Therapeutic Response and Prognosis of Patients With Multiple Myeloma. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:808290. DOI: 10.3389/fonc.2022.808290.
7. Steiner N., Müller U., Hajek R., Sevcikova S., Borjan B., Jöhner K., Göbel G., Pircher A., Gunsilius E. The metabolomic plasma profile of myeloma patients is considerably different from healthy subjects and reveals potential new therapeutic targets. *PLoS ONE*. 2018;13(8):e0202045. DOI: 10.1371/journal.pone.0202045.
8. Markin P.A., Brito A., Moskaleva N., Lartsova E.V., Shpot Y.V., Lerner Y.V., Mikhajlov V.Y., Potoldykova N.V., Enikeev D.V., La Frano M.R., Appolonova S.A. Plasma metabolomic profile in prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer and associations with the prostate-specific antigen and the Gleason score. *Metabolomics*. 2020;16(7):74. DOI: 10.1007/s11306-020-01694-y.
9. Shestakova K.M., Moskaleva N.E., Boldin A.A., Rezvanov P.M., Shestopalov A.V., Rummyantsev S.A., Zlatnik E.Yu., Novikova I.A., Sagakyants A.B., Timofeeva S.V., Simonov Yu., Baskhanova S.N., Tobolkina E., Rudaz S., Appolonova S.A. Targeted metabolomic profiling as a tool for diagnostics of patients with non-small-cell lung cancer. *Scientific Reports*. 2023;13(1):11072. DOI: 10.1038/s41598-023-38140-7.
10. Sun Y., Zhang X., Hang D., Lau H.C.-H., Du J., Liu C., Xie M., Pan Y., Wang L., Liang C., Zhou X., Chen D., Rong J., Zhao Z., Cheung A.H.-K., Wu Y., Gou H., Wong C.C., Du L., Deng J., Hu Z., Shen H., Miao Y., Yu J. Integrative plasma and fecal metabolomics identify functional metabolites in adenoma-colorectal cancer progression and as early diagnostic biomarkers. *Cancer Cell*. 2024;42(8):1386–1400.E8. DOI: 10.1016/j.jccell.2024.07.005.
11. Fei F., Zheng M., Xu Z., Sun R., Chen X., Cao B., Li J. Plasma Metabolites Forecast Occurrence and Prognosis for Patients With Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Frontiers in Oncology*. 2022;12:894891. DOI: 10.3389/fonc.2022.894891.
12. Varzieva V.G., Mesonzhnik N.V., Ilgisonis I.S., Belenkov Y.N., Kozhevnikova M.V., Appolonova S.A. Metabolomic biomarkers of multiple myeloma: A systematic review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Reviews on Cancer*. 2024;1879(5):189151. DOI: 10.1016/j.bbcan.2024.189151.
13. Asano A., Ri M., Masaki A., Maeda Y., Tachita T., Hirade K., Marumo Y., Nakashima T., Hagiwara S., Kinoshita S., Suzuki T., Narita T., Kusumoto S., Komatsu H., Inaga-

- ki H., Iida S. Aberrant tryptophan metabolism leads to unfavorable outcomes in lenalidomide-treated myeloma patients. *Hematological Oncology*. 2023;41(3):424–433. DOI: 10.1002/hon.3108.
14. León-Letelier R.A., Dou R., Vykoukal J., Sater A.H.A., Ostrin E., Hanash S., Fahrman J.F. The kynurenine pathway presents multi-faceted metabolic vulnerabilities in cancer. *Frontiers in Oncology*. 2023;13:1256769. DOI: 10.3389/fonc.2023.1256769.
 15. Ramji K., Grzywa T.M., Sosnowska A., Paterek A., Okninska M., Pilch Z., Barankiewicz J., Garbicz F., Borg K., Banny-Laszewicz U., Zerrouqi A., Pyrzynska B., Rodziejewicz-Lurzynska A., Papiernik D., Sklepkiwicz P., Kedzierska H., Staruch A., Sadowski R., Ciepiela O., Lech-Maranda E., Juszczyński P., Mackiewicz U., Maczewski M., Nowis D., Golab J. Targeting arginase-1 exerts antitumor effects in multiple myeloma and mitigates bortezomib-induced cardiotoxicity. *Scientific Reports*. 2022;12(1):19660. DOI: 10.1038/s41598-022-24137-1.
 16. Reinke J.G., Peng P., Petrusca D.N., Chaudhry K., Carlson L., Schorr C.R., Lee K.P. Role of Tryptophan Metabolizing Enzymes in Multiple Myeloma Survival. *Blood*. 2024;144(Supplement 1):3350. DOI: 10.1182/blood-2024-211044.
 17. Gonsalves W.I., Broniowska K., Jessen E., Petterson X.-M., Bush A.G., Gransee J., Lacy M.Q., Hitosugi T., Kumar S.K. Metabolomic and Lipidomic Profiling of Bone Marrow Plasma Differentiates Patients with Monoclonal Gammopathy of Undetermined Significance from Multiple Myeloma. *Scientific Reports*. 2020;10(1):10250. DOI: 10.1038/s41598-020-67105-3.
 18. Ray A., Song Y., Du T., Tai Y.-T., Chauhan D., Anderson K.C. Targeting tryptophan catabolic kynurenine pathway enhances antitumor immunity and cytotoxicity in multiple myeloma. *Leukemia*. 2020;34(2):567–577. DOI: 10.1038/s41375-019-0558-x.
 19. Gouasmi R., Ferraro-Peyret C., Nancey S., Coste I., Renno T., Chaveroux C., Aznar N., Ansieau S. The Kynurenine Pathway and Cancer: Why Keep It Simple When You Can Make It Complicated. *Cancers*. 2022;14(11):2793. DOI: 10.3390/cancers14112793.
 20. Sahm F., Oezen I., Opitz C.A., Radlwimmer B., von Deimling A., Ahrendt T., Adams S., Bode H.B., Guillemin G.J., Wick W., Platten M. The Endogenous Tryptophan Metabolite and NAD⁺ Precursor Quinolinic Acid Confers Resistance of Gliomas to Oxidative Stress. *Cancer Research*. 2013;73(11):3225–3234. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3831.
 21. Han Y., Wang P., Guo Z., Xiang A., Cao S., Chen Y. TDO Target Inhibitor Research Progress Review. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2025;13(03):356–368. DOI: 10.4236/jbm.2025.133027.
 22. Paranthaman P., Veerappapillai S. Identification of putative Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO1) and tryptophan 2,3-dioxygenase (TDO) dual inhibitors for triple-negative breast cancer therapy. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*. 2025;1–19. DOI: 10.1080/07391102.2024.2332509.
 23. Giallongo C., Scandura G., Barbato A., La Spina E., Longhitano L., Zuppelli T., Dulcamare I., Parrinello N.L., Giallongo S., Polito F., Oteri R., Aguenouz M., Palumbo G.A., Lolicato M., Volti G.L., Di Raimondo F., Tibullo D., Romano A. Arginine Deprivation in Microenvironment Makes Multiple Myeloma Resistant to Proteasome Inhibitors Via Increased Lactate Release and Metabolic Rewiring. *Blood*. 2022;140(Supplement 1):7102–3. DOI: 10.1182/blood-2022-170276.
 24. Wilcken D.E.L., Sim A.S., Wang J., Wang X.L. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) in vascular, renal and hepatic disease and the regulatory role of L-arginine on its metabolism. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2007;91(4):309–317. DOI: 10.1016/j.ymgme.2007.04.017.
 25. Yue L., Zeng P., Li Y., Chai Y., Wu C., Gao B. Nontargeted and targeted metabolomics approaches reveal the key amino acid alterations involved in multiple myeloma. *PeerJ*. 2022;10:e12918. DOI: 10.7717/peerj.12918.
 26. Du H., Wang L., Liu B., Wang J., Su H., Zhang T., Huang Z. Analysis of the Metabolic Characteristics of Serum Samples in Patients With Multiple Myeloma. *Frontiers in Pharmacology*. 2018;9:884. DOI: 10.3389/fphar.2018.00884.
 27. Guerreiro da Silva I.D.C., Valadares de Castro Levatti E., Pedroso A.P., Lobo Marchioni D.M., Ferreira Carioca A.A., Braga Colleoni G.W. Biochemical phenotyping of multiple myeloma patients at diagnosis reveals a disorder of mitochondrial complexes I and II and a Hartnup-like disturbance as underlying conditions, also influencing different stages of the disease. *Scientific Reports*. 2020;10(1):21836. DOI: 10.1038/s41598-020-75862-4.
 28. Kuo T.-R., Chen C.-H. Bone biomarker for the clinical assessment of osteoporosis: recent developments and future perspectives. *Biomarker Research*. 2017;5(1):18. DOI: 10.1186/s40364-017-0097-4.
 29. Chanukuppa V., More T.H., Taunk K., Taware R., Chatterjee T., Sharma S., Rapole S. Serum metabolomic alterations in multiple myeloma revealed by targeted and untargeted metabolomics approaches: a pilot study. *RSC Advances*. 2019;9(51):29522–29532. DOI: 10.1039/C9RA04458B.
 30. Peng H., Wang Y., Luo W. Multifaceted role of branched-chain amino acid metabolism in cancer. *Oncogene*. 2020;39(44):6747–6756. DOI: 10.1038/s41388-020-01480-z.
 31. Jung M.K., Okekunle A.P., Lee J.E., Sung M.K., Lim Y.J. Role of Branched-chain Amino Acid Metabolism in Tumor Development and Progression. *Journal of Cancer Prevention*. 2021;26(4):237–43. DOI: 10.15430/JCP.2021.26.4.237.
 32. Wang J., Wang W., Zhu F., Duan Q. The role of branched chain amino acids metabolic disorders in tumorigenesis and progression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2022;153:113390. DOI: 10.1016/j.biopha.2022.113390.
 33. McCann M.R., George De La Rosa M.V., Rosania G.R., Stringer K.A. L-Carnitine and Acylcarnitines: Mitochondrial Biomarkers for Precision Medicine. *Metabolites*. 2021;11(1):51. DOI: 10.3390/metabo11010051.
 34. Lemons J.M.S., Conrad M., Tanes C., Chen J., Friedman E.S., Roggiani M., Curry D., Chau L., Hecht A.L., Harling L., Vales J., Kachelries K.E., Baldassano R.N., Goulian M., Bittinger K., Master S.R., Liu L., Wu G.D. Enterobacteriaceae Growth Promotion by Intestinal Acylcarnitines, a Biomarker of Dysbiosis in Inflammatory Bowel Disease. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*. 2024;17(1):131–48. DOI: 10.1016/j.jcmgh.2023.09.005.
 35. Flemming A. Tumour cell consumption of taurine exhausts CD8⁺ T cells. *Nature Reviews Immunology*. 2024;24(5):306–306. DOI: 10.1038/s41577-024-01032-6.
 36. Lodi A., Tiziani S., Khanim F.L., Günther U.L., Viant M.R., Morgan G.J., Bunce C.M., Drayson M.T. Proton NMR-Based Metabolite Analyses of Archived Serial Paired Serum

- and Urine Samples from Myeloma Patients at Different Stages of Disease Activity Identifies Acetylcarnitine as a Novel Marker of Active Disease. *PLoS ONE*. 2013;8(2):e56422. DOI: 10.1371/journal.pone.0056422.
37. Falank C., Fairfield H., Farrell M., Reagan M. New Bone Cell Type Identified As Driver of Drug Resistance in Multiple Myeloma: The Bone Marrow Adipocyte. *Blood*. 2017;130:122. DOI: 10.1182/blood.V130.Suppl_1.122.122.
 38. Zhang Q., Zhao Q., Li T., Lu L., Wang F., Zhang H., Liu Z., Ma H., Zhu Q., Wang J., Zhang X., Pei Y., Liu Q., Xu Y., Qie J., Luan X., Hu Z., Liu X. Lactobacillus plantarum-derived indole-3-lactic acid ameliorates colorectal tumorigenesis via epigenetic regulation of CD8+ T cell immunity. *Cell Metabolism*. 2023;35(6):943–960.E9. DOI: 10.1016/j.cmet.2023.04.015.
 39. Bender M. J., McPherson A. C., Phelps C. M., Pandey S. P., Laughlin C. R., Shapira J. H., Medina Sanchez L., Rana M., Richie T. G., Mims T. S., Gocher-Demske A. M., Cervantes-Barragan L., Mullett S. J., Gelhaus S. L., Bruno T. C., Cannon N., McCulloch J. A., Vignali D. A. A., Hinterleitner R., Joglekar A. V., Pierre J. F., Lee S. T. M., Davar D., Zarour H. M., Meisel M. Dietary tryptophan metabolite released by intratumoral Lactobacillus reuteri facilitates immune checkpoint inhibitor treatment. *Cell*. 2023;186(9):1846–1862.e26. DOI: 10.1016/j.cell.2023.03.011.
 40. Kumar N., Rachagani S., Natarajan G., Crook A., Gopal T., Rajamanickam V., Kaushal J. B., Nagabhishek S. N., Powers R., Batra S. K., Saraswathi V. Histidine Enhances the Anticancer Effect of Gemcitabine against Pancreatic Cancer via Disruption of Amino Acid Homeostasis and Oxidant—Antioxidant Balance. *Cancers*. 2023;15(9):2593. DOI: 10.3390/cancers15092593.
 41. Huang Y., Snuderl M., Jain R. K. Polarization of Tumor-Associated Macrophages: A Novel Strategy for Vascular Normalization and Antitumor Immunity. *Cancer Cell*. 2011;19(1):1–2. DOI: 10.1016/j.ccr.2011.01.005.
 42. Frezza C. Histidine metabolism boosts cancer therapy. *Nature*. 2018;559(7715):484–485. DOI: 10.1038/d41586-018-05573-4.
 43. Kanarek N., Keys H. R., Cantor J. R., Lewis C. A., Chan S. H., Kunchok T., Abu-Remaih M., Freinkman E., Schweitzer L. D., Sabatini D. M. Histidine catabolism is a major determinant of methotrexate sensitivity. *Nature*. 2018;559(7715):632–636. DOI: 10.1038/s41586-018-0316-7.
 44. Pan Y., Deng L., Wang H., He K., Xia Q. Histidine-rich glycoprotein (HRGP): Pleiotropic and paradoxical effects on macrophage, tumor microenvironment, angiogenesis, and other physiological and pathological processes. *Genes & Diseases*. 2022;9(2):381–392. DOI: 10.1016/j.gendis.2020.07.015.
 45. Nishimura Y., Wake H., Teshigawara K., Wang D., Sakaguchi M., Otsuka F., Nishibori M. Histidine-rich glycoprotein augments natural killer cell function by modulating PD-1 expression via CLEC-1B. *Pharmacology Research & Perspectives*. 2019;7(3):e00481. DOI: 10.1002/prp2.481.