

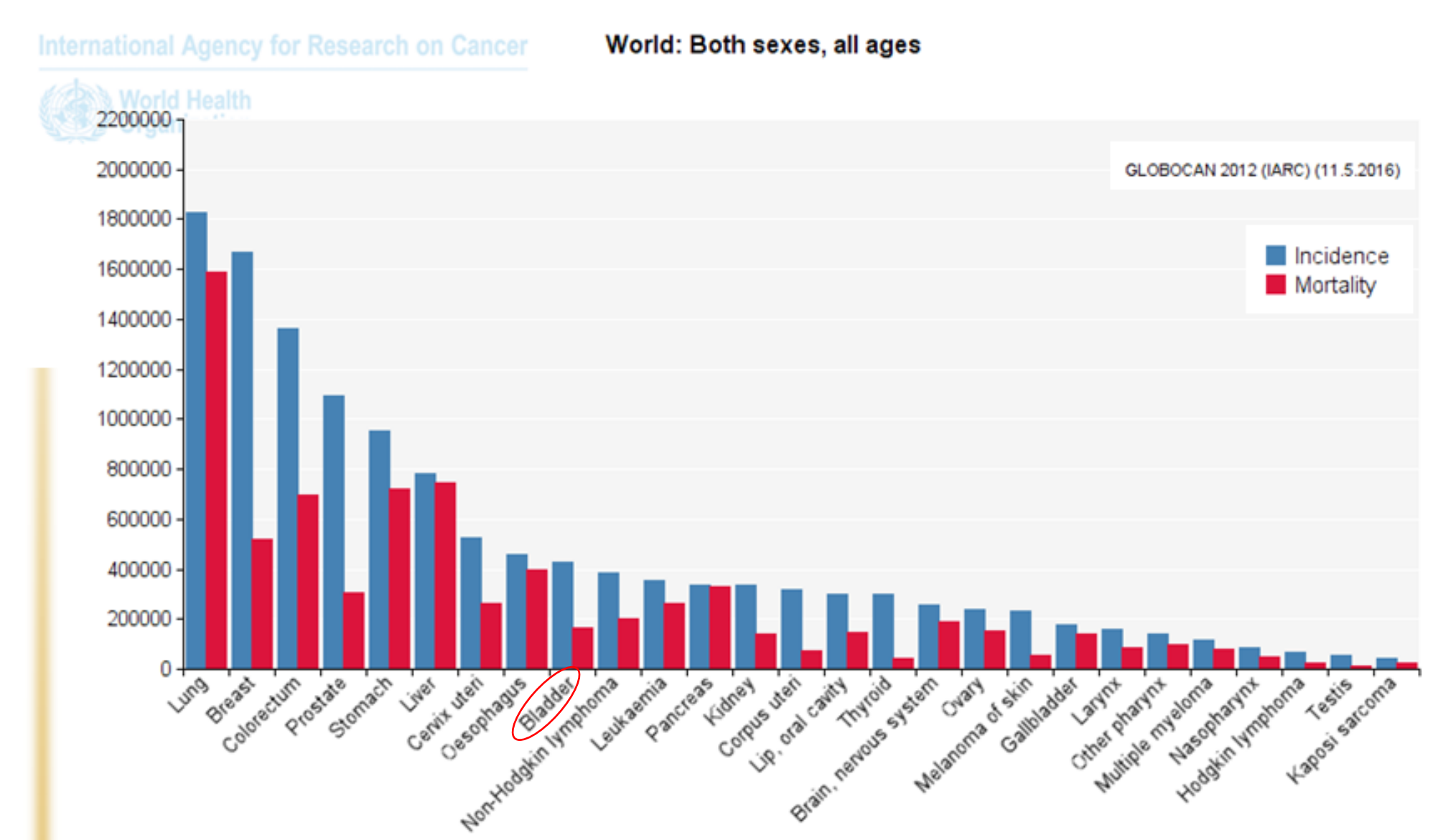
# NIECELOWANA ANALIZA METABOLOMICZNA W PUNKTACH CZASOWYCH: ZMIANY W PROFILACH METABOLITÓW W PRÓBKACH MOCZU POBRANYCH PRZED I PO RESEKCJI GUZA PĘCHERZA MOCZOWEGO



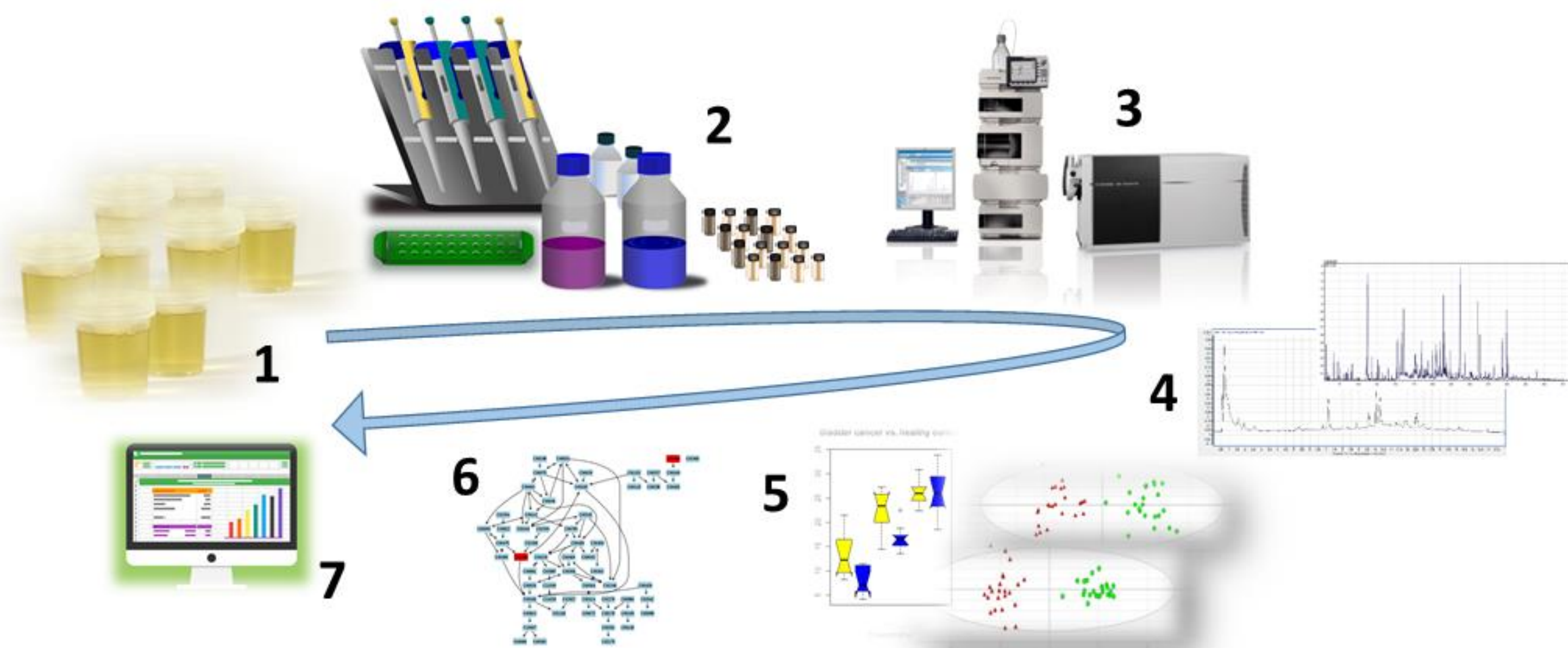
Julia Jacyna<sup>1\*</sup>, Marta Kordalewska<sup>1</sup>, Matgorzata Artymowicz<sup>1</sup>,  
Marcin Markuszewski<sup>2</sup>, Marcin Matuszewski<sup>2</sup>, Michał J. Markuszewski<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Biofarmacji i Farmakodynamiki, Wydział Farmaceutyczny, Gdański Uniwersytet Medyczny  
<sup>2</sup> Katedra i Klinika Urologii, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

**WSTĘP:** Nowotwór pęcherza moczowego (ang. *bladder cancer*, BCa) stanowi dziewiąty wśród najczęściej występujących w populacji ludzkiej nowotworów na świecie [1]. Na podstawie danych demograficznych oraz obserwowanego wzrostu zapadalności na BCa w poprzednich latach, szacuje się, że w 2035 roku liczba nowych przypadków zachorowania na BCa podwoi się w stosunku do roku 2012 [1]. Standardowe metody stosowane w diagnostyce BCa (cystoskopia, badanie ultrasonograficzne, tomografia komputerowa, obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego, urografia lub histopatologiczna ocena pobranych wycinków pęcherza moczowego) wymagają użycia specjalistycznego sprzętu, mogą powodować dyskomfort pacjenta, a także niektóre z nich cechuje niska czułość, przez co dochodzi do przypadków nierozpoznania nowotworu u osoby chorej, najczęściej we wczesnym stadium choroby. Ponadto, badania diagnostyczne w kierunku BCa są zazwyczaj przeprowadzane dopiero w momencie wystąpienia objawów. Wczesne objawy BCa są natomiast bardzo niespecyficzne, przez co są często mylone z oznakami innych schorzeń układu moczowo-płciowego jak np. zapalenie lub kamica pęcherza moczowego. Pojawienie się późniejszych objawów, takich jak bezmocz, ból w podbrzuszu, bóle w okolicy lędźwiowej, następuje zazwyczaj dopiero w zaawansowanym stadium choroby, co powoduje zmniejszenie szans na skuteczne leczenie. Dlatego też, tak ważne jest poznanie dokładnego patomechanizmu BCa oraz stworzenie specyficznych i nieinwazyjnych metod do wczesnego diagnozowania tej jednostki chorobowej.

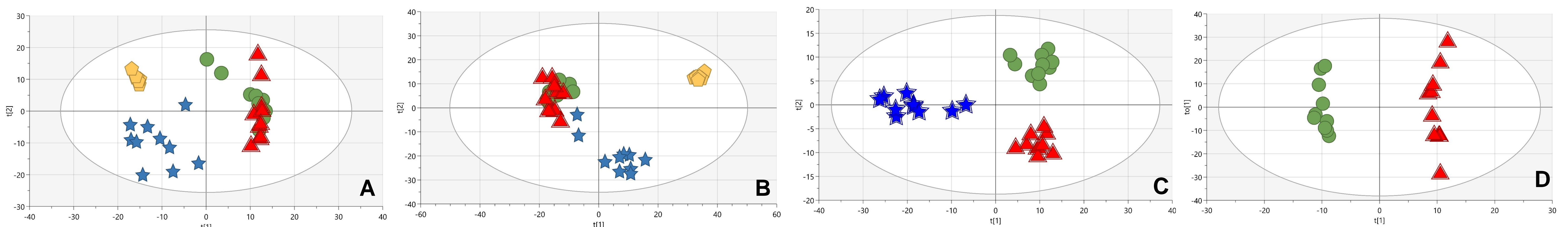


Ryc. 1. Zapadalność i umieralność na najczęściej występujących rodzajach nowotworów na świecie [1].



Ryc. 2. Schemat przedstawiający plan badań: 1) zebranie próbek moczu od pacjentów z BCa w trzech punktach czasowych; 2) przygotowanie próbek (odpowiednio do danej techniki); 3) analiza próbek; 4) przygotowanie uzyskanych danych surowych; 5) analiza statystyczna otrzymanych danych pomiarowych; 6) analiza szlaków biochemicznych dotyczących metabolitów różnicujących badane punkty czasowe; 7) wybór metabolitów do dalszych analiz (celowanej analizy metabolomicznej).

**CEL I SCHEMAT BADANIA:** Prezentowane badanie polegało na przeprowadzeniu niecelowanej analizy metabolomicznej próbek moczu pochodzących od pacjentów ze zdiagnozowanym BCa (*non-muscle invasive BCa*). Badane próbki moczu zostały pobrane w trzech punktach czasowych: przed zabiegiem resekcji guza pęcherza moczowego (ang. *transurethral resection of bladder tumour*, TURBT), dzień po zabiegu oraz dwa tygodnie po zabiegu TURBT – podczas wizyty kontrolnej. Analizy przeprowadzono za pomocą technik LC-MS (RP i HILIC) oraz GC-MS. Uzyskane zestawy danych poddano ekstrakcji, filtracji i normalizacji. Następnie wykorzystano jednowymiarową i wielowymiarową analizę statystyczną w celu wyselekcjonowania metabolitów, których zmierzone poziomy były istotnie statystycznie różne w badanych punktach czasowych. W efekcie otrzymano panel zmiennych różnicujących profile przed i po resekcji guza pęcherza moczowego. Dodatkowo, otrzymane wyniki porównano z danymi uzyskanymi w wyniku przeprowadzenia niecelowanej analizy metabolomicznej próbek moczu pobranych od chorych ze zdiagnozowanym BCa (*muscle invasive BCa*) i zdrowych (nienowotworowych) ochotników [2].



Ryc. 3. Przykładowe modele PCA oraz OPLS-DA zbudowane na podstawie danych uzyskanych na podstawie analiz z wykorzystaniem: A) PCA LC-MS:RP(+); B) PCA LC-MS:HILIC(+); C) OPLS LC-MS:HILIC(-) ( $R^2=0,92$ ,  $Q^2=0,43$ ); D) OPLS LC-MS:HILIC(-) ( $R^2=0,93$ ,  $Q^2=0,17$ ).

LEGENDA: ◆ QCs ▲ przed zabiegiem TURBT ★ po zabiegu TURBT ● dwa tygodnie po zabiegu TURBT (wizyta kontrolna)

**WNIOSKI:** Przeprowadzone analizy statystyczne pozwoliły na wskazanie metabolitów, w tym np. kwasu hipurowego, glutaminy i fenyloacetyloglutaminy, których poziomy różnią się istotnie statystycznie pomiędzy badanymi punktami czasowymi.

Uzyskane wyniki mogą wzbogacić wiedzę na temat patomechanizmu BCa oraz uzupełniają informacje pochodzące z analiz metabolomicznych przeprowadzonych w klasycznym układzie grup badanych 'zdrowy' vs. 'chory'. Dodatkowo, wyselekcjonowane metabolity, różnicujące badane punkty czasowe mogą posłużyć do przeprowadzenia celowanej analizy metabolomicznej, mogącej zweryfikować zaobserwowane zmiany.

## FINANSOWANIE:

Projekt został sfinansowany ze środków Narodowego Centrum Nauki na podstawie decyzji o numerze 2016/23/N/NZ7/02875 oraz zadania badawczego MN finansowanego ze środków MNiSW o numerze 01-0364/08/529.

## PIŚMIENNICTWO:

- [1] <https://gco.iarc.fr/>, Global Cancer Observatory, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization
- [2] Julia Jacyna i wsp., „Urinary metabolomic signature of muscle-invasive bladder cancer: a multiplatform approach”, w: „Talanta”, 2019, 202, 572-579

KONTAKT: julia.jacyna@gumed.edu.pl, marta.kordalewska@gumed.edu.pl, michal.markuszewski@gumed.edu.pl

