

## Amino Acid Profile Alterations in Breast Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis

Bibi Fatemeh Nobakht M. Gh.<sup>1</sup>, Kambiz Gilany<sup>2,3,4✉</sup>

<sup>1</sup>Chemical Injuries Research Center, Systems Biology and Poisoning Institute, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Molecular Engineering & Sciences Institute, Arak University, Arak, Iran.

<sup>3</sup>Reproductive Immunology Research Center, Avicenna Research Institute, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran.

<sup>4</sup>Integrative Oncology Department, Breast Cancer Research Center, Motamed Cancer Institute, the Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran.

Received: 2025/03/01  
Accepted: 2025/06/01

\*Corresponding Author:  
k.gilany@avicenna.ac.ir

Ethics Approval:  
not applicable

### Abstract

**Introduction:** Breast cancer is one of the most common malignancies in women, and its early diagnosis plays a crucial role in improving treatment outcomes. In this regard, the identification of novel biomarkers that can contribute to earlier and more accurate diagnosis of breast cancer is of paramount importance. This meta-analysis was designed to evaluate the feasibility of serum or plasma amino acid concentrations as potential biomarkers for breast cancer.

**Materials and Methods:** A systematic literature search was conducted in PubMed, Scopus, and Embase databases using relevant keywords. The search encompassed all online publications from inception to February 1, 2025. Eligible studies were analyzed using MedCalc software for meta-analysis. Standardized mean differences (SMD) and standard deviations (SD) were used to assess alterations in serum/plasma amino acid levels. Due to high heterogeneity between studies, a random-effects model was employed in the meta-analysis.

**Results:** A total of 12 studies, involving 1,849 participants, met the inclusion criteria for the meta-analysis. Our results showed significant changes in only two out of the 20 amino acids when comparing breast cancer patients to the control group. Individuals with breast cancer exhibited significantly lower serum/plasma tryptophan levels than the control group, while serine levels were increased in the patient population compared to controls.

**Conclusion:** The results of this study demonstrated significant alterations in serum/plasma tryptophan and serine levels in patients with breast cancer. These changes may serve as a foundation for the development of novel diagnostic methods and the improvement of therapeutic approaches for breast cancer.

**Keywords:** Amino acids, Breast cancer, Meta-analysis, Small metabolites



## Introduction

Despite advancements in treatment, breast cancer remains a major global health concern (1). While current therapies have improved outcomes, drug resistance and high mortality rates persist. Early detection and identification of risk factors are crucial for effective management of the disease (2).

Recent research has highlighted the potential of metabolomics, the study of small molecules, as a valuable tool for understanding the metabolic changes associated with breast cancer (3, 4). Studies have shown significant differences in metabolite profiles between breast cancer patients and healthy controls (5, 6). Amino acids, in particular, have emerged as key players in the metabolic reprogramming of cancer cells (7, 8). Abnormal amino acid metabolism is linked to tumor initiation, progression, and immune response (8). These molecules provide essential nutrients for cancer cell growth and survival (7). By analyzing amino acid profiles in various biological fluids, researchers aim to identify potential biomarkers for early detection, risk assessment, and treatment monitoring (9, 10).

This meta-analysis, the first of its kind, investigated amino acid metabolism's role in breast cancer. It aimed to identify key amino acids for early diagnosis and therapeutic assistance, focusing on their significance in tumorigenesis.

## Materials and Methods

### Search Strategy

A systematic literature search was performed in PubMed, Scopus, and Embase databases using keywords and MeSH terms related to amino acids (targeted metabolomics, amino acid, targeted metabonomics, and metabolome) and breast cancer (breast Neoplasm, breast tumor, breast malignant neoplasm, mammary cancer, mammary neoplasm, breast carcinoma, mammary carcinomas, and breast cancer). No restrictions were applied regarding language or other factors, and the search encompassed all available online publications from inception to February 1, 2025. Additionally, the reference lists of the included publications were reviewed to ensure a comprehensive search.

### Eligibility Criteria

Following the identification of relevant sources, a rigorous screening process was

implemented to select studies for inclusion in the analysis. All identified articles were initially organized using EndNote reference management software, and duplicate publications were subsequently removed. A two-stage review process was then conducted by BFNMG. In the first stage, titles, abstracts, and keywords were evaluated. Studies involving adult human subjects and employing a case-control design were included. Exclusion criteria comprised irrelevant studies, case reports, non-original research (e.g., review articles, meta-analyses, books, etc.), conference abstracts, studies without a control group, clinical trials, studies published in languages other than English, studies with inaccessible full texts or supplementary files, and studies focused on animals, plants, cell cultures, or computational research. The second author (KG) was consulted to resolve any ambiguities.

### Quality Assessment

The quality of the included case-control studies was assessed using the Newcastle-Ottawa Scale (NOS). This protocol assesses the quality of studies included in meta-analyses across three key criteria: selection (maximum 4 stars), comparability (maximum 2 stars), and exposure (this criterion does not apply to the current study).

### Data Collection

Data extraction included the names of authors, year of publication, geographic location, sample size, type of biological sample, disease severity, and the technique used for measuring amino acids. Additionally, concentrations of amino acids, along with their standard deviations were extracted from the included articles.

### Statistical Analysis

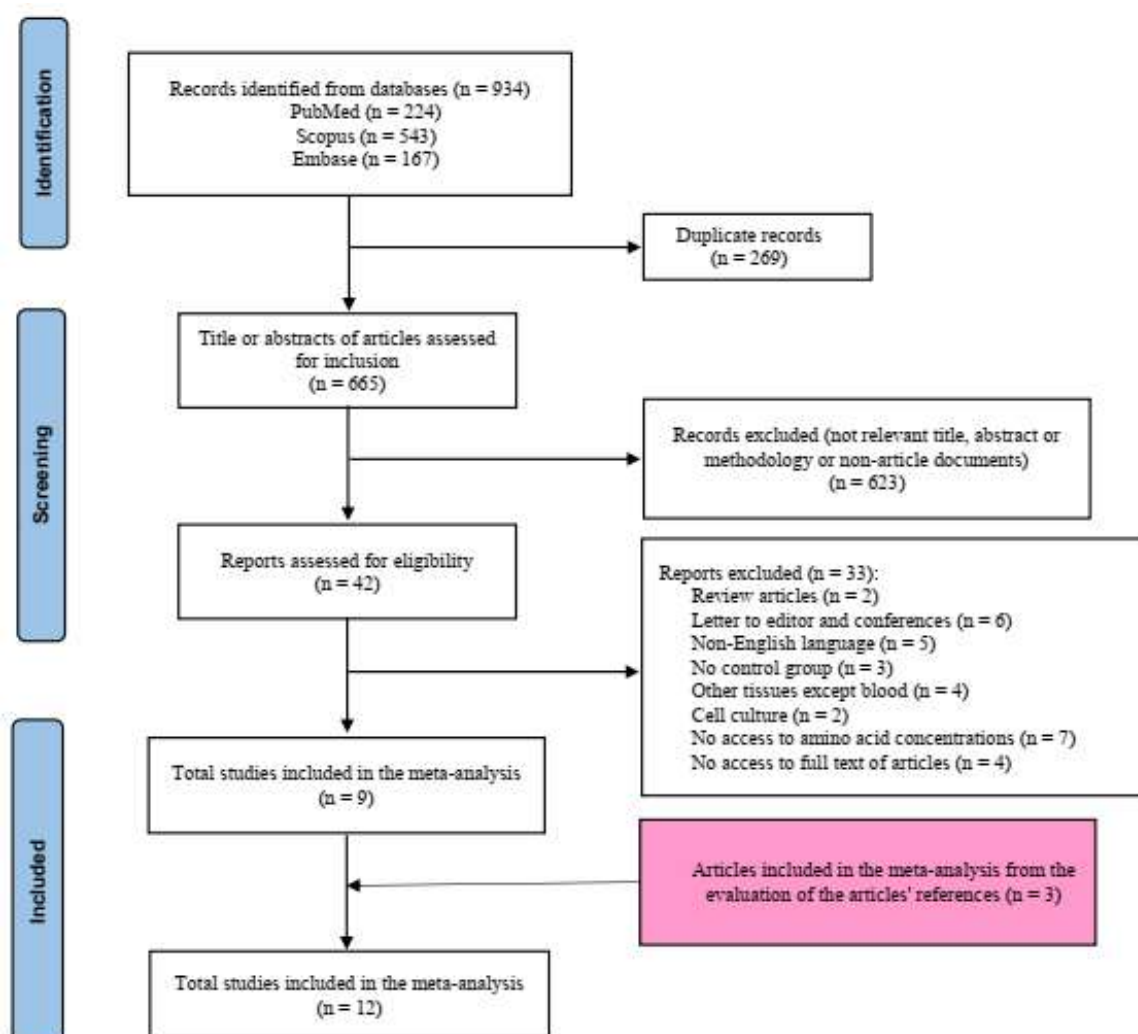
Standardized mean differences and 95% confidence intervals (CIs) were calculated using a random-effects model. The assessment of statistical heterogeneity between the studies was performed using the Q test and  $I^2$  statistics. Publication bias was evaluated visually via funnel plots and statistically using asymmetry tests, including the Begg and Egger tests. All analyses were performed using MedCalc, and a *P*-value of less than 0.05 was considered statistically significant.

## Results

### Study Selection

A systematic search across three databases yielded an initial total of 934 studies. Following the removal of duplicate articles, 665 articles remained. After screening titles and article types, 623 articles were excluded. Subsequently, the full text of the remaining 42 articles was assessed, resulting in the inclusion of nine studies that met the meta-analysis eligibility criteria. The exclusion of 33 articles was attributed to various reasons: two were review articles, five were conference abstracts, and one was a letter to the editor. Of the

remaining 25 articles, three lacked a control group, five were published in languages other than English, four examined tissues other than serum or plasma, two involved cell cultures, seven focused on metabolites other than amino acids or did not provide amino acid concentrations, and four were inaccessible. Upon reviewing the references, three additional articles were identified and included. Consequently, a total of 12 studies meeting the inclusion criteria were incorporated into the meta-analysis. The study selection process is illustrated in Figure 1.



**Fig 1: Flowchart of study selection for evaluating amino acid levels in breast cancer patients versus control group**

### Characteristics of Studies and Participants

The characteristics of the 12 studies included in this meta-analysis are summarized in Table 1. A total of 516 individuals with breast cancer and 1,333 control participants were analyzed. The number of individuals across the studies

ranged from 6 to 976. The studies were published between 1992 and 2023. Two studies were conducted in China, two in Japan, and one each in the United States, France, Spain, the Netherlands, Sweden, Canada, Romania, and Indonesia. All studies included females, except

for one study that involved both males and females. Various methods were utilized to measure amino acid concentrations; three studies employed amino acid analyzers, five

studies used high-performance liquid chromatography (HPLC), and four studies utilized liquid chromatography coupled with mass spectrometry.

**Table 1: General characteristics of studies included in the meta-analysis**

| No. | First author, Year     | Country     | of disease | Sample size of patints | Sample size of control | Biological sample | Metabolomics technique |
|-----|------------------------|-------------|------------|------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|
| 1   | Kubot A., 1992         | USA         | I-II       | 22                     | 6                      | Plasma            | Amino Acid Analyzer    |
| 2   | Proenza A.M.A., 2003   | Spain       | I-IV       | 16                     | 18                     | Plasma            | HPLC                   |
| 3   | Minet-Quinard R., 2004 | France      | 0-II       | 19                     | 18                     | Plasma            | Amino Acid Analyzer    |
| 4   | Vissers Y.L.J., 2005   | Netherlands | I-III      | 22                     | 22                     | Plasma            | HPLC                   |
| 5   | Okamoto N., 2009       | Japan       | 0-III      | 61                     | 51                     | Plasma            | HPLC-ESI-MS            |
| 6   | Miyagi Y., 2011        | Japan       | 0-III      | 196                    | 976                    | Plasma            | HPLC-ESI-MS            |
| 7   | Poschke I., 2013       | Sweden      | -          | 41                     | 9                      | Serum             | HPLC                   |
| 8   | Barnes T., 2014        | Canada      | I-II       | 8                      | 8                      | Plasma            | HPLC                   |
| 9   | Gu Y., 2015            | China       | I-III      | 28                     | 137                    | Plasma            | Amino Acid Analyzer    |
| 10  | Wang X., 2018          | China       | -          | 44                     | 34                     | Serum             | UPLC-MS                |
| 11  | Eniu D.T., 2018        | Romania     | I-III      | 30                     | 26                     | Serum             | UHPLC-QTOF-(ESI)-MS    |
| 12  | Panigoro S.S., 2023    | Indonesia   | II-IV      | 29                     | 28                     | Plasma            | HPLC                   |

### Quality Assessment

To assess the methodological rigor of the selected studies, NOS was utilized. The evaluation of the 12 included studies revealed a distribution of quality scores: one study demonstrated high quality with a score of six stars, eight studies were deemed to be of good

quality with five stars, two studies were classified as having moderate quality with four stars, and one study was identified as having low quality with two stars (Table 2).

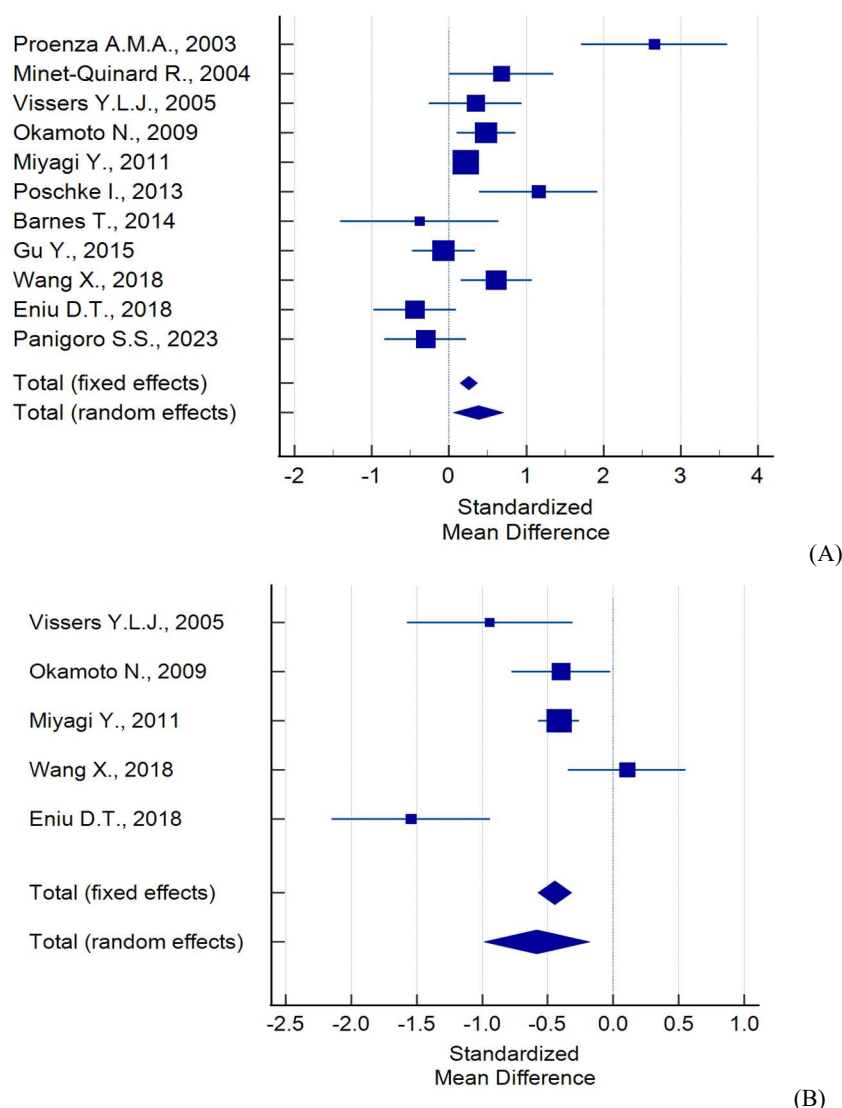
**Table 2: Newcastle-Ottawa quality assessment for studies included in the meta-analysis**

| No. | Reference              | Selection (up to four stars)     |                                 |                       |                        | Comparability (up to two stars)                                                | Exposure                  |                                                     |                   | Quality score (max=6) |
|-----|------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------|-----------------------|
|     |                        | Is the case definition adequate? | Representativeness of the cases | Selection of controls | Definition of controls | Comparability of cases and controls on the basis of the design or the analysis | Ascertainment of exposure | Same method of ascertainment for cases and controls | Non-response rate |                       |
| 1   | Kubot A., 1992         | -                                | *                               | -                     | -                      | *                                                                              | -                         | -                                                   | -                 | **                    |
| 2   | Proenza A.M.A., 2003   | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 3   | Minet-Quinard R., 2004 | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 4   | Vissers Y.L.J., 2005   | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 5   | Okamoto N., 2009       | *                                | *                               | -                     | -                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | ****                  |
| 6   | Miyagi Y., 2011        | *                                | *                               | *                     | *                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 7   | Poschke I., 2013       | *                                | *                               | -                     | -                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | ****                  |
| 8   | Barnes T., 2014        | -                                | *                               | *                     | *                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 9   | Gu Y., 2015            | *                                | *                               | *                     | *                      | *                                                                              | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 10  | Wang X., 2018          | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 11  | Eniu D.T., 2018        | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 12  | Panigoro S.S., 2023    | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                             | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |

### Meta-Analysis Results

In total, 12 studies involving 1,849 individuals were analyzed in the present meta-analysis, with the means and standard deviations of various amino acids extracted. Table 3 presents the significance, heterogeneity, and publication bias for each amino acid. In the meta-analysis of breast cancer, only two amino acids (serine and tryptophan) demonstrated a significant difference compared to the control group.

Serum/plasma tryptophan levels were considerably lower in breast cancer patients than in the control group. In contrast, it was discovered that this patient group had higher serine levels. The forest plot for these two amino acids with significant differences is shown in Figure 2. The forest plot for 18 amino acids is provided in the supplementary file (Figure S1).



**Fig 2: Forest plot depicting the standardized mean differences for significantly altered amino acids between the breast cancer patient and control groups. A) Serine and B) Tryptophan are presented. Information regarding the meta-analysis factors, heterogeneity, and publication bias for these two amino acids is summarized in Table 3.**

### Assessment of Publication Bias

As previously mentioned, publication bias was also assessed, with symmetry evaluations conducted using the Begg's and Egger's tests. None of the amino acids exhibited significant publication bias, except for aspartic acid. The

funnel plots for 20 amino acids are presented in the supplementary file (Figure S2). Additionally, Table 3 indicates the *P*-values from the Begg's and Egger's tests for each amino acid.

**Table 3: Standardized mean difference, heterogeneity, and publication bias observed across the 20 amino acids utilized in the meta-analysis**

| No. | AA name       | Meta-analysis            | Heterogeneity      |                         |                                  | Publication bias  |                   |
|-----|---------------|--------------------------|--------------------|-------------------------|----------------------------------|-------------------|-------------------|
|     |               | <i>P</i> effect (random) | <i>Q</i> statistic | <i>I</i> <sup>2</sup> % | 95% CI for <i>I</i> <sup>2</sup> | Egger's test      | Begg's test       |
| 1   | Alanine       | 0.105                    | 128.0059           | 91.41%                  | 86.90-94.36                      | <i>P</i> = 0.7840 | <i>P</i> = 0.3370 |
| 2   | Arginine      | 0.614                    | 199.4994           | 95.49%                  | 93.38-96.92                      | <i>P</i> = 0.6387 | <i>P</i> = 0.4208 |
| 3   | Asparagine    | 0.205                    | 58.2418            | 86.26%                  | 75.90-92.17                      | <i>P</i> = 0.2830 | <i>P</i> = 0.1444 |
| 4   | Aspartic acid | 0.206                    | 71.0788            | 92.97%                  | 87.40-96.07                      | <i>P</i> = 0.0102 | <i>P</i> = 0.0146 |
| 5   | Cysteine      | 0.339                    | 59.4851            | 93.28%                  | 87.24-96.46                      | <i>P</i> = 0.0683 | <i>P</i> = 0.6242 |
| 6   | Glutamic acid | 0.246                    | 157.9490           | 94.94%                  | 92.29-96.67                      | <i>P</i> = 0.2637 | <i>P</i> = 0.2109 |
| 7   | Glutamine     | 0.883                    | 126.4035           | 92.88%                  | 88.95-95.41                      | <i>P</i> = 0.5981 | <i>P</i> = 0.4208 |
| 8   | Glycine       | 0.208                    | 44.0775            | 84.12%                  | 70.37-91.49                      | <i>P</i> = 0.6867 | <i>P</i> = 0.6207 |
| 9   | Histidine     | 0.955                    | 84.1932            | 89.31%                  | 82.46-93.48                      | <i>P</i> = 0.4000 | <i>P</i> = 0.0892 |
| 10  | Isoleucine    | 0.724                    | 64.9050            | 84.59%                  | 74.06-90.85                      | <i>P</i> = 0.6790 | <i>P</i> = 0.6971 |
| 11  | Leucine       | 0.748                    | 75.0337            | 89.34%                  | 82.00-93.68                      | <i>P</i> = 0.9363 | <i>P</i> = 0.6767 |
| 12  | Lysine        | 0.737                    | 53.5147            | 83.18%                  | 70.51-90.41                      | <i>P</i> = 0.8759 | <i>P</i> = 0.2449 |
| 13  | Methionine    | 0.250                    | 105.4421           | 92.41%                  | 87.80-95.28                      | <i>P</i> = 0.3392 | <i>P</i> = 0.2971 |
| 14  | Phenylalanine | 0.125                    | 122.2101           | 92.64%                  | 88.52-95.28                      | <i>P</i> = 0.1730 | <i>P</i> = 0.0892 |
| 15  | Proline       | 0.470                    | 116.6132           | 94.00%                  | 90.37-96.26                      | <i>P</i> = 0.2514 | <i>P</i> = 1.0000 |
| 16  | Serine        | 0.022                    | 53.7143            | 81.38%                  | 67.78-89.24                      | <i>P</i> = 0.4098 | <i>P</i> = 0.3115 |
| 17  | Threonine     | 0.059                    | 220.2912           | 95.91%                  | 94.08-97.18                      | <i>P</i> = 0.6380 | <i>P</i> = 0.7884 |
| 18  | Tryptophan    | 0.005                    | 21.8719            | 81.71%                  | 57.67-92.10                      | <i>P</i> = 0.5170 | <i>P</i> = 0.3272 |
| 19  | Tyrosine      | 0.910                    | 96.3431            | 89.62%                  | 83.45-93.49                      | <i>P</i> = 0.4566 | <i>P</i> = 0.3115 |
| 20  | Valine        | 0.715                    | 76.4482            | 86.92%                  | 78.48-92.05                      | <i>P</i> = 0.6789 | <i>P</i> = 0.6971 |

## Discussion

Metabolomics is a crucial methodology for identifying biological markers and metabolic alterations in cancer patients (11, 12). Numerous studies have explored the potential of metabolomic profiling for the early diagnosis of breast cancer (13, 14). However, to fully evaluate the efficacy of this approach globally, more data from diverse populations are needed. This meta-analysis aims to identify specific amino acids that may serve as effective biomarkers for breast cancer diagnosis.

The reduction in tryptophan levels in this study is attributed to its catabolism through the kynurenine pathway, involving enzymes such as indoleamine-2,3-dioxygenases (IDOs). Elevated expression of IDO1 has been documented in various cancers, including breast cancer, and correlates with tumor staging and metastasis (15, 16). These tryptophan metabolites associated with IDO1 play a role in breast cancer progression, suggesting that modulation of tryptophan metabolism may be a promising diagnostic and management strategy (16, 17). The investigational compound LY3381916, a potent IDO1 inhibitor, has demonstrated a favorable safety and tolerability profile. Its pharmacokinetic and pharmacodynamic properties, along with the observed antitumor activity when combined with the programmed death-ligand 1 inhibitor

LY3300054, warrant further investigation in patients with advanced solid tumors (18). Additionally, increased serum serine levels in breast cancer patients have been associated with an increased risk of the disease. Phosphoglycerate dehydrogenase (PHGDH), a key enzyme in serine biosynthesis, is upregulated in tumor tissues and correlates with TNM staging, indicating its potential role in tumorigenesis (19, 20). Research suggests that nuclear factor erythroid 2-related factor 2 may regulate PHGDH, offering a therapeutic target across various cancers (21). While this study offers valuable insights, limitations include small sample sizes in some contributing studies and methodological variations (e.g., amino acid analyzer vs. LC-MS), which could introduce heterogeneity. Therefore, further investigation into amino acid level alterations through rigorously designed studies is warranted.

## Conclusion

The results of this study demonstrated significant alterations in serum/plasma tryptophan and serine levels in patients with breast cancer. Future research should prioritize longitudinal studies to validate tryptophan and serine as biomarkers in breast cancer patients. This validation would benefit from employing targeted metabolomics alongside multi-omics approaches to provide comprehensive insights.

## Acknowledgment

The authors acknowledge the contribution of

Artificial Intelligence (Gemini) in the paraphrasing process of this article.

## References

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2021;71(3):209-49. doi: 10.3322/caac.21660
2. Jiao Z, Pan Y, Chen F. The metabolic landscape of breast cancer and its therapeutic implications. *Molecular Diagnosis & Therapy*. 2023;27(3):349-69. doi: 10.1007/s40291-023-00645-2
3. Torata N, Kubo M, Miura D, Ohuchida K, Mizuuchi Y, Fujimura Y, et al. Visualizing energy charge in breast carcinoma tissues by MALDI mass-spectrometry imaging profiles of low-molecular-weight metabolites. *Anticancer research*. 2018;38(7):4267-72. doi: 10.21873/anticancer.12723
4. Yuan B, Schafferer S, Tang Q, Scheffler M, Nees J, Heil J, et al. A plasma metabolite panel as biomarkers for early primary breast cancer detection. *International journal of cancer*. 2019;144(11):2833-42. doi: 10.1002/ijc.31996
5. Bel'skaya LV, Gundyrev IA, Solomatin DV. The role of amino acids in the diagnosis, risk assessment, and treatment of breast cancer: A review. *Current Issues in Molecular Biology*. 2023;45(9):7513-37. doi: 10.3390/cimb45090474
6. Eniu DT, Romanciuc F, Moraru C, Goidescu I, Eniu D, Staicu A, et al. The decrease of some serum free amino acids can predict breast cancer diagnosis and progression. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2019;79(1-2):17-24. doi: 10.1080/00365513.2018.1542541
7. Liu N, Shi F, Yang L, Liao W, Cao Y. Oncogenic viral infection and amino acid metabolism in cancer progression: Molecular insights and clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2022;1877(3):188724. doi: 10.1016/j.bbcan.2022.188724
8. Hussain A, Xie L, Deng G, Kang X. Common alterations in plasma free amino acid profiles and gut microbiota-derived tryptophan metabolites of five types of cancer patients. *Amino Acids*. 2023;55(9):1189-200. doi: 10.1007/s00726-023-03308-y
9. Slupsky CM, Steed H, Wells TH, Dabbs K, Schepansky A, Capstick V, et al. Urine metabolite analysis offers potential early diagnosis of ovarian and breast cancers. *Clinical cancer research*. 2010;16(23):5835-41. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1434
10. Murata T, Yanagisawa T, Kurihara T, Kaneko M, Ota S, Enomoto A, et al. Salivary metabolomics with alternative decision tree-based machine learning methods for breast cancer discrimination. *Breast cancer research and treatment*. 2019;177:591-601. doi: 10.1007/s10549-019-05330-9
11. di Meo NA, Loizzo D, Pandolfo SD, Autorino R, Ferro M, Porta C, et al. Metabolomic approaches for detection and identification of biomarkers and altered pathways in bladder cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(8):4173. doi: 10.3390/ijms23084173
12. Kelly RS, Vander Heiden MG, Giovannucci E, Mucci LA. Metabolomic biomarkers of prostate cancer: prediction, diagnosis, progression, prognosis, and recurrence. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2016;25(6):887-906. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-1223
13. Wei Y, Jasbi P, Shi X, Turner C, Hrovat J, Liu L, et al. Early breast cancer detection using untargeted and targeted metabolomics. *Journal of proteome research*. 2021;20(6):3124-33. doi: 10.1021/acs.jproteome.1c00019
14. Yang L, Wang Y, Cai H, Wang S, Shen Y, Ke C. Application of metabolomics in the diagnosis of breast cancer: a systematic review. *Journal of Cancer*. 2020;11(9):2540. doi: 10.7150/jca.37604
15. Isla Larrain MT, Rabassa ME, Lacunza E, Barbera A, Cretón A, Segal-Eiras A, et al.

- IDO is highly expressed in breast cancer and breast cancer-derived circulating microvesicles and associated to aggressive types of tumors by in silico analysis. *Tumor Biology*. 2014;35:6511-9. doi: 10.1007/s13277-014-1859-3
16. Chen J-Y, Li C-F, Kuo C-C, Tsai KK, Hou M-F, Hung W-C. Cancer/stroma interplay via cyclooxygenase-2 and indoleamine 2, 3-dioxygenase promotes breast cancer progression. *Breast Cancer Research*. 2014;16:1-14. doi: 10.1186/s13058-014-0410-1
17. Lyon DE, Walter JM, Starkweather AR, Schubert CM, McCain NL. Tryptophan degradation in women with breast cancer: a pilot study. *BMC research notes*. 2011;4:1-7. doi: 10.1186/1756-0500-4-156
18. Kotecki N, Vuagnat P, O'Neil BH, Jalal S, Rottey S, Prenen H, et al. A phase I study of an IDO-1 inhibitor (LY3381916) as monotherapy and in combination with an anti-PD-L1 antibody (LY3300054) in patients with advanced cancer. *Journal of Immunotherapy*. 2021;44(7):264-75. doi: 10.1097/CJI.0000000000000368
19. Kim SK, Jung WH, Koo JS. Differential expression of enzymes associated with serine/glycine metabolism in different breast cancer subtypes. *PloS one*. 2014;9(6):e101004. doi: 10.1371/journal.pone.0101004
20. Noh S, Kim DH, Jung WH, Koo JS. Expression levels of serine/glycine metabolism-related proteins in triple negative breast cancer tissues. *Tumor Biology*. 2014;35:4457-68. doi: 10.1007/s13277-013-1588-z
21. DeNicola GM, Chen P-H, Mullarky E, Sudderth JA, Hu Z, Wu D, et al. NRF2 regulates serine biosynthesis in non-small cell lung cancer. *Nature genetics*. 2015;47(12):1475-81. doi: 10.1038/ng.3421

## تغییرات پروفایل آمینواسیدی در سرطان پستان: مرور سیستماتیک و متاآنالیز

مجله علمی  
بیماری‌های پستان ایران  
۱۴۰۴؛ ۱۸(۳): ۵۲-۸۴

بی بی فاطمه نوبخت مطلق قوچانی<sup>۱</sup>، کامبیز گیلانی<sup>۲،۳،۴</sup>

<sup>۱</sup>مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، پژوهشکده سیستم بیولوژی و مسمومیت، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)، تهران، ایران

<sup>۲</sup>پژوهشکده مهندسی و علوم مولکولی، دانشگاه اراک، اراک ۳۸۴۸۱۷۷۵۸۴، ایران

<sup>۳</sup>بخش انکولوژی جامع، مرکز تحقیقات سرطان پستان، موسسه سرطان معتمد، ACECR، تهران، ایران

<sup>۴</sup>مرکز تحقیقات ایمونولوژی تولیدمثل، پژوهشگاه ابن سینا، پژوهشگاه علوم غدد درون‌ریز ACECR، تهران ۱۹۸۳۹۶۹۴۱۲، ایران

### چکیده

**مقدمه:** سرطان پستان به عنوان یکی از شایع‌ترین بدخیمی‌ها در زنان، لزوم تشخیص زودهنگام را جهت بهبود پیش‌آگهی و نتایج درمانی برجسته می‌سازد. کشف نشانگرهای زیستی نوین که به تشخیص دقیق‌تر و بهنگام‌تر کمک کنند، از اهمیت بسزایی برخوردار است. این مطالعه متاآنالیز با هدف ارزیابی پتانسیل غلظت آمینواسیدهای سرم یا پلاسما به عنوان نشانگرهای زیستی برای سرطان پستان انجام شد.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۳/۱۲/۱۱

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۳/۱۱

\* نویسنده مسئول:

k.gilany@avicenna.ac.ir

**روش بررسی:** جستجوی نظام‌مند مقالات مرتبط تا تاریخ ۱ فوریه ۲۰۲۵ در پایگاه‌های اطلاعاتی پابمد، اسکوپوس و امبیس با استفاده از کلمات کلیدی مربوطه صورت گرفت. مقالات واجد شرایط وارد فرآیند متاآنالیز شده و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار MedCalc تحلیل شدند. برای ارزیابی تغییرات در سطوح آمینواسیدهای سرم/پلاسما، از اختلاف میانگین استاندارد شده (SMD) و انحراف معیار استفاده شد. به دلیل وجود هتروژنتی بالا بین مطالعات، مدل اثرات تصادفی به کار گرفته شد.

**یافته‌ها:** در مجموع دوازده مطالعه با مشارکت ۱۸۴۹ نفر معیارهای ورود به متاآنالیز را احراز کردند. نتایج حاصله نشان داد که در مقایسه با گروه کنترل، تنها دو مورد از ۲۰ اسید آمینه مورد بررسی، تغییرات معنی‌داری در بیماران مبتلا به سرطان پستان داشتند. سطح سرم/پلاسما تریپتوفان در افراد مبتلا به سرطان پستان به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود (SMD = -0.583  $\mu$ M; 95% CI: -0.988, -0.179; p=0.005). در مقابل، سطوح سرین در جمعیت بیماران در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان داد (SMD = 0.382  $\mu$ M; 95% CI: 0.056, 0.707; p=0.022).

**نتیجه‌گیری:** این متاآنالیز شواهدی مبنی بر تغییرات قابل توجه در سطوح آمینواسیدهای تریپتوفان و سرین در بیماران مبتلا به سرطان پستان ارائه می‌دهد. این یافته‌ها می‌توانند مبنایی برای ابداع روش‌های تشخیصی جدید و بهبود استراتژی‌های درمانی در این بیماری فراهم آورند.

**کلیدواژه‌ها:** سرطان پستان، آمینواسیدها، مولکول‌های کوچک، متاآنالیز

## مقدمه

سرطان پستان<sup>۱</sup> همچنان شایع‌ترین بدخیمی در زنان و دومین علت اصلی مرگ ناشی از سرطان در میان زنان در سراسر جهان است (۱، ۲). در سطح جهانی، ۲/۳ میلیون مورد جدید و ۶۷۰۰۰۰ مرگ ناشی از سرطان پستان زنان در سال ۲۰۲۲ گزارش شده است (۳). شیوع سرطان پستان در جمعیت تحت پوشش سازمان بیمه سلامت ایران<sup>۲</sup> در سال ۲۰۲۱، ۲۹/۱۶ در هر ۱۰۰,۰۰۰ نفر جمعیت و در سال ۲۰۲۲، ۳۶/۸۸ در هر ۱۰۰,۰۰۰ نفر جمعیت بود (۴). شایان ذکر است که افزایش سریعی در بروز سرطان پستان در ایران وجود دارد، بطوریکه نرخ بروز استاندارد شده سنی<sup>۳</sup> برابر با ۳۲/۱۰ (در هر ۱۰۰,۰۰۰ زن)، نرخ بروز خام<sup>۴</sup> برابر با ۲۸/۹۹ (در هر ۱۰۰,۰۰۰ زن) و میانگین درصد تغییر<sup>۵</sup> برابر با ۷/۵۴ درصد گزارش گردیده است (۵). درمان سرطان پستان در سال‌های اخیر بهبود یافته است، اما میزان مرگ و میر بالای آن همچنان نگران‌کننده است. درمان‌های موجود برای سرطان پستان اغلب منجر به مقاومت دارویی غیرقابل درمان می‌شوند. بنابراین، نیاز به روش‌های تشخیص زودهنگام و شناسایی عوامل خطر و گروه‌های در معرض خطر همچنان از وظایف مرتبط است. برای حل این مشکلات، دانشمندان شروع به مطالعه مسیرهای متابولیک درگیر در سرطان پستان کردند. ارتباط بین سرطان پستان و مسیرهای متابولیکی همچنین ممکن است منجر به کشف امکانات و اهداف درمانی جدید شود (۶، ۷).

اخیراً، توجه زیادی به متابولومیکس به عنوان یک ابزار مؤثر برای تمایز نمونه‌های بیماران مبتلا به سرطان پستان از نمونه‌های طبیعی شده است (۸، ۹). متابولومیکس ارزیابی جامع متابولیت‌ها (مولکول‌های کوچک با جرم کمتر از ۱۰۰۰ دالتون) شامل پپتیدها، آمینواسیدها، اسیدهای نوکلئیک، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آلی، ویتامین‌ها، پلی‌فنول‌ها، آلکالوئیدها و غیره است. آنها فنوتیپ عملکردی را در یک سلول، بافت یا ارگانیسم نشان می‌دهند و می‌توانند تمایز دهنده فرد بیمار از سالم باشند (۱۰). برای مثال، داگان و همکاران (۱۱) تفاوت آماری معنی داری در ۲۴ متابولیت در سرطان پستان در مقایسه با گروه کنترل

یافتند و شن و همکاران (۱۲) تفاوت آماری معنی داری در ۷۸ متابولیت را تأیید کردند. جالب توجه است که سطح متابولیت‌ها برای انواع مختلف سرطان منحصر به فرد است که می‌تواند راه جدیدی برای طبقه‌بندی تومورها باشد. مطالعه دیگری (۱۳) نه متابولیت را برای تمایز بین سرطان پستان متاستاتیک و اولیه گزارش کردند، اگرچه جداسازی فنوتیپ‌های سرطان پستان براساس متابولومیکس هنوز بحث‌برانگیز است (۱۳، ۱۴).

چندین مطالعه متابولومیک بر روی پلاسما/سرم سرطان پستان انجام شده است که عمدتاً با هدف تمایز بین زیرگروه‌های سرطان پستان (۱۵)، متاستاتیک (۱۳)، عود (۱۶)، پاسخ به شیمی درمانی نئوآجوانت (۱۷) و غیره است. بخش مهمی از پروفایل متابولومیک که امکان تمایز بین بیماران سرطان پستان و کنترل‌های سالم را فراهم می‌کند، توسط آمینواسیدها نشان داده می‌شود. آمینواسیدها در سرطان پستان در بافت، سرم، پلاسما، بزاق و ادرار تعیین می‌شوند (۱۸-۲۳). مطالعه ای نشان داد که ۱۰ متابولیت سطح زیر منحنی راک بیشتر از ۰/۹۱ را برای شناسایی سرطان پستان دارد، در حالی که AUC برای آمینواسیدهای شاخه‌دار، ۰/۷۳۳ محاسبه شد (۲۴). آمینواسیدها نه تنها نقش حیاتی در سنتز مولکول‌های زیستی مانند پروتئین‌ها در سلول‌های سرطانی بدخیم را دارند، بلکه متابولیت‌های مهمی برای فعال‌سازی سلول‌های ایمنی و فعالیت ضدتوموری در میکرو محیط تومور هستند. تغییرات غیرطبیعی در متابولیسم آمینواسیدها ارتباط نزدیکی با شروع و توسعه تومورها و ایمنی دارد (۲۵). با توجه به اهمیت متابولیسم آمینواسیدها در ایجاد سرطان، این مطالعه متآنالیز برای اولین بار به منظور تعیین نقش آمینواسیدها در تشخیص و کمک در درمان سرطان پستان طراحی گردید تا مهمترین آمینواسیدهای دخیل در این بیماری تعیین گردد.

## روش‌ها

روش انجام این مطالعه، مروری از نوع مرور ساختاریافته و متآنالیز است که از دستورالعمل‌های گزارش‌دهی ترجیحی

<sup>4</sup> Crude incidence rate

<sup>5</sup> Annual percentage changes

<sup>1</sup> Breast cancer

<sup>2</sup> Iran Health Insurance Organization

<sup>3</sup> Age-standardized incidence rate

برای مرورهای سیستماتیک و تحلیل‌های متا<sup>۱</sup> پیروی می‌کند (۲۶).

### استراتژی جستجو

جستجوی مقالات به صورت سیستماتیک در پایگاه‌های داده پابمد، اسکوپوس و امبیس با استفاده از کلمات کلیدی مربوط به اسیدهای آمینه (targeted metabolomic) OR (targeted metabonomic) OR (amino acid) OR (targeted metabolomics) OR (targeted metabolomics) و سرطان پستان (Breast Neoplasm) OR (Breast Tumor) OR (Breast Malignant Neoplasm) OR (Mammary Cancer) OR (Human Mammary Neoplasm) OR (Breast Carcinoma) OR (Human Mammary Carcinomas) OR (Breast cancer) جستجو شد. هیچ محدودیتی از نظر زبان یا سایر موارد اعمال نشد و جستجو شامل تمام انتشارات آنلاین موجود از ابتدا تا ۱ فوریه ۲۰۲۵ بود. علاوه بر این، فهرست منابع انتشارات شامل شده نیز مورد بررسی قرار گرفت تا اطمینان حاصل شود که جستجو جامع است.

### معیارهای واجد شرایط بودن و فرایند غربالگری مقالات

پس از شناسایی منابع مرتبط، یک فرایند غربالگری دقیق برای انتخاب مطالعات جهت گنجاندن در تحلیل اجرا شد. تمام مقالات شناسایی شده ابتدا با استفاده از نرم‌افزار مدیریت منابع سازمان‌دهی شد و سپس مقالات تکراری حذف گردید. سپس، فرایند بررسی دومرحله‌ای توسط یک نویسنده (BFNMG) انجام شد. در مرحله اول، عناوین و چکیده ۶۶۵ مقاله ارزیابی شدند و از این تعداد ۶۲۳ مقاله حذف گردید. معیارهای حذف شامل مطالعات نامربوط، گزارش‌های موردی، تحقیقات غیراصولی (مانند مقالات مروری، تحلیل‌های متا، کتاب‌ها و غیره)، چکیده‌های کنفرانس، مطالعات بدون گروه کنترل، کارآزمایی‌های بالینی، مطالعاتی با زبان غیرانگلیسی، مطالعاتی با عدم دسترسی به مقاله یا فایل‌های ضمیمه و مطالعاتی که بر روی حیوانات، گیاهان، کشت سلول یا مطالعات محاسبه‌ای

تمرکز داشتند، بود. در مرحله دوم متن کامل ۴۲ مقاله باقی‌مانده مطالعه گردید و براساس معیار ورود، مطالعاتی که شامل افراد بزرگسال بودند و مطالعات مورد - شاهد که غلظت آمینواسیدها را در بیماران سرطان پستان در مقایسه با کنترل بررسی کرده بودند، در این مطالعه وارد شدند. هتروژنیته نوع نمونه‌ها مانند سرم، پلاسما، منوسیت و بافت می‌تواند تفسیر و ترکیب یافته‌های تحقیق را پیچیده کند. برای مقابله با این موضوع، معیارهای واجد شرایط بودن سخت‌گیرانه‌ای تعیین شد که دامنه مرور را به نمونه‌های خونی محدود می‌کرد. در طی فرایند انتخاب مطالعات، هر گونه اختلاف نظر از طریق بررسی دقیق با نویسنده دیگر (KG) حل و فصل شد.

در فرایند غربالگری مقالات، یک نویسنده (BFNMG) استخراج داده‌ها و ارزیابی خطر سوگیری را انجام داد. هرگونه اختلاف نظر حل نشده با مشاوره نویسنده دوم (KG) مورد بررسی قرار گرفت.

### ارزیابی کیفیت مقالات

ارزیابی کیفیت مقالات با استفاده از مطالعات مورد - شاهد با مقیاس نیوکاسل - اوتا<sup>۲</sup> ارزیابی شد (۲۷). این ابزار کیفیت مطالعات وارد شده در تحلیل متا را با توجه به سه حوزه کلیدی ارزیابی می‌کند: "انتخاب"، "مقایسه" و "در معرض بودن". معیار "انتخاب"، شامل ۴ آیتم است که وضوح تعاریف بیمار و کنترل و نمایندگی آن‌ها از جمعیت هدف را بررسی می‌کند. معیار "مقایسه"، که با یک آیتم بیان می‌شود، میزان مقایسه‌پذیری بیمار و کنترل‌ها را از نظر عوامل یا ویژگی‌های مهم ارزیابی می‌کند. معیار سوم که "در معرض بودن" است شامل ۳ آیتم می‌باشد و اندازه‌گیری متغیر در معرض را در هر دو گروه ارزیابی می‌کند. در حوزه‌های "انتخاب" و "در معرض بودن"، هر آیتم می‌تواند حداکثر یک ستاره برای یک مطالعه اضافه کند، در حالی که حوزه "مقایسه" حداکثر دو ستاره را مجاز می‌داند. با توجه به طبیعت مشاهداتی این مطالعه، معیار در "معرض بودن" قابل اعمال نبود، و بنابراین ارزیابی به معیارهای "انتخاب" و "مقایسه" محدود شد. در نتیجه، بالاترین امتیاز ممکن قابل دستیابی شش ستاره بود.

<sup>1</sup> Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses

<sup>2</sup> The Newcastle-Ottawa Scale

## جمع‌آوری داده‌ها

استخراج اطلاعات در چک‌لیست اکسل شامل نام نویسندگان، سال انتشار، موقعیت جغرافیایی، تعداد نمونه، نوع نمونه زیستی، شدت بیماری، تکنیک اندازه‌گیری اسیدهای آمینه انجام شد. همچنین غلظت آمینواسیدها به همراه انحراف معیار از مقالات وارد شده استخراج گردید و میانگین استاندارد شده آمینواسیدها در تمام مقالات به  $\mu\text{M}$  تبدیل شد.

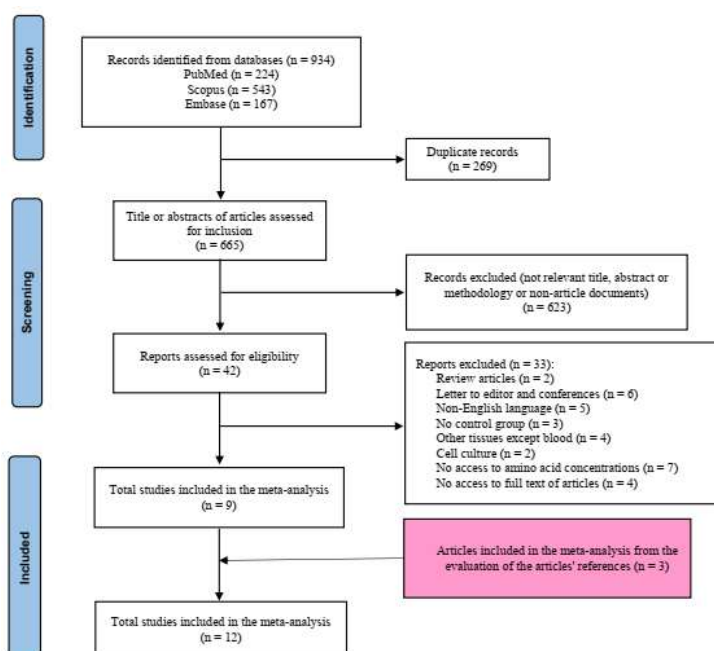
## تحلیل آماری

۱۲ مطالعه در متاآنالیز بر روی آمینواسیدها در سرطان پستان انجام شد. تفاوت‌های میانگین استاندارد شده و فواصل اطمینان<sup>۱</sup> (CI) با استفاده از یک مدل اثرات تصادفی محاسبه شد. برای ارزیابی ناهمگنی آماری بین مطالعات، از آزمون Q و آمار  $I^2$  استفاده شد. سوگیری انتشار به صورت بصری با استفاده از فائل پلات و به صورت آماری با استفاده از آزمون‌های عدم تقارن، از جمله آزمون بگ<sup>۲</sup> و آزمون ایگر<sup>۳</sup>، مورد ارزیابی قرار گرفت. همه تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از MedCalc انجام شد و سطح معنی‌داری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

### انتخاب مطالعات

جستجوی سیستماتیک در پایگاه‌های داده پابمد، اسکوپوس و امبیس منجر به شناسایی ۹۳۴ مطالعه اولیه شد. بعد از حذف مقالات تکراری ۶۶۵ مقاله حاصل گردید که از این تعداد بعد از بررسی عنوان و نوع مقالات، ۶۲۳ مقاله حذف گردید. در مرحله بعد متن کامل ۴۲ مقاله باقیمانده بررسی شد که از این تعداد تنها ۹ مقاله معیار ورود به متاآنالیز را دارا بود و ۳۳ مقاله معیار ورود به متا را نداشتند که از آنها ۲ مقاله مروری و ۵ مقاله به صورت کنفرانسی و ۱ مقاله نامه به ادیتور بودند و از مطالعه خارج شدند. در حالی که از ۲۵ مقاله باقیمانده، ۳ مقاله بدون گروه کنترل، ۵ مقاله غیر زبان انگلیسی، ۴ مقاله بافت‌های دیگر بجز سرم و پلاسما، ۲ مقاله کشت سلول، ۷ مقاله متابولیت‌های دیگر بجز آمینواسید و یا غلظت آمینواسید ارائه نشده بود و ۴ مقاله بدون دسترسی بودند. پس از خواندن مقالات سه مقاله از بررسی رفرنس‌ها حاصل گردیده است. در نهایت در این متاآنالیز ۱۲ مقاله که معیار ورود به مطالعه را داشتند وارد گردید. فرآیند انتخاب مطالعات در شکل ۱ نشان داده شده است.



**Fig 1: Flowchart of study selection for evaluating amino acid levels in breast cancer patients versus control group**

شکل ۱: نمودار انتخاب مطالعات ارزیابی سطوح اسیدهای آمینه در بیماران مبتلا به سرطان پستان در مقابل گروه کنترل

<sup>3</sup> Egger

<sup>1</sup> Confidence interval

<sup>2</sup> Begg

## ویژگی مطالعات و افراد شرکت کننده

ویژگی‌های ۱۲ مطالعه شامل شده در این متاآنالیز در جدول ۱ خلاصه شده است. در کل ۵۱۶ فرد با سرطان پستان و ۱۳۳۳ فرد کنترل آنالیز شدند. تعداد افراد جمع‌آوری شده از ۶ تا ۹۷۶ نفر در ۱۲ مطالعه گزارش شدند. مطالعات بین سال‌های ۱۹۹۲ تا ۲۰۲۳ انتشار یافتند. دو مطالعه در چین (۲۸، ۲۹)، دو مطالعه در ژاپن (۳۰، ۳۱) و در آمریکا (۳۲)، فرانسه (۳۳)، اسپانیا (۳۴)،

هلند (۳۵)، سوئد (۳۶)، کانادا (۳۷)، رومانی (۲۱) و اندونزی (۳۸) یک مطالعه انجام گردید. همه مطالعات شامل جنس مونث بود به جز یک مطالعه که هر دو جنس مذکر و مونث را شامل شد (۲۹). روش‌های مختلفی به منظور اندازه‌گیری غلظت آمینواسیدها استفاده شد، ۳ مطالعه آمینواسید آنالیز را استفاده کردند و ۵ مطالعه کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا<sup>۱</sup> و ۴ مطالعه کروماتوگرافی مایع کوپل شده با طیف‌سنج جرمی را استفاده کردند.

جدول ۱: مشخصات کلی مطالعات وارد شده در متاآنالیز

Table 1: General characteristics of studies included in the meta-analysis

| No. | First author, Year     | Country     | of disease | Sample size of patints | Sample size of control | Biological sample | Metabolomics technique |
|-----|------------------------|-------------|------------|------------------------|------------------------|-------------------|------------------------|
| 1   | Kubot A., 1992         | USA         | I-II       | 22                     | 6                      | Plasma            | Amino Acid Analyzer    |
| 2   | Proenza A.M.A., 2003   | Spain       | I-IV       | 16                     | 18                     | Plasma            | HPLC                   |
| 3   | Minet-Quinard R., 2004 | France      | 0-II       | 19                     | 18                     | Plasma            | Amino Acid Analyzer    |
| 4   | Vissers Y.L.J., 2005   | Netherlands | I-III      | 22                     | 22                     | Plasma            | HPLC                   |
| 5   | Okamoto N., 2009       | Japan       | 0-III      | 61                     | 51                     | Plasma            | HPLC-ESI-MS            |
| 6   | Miyagi Y., 2011        | Japan       | 0-III      | 196                    | 976                    | Plasma            | HPLC-ESI-MS            |
| 7   | Poschke I., 2013       | Sweden      | -          | 41                     | 9                      | Serum             | HPLC                   |
| 8   | Barnes T., 2014        | Canada      | I-II       | 8                      | 8                      | Plasma            | HPLC                   |
| 9   | Gu Y., 2015            | China       | I-III      | 28                     | 137                    | Plasma            | Amino Acid Analyzer    |
| 10  | Wang X., 2018          | China       | -          | 44                     | 34                     | Serum             | UPLC-MS                |
| 11  | Eniu D.T., 2018        | Romania     | I-III      | 30                     | 26                     | Serum             | UHPLC-QTOF-(ESI)-MS    |
| 12  | Panigoro S.S., 2023    | Indonesia   | II-IV      | 29                     | 28                     | Plasma            | HPLC                   |

## ارزیابی کیفیت مقالات

روش مقیاس نیوکاسل - اوتاوا برای ارزیابی کیفیت مقالات مورد بررسی به کار گرفته شد. از بین ۱۲ مطالعه ارزیابی شده، یک مقاله امتیاز ۶ ستاره، هشت مقاله ۵ ستاره، دو مقاله ۴ ستاره و یک مقاله ۲ ستاره کسب کردند. رتبه‌بندی ستاره‌ها به شرح زیر طبقه‌بندی شد: ۵-۶ ستاره،

نشان‌دهنده کیفیت خوب؛ ۳-۴ ستاره، نشان‌دهنده کیفیت متوسط و ۰-۲ ستاره، نشان‌دهنده کیفیت نامناسب است. همان‌طور که در جدول ۲ نشان داده شده است، این متاآنالیز ۹ مقاله با کیفیت خوب، ۲ مقاله با کیفیت متوسط و ۱ مقاله با کیفیت ضعیف را شامل شد.

<sup>1</sup> High-performance liquid chromatography

جدول ۲: ارزیابی کیفیت نیوکاسل-اتاوا برای مطالعات وارد شده در متاآنالیز

Table 2: Newcastle-Ottawa quality assessment for studies included in the meta-analysis

| No. | Reference              | Selection (up to four stars)     |                                 |                       |                        | Comparability (up to two stars)                                            | Exposure                  |                                                     |                   | Quality score (max=6) |
|-----|------------------------|----------------------------------|---------------------------------|-----------------------|------------------------|----------------------------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------------------------|-------------------|-----------------------|
|     |                        | Is the case definition adequate? | Representativeness of the cases | Selection of controls | Definition of controls | Comparability of cases and controls on the basis of the design or analysis | Ascertainment of exposure | Same method of ascertainment for cases and controls | Non-response rate |                       |
| 1   | Kubot A., 1992         | -                                | *                               | -                     | -                      | *                                                                          | -                         | -                                                   | -                 | **                    |
| 2   | Proenza A.M.A., 2003   | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 3   | Minet-Quinard R., 2004 | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 4   | Vissers Y.L.J., 2005   | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 5   | Okamoto N., 2009       | *                                | *                               | -                     | -                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | ****                  |
| 6   | Miyagi Y., 2011        | *                                | *                               | *                     | *                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 7   | Poschke I., 2013       | *                                | *                               | -                     | -                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | ****                  |
| 8   | Barnes T., 2014        | -                                | *                               | *                     | *                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 9   | Gu Y., 2015            | *                                | *                               | *                     | *                      | *                                                                          | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 10  | Wang X., 2018          | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 11  | Eniu D.T., 2018        | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |
| 12  | Panigoro S.S., 2023    | *                                | *                               | -                     | *                      | **                                                                         | -                         | -                                                   | -                 | *****                 |

## نتایج متاآنالیز

در کل ۱۲ مطالعه شامل ۱۸۴۹ فرد در متاآنالیز حاضر مورد ارزیابی قرار گرفتند، میانگین استاندارد شده و انحراف معیار آمینواسیدهای مختلف استخراج گردید. جدول ۳ نشان دهنده معنی داری، هتروژنتی و سوگیری انتشار هر آمینواسید می باشد. در متاآنالیز سرطان پستان تنها دو آمینو اسید (سرین و تریپتوفان) تفاوت معنی داری با کنترل نشان دادند. در مقایسه با گروه کنترل، افراد مبتلا به سرطان

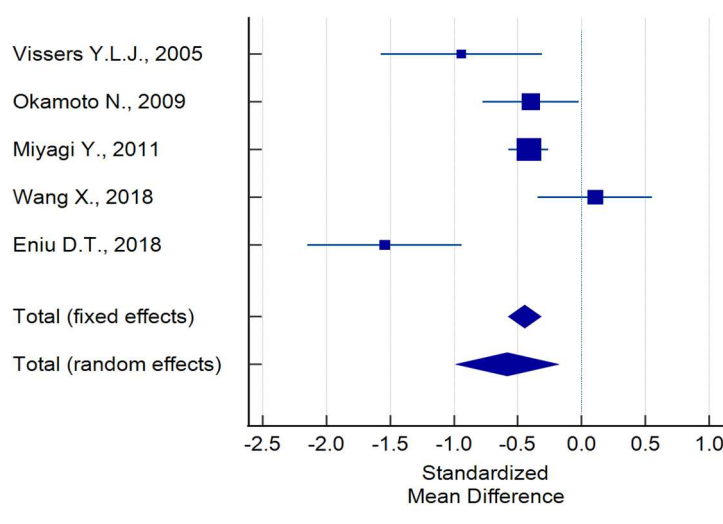
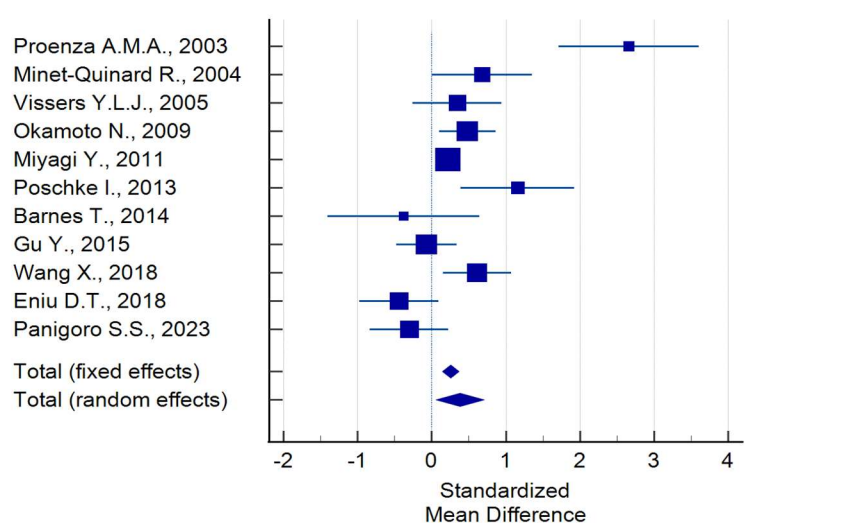
پستان سطوح سرم/پلازما تریپتوفان به طور قابل توجهی پایین تری را نشان دادند (  $SMD = -0.583 \mu M$ ; 95% CI: -0.988, -0.179;  $p=0.005$ ). برعکس، سطوح سرین در این جمعیت بیماران افزایش یافته است (  $SMD = 0.382 \mu M$ ; 95% CI: 0.056, 0.707;  $p=0.022$ ). فارست پلات ۲ آمینواسید با تفاوت معنی دار در شکل ۲ نشان داده شده است. فارست پلات ۱۸ آمینواسید در فایل ضمیمه نشان داده شده است (شکل ۱S).

جدول ۳: میانگین استاندارد شده، هتروژنتی و سوگیری انتشار ۲۰ آمینو اسید استفاده شده در متا آنالیز

Table 3: Standardized mean difference, heterogeneity, and publication bias observed across the 20 amino acids utilized in the meta-analysis

| No. | AA name       | Meta-analysis     | Heterogeneity |                  |                           | Publication bias |             |
|-----|---------------|-------------------|---------------|------------------|---------------------------|------------------|-------------|
|     |               | P effect (random) | Q statistic   | I <sup>2</sup> % | 95% CI for I <sup>2</sup> | Egger's test     | Begg's test |
| 1   | Alanine       | 0.105             | 128.0059      | 91.41%           | 86.90-94.36               | P = 0.7840       | P = 0.3370  |
| 2   | Arginine      | 0.614             | 199.4994      | 95.49%           | 93.38-96.92               | P = 0.6387       | P = 0.4208  |
| 3   | Asparagine    | 0.205             | 58.2418       | 86.26%           | 75.90-92.17               | P = 0.2830       | P = 0.1444  |
| 4   | Aspartic acid | 0.206             | 71.0788       | 92.97%           | 87.40-96.07               | P = 0.0102       | P = 0.0146  |
| 5   | Cysteine      | 0.339             | 59.4851       | 93.28%           | 87.24-96.46               | P = 0.0683       | P = 0.6242  |
| 6   | Glutamic acid | 0.246             | 157.9490      | 94.94%           | 92.29-96.67               | P = 0.2637       | P = 0.2109  |

| No. | AA name       | Meta-analysis     | Heterogeneity |                  |                           | Publication bias |             |
|-----|---------------|-------------------|---------------|------------------|---------------------------|------------------|-------------|
|     |               | P effect (random) | Q statistic   | I <sup>2</sup> % | 95% CI for I <sup>2</sup> | Egger's test     | Begg's test |
| 7   | Glutamine     | 0.883             | 126.4035      | 92.88%           | 88.95-95.41               | P = 0.5981       | P = 0.4208  |
| 8   | Glycine       | 0.208             | 44.0775       | 84.12%           | 70.37-91.49               | P = 0.6867       | P = 0.6207  |
| 9   | Histidine     | 0.955             | 84.1932       | 89.31%           | 82.46-93.48               | P = 0.4000       | P = 0.0892  |
| 10  | Isoleucine    | 0.724             | 64.9050       | 84.59%           | 74.06-90.85               | P = 0.6790       | P = 0.6971  |
| 11  | Leucine       | 0.748             | 75.0337       | 89.34%           | 82.00-93.68               | P = 0.9363       | P = 0.6767  |
| 12  | Lysine        | 0.737             | 53.5147       | 83.18%           | 70.51-90.41               | P = 0.8759       | P = 0.2449  |
| 13  | Methionine    | 0.250             | 105.4421      | 92.41%           | 87.80-95.28               | P = 0.3392       | P = 0.2971  |
| 14  | Phenylalanine | 0.125             | 122.2101      | 92.64%           | 88.52-95.28               | P = 0.1730       | P = 0.0892  |
| 15  | Proline       | 0.470             | 116.6132      | 94.00%           | 90.37-96.26               | P = 0.2514       | P = 1.0000  |
| 16  | Serine        | 0.022             | 53.7143       | 81.38%           | 67.78-89.24               | P = 0.4098       | P = 0.3115  |
| 17  | Threonine     | 0.059             | 220.2912      | 95.91%           | 94.08-97.18               | P = 0.6380       | P = 0.7884  |
| 18  | Tryptophan    | 0.005             | 21.8719       | 81.71%           | 57.67-92.10               | P = 0.5170       | P = 0.3272  |
| 19  | Tyrosine      | 0.910             | 96.3431       | 89.62%           | 83.45-93.49               | P = 0.4566       | P = 0.3115  |
| 20  | Valine        | 0.715             | 76.4482       | 86.92%           | 78.48-92.05               | P = 0.6789       | P = 0.6971  |



**Fig 2: Forest plot depicting the standardized mean differences for significantly altered amino acids between the breast cancer patient and control groups. A) Serine and B) Tryptophan are presented. Information regarding the meta-analysis factors, heterogeneity, and publication bias for these two amino acids is summarized in Table 3.**

شکل ۲: فارست پلات ارائه دهنده آمینواسیدهای معنی دار بین بیماران سرطان پستان و کنترل‌ها با استفاده از مدل رندوم. الف) سرین ب) تریپتوفان. اطلاعات مربوط به فاکتورهای متاآنالیز، هتروژنتی و سوگیری انتشار این دو آمینو اسید در جدول ۳ خلاصه شده است.

## ارزیابی سوگیری انتشار

همچنان که اشاره شد سوگیری مقالات بررسی گردید و تقارن با استفاده از تست بگ و اگر انجام شد. به جز اسپاروتیک اسید، هیچ کدام از آمینواسیدها سوگیری انتشار مقالات را نشان ندادند. فائل پلات ۲۰ آمینواسید در فایل ضمیمه برای هر آمینواسید ارائه گردیده است (شکل ۲۵). همچنین جدول ۳ میزان معنی داری تست بگ و اگر هر آمینواسید را نشان می دهد.

## بحث

متابولومیک یک رویکرد مفید برای شناسایی نشانگرهای بیولوژیک و تغییرات متابولیک در بیماران مبتلا به سرطان است (۳۹-۴۱). برخی مطالعات به بررسی پروفایل متابولومیک برای تشخیص زودهنگام سرطان پستان پرداخته اند (۴۲، ۴۳). با این حال، به داده های بیشتری از جمعیت های متنوع نیاز است تا بتوان مؤثر بودن این روش را در سطح جهانی ارزیابی کرد. بنابراین، این متاآنالیز برای اولین بار به منظور تعیین اینکه کدام اسیدهای آمینه ممکن است در تشخیص سرطان پستان مؤثر باشند، انجام شد. یافته های ما نشان داد که سطوح سرم/پلازما تریپتوفان در بیماران مبتلا به سرطان پستان نسبت به گروه کنترل پایین تر و سطوح سرین بالاتر است.

یافته های ما نشان داد که سطح تریپتوفان در بیماران مبتلا به سرطان پستان کاهش یافته است. در ۴ مقاله از ۵ مقاله ای که غلظت تریپتوفان را در سرطان پستان نسبت به کنترل بررسی کرده بودند، کاهش غلظت این آمینواسید در بیماران مشاهده شده است (۲۱، ۳۰، ۳۱، ۳۵). تریپتوفان عمدتاً از طریق مسیر کینورنین<sup>۱</sup> کاتابولیزه می شود، که در آن به سروتونین و متابولیت های مختلف دیگر توسط آنزیم های حیاتی مانند ایندول آمین -۲،۳- دی اکسیژنازها<sup>۲</sup> تبدیل می شود (۴۴). بیان ایندول آمین -۲،۳- دی اکسیژناز ۱ در انواع مختلف سرطان، از جمله سرطان پستان، افزایش یافته است (۴۵). علاوه بر این، سطوح بیان این آنزیم با مرحله بندی تومور و متاستاز<sup>۳</sup> در بیماران مبتلا به سرطان پستان مرتبط است (۴۶). قابل توجه است که متابولیت های

تریپتوفان مرتبط با ایندول آمین -۲،۳- دی اکسیژناز ۱ در پیشرفت سرطان پستان نقش داشته اند (۴۷). یکی از روش های امیدوارکننده برای تشخیص و مدیریت سرطان پستان، اصلاح متابولیسم تریپتوفان است. علاوه بر این، اندازه گیری فعالیت ایندول آمین -۲،۳- دی اکسیژناز گردش خون و متابولیت های پایین دست آن می تواند به عنوان نشانگرهای زیستی برای پیش بینی اثربخشی درمان در سرطان پستان استفاده شود.

در مطالعه حاضر، افزایش سطح سرمی سرین در بیماران مبتلا به سرطان پستان شناسایی شد. تحقیقات قبلی نشان داده است که سطوح بالای سرمی سرین با افزایش خطر ابتلا به سرطان پستان افزایش می یابد. در ۷ مقاله از ۱۱ مقاله ای که غلظت سرین را در سرطان پستان نسبت به کنترل بررسی کرده بودند، افزایش غلظت این آمینواسید در بیماران مشاهده شده است (۲۸، ۳۰، ۳۱، ۳۳-۳۶). فسفوجلایسرات دهیدروژناز<sup>۴</sup> به عنوان مرحله محدود کننده سرعت در مسیر بیوسنتز سرین شناخته شده است و با تومورزایی مرتبط است (۴۸). بیان فسفوجلایسرات دهیدروژناز در بافت های توموری به طور قابل توجهی بیشتر از بافت های مجاور پستان غیر توموری است (۴۹). علاوه بر این، سطوح این آنزیم همبستگی مثبتی با مرحله بندی سرطان دارد، که نشان دهنده نقش بالقوه آن در پیشرفت سرطان پستان است (۵۰، ۵۱). تحقیقات انجام شده در سال ۲۰۱۵ نشان داد که فاکتور هسته ای اریثروئید مرتبط با فاکتور<sup>۵</sup> ممکن است به عنوان یک تنظیم کننده فسفوجلایسرات دهیدروژناز و آنزیم های بیوسنتز سرین در سرطان ریه سلول غیر کوچک<sup>۶</sup> عمل کند (۵۲). در حالی که مکانیسم دقیق تومورزایی هدایت شده توسط فاکتور هسته ای اریثروئید مرتبط با فاکتور<sup>۲</sup> هنوز مشخص نیست، فسفوجلایسرات دهیدروژناز به عنوان یک هدف درمانی امیدوارکننده در انواع مختلف سرطان ظاهر می شود. مهارکننده های این آنزیم می توانند به طور بالقوه اثربخشی درمان سرطان را افزایش دهند (۵۲).

در کل می توان نتیجه گیری کرد، این مطالعه نشان می دهد که تغییرات متابولیکی در آمینواسیدهای تریپتوفان و سرین

<sup>4</sup> Phosphoglycerate dehydrogenase

<sup>5</sup> Nuclear factor erythroid 2-related factor 2

<sup>6</sup> Non-Small Cell Lung Cancer

<sup>1</sup> Kynurenine

<sup>2</sup> Indoleamine 2,3-dioxygenase

<sup>3</sup> Tumor (T), node (N), and metastasis (M) categories

درمانی مبتنی بر اصلاح متابولیسم این آمینواسیدها در مطالعات آینده بررسی شود.

### نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، متآنالیز ما تغییرات در پروفایل‌های اسیدآمینه مرتبط با سرطان پستان را نشان داد که نشان‌دهنده پتانسیل آن‌ها به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص زودهنگام و تمایز است. تغییر مشاهده شده در ۲ اسید آمینه اهمیت کمتر تغییرات آمینواسیدی نسبت به سرطان‌های دیگر را نشان می‌دهد. پیامدهای متابولیسم تریپتوفان و سرین در پیشرفت تومور، راه‌های امیدوارکننده‌ای را برای مداخله درمانی ارائه می‌دهد. افزایش بیان فسفوگلیسرات دهیدروژناز در بافت‌های سرطان پستان نقش حیاتی آن را در متابولیسم سرطان پتانسیل آن به‌عنوان یک هدف درمانی جدید تأکید می‌کند. این مطالعه اهمیت متابولومیکس در تحقیقات سرطان پستان را برجسته می‌کند ولی تحقیقات بیشتر در برگیرنده جمعیت‌های متنوع برای تأیید یافته‌های ما نیازمند است.

### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان، این مقاله تعارض منافع ندارد.

می‌تواند به‌عنوان نشانگرهای زیستی برای تشخیص و مدیریت سرطان پستان مورد استفاده قرار گیرد. مسیرهای متابولیکی مرتبط با این آمینواسیدها، مانند مسیر کینورنین و بیوسنتز سرین، اهداف درمانی بالقوه‌ای را ارائه می‌دهند. درحالی‌که این مطالعه بینش‌های ارزشمندی را ارائه می‌دهد، مهم است که به چندین محدودیت اشاره کنیم. اول، اندازه نمونه در برخی از مطالعات گنجانده شده نسبتاً کوچک بود که می‌تواند منبع ناهمگونی برای برخی از اسیدهای آمینه باشد. دوم، تفاوت قابل توجهی بین مطالعات وجود دارد که عمدتاً به دلیل تفاوت‌های روش‌شناختی مانند استفاده از رویکردهای متابولومیکس هدفمند یا غیرهدفمند و تغییرات در تکنیک‌های تحلیلی است. سوم، به علت عدم دسترسی به پایگاه معتبر وب آو ساینس<sup>۱</sup>، امکان جستجو در این پایگاه داده میسر نگردید. باوجود این محدودیت‌ها، یافته‌های ما نشان‌دهنده تغییرات در سطوح اسیدآمینه‌های سرم/پلازما در بیماران سرطان پستان در مقایسه با کنترل‌های سالم است. این تفاوت‌ها نیاز به بررسی بیشتر برای تأیید یافته‌های این متآنالیز را دارد. توصیه می‌شود که در مطالعات آینده، غلظت این دو آمینواسید و آنزیم‌های مرتبط با متابولیسم آن‌ها در یک جامعه بزرگ‌تر و به‌صورت هدفمند بررسی شود. همچنین، ارزیابی اثربخشی روش‌های

### References

1. Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. CA: a cancer journal for clinicians. 2023;73(1):17-48. doi: 10.3322/caac.21763
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians. 2021;71(3):209-49. doi: 10.3322/caac.21660
3. Kim J, Harper A, McCormack V, Sung H, Houssami N, Morgan E, et al. Global patterns and trends in breast cancer incidence and mortality across 185 countries. Nature Medicine. 2025;1-9. doi: 10.1038/s41591-025-03502-3
4. Seyed-Nezhad M, Effatpanah M, Moradi T, Akbari M, Manzouri L, Moradi-Joo M. Incidence, Prevalence, Mortality, and Direct Costs of Breast Cancer in Iran: Using the Iran Health Insurance Organization Database. cancer. 2025;1:2. doi: 10.5812/ijcm-157981
5. Sanaat Z, Dolatkah R. Epidemiologic profile of breast cancer in Iran: a systematic review and meta-analysis. Clinical Epidemiology and Global Health. 2024;26:101537. doi: 10.1016/j.cegh.2024.101537
6. Jiao Z, Pan Y, Chen F. The metabolic landscape of breast cancer and its therapeutic implications. Molecular Diagnosis & Therapy. 2023;27(3):349-69. doi: 10.1007/s40291-023-00645-2

<sup>1</sup> Web of Science

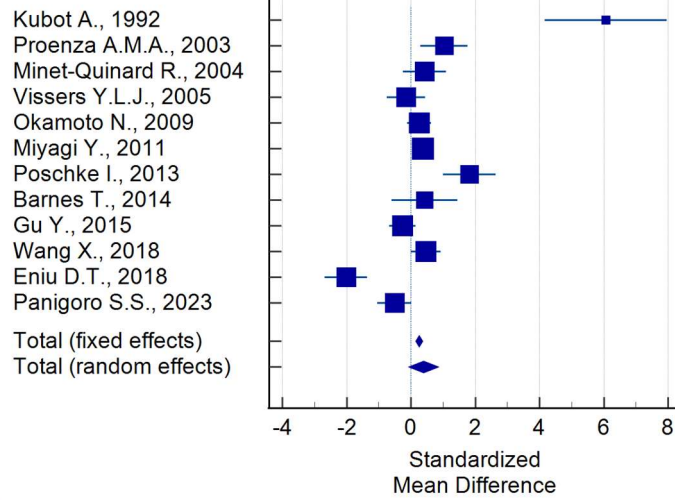
7. Li S, Zeng H, Fan J, Wang F, Xu C, Li Y, et al. Glutamine metabolism in breast cancer and possible therapeutic targets. *Biochemical pharmacology*. 2023;210:115464. doi: 10.1016/j.bcp.2023.115464
8. Jové M, Collado R, Quiles JL, Ramírez-Tortosa M-C, Sol J, Ruiz-Sanjuan M, et al. A plasma metabolomic signature discloses human breast cancer. *Oncotarget*. 2017;8(12):19522. doi: 10.18632/oncotarget.14521
9. Jasbi P, Wang D, Cheng SL, Fei Q, Cui JY, Liu L, et al. Breast cancer detection using targeted plasma metabolomics. *Journal of chromatography B*. 2019;1105:26-37. doi: 10.1016/j.jchromb.2018.11.029
10. Nobakht M, Gh BF, Aliannejad R, Rezaei-Tavirani M, Taheri S, Oskouie AA. The metabolomics of airway diseases, including COPD, asthma and cystic fibrosis. *Biomarkers*. 2015;20(1):5-16. doi: 10.3109/1354750X.2014.983167
11. Dougan MM, Li Y, Chu LW, Haile RW, Whittemore AS, Han SS, et al. Metabolomic profiles in breast cancer: a pilot case-control study in the breast cancer family registry. *BMC cancer*. 2018;18:1-8. doi: 10.1186/s12885-018-4437-z
12. Shen J, Yan L, Liu S, Ambrosone CB, Zhao H. Plasma metabolomic profiles in breast cancer patients and healthy controls: by race and tumor receptor subtypes. *Translational oncology*. 2013;6(6):757. doi: 10.1593/tlo.13619
13. Jobard E, Pontoizeau C, Blaise BJ, Bachelot T, Elena-Herrmann B, Trédan O. A serum nuclear magnetic resonance-based metabolomic signature of advanced metastatic human breast cancer. *Cancer letters*. 2014;343(1):33-41. doi: 10.1016/j.canlet.2013.09.011
14. Mishra P, Ambs S. Metabolic signatures of human breast cancer. *Molecular & cellular oncology*. 2015;2(3):e992217. doi: 10.4161/23723556.2014.992217
15. Fan Y, Zhou X, Xia T-S, Chen Z, Li J, Liu Q, et al. Human plasma metabolomics for identifying differential metabolites and predicting molecular subtypes of breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7(9):9925. doi: 10.18632/oncotarget.7155
16. Asiago VM, Alvarado LZ, Shanaiah N, Gowda GN, Owusu-Sarfo K, Ballas RA, Raftery D. Early detection of recurrent breast cancer using metabolite profiling. *Cancer research*. 2010;70(21):8309-18. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1319
17. Zapater-Moros A, Díaz-Beltrán L, Gámez-Pozo A, Trilla-Fuertes L, Lumbreras-Herrera MI, López-Camacho E, et al. Metabolomics unravels subtype-specific characteristics related to neoadjuvant therapy response in breast cancer patients. *Metabolomics*. 2023;19(7):60. doi: 10.1007/s11306-023-02024-8
18. Slupsky CM, Steed H, Wells TH, Dabbs K, Schepansky A, Capstick V, et al. Urine metabolite analysis offers potential early diagnosis of ovarian and breast cancers. *Clinical cancer research*. 2010;16(23):5835-41. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1434
19. Murata T, Yanagisawa T, Kurihara T, Kaneko M, Ota S, Enomoto A, et al. Salivary metabolomics with alternative decision tree-based machine learning methods for breast cancer discrimination. *Breast cancer research and treatment*. 2019;177:591-601. doi: 10.1007/s10549-019-05330-9
20. Yuan B, Schafferer S, Tang Q, Scheffler M, Nees J, Heil J, et al. A plasma metabolite panel as biomarkers for early primary breast cancer detection. *International journal of cancer*. 2019;144(11):2833-42. doi: 10.1002/ijc.31996
21. Eniu DT, Romanciuc F, Moraru C, Goidescu I, Eniu D, Staicu A, et al. The decrease of some serum free amino acids can predict breast cancer diagnosis and progression. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 2019;79(1-2):17-24. doi: 10.1080/00365513.2018.1542541
22. More TH, RoyChoudhury S, Christie J, Taunk K, Mane A, Santra MK, et al. Metabolomic alterations in invasive ductal carcinoma of breast: A comprehensive metabolomic study using tissue and serum samples. *Oncotarget*. 2018;9(2):2678. doi: 10.18632/oncotarget.23626
23. Torata N, Kubo M, Miura D, Ohuchida K, Mizuuchi Y, Fujimura Y, et al. Visualizing energy charge in breast carcinoma tissues by MALDI mass-spectrometry imaging profiles of low-molecular-weight metabolites. *Anticancer research*. 2018;38(7):4267-72. doi: 10.21873/anticancer.12723

24. Baranovicova E, Racay P, Zubor P, Smolar M, Kudelova E, Halasova E, et al. Circulating metabolites in the early stage of breast cancer were not related to cancer stage or subtypes but associated with ki67 level. Promising statistical discrimination from controls. *Molecular and Cellular Probes*. 2022;66:101862. doi: 10.1016/j.mcp.2022.101862
25. Hussain A, Xie L, Deng G, Kang X. Common alterations in plasma free amino acid profiles and gut microbiota-derived tryptophan metabolites of five types of cancer patients. *Amino Acids*. 2023;55(9):1189-200. doi: 10.1007/s00726-023-03308-y
26. Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, et al. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Systematic reviews*. 2015;4:1-9. doi: 10.1186/2046-4053-4-1
27. [https://www.ohri.ca/programs/clinical\\_epidemiology/oxford.asp](https://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp)
28. Wang X, Zhao X, Chou J, Yu J, Yang T, Liu L, Zhang F. Taurine, glutamic acid and ethylmalonic acid as important metabolites for detecting human breast cancer based on the targeted metabolomics. *Cancer biomarkers*. 2018;23(2):255-68. doi: 10.3233/CBM-181500
29. Gu Y, Chen T, Fu S, Sun X, Wang L, Wang J, et al. Perioperative dynamics and significance of amino acid profiles in patients with cancer. *Journal of translational medicine*. 2015;13:1-14. doi: 10.1186/s12967-015-0408-1
30. Miyagi Y, Higashiyama M, Gochi A, Akaike M, Ishikawa T, Miura T, et al. Plasma free amino acid profiling of five types of cancer patients and its application for early detection. *PloS one*. 2011;6(9):e24143. doi: 10.1371/journal.pone.0024143
31. Okamoto N, Miyagi Y, Chiba A, Akaike M, Shiozawa M, Imaizumi A, et al. Diagnostic modeling with differences in plasma amino acid profiles between non-cachectic colorectal/breast cancer patients and healthy individuals. *International Journal of Medical Sciences*. 2009;1(1):1-8.
32. Kubota A, Meguid MM, Hitch DC. Amino acid profiles correlate diagnostically with organ site in three kinds of malignant tumors. *Cancer*. 1992;69(9):2343-8. doi: 10.1002/1097-0142(19920501)69:9<2343:aid-cnrcr2820690924>3.0.co;2-s
33. Minet-Quinard R, Van Praagh I, Kwiatkowski F, Beaujon G, Feillel V, Beaufrère B, et al. Pre-and postoperative aminoacidemia in breast cancer: a study vs. matched healthy subjects. *Cancer investigation*. 2004;22(2):203-10. doi: 10.1081/cnv-120030208
34. Proenza AM, Oliver J, Palou A, Roca P. Breast and lung cancer are associated with a decrease in blood cell amino acid content. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2003;14 (3):133-8. doi: 10.1016/s0955-2863(02)00225-5
35. Vissers YL, Dejong CH, Luiking YC, Fearon KC, von Meyenfeldt MF, Deutz NE. Plasma arginine concentrations are reduced in cancer patients: evidence for arginine deficiency? *The American journal of clinical nutrition*. 2005;81(5):1142-6. doi: 10.1093/ajcn/81.5.1142
36. Poschke I, Mao Y, Kiessling R, de Boniface J. Tumor-dependent increase of serum amino acid levels in breast cancer patients has diagnostic potential and correlates with molecular tumor subtypes. *Journal of translational medicine*. 2013;11:1-9. doi: 10.1186/1479-5876-11-290
37. Barnes T, Bell K, DiSebastiano KM, Vance V, Hanning R, Russell C, et al. Plasma amino acid profiles of breast cancer patients early in the trajectory of the disease differ from healthy comparison groups. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 2014;39(6):740-4. doi: 10.1139/apnm-2013-0526.
38. Panigoro SS, Kurniawan A, Ramadhan R, Sukartini N, Herqutanto H, Paramita RI, Sandra F. Amino acid profile of luminal A and B subtypes breast cancer. *The Indonesian Biomedical Journal*. 2023;15(3):269-76. doi: 10.18585/inabj.v15i3.2109
39. di Meo NA, Loizzo D, Pandolfo SD, Autorino R, Ferro M, Porta C, et al. Metabolomic approaches for detection and identification of biomarkers and altered pathways in bladder cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(8):4173. doi: 10.3390/ijms23084173
40. Kelly RS, Vander Heiden MG, Giovannucci E, Mucci LA. Metabolomic biomarkers of prostate cancer: prediction, diagnosis,

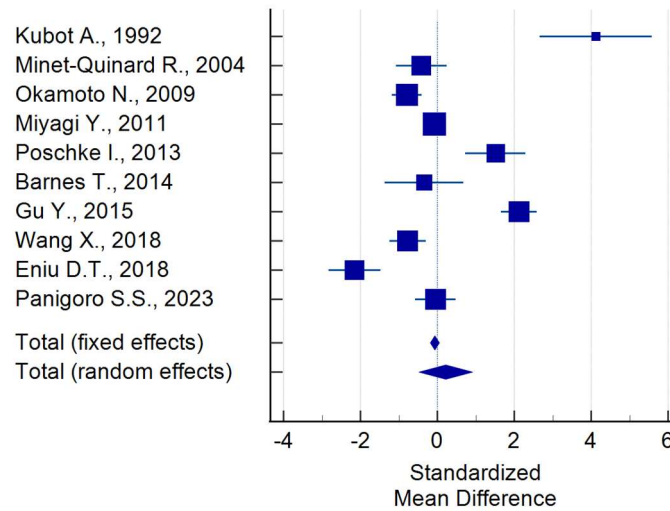
- progression, prognosis, and recurrence. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. 2016;25(6):887-906. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-15-1223
41. Monteiro MS, Carvalho M, de Lourdes Bastos M, de Pinho PG. Biomarkers in renal cell carcinoma: a metabolomics approach. *Metabolomics*. 2014;10:1210-22. doi: 10.1007/s11306-014-0659-5
42. Wei Y, Jasbi P, Shi X, Turner C, Hrovat J, Liu L, et al. Early breast cancer detection using untargeted and targeted metabolomics. *Journal of proteome research*. 2021;20 (6): 3124-3133. doi: 10.1021/acs.jproteome.1c00019
43. Yang L, Wang Y, Cai H, Wang S, Shen Y, Ke C. Application of metabolomics in the diagnosis of breast cancer: a systematic review. *Journal of Cancer*. 2020;11(9):2540. doi: 10.7150/jca.37604
44. Puchades-Carrasco L, Jantus-Lewintre E, Pérez-Rambla C, García-García F, Lucas R, Calabuig S, et al. Serum metabolomic profiling facilitates the non-invasive identification of metabolic biomarkers associated with the onset and progression of non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2016;7(11):12904. doi: 10.18632/oncotarget.7354
45. Isla Larrain MT, Rabassa ME, Lacunza E, Barbera A, Cretón A, Segal-Eiras A, et al. IDO is highly expressed in breast cancer and breast cancer-derived circulating microvesicles and associated to aggressive types of tumors by in silico analysis. *Tumor Biology*. 2014;35:6511-9. doi: 10.1007/s13277-014-1859-3
46. Chen J-Y, Li C-F, Kuo C-C, Tsai KK, Hou M-F, Hung W-C. Cancer/stroma interplay via cyclooxygenase-2 and indoleamine 2, 3-dioxygenase promotes breast cancer progression. *Breast Cancer Research*. 2014;16:1-14. doi: 10.1186/s13058-014-0410-1
47. Lyon DE, Walter JM, Starkweather AR, Schubert CM, McCain NL. Tryptophan degradation in women with breast cancer: a pilot study. *BMC research notes*. 2011;4:1-7. doi: 10.1186/1756-0500-4-156
48. Liu T, Liu C, Song M, Wei Y, Song Y, Chen P, et al. The association of serum serine levels with the risk of incident cancer: results from a nested case-control study. *Food & Function*. 2023;14(17):7969-76. doi: 10.1039/d3fo00808h
49. Kim SK, Jung WH, Koo JS. Differential expression of enzymes associated with serine/glycine metabolism in different breast cancer subtypes. *PloS one*. 2014;9(6):e101004. doi: 10.1371/journal.pone.0101004
50. Sullivan MR, Mattaini KR, Dennstedt EA, Nguyen AA, Sivanand S, Reilly MF, et al. Increased serine synthesis provides an advantage for tumors arising in tissues where serine levels are limiting. *Cell metabolism*. 2019;29(6):1410-21. e4. doi: 10.1016/j.cmet.2019.02.015
51. Noh S, Kim DH, Jung WH, Koo JS. Expression levels of serine/glycine metabolism-related proteins in triple negative breast cancer tissues. *Tumor Biology*. 2014;35:4457-68. doi: 10.1007/s13277-013-1588-z
52. DeNicola GM, Chen P-H, Mullarky E, Sudderth JA, Hu Z, Wu D, et al. NRF2 regulates serine biosynthesis in non-small cell lung cancer. *Nature genetics*. 2015;47(12):1475-81. doi: 10.1038/ng.3421.

## appendix

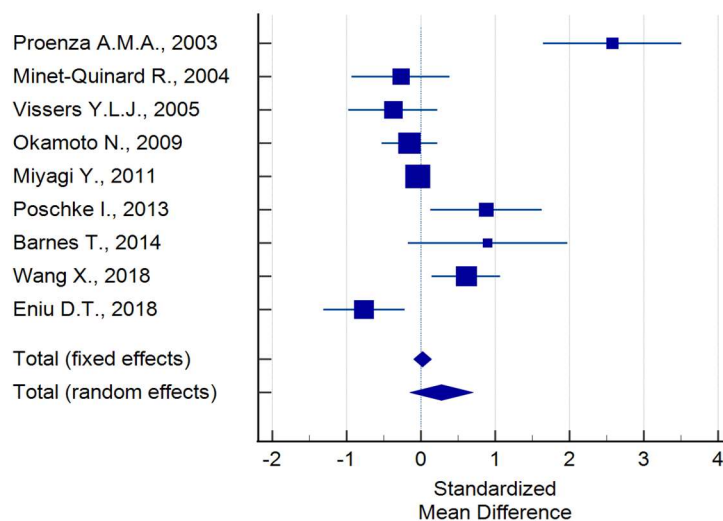
(پیوست)



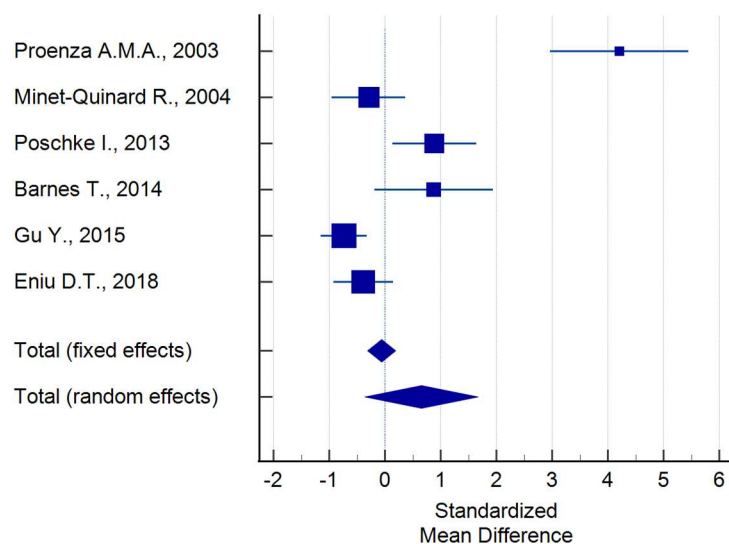
## Alanine



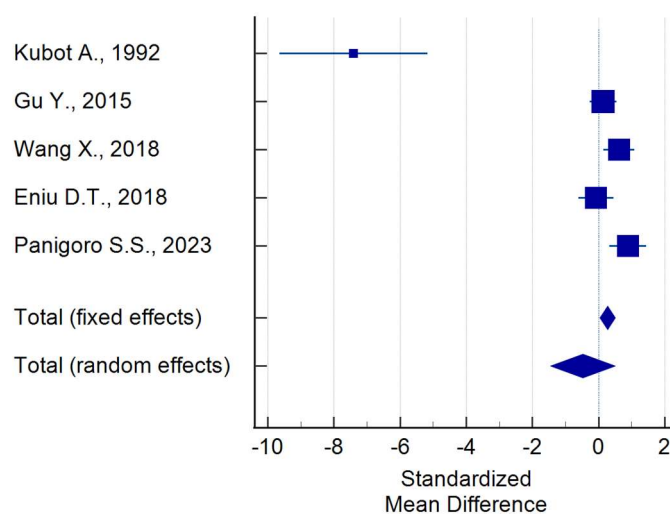
## Arginine



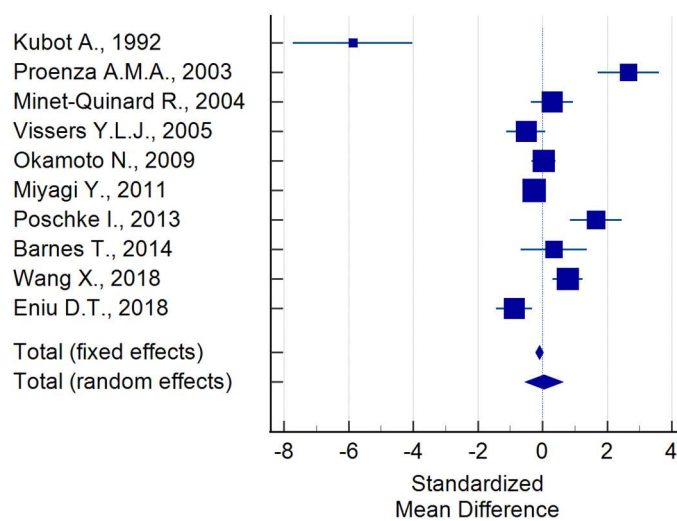
## Asparagine



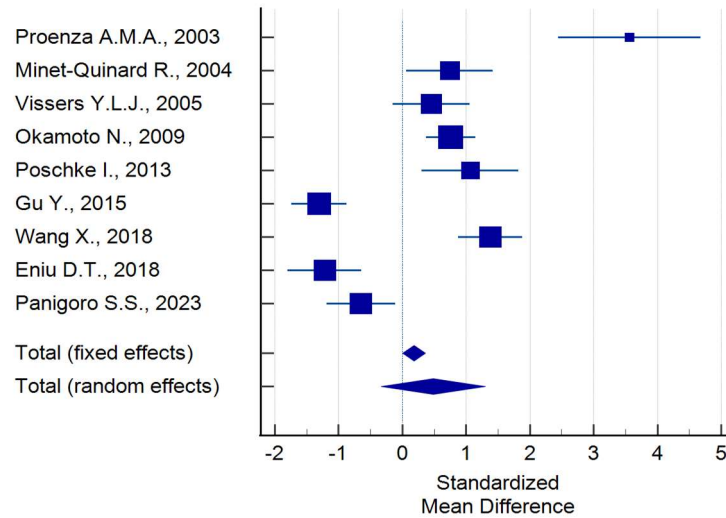
### Aspartic acid



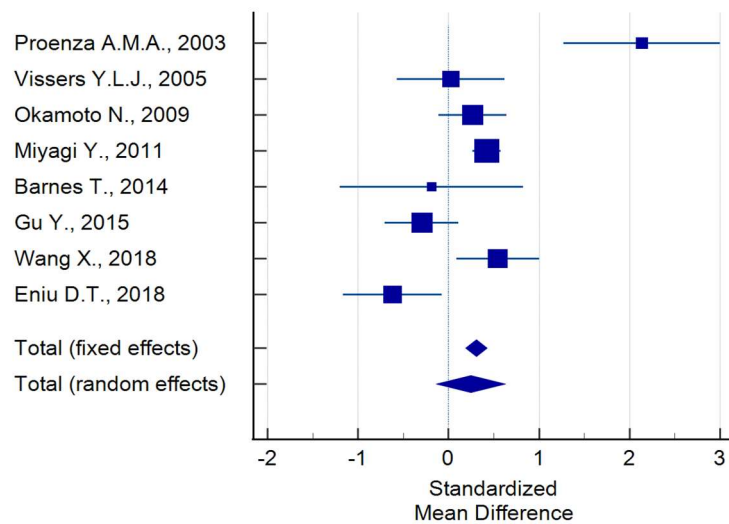
### Cysteine



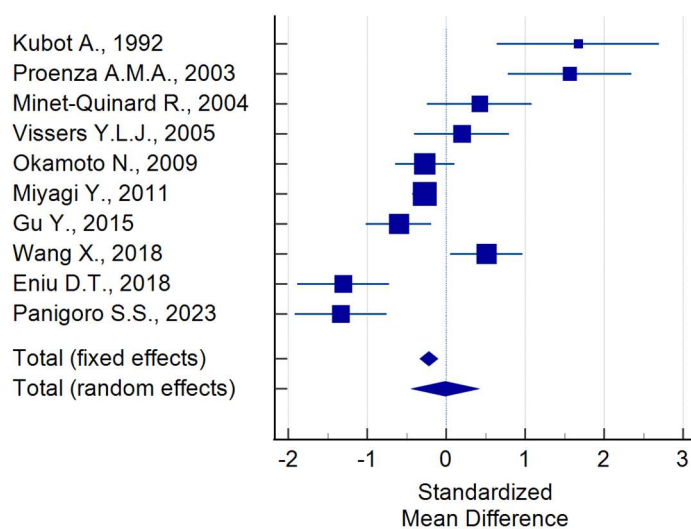
### Glutamine



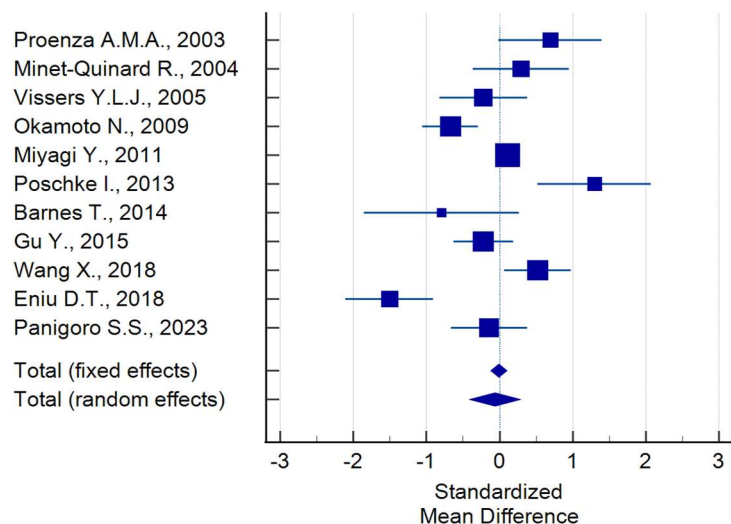
### Glutamic acid



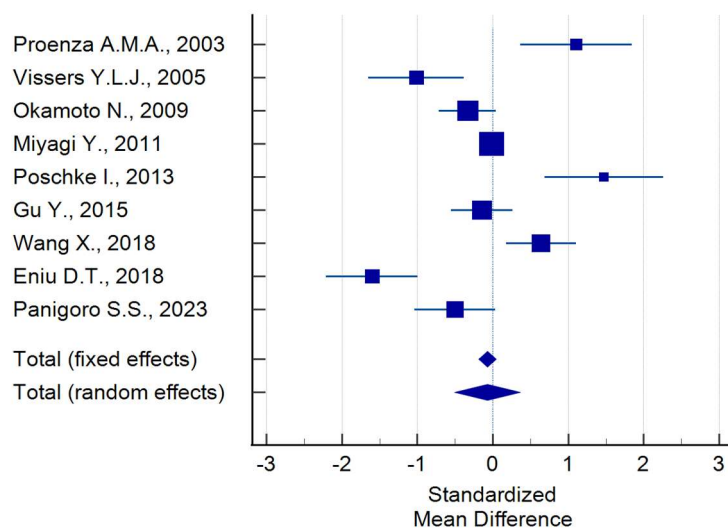
### Glycine



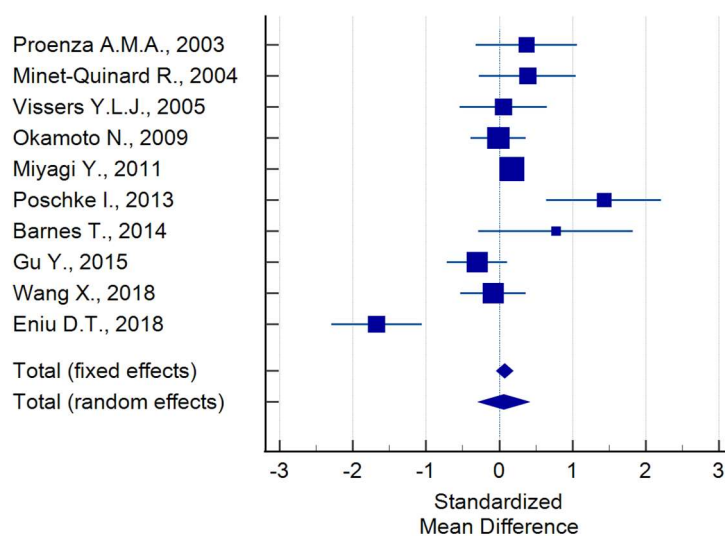
### Histidine



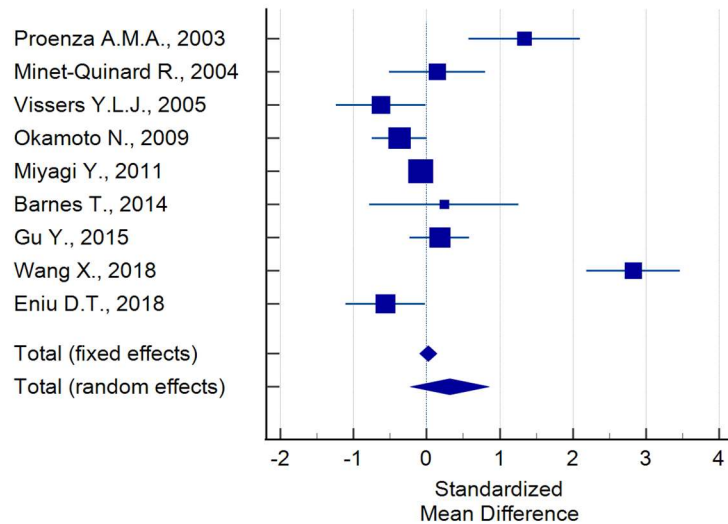
### Isoleucine



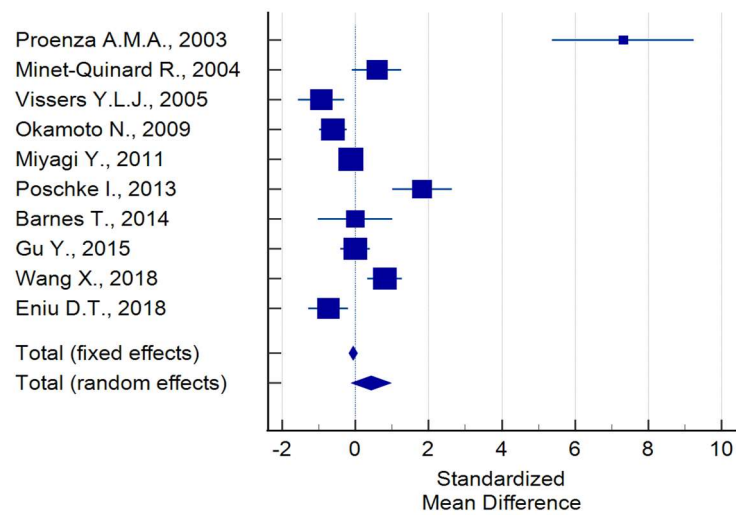
### Leucine



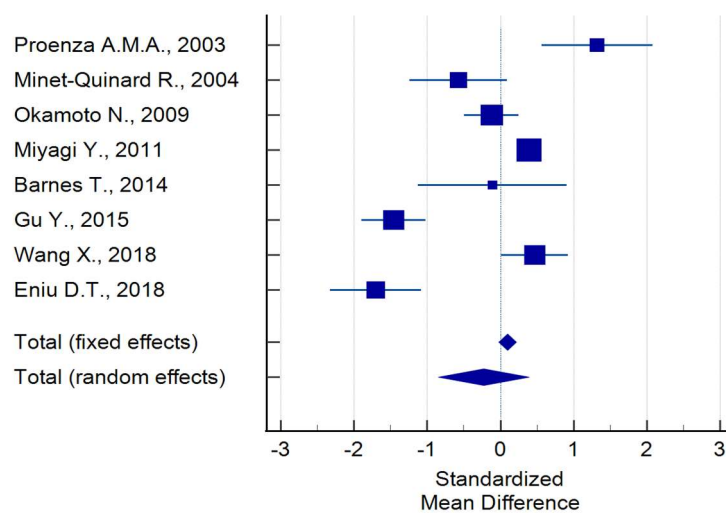
### Lysine



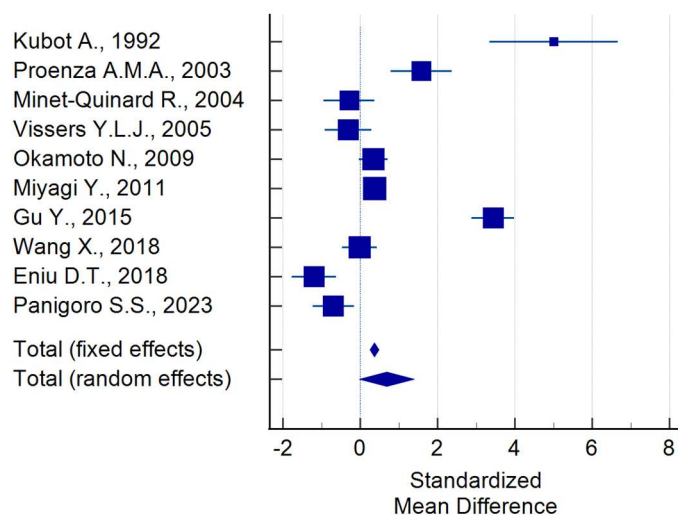
### Methionine



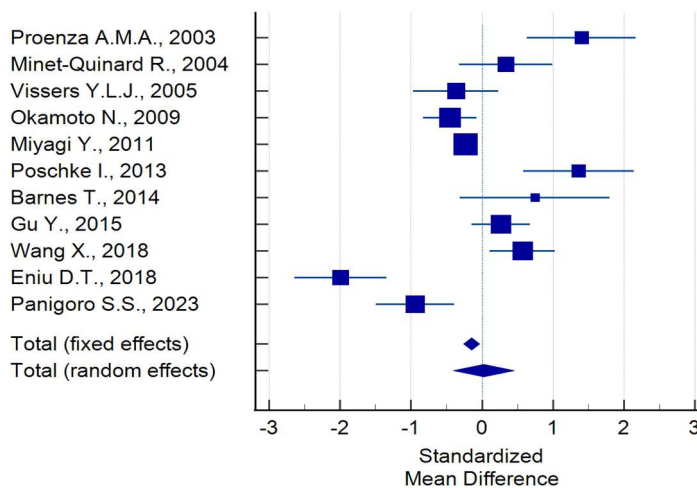
### Phenylalanine



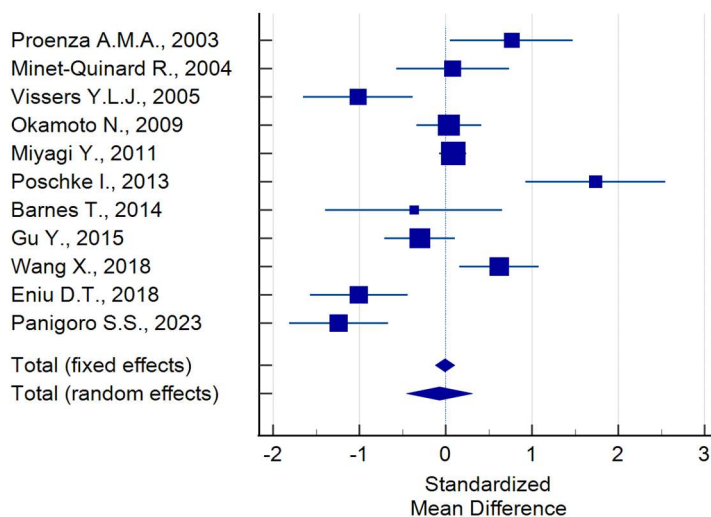
### Proline



### Threonine



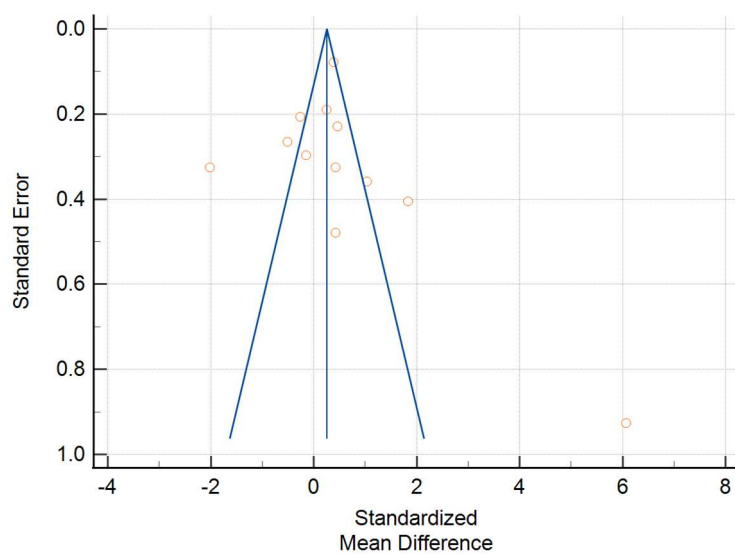
### Tyrosine



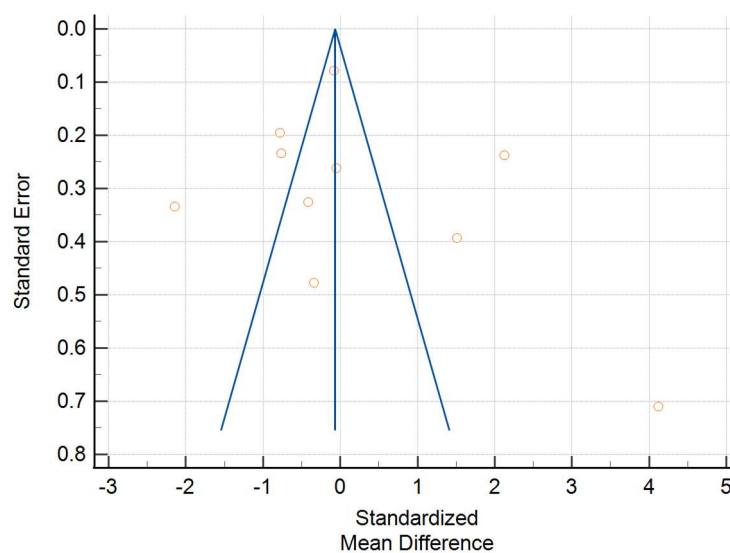
### Valine

شکل ۱۸. فارست پلات ۱۸ آمینو اسید در سرطان پستان در مقایسه با کنترل. اطلاعات مربوط به تفاوت معنی داری میانگین استاندارد شده و هتروژنتی این ۱۸ آمینو اسید در جدول ۳ خلاصه شده است.

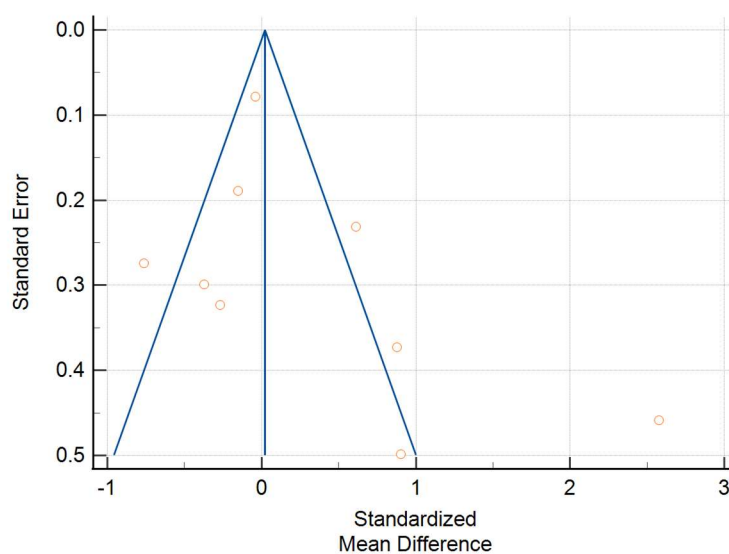
**Fig S1.** Forest plot of 18 amino acids in breast cancer compared to controls. Information regarding the standardized mean difference and heterogeneity of these 18 amino acids is summarized in Table 3.



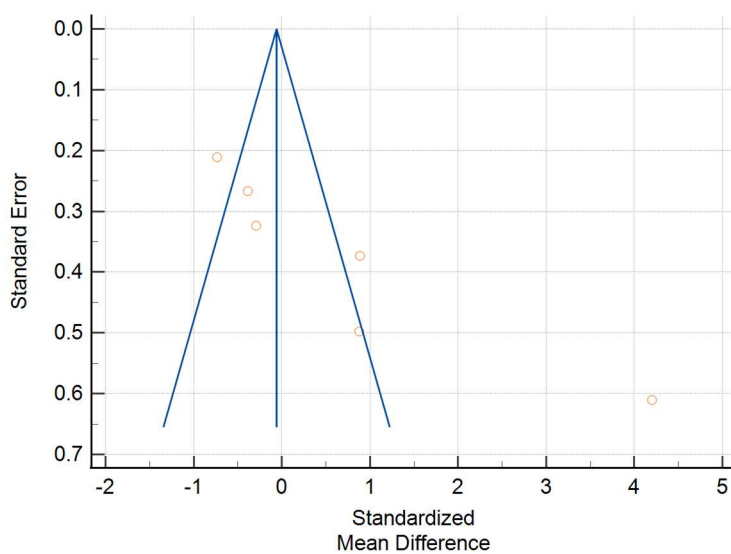
**Alanine**



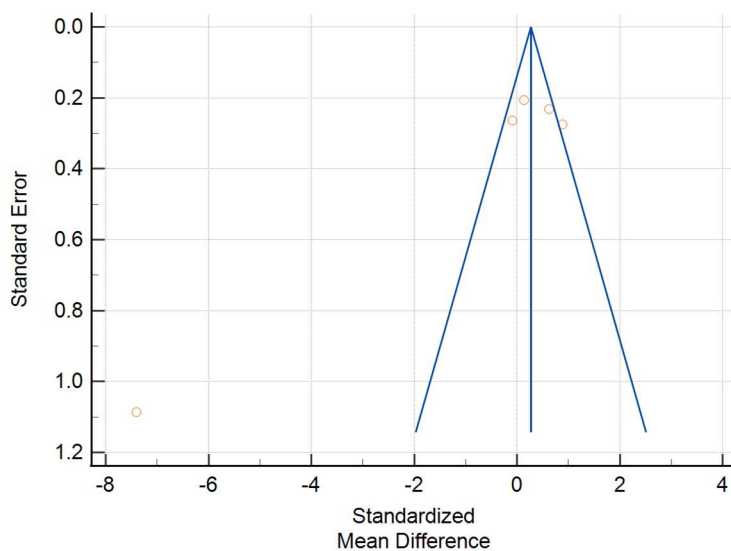
**Arginine**



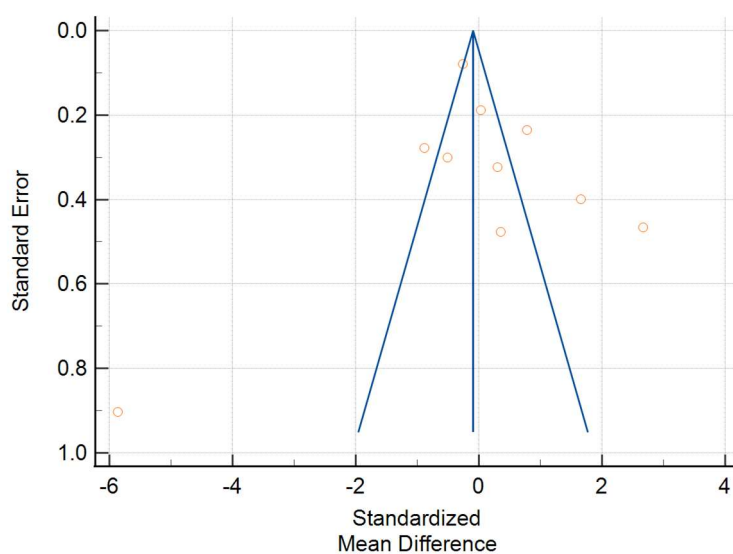
**Asparagine**



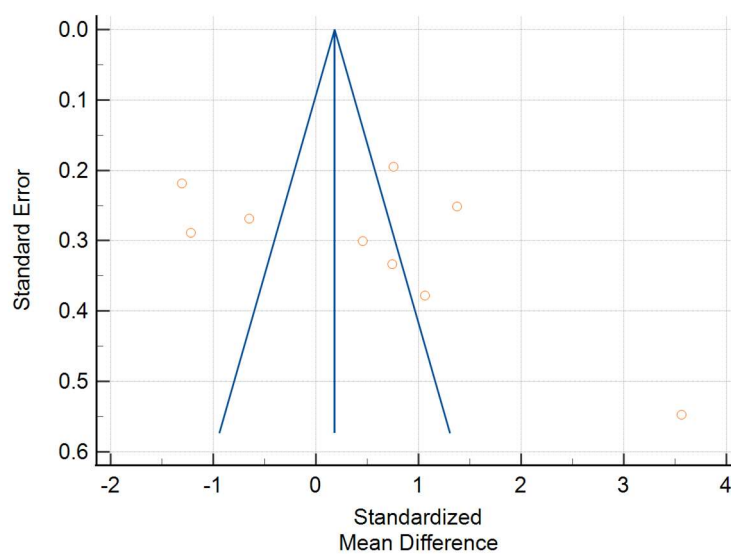
**Aspartic acid**



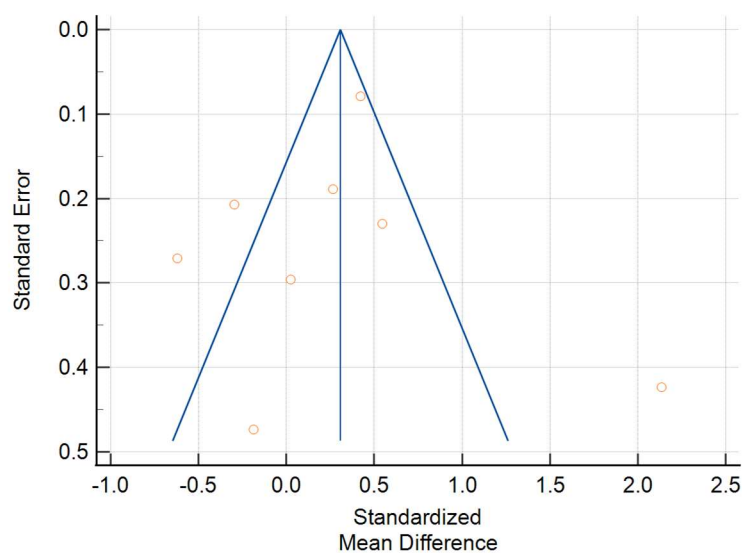
**Cysteine**



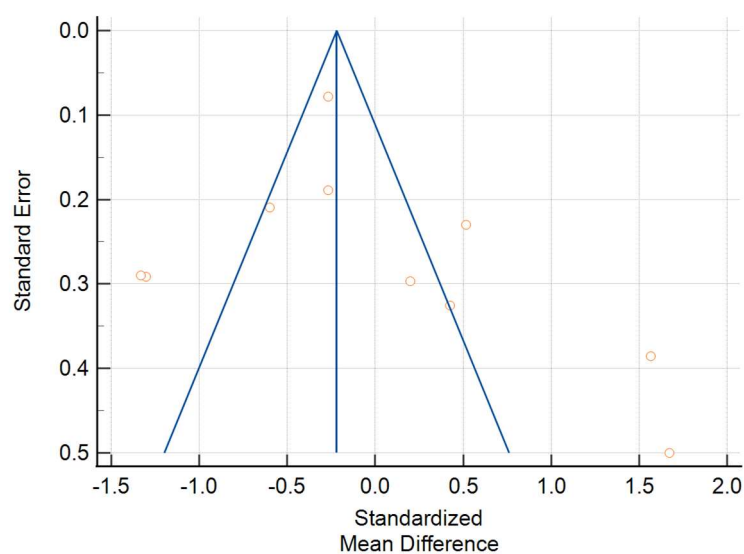
**Glutamine**



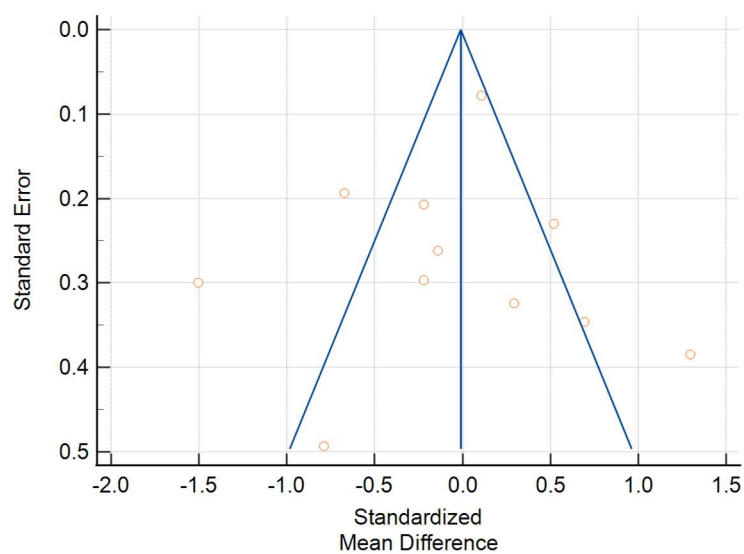
### Glutamic acid



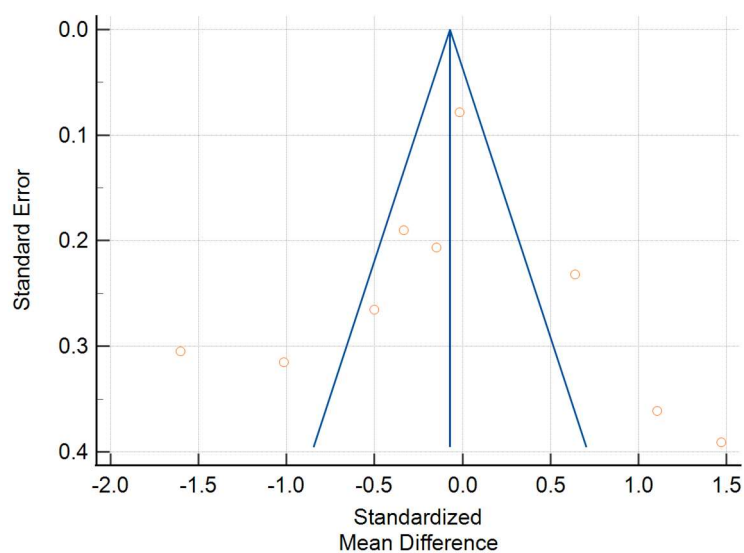
### Glycine



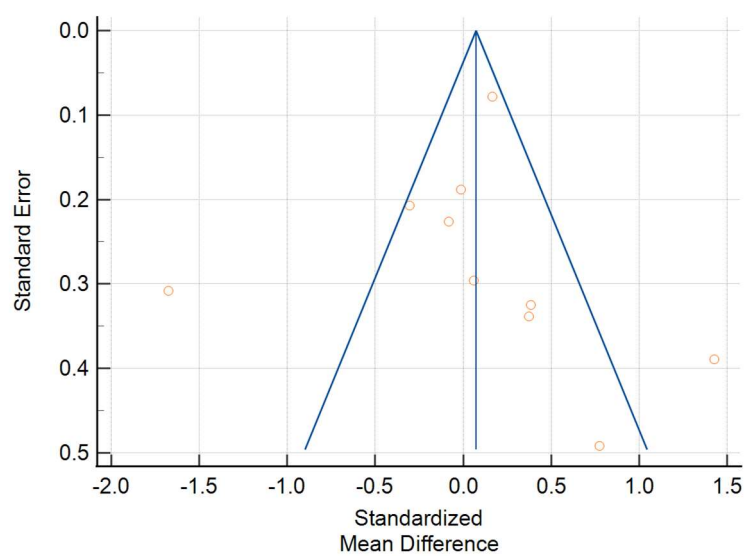
### Histidine



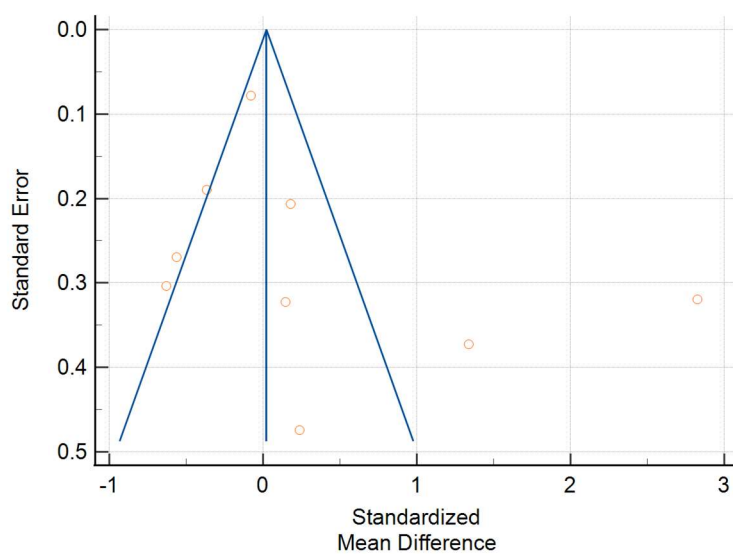
**Isoleucine**



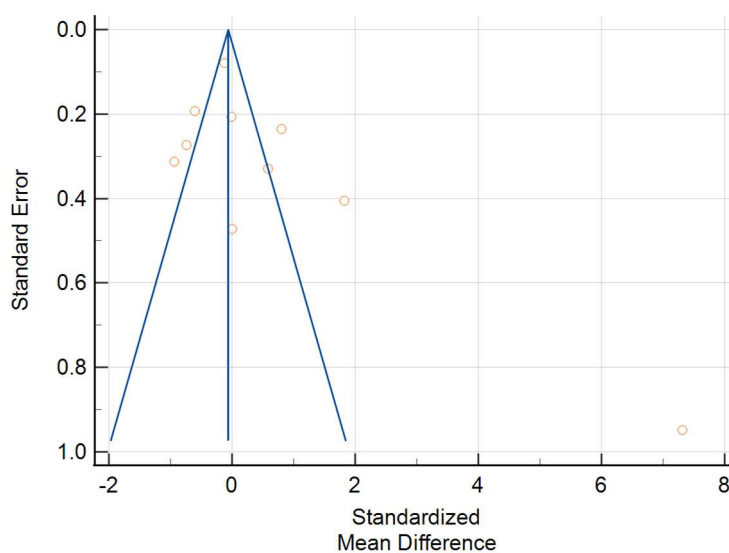
**Leucine**



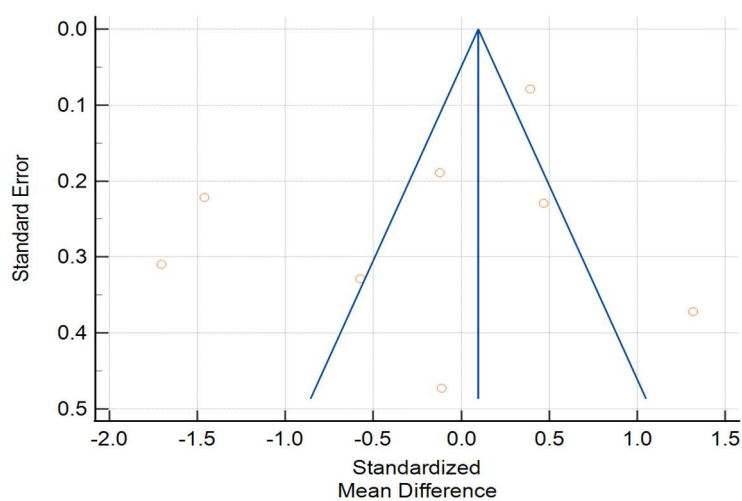
**Lysine**



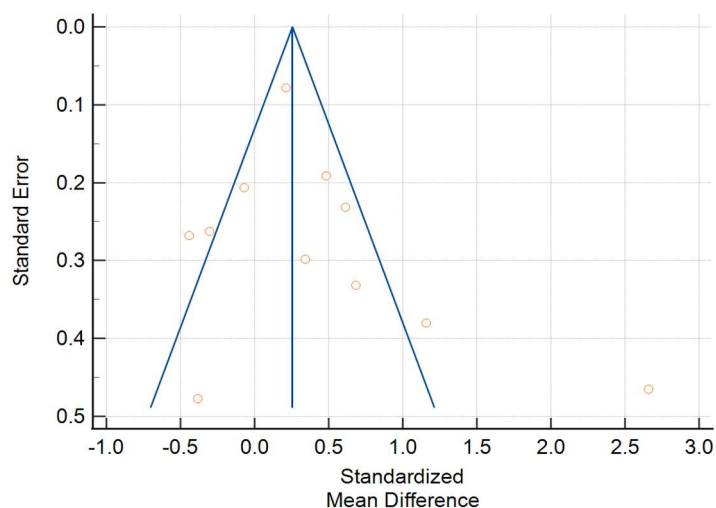
### Methionine



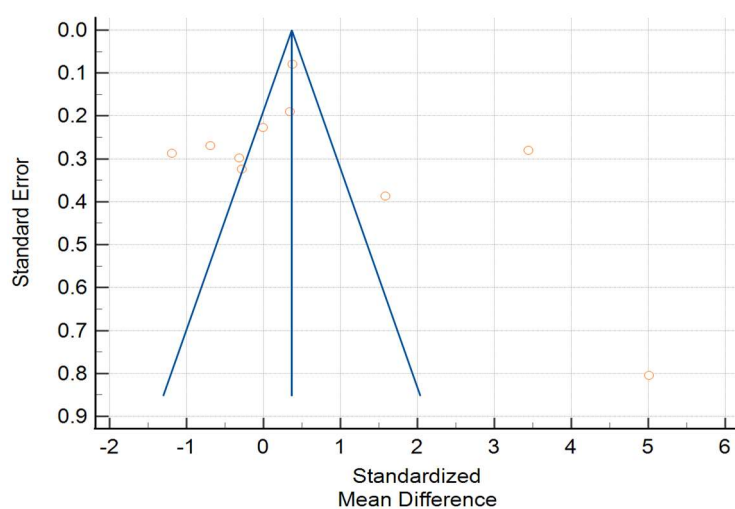
### Phenylalanine



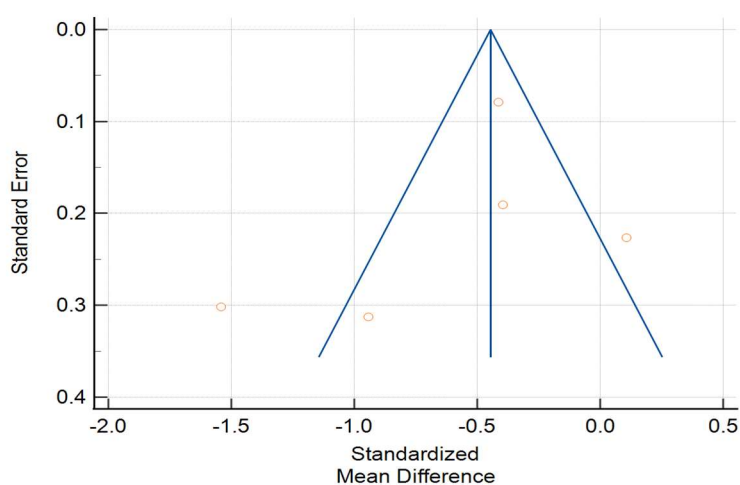
### Proline



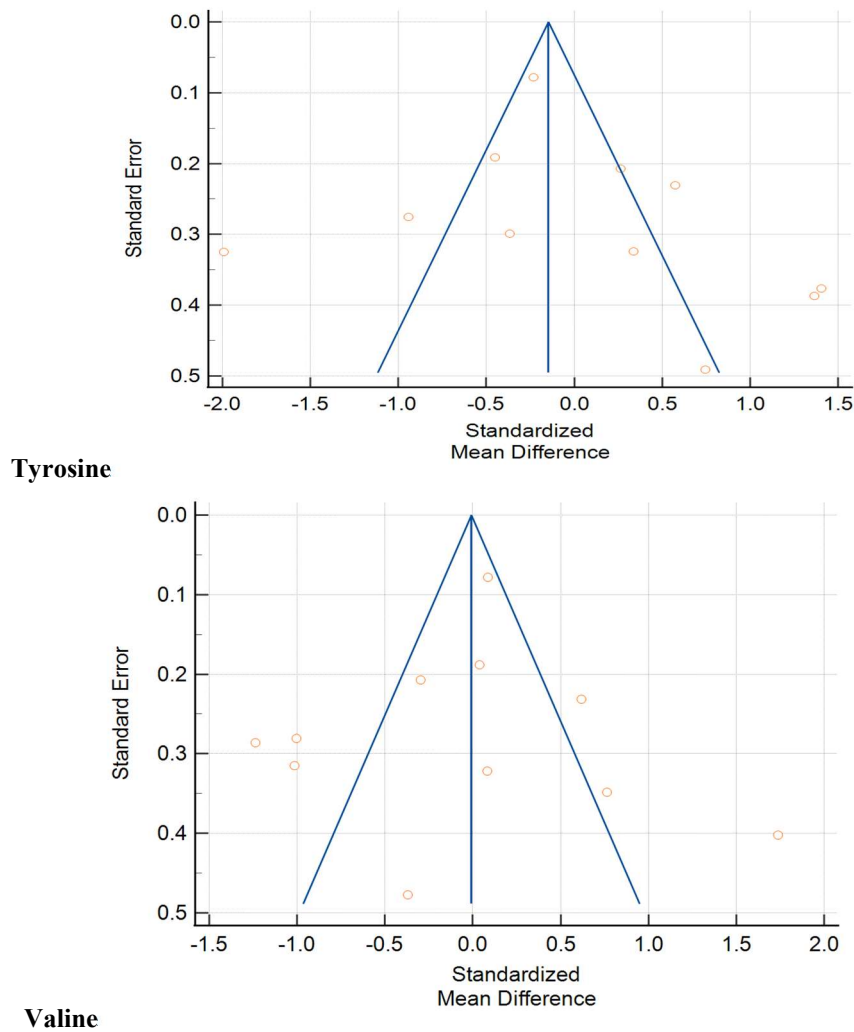
Serine



Threonine



Tryptophan



شکل ۲s. فانیل پلات ۲۰ آمینو اسید در سرطان پستان در مقایسه با کنترل. اطلاعات مربوط به سوگیری انتشار (p-value تست ایگر و تست بگ) ۲۰ آمینو اسید در جدول ۳ خلاصه شده است.

**Fig S2. Funnel plot of 20 amino acids in breast cancer compared to controls. Information regarding publication bias (p-value of Egger's and Begg's tests) for these 20 amino acids is summarized in Table 3.**

