

Δράση «Εμβληματικές δράσεις σε διαθεματικές επιστημονικές περιοχές με ειδικό ενδιαφέρον για την σύνδεση με τον παραγωγικό ιστό» ID 16618

Εθνικό δίκτυο έρευνας για την ανάδειξη της γενετικής βάσης των νευροεκφυλιστικών νόσων Alzheimer και Parkinson, την ανίχνευση αξιόπιστων βιοδεικτών και την ανάπτυξη καινοτόμων υπολογιστικών τεχνολογιών και θεραπευτικών στρατηγικών στη βάση της ιατρικής ακριβείας (BRAIN PRECISION, TAEDR-0535850)

ΤΙΤΛΟΣ ΠΑΡΑΔΟΤΕΟΥ: Ανακατασκευή μεταβολικού δικτύου εγκεφάλου μύς σε νευροεκφύλιση από πολυ-ομικά δεδομένα

ΕΝΟΤΗΤΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ 4: Ανάπτυξη κυτταρικών και ζωικών μοντέλων, καθώς και νέων βιοδεικτών για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες Alzheimer και Parkinson.

ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΟΜΑΔΑ (ΦΟΡΕΑΣ): ΜΑΡΙΑ ΚΛΑΠΑ (ΙΤΕ)

Ανακατασκευή μεταβολικού δικτύου εγκεφάλου μυός σε νευροεκφύλιση από πολυ-ομικά δεδομένα (βιοπληροφορική ανάλυση)

ΕΙΣΑΓΩΓΗ – ΣΤΟΧΟΣ

Το παραδοτέο αφορά στην ανακατασκευή του μεταβολικού δικτύου εγκεφάλου μυός με βάση γονιδιωματικά, μεταγραφωμικά, πρωτεϊνωματικά και μεταβολομικά δεδομένα από τη βιβλιογραφία και μελέτες του εργαστηρίου και την παρούσα μελέτη. Προσδιορίζονται οι μεταβολικές αντιδράσεις που είναι πιθανά ενεργές, καθώς και η αντιστρεψιμότητα και οι αντιδράσεις μεταφοράς μορίων μετά από διερεύνηση της βιβλιογραφίας. Ανάλυση του δικτύου στο πλαίσιο πολυ-ομικών δεδομένων νευροεκφύλισης αναμένεται να αναδείξει τις σχετικές μεταβολικές αλλαγές σε επίπεδο μονοπατιών. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήσαμε μεταβολομικά δεδομένα από το μοντέλο μυός χρόνιου υποθυρεοειδισμού ενηλίκων (ΧΥΕ), που περιγράφονται και στο αντίστοιχο παραδοτέο του έργου.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Μεθοδολογία – Βάσεις Δεδομένων

Κρίσιμο στάδιο των πολυ-ομικών αναλύσεων που περιλαμβάνουν και μεταβολομικά δεδομένα αποτελεί η ανακατασκευή του μεταβολικού δικτύου του υπό εξέταση βιολογικού ιστού μέσω του οποίου μπορούν να ερμηνευτούν αποτελέσματα στο πλαίσιο ενός δικτύου/μονοπατιών με σκοπό την ολιστική θεώρηση του κεντρικού μεταβολισμού του άνθρακα και των μορίων που τον απαρτίζουν, τα οποία δεν ερμηνεύονται μεμονωμένα αλλά πλέον αντιμετωπίζονται στα πλαίσια ενός δικτύου και των αλληλεπιδράσεών τους με άλλα μόρια. Η ανακατασκευή του μεταβολικού δικτύου βασίζεται σε ποικίλες πηγές όπως διάφορες βάσεις βιολογικών δεδομένων καθώς και στην ήδη υπάρχουσα βιβλιοθήκη μεταβολικών κορυφών του εργαστηρίου που έχει αναπτυχθεί βάση πολλαπλών πειραμάτων αλλά και σε διεθνή βιβλιογραφία.

Για την ανακατασκευή του δικτύου του κεντρικού μεταβολισμού άνθρακα ιστού μυός, αναζητήθηκαν, συλλέχθηκαν και συνδυάστηκαν τα μεταβολικά μονοπάτια του πρωτογενούς μεταβολισμού για το είδος *Mus musculus* από μεταβολικές βάσεις δεδομένων [1,2,3], καθώς και δεδομένα από γονιδιωματικής κλίμακας ανακατασκευασμένα μεταβολικά δίκτυα [4,5,6]. Δεδομένου ότι οι πληροφορίες που παρέχονται σε αυτές τις βάσεις δεν είναι ιστοειδικές αλλά δίνουν μια ολιστική εικόνα κάθε μεταβολικού μονοπατιού, η επιλογή των μονοπατιών έγινε με βάση τα μεταβολομικά δεδομένα εγκεφαλικών περιοχών του εργαστηρίου, από παλιότερες και την τωρινή μελέτη, επικυρώνοντας την ενεργότητα των εμπλεκόμενων μεταβολικών αντιδράσεων. Επίσης, χρησιμοποιήθηκε πληροφορία από βιβλία νευροχημείας και πλήθος (>80) δημοσιευμένες ερευνητικές εργασίες.

Ένα ακόμα σημαντικό βήμα της ανακατασκευής των μεταβολικών δικτύων και απεικόνισής των ομικών μετρήσεων σε αυτά είναι ο χρωματισμός των μεταβολιτών των οποίων οι σχετικές συγκεντρώσεις έχουν δειχθεί από την πολυπαραμετρική στατιστική ανάλυση ότι μεταβάλλονται στατιστικώς σημαντικά μεταξύ δύο πειραματικών καταστάσεων. Πιο αναλυτικά, στο παρόν μεταβολικό δίκτυο οι μεταβολίτες των οποίων



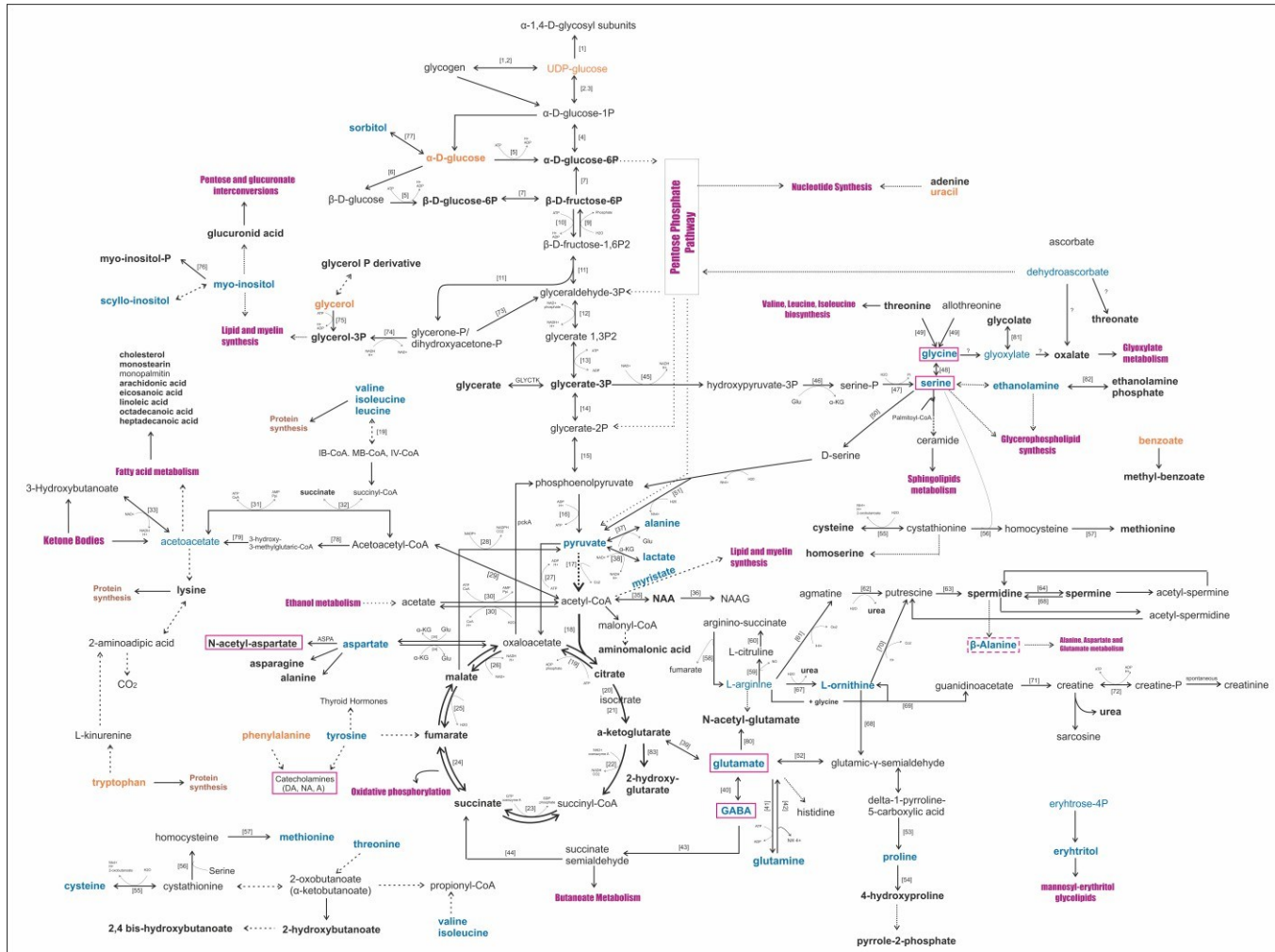
οι σχετικές συγκεντρώσεις εμφανίζονται στατιστικώς σημαντικά αυξημένες ή μειωμένες μεταξύ των ευθυροειδικών και υποθυροειδικών πειραματοζών παρουσιάζονται με κόκκινο και πράσινο χρώμα, αντίστοιχα. Επιπλέον, σε κάθε μεταβολικό δίκτυο υπάρχει η δυνατότητα να προσθέσουμε επιπλέον πληροφορία ανάλογα με το σύστημα μελέτης και το στόχο της έρευνας. Στο δίκτυο μπορεί να φαίνονται α) ποιοι από τους παρόντες μεταβολίτες έχουν ταυτοποιηθεί, ποσοτικοποιηθεί και παραμένουν στην ανάλυση μετά τη διαδικασία του φιλτραρίσματος στη συγκεκριμένη μελέτη β) μεταβολίτες οι οποίοι παράγονται από τον ίδιο τον ιστό και προσλαμβάνονται και μέσω της κυκλοφορίας του αίματος, γ) μεταβολίτες οι οποίοι παραλαμβάνονται αποκλειστικά από την κυκλοφορία του αίματος μέσω του αιματοεγκεφαλικού φραγμού δ) μεταβολίτες τους οποίους δεν μπορεί να συνθέσει ο οργανισμός και προσλαμβάνει έτοιμους μέσω των τροφών και ε) μεταβολίτες οι οποίοι δρουν στον εγκεφαλικό ιστό παράλληλα και ως νευροδιαβιβαστές. Οι πληροφορίες αυτές βοηθούν τον ερευνητή να αποκτήσει μια ολιστική εικόνα των αλλαγών που επιφέρει η υπό μελέτη διαταραχή στο σύστημα και κατ' επέκταση να μπορεί να φτάσει στο βιολογικό συμπέρασμα.

Ανακατασκευασμένο Μεταβολικό Δίκτυο του εγκεφάλου μυός

Το ανακατασκευασμένο δίκτυο που παρουσιάζεται στην Εικόνα 1 αφορά κυρίως απεικόνιση μεταβολικών αντιδράσεων του κεντρικού μεταβολισμού του άνθρακα. Πιο αναλυτικά το συγκεκριμένο δίκτυο απεικονίζει τα μονοπάτια της γλυκόλυσης και του κύκλου του κιτρικού οξέος, μονοπάτια σύνθεσης των αμινοξέων και τις αντιδράσεις που οδηγούν προς το σχηματισμό κετονοσωματίων. Επίσης απεικονίζονται πρόδρομα μόρια σύνθεσης φωσφολιπιδίων και γλυκερο-φωσφολιπιδίων αλλά και αντιδράσεις που κατευθύνονται προς σύνθεση λιπιδίων και μυελίνης. Ένα άλλο είδος σημαντικής πληροφορίας που εμπεριέχει το δίκτυο αυτό είναι η κατεύθυνση των αντιδράσεων, η οποία έχει καθοριστεί με βάση ευρεία διερεύνηση της βιβλιογραφίας για την περίπτωση του εγκεφαλικού ιστού. Στο συγκεκριμένο δίκτυο η κατεύθυνση των αντιδράσεων παρουσιάζεται όπως είναι ευρέως αποδεκτό με βέλη στις άκρες των γραμμών. Γραμμές οι οποίες είναι διακεκομμένες δηλώνουν σειρά αντιδράσεων από το αντιδρόν προς το τελικό προϊόν.

Άλλο ένα είδος πληροφορίας αφορά στον χρωματικό ή/και γραφικό χαρακτηρισμό κάθε μεταβολίτη. Πιο αναλυτικά, μεταβολίτες οι οποίοι έχουν ταυτοποιηθεί και ποσοτικοποιηθεί σε μεταβολομικές μελέτες του εργαστηρίου και πάνω στους οποίους στηρίχτηκε η ανακατασκευή του δικτύου παρουσιάζονται με έντονη γραφή (**bold**). Οι μεταβολίτες οι οποίοι διαπερνούν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό μέσω της κυκλοφορίας αλλά είναι δυνατόν να συντίθενται και από τον ίδιο τον ιστό παρουσιάζονται με χρώμα μπλε. Με πορτοκαλί έχουν χρωματιστεί οι μεταβολίτες οι οποίοι θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν ως «απαραίτητοι», δηλαδή δεν μπορεί να τους συνθέσει ο ιστός και παρέχονται σε αυτόν μόνο μέσω του αίματος. Στον εγκεφαλικό ιστό πολλοί μεταβολίτες εκτός της συμμετοχής τους στις βιοχημικές αντιδράσεις παίζουν και το ρόλο νευροδιαβιβαστών. Οι περιπτώσεις αυτές εμφανίζονται με έντονο ροζ περίγραμμα. Τέλος η συμμετοχή των τελικών προϊόντων σε άλλα τμήματα του μεταβολισμού υποδηλώνεται με διαφορετικής γραφής (καλλιτεχνικής) μωβ γράμματα.





Εικόνα 1. Ανακατασκευασμένο μεταβολικό δίκτυο εγκεφάλου μυός.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Kanehisa M, Goto S, Sato Y, Furumichi M, Tanabe M. KEGG for integration and interpretation of large-scale molecular data sets. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(Database issue):D109-14. doi:10.1093/nar/gkr988
2. Artimo P, Jonnalagedda M, Arnold K, et al. ExPASy: SIB bioinformatics resource portal. *Nucleic Acids Res.* 2012;40(W1):597-603. doi:10.1093/nar/gks400
3. Caspi R, Billington R, Keseler IM, et al. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes - a 2019 update. Published online 2019:1-9. doi:10.1093/nar/gkz862
4. Khodaei S, Asgari Y, Totonchi M, Karimi-Jafari MH. iMM1865: A New Reconstruction of Mouse Genome-Scale Metabolic Model. *Sci Rep.* 2020;10(1):1-13. doi:10.1038/s41598-020-63235-w
5. Sigurdsson MI, Jamshidi N, Steingrimsdottir E, Thiele I, Palsson BT. A detailed genome-wide reconstruction of mouse metabolism based on human Recon 1. *BMC Syst Biol.* 2010;4. doi:10.1186/1752-0509-4-140
6. Selvarasu S, Karimi IA, Ghim GH, Lee DY. Genome-scale modeling and in silico analysis of mouse cell metabolic network. *Mol Biosyst.* 2009;6(1):152-161. doi:10.1039/b912865d

