

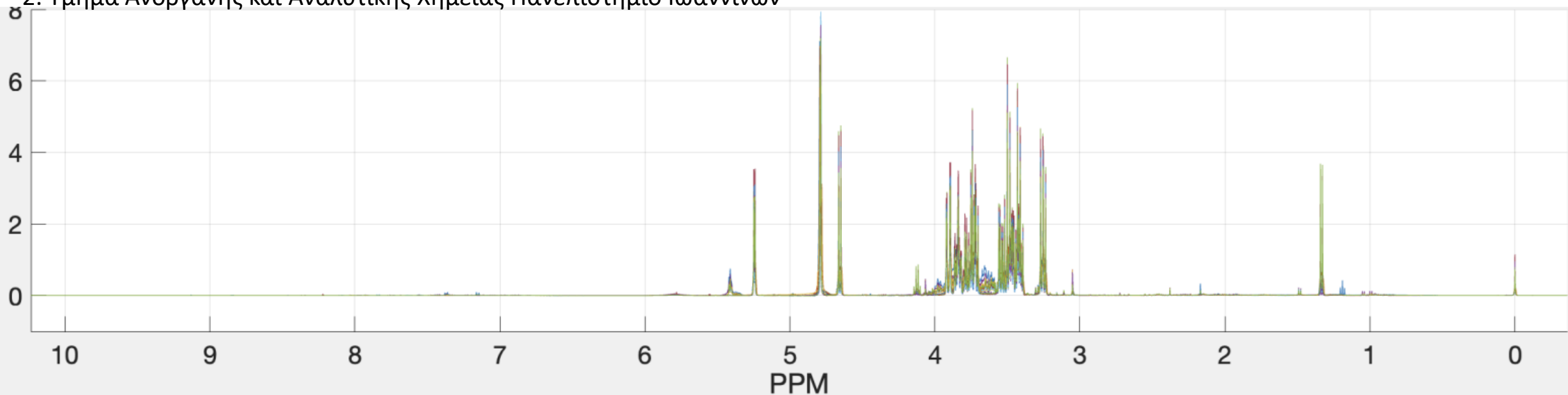


Διαχρονική σταθερότητα μεταβολικών αποτυπωμάτων στο περιτοναϊκό υγρό και κλινικές προεκτάσεις για την εξατομικευμένη παρακολούθηση με μεταβολομική ανάλυση με ^1H -NMR

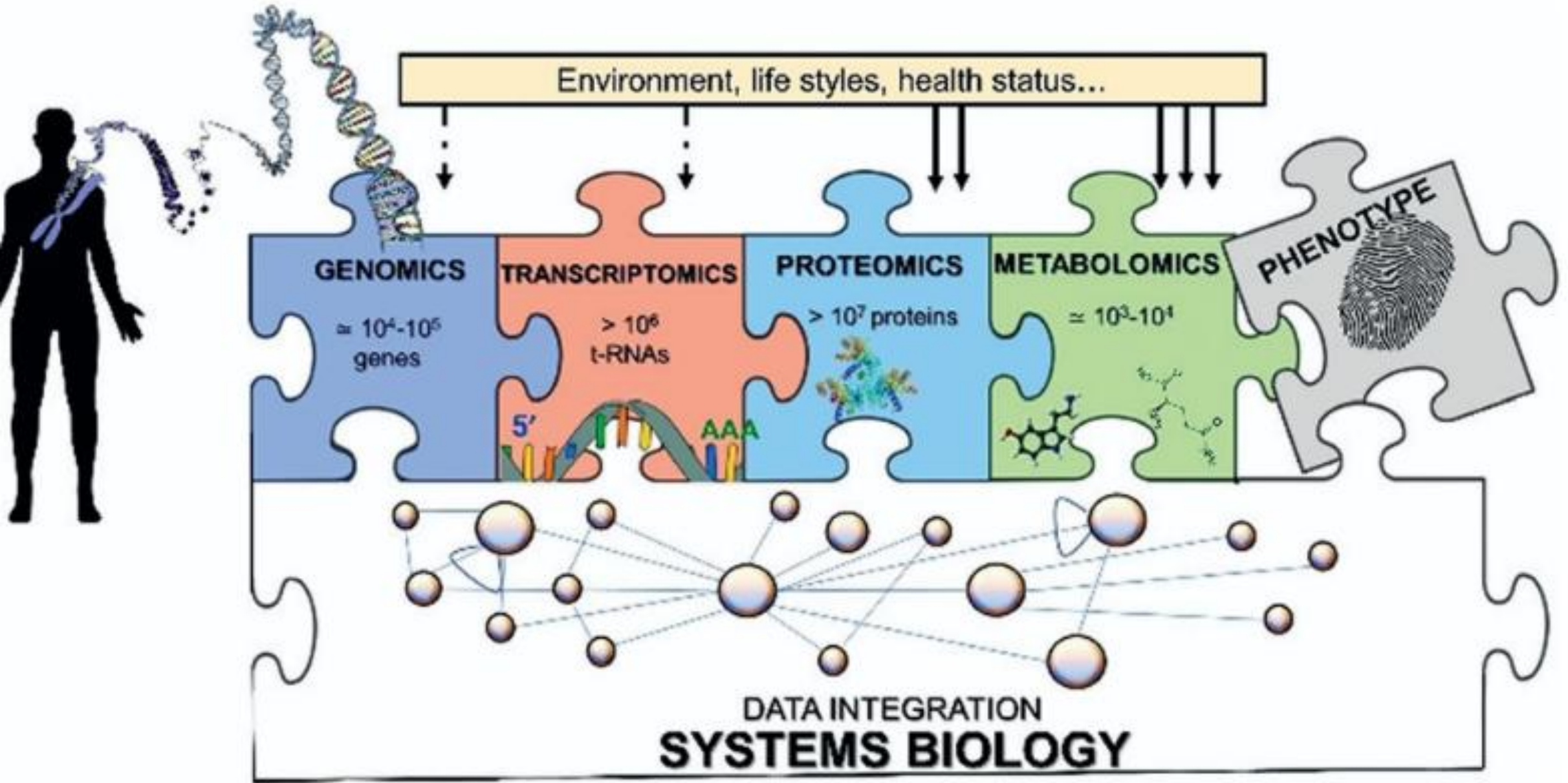
Μαριάνθη Ανδρουλάκη¹, Όλγα Μπαλάφα ¹, Ευαγγελία Κέγκου¹ Παντελεήμων Τάκης² και Αιμίλιος Ανδρικός¹

1: Νεφρολογικό Τμήμα Γενικού Νοσοκομείου Ιωαννίνων "Γ. ΧΑΤΖΗΚΩΣΤΑ"

2. Τμήμα Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων



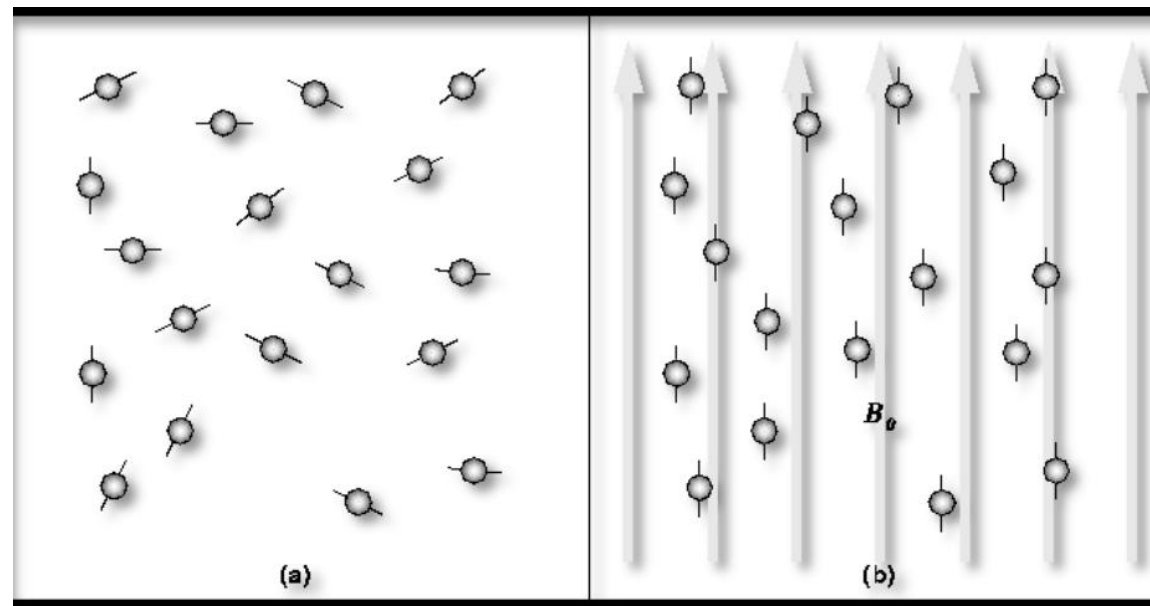
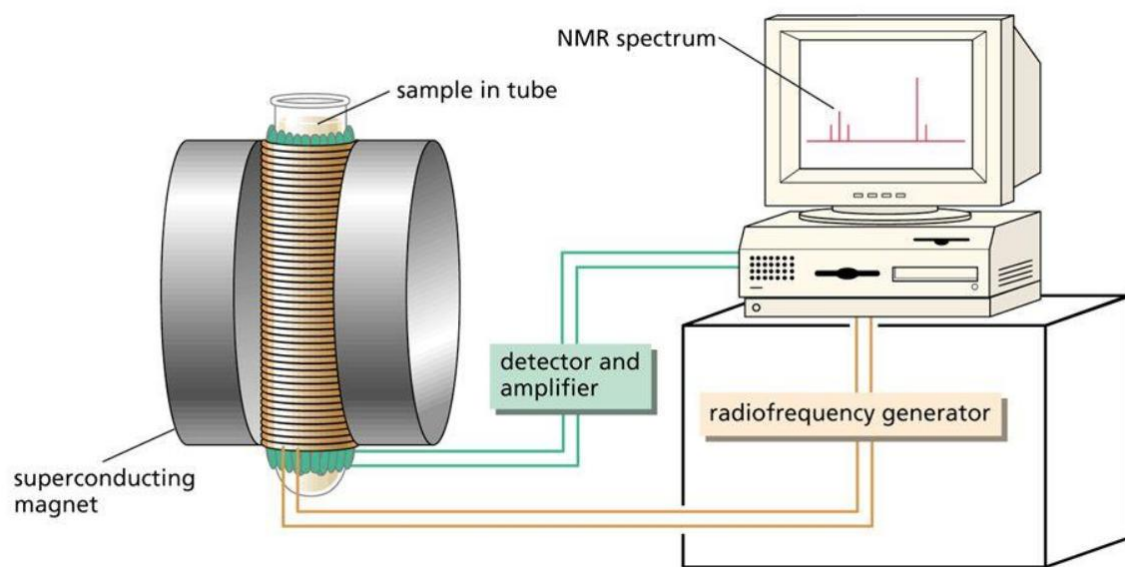
Multimomics and systems biology



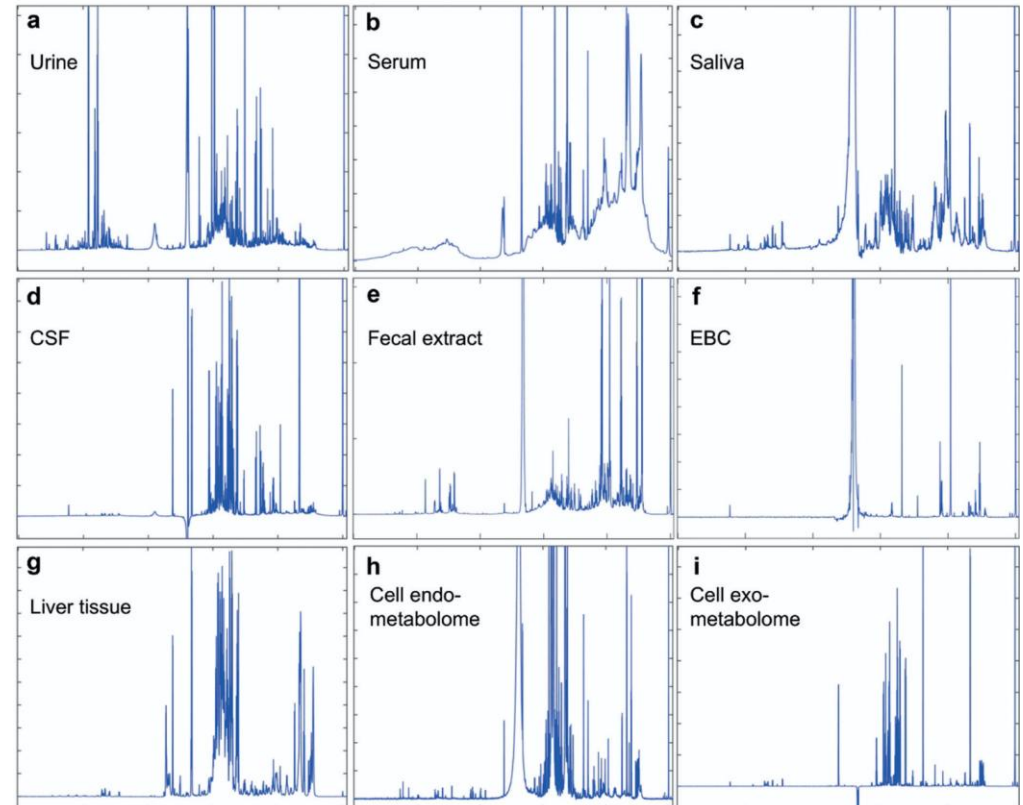
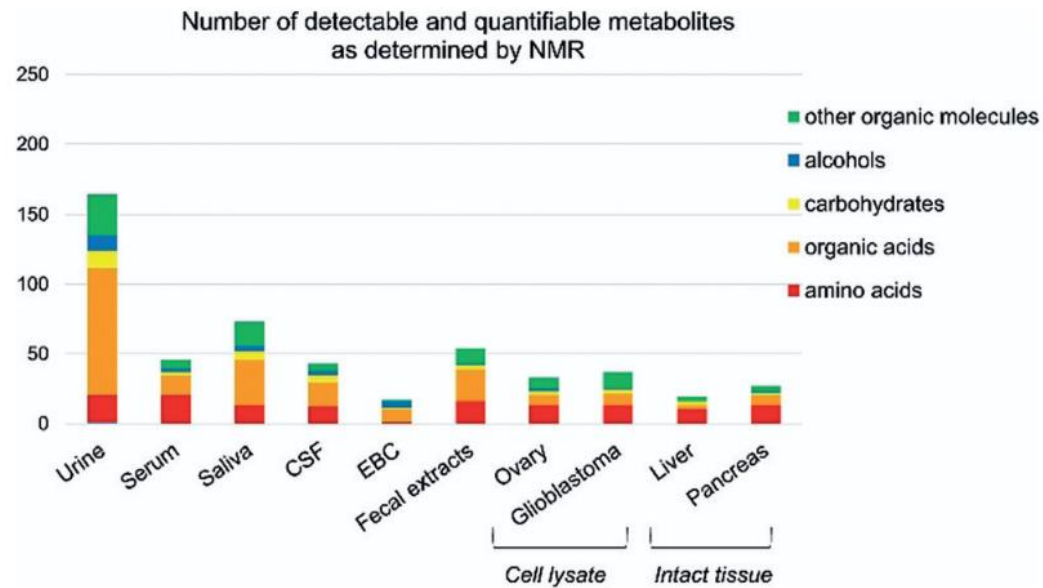
ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ

$^1\text{H-NMR}$

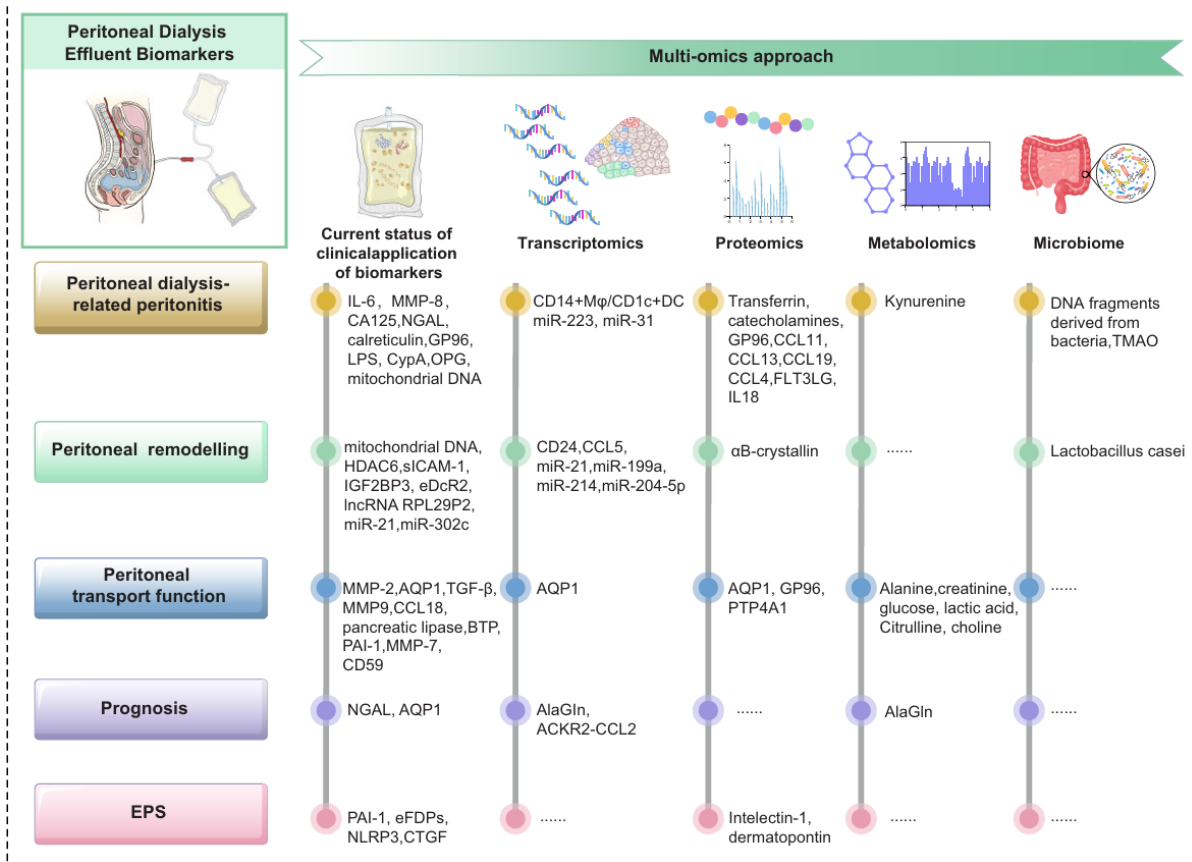
Βασίζεται στο φαινόμενο του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού, σύμφωνα με το οποίο οι πυρήνες εντός ενός μαγνητικού πεδίου απορροφούν και επανεκπέμπουν ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία



Εύρος εφαρμογών της ^1H -NMR μεταβολομικής σε διαφορετικά βιολογικά υποστρώματα



Περιτοναϊκό υγρό: είναι αξιόπιστο ως υπόστρωμα?



Το περιτοναϊκό υγρό (Π.Υ.), έρχεται σε άμεση επαφή με την περιτοναϊκή μεμβράνη γεγονός που το καθιστά πολύτιμη πηγή πληροφοριών για τη βιολογία και τη λειτουργική κατάστασή της.

ΦΑΣΜΑΤΟΣΚΟΠΙΑ ¹H-NMR – ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗΝ ΠΕΡΙΤΟΝΑΙΚΗ ΚΑΘΑΡΣΗ

- *Wiesenhofer FM, Herzog R, Boehm M, et al. Targeted Metabolomic Profiling of Peritoneal Dialysis Effluents Shows Anti-oxidative Capacity of Alanyl-Glutamine. Front Physiol. 2019;9:1961. doi:10.3389/fphys.2018.01961*
- *Li H, Yu F, Wang X, et al. Peritoneal dialysis effluent biomarkers from a multi-omics and artificial intelligence perspective: advances and challenges. Clinical Kidney Journal. 2026;19(2):sfaf378. doi:10.1093/ckj/sfaf378*
- *Kondou A, Begou O, Dotis J, et al. Impact of Metabolomics Technologies on the Assessment of Peritoneal Membrane Profiles in Peritoneal Dialysis Patients: A Systematic Review. Metabolites. 2022;12(2):145. doi:10.3390/metabo12020145*
- *Kim HJ, Choo M, Kwon HN, et al. Metabolomic profiling of overnight peritoneal dialysis effluents predicts the peritoneal equilibration test type. Sci Rep. 2023;13(1):3803. doi:10.1038/s41598-023-29741-3*
- *Dunn WB, Summers A, Brown M, et al. Proof-of-principle study to detect metabolic changes in peritoneal dialysis effluent in patients who develop encapsulating peritoneal sclerosis. Nephrology Dialysis Transplantation. 2012;27(6):2502-2510. doi:10.1093/ndt/gfr662*

σε καμία από τις υπάρχουσες μελέτες δεν αποδείχτηκε η μεταβολική μοναδικότητα του περιτοναϊκού υγρού



Uniqueness of the NMR approach to metabolomics

Panteleimon G. Takis^a, Veronica Ghini^b, Leonardo Tenori^{b, c}, Paola Turano^{b, d, *},
Claudio Luchinat^{b, d, **}

^a Giotto Biotech, CERM, University of Florence, Via Luigi Sacconi 6, 50019, Sesto Fiorentino, Florence, Italy

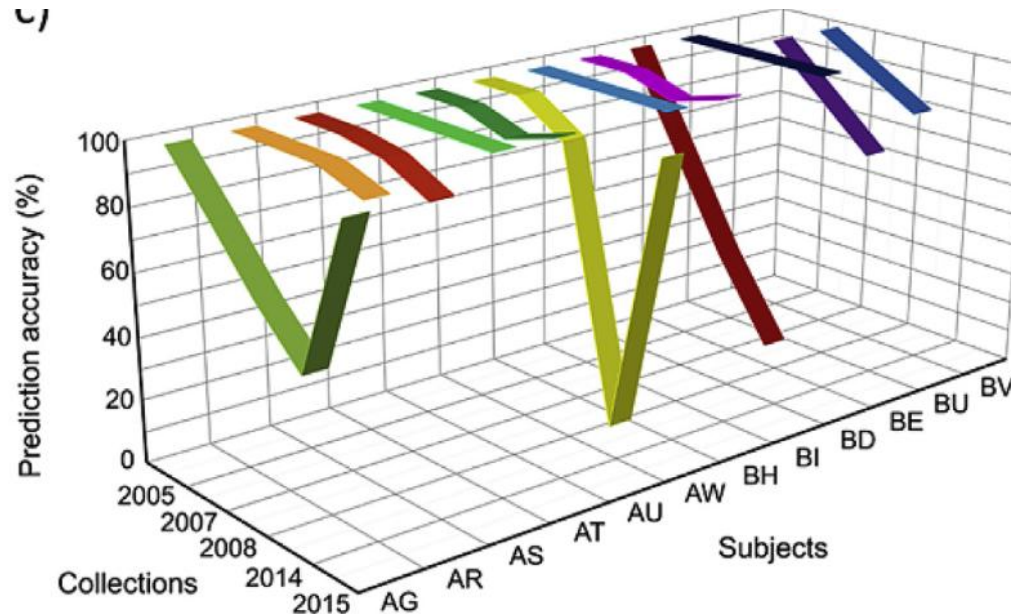
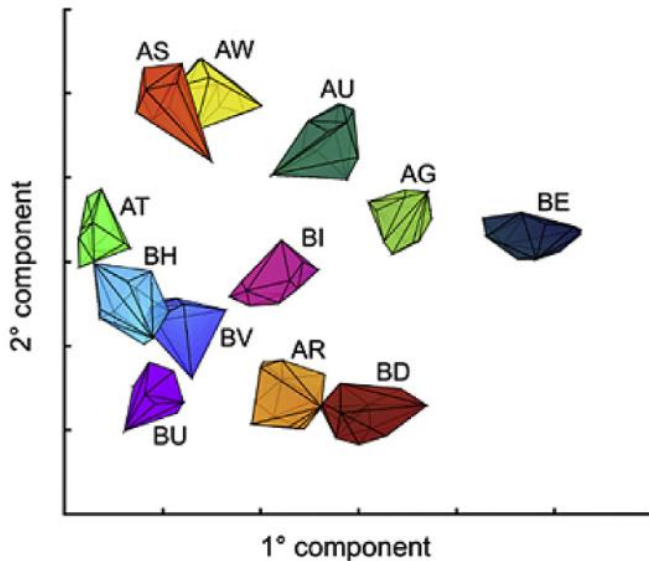
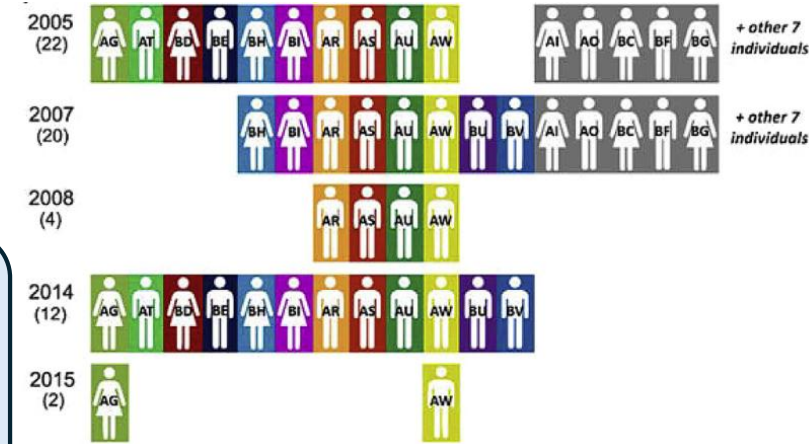
^b CERM, University of Florence, Via Luigi Sacconi 6, 50019, Sesto Fiorentino, Florence, Italy

^c Department of Experimental and Clinical Medicine, University of Florence, Largo Brambilla 3, 50134 Florence, Italy

^d Department of Chemistry "Ugo Schiff", University of Florence, Via della Lastruccia 3, 50019, Sesto Fiorentino, Florence, Italy

P.G. Takis et al. / Trends in Analytical Chemistry 120 (2019) 115300

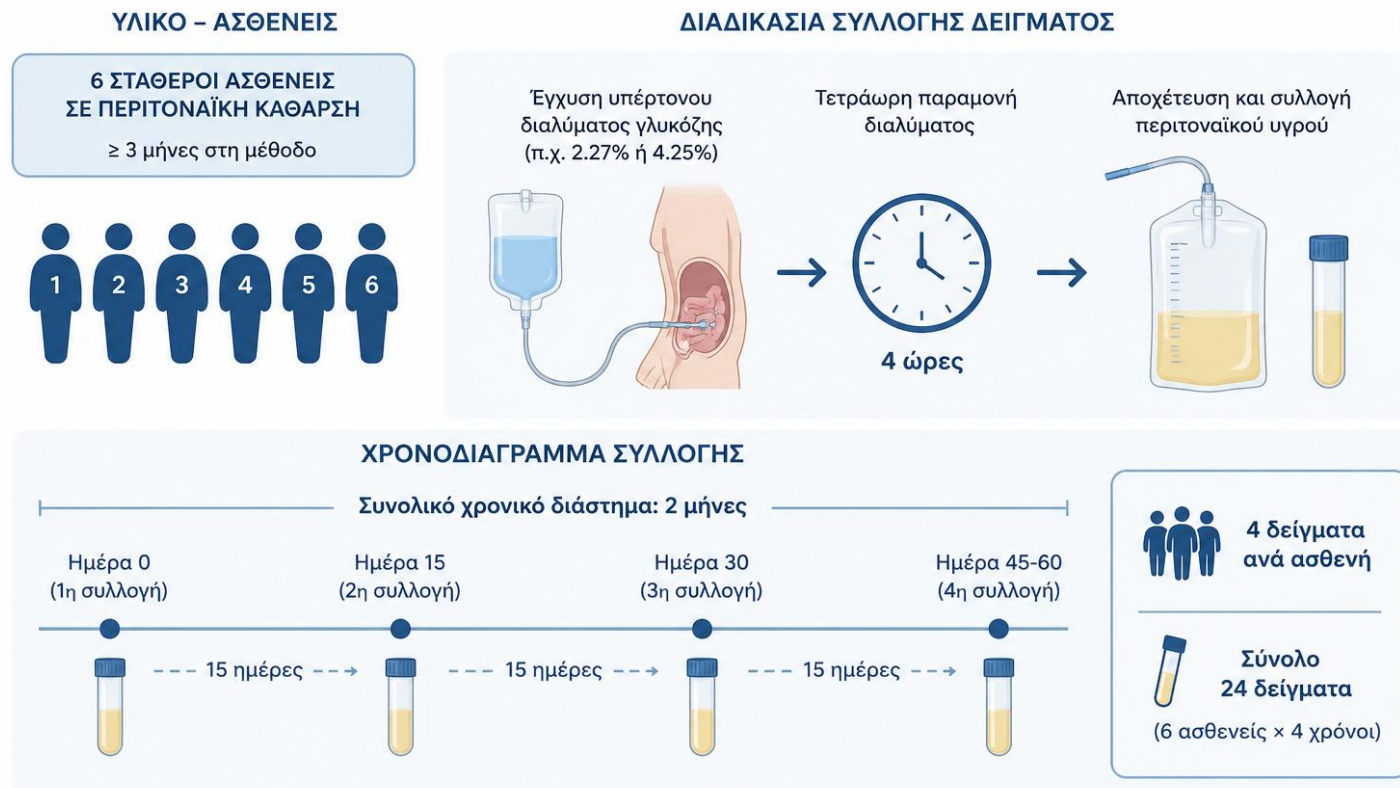
Η χρήση του NMR fingerprinting σε κοινά βιολογικά υγρά για γενικό πληθυσμιακό έλεγχο μπορεί επομένως να εξελιχθεί σε ένα ισχυρό εργαλείο πρώιμης διάγνωσης, προσφέροντας σημαντικό όφελος τόσο για τους ασθενείς όσο και για τα συστήματα δημόσιας υγείας.



ΥΠΟΘΕΣΗ

Η κεντρική υπόθεση που διέπει τη μελέτη αυτή είναι ότι τα ατομικά μεταβολικά αποτυπώματα στο περιτοναϊκό διάλυμα εμφανίζουν επαρκή σταθερότητα και διακριτότητα, ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως αξιόπιστοι, ασθενο-ειδικοί βιοδείκτες για την εξατομικευμένη παρακολούθηση της περιτοναϊκής κάθαρσης μέσω μεταβολομικής ανάλυσης με ^1H NMR

ΥΛΙΚΟ



Σταθεροί ασθενείς σε περιτοναϊκή κάθαρση (≥3 μήνες) υποβλήθηκαν σε τετράωρη παραμονή υπέρτονου διαλύματος γλυκόζης. Το περιτοναϊκό υγρό συλλέχθηκε ανά 15 ημέρες, για συνολικό διάστημα 2 μηνών, αποδίδοντας 4 δείγματα ανά ασθενή.

Μεταβολική φαινοτυπική ανάλυση με ^1H NMR



Δείγματα
περιτοναϊκού
υγρού

n = 24

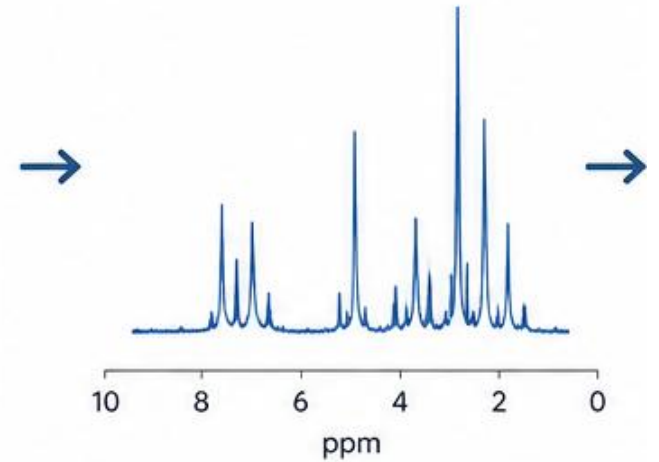
(6 ασθενείς × 4 χρόνοι)



^1H NMR φασματοσκοπία

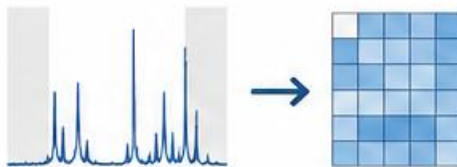


Φασματικά δεδομένα
(raw)

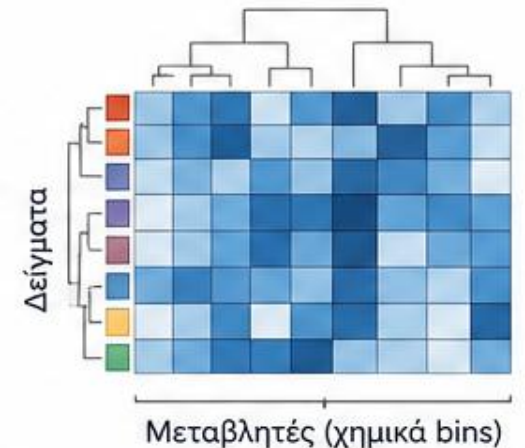


Προ-επεξεργασία

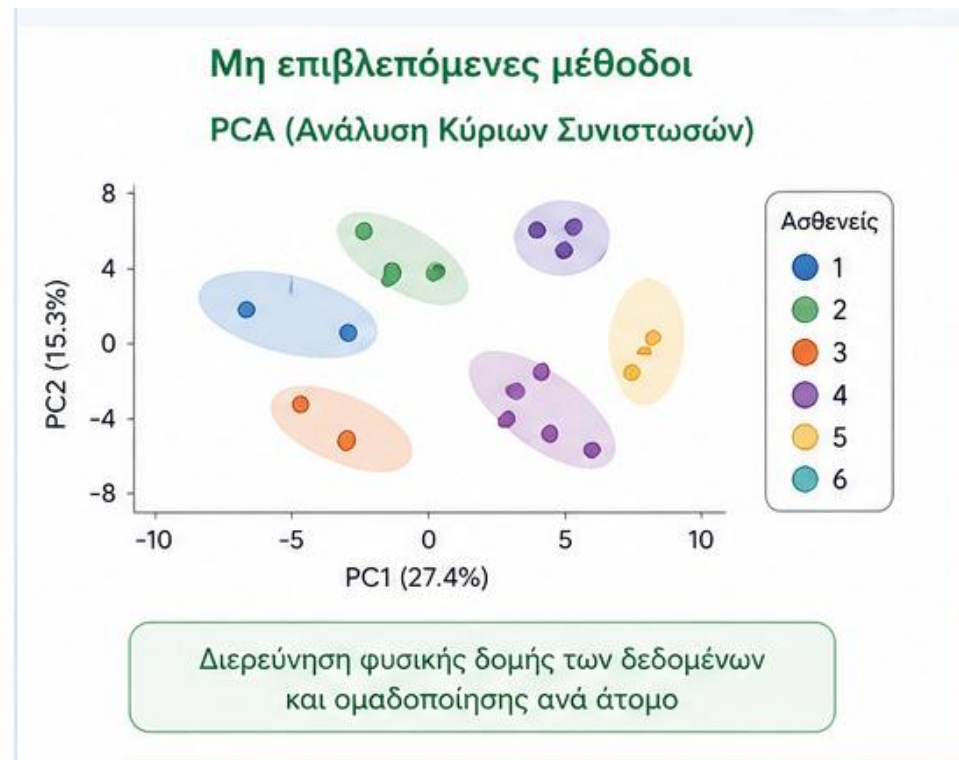
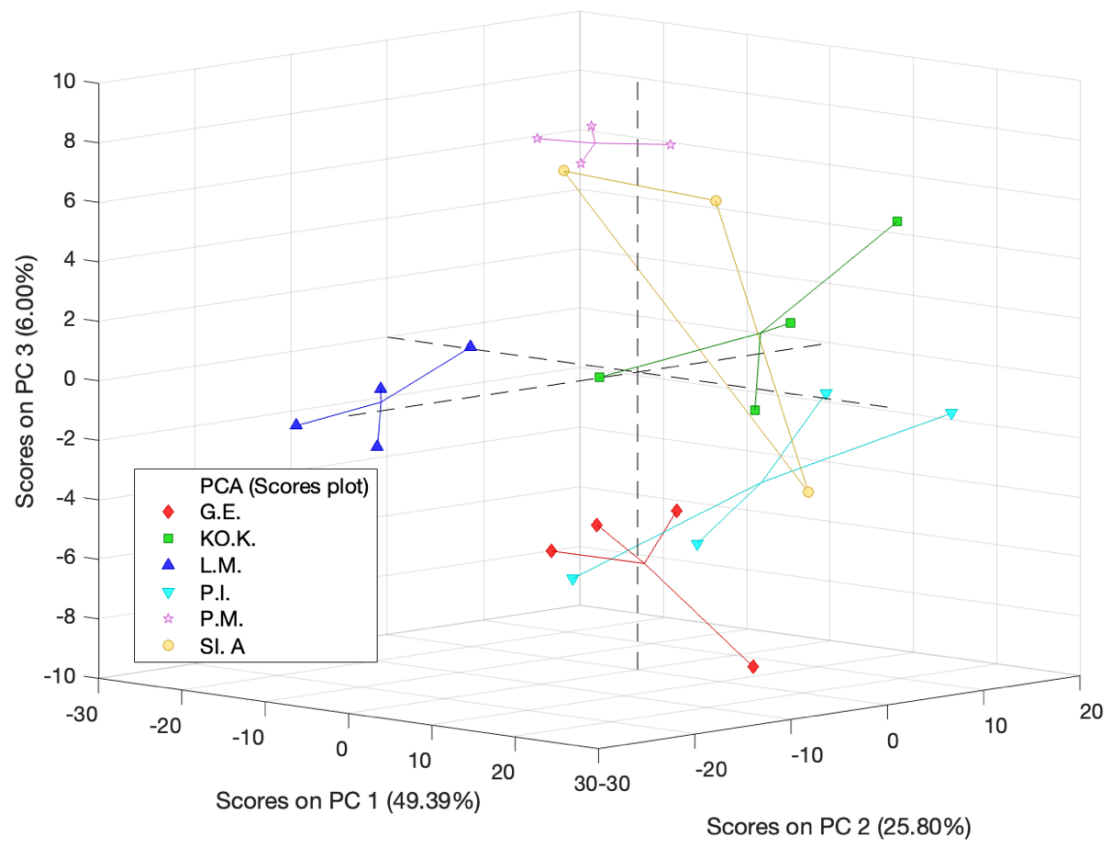
- Φασματική διόρθωση φάσης
- Αναφορά χημικής μετατόπισης
- Αποκοπή περιοχών (π.χ. H_2O)
- Διαχωρισμός (binning)
- Κανονικοποίηση



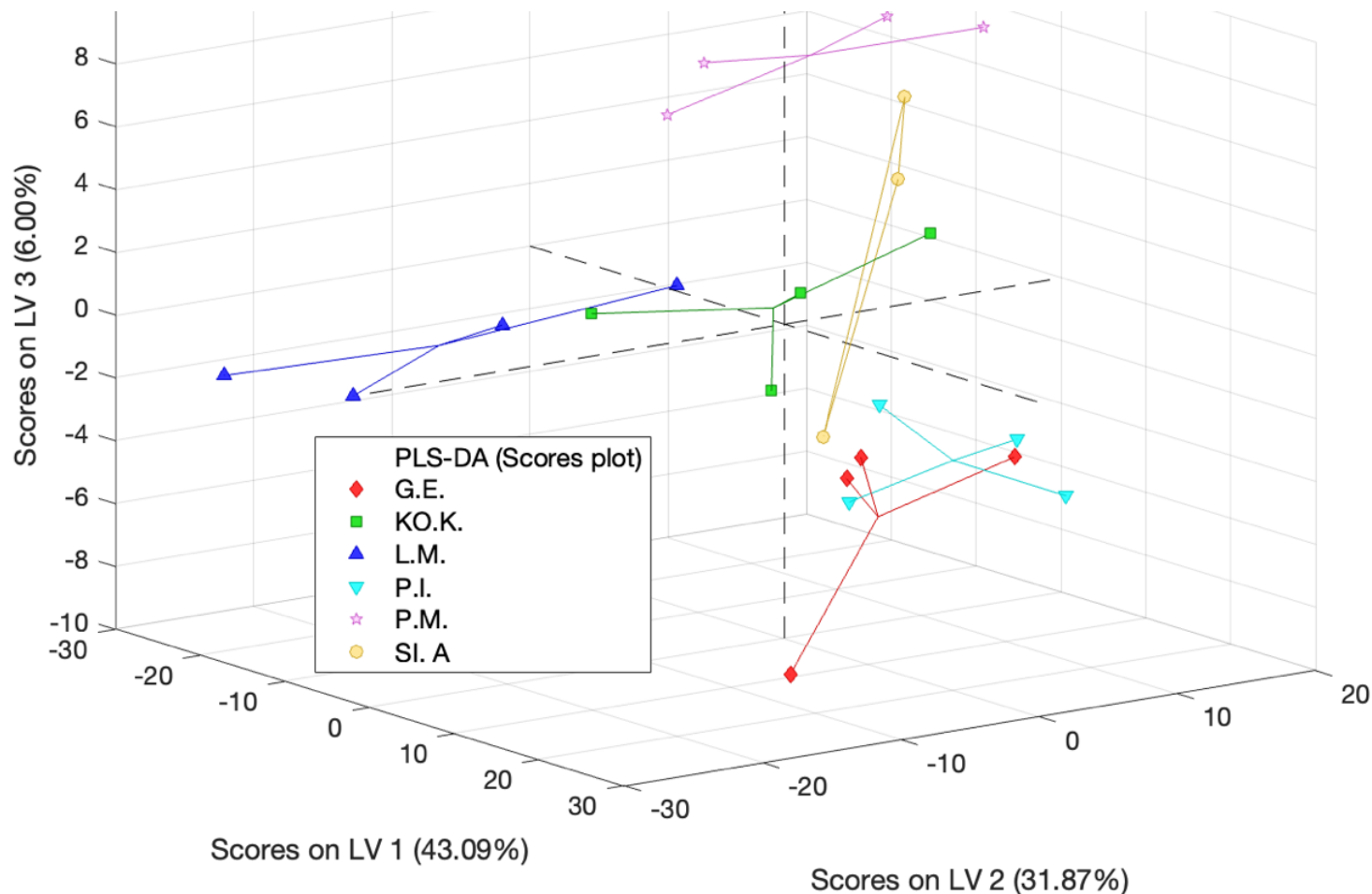
Επεξεργασμένα δεδομένα
(normalized)



Μη επιβλεπόμενες μέθοδοι : PCA Analysis

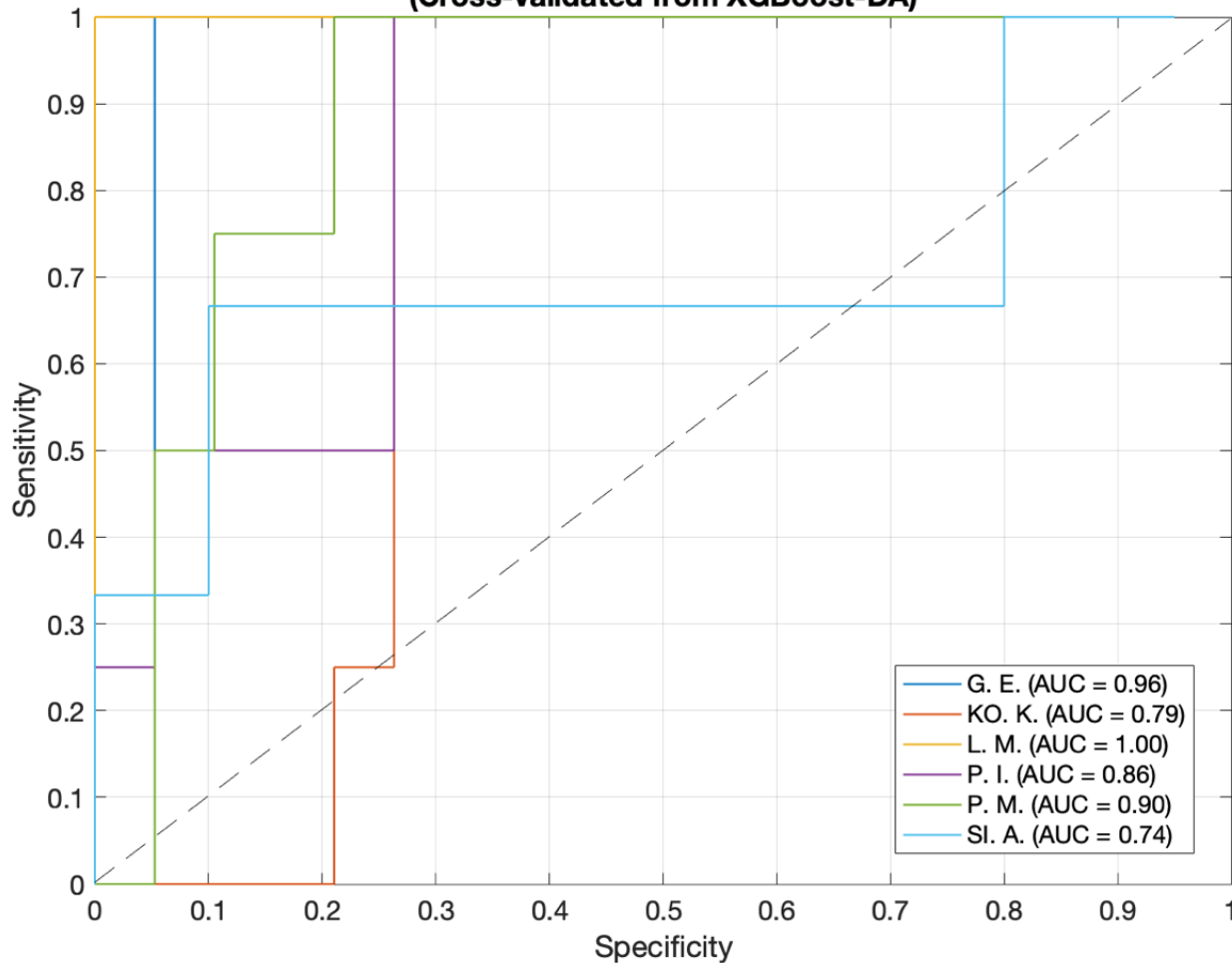


επιβλεπόμενες μέθοδοι : PLS-DA Analysis

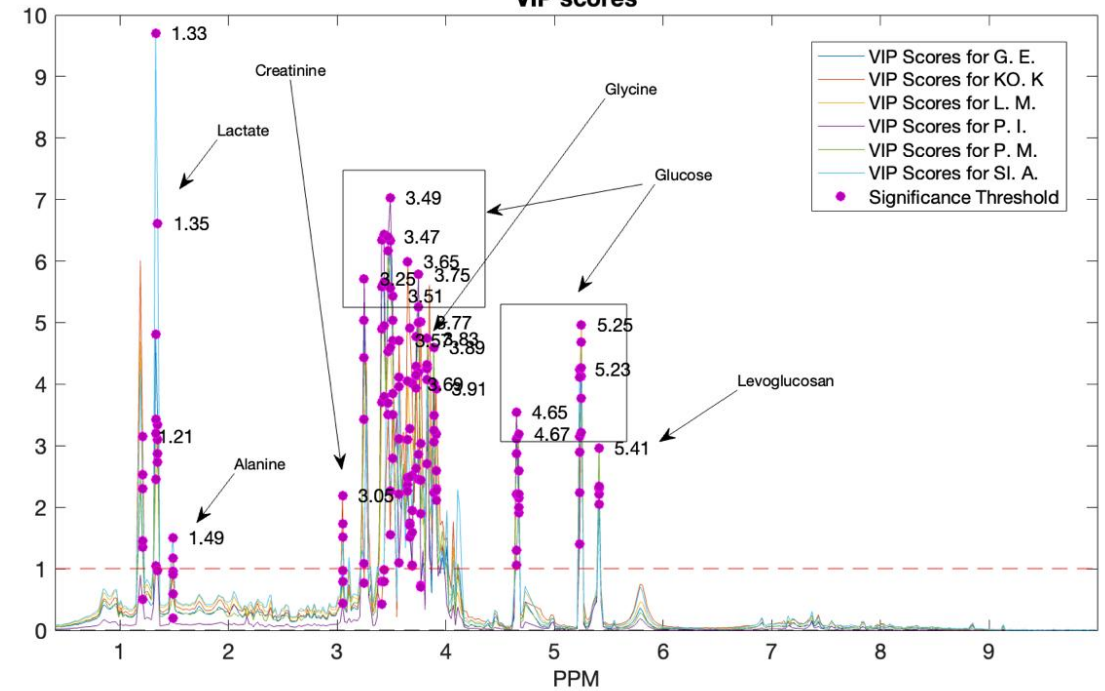


επιβλεπόμενες μέθοδοι : μη γραμμικά μοντέλα

ROC curves
(Cross-validated from XGBoost-DA)



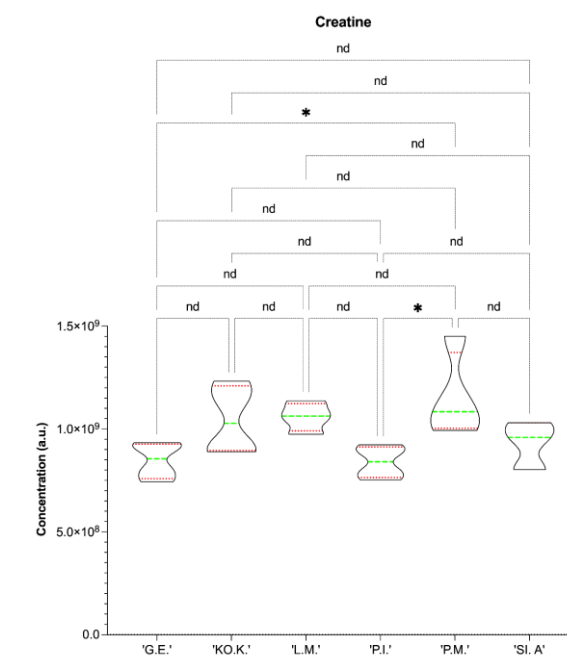
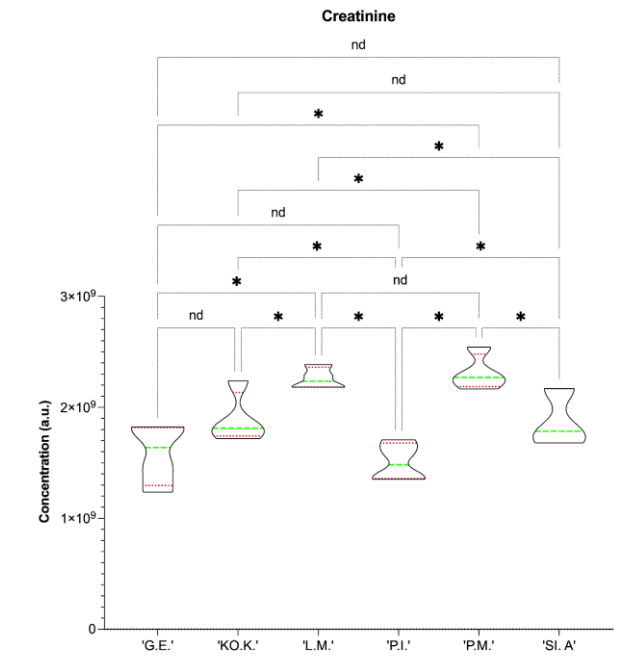
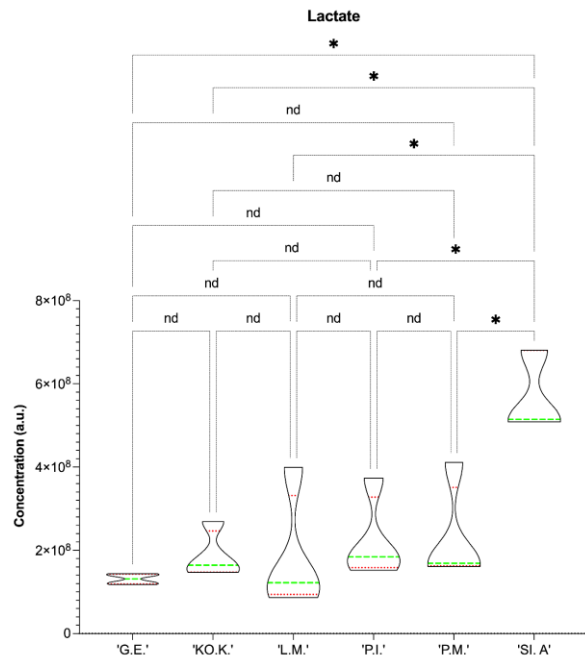
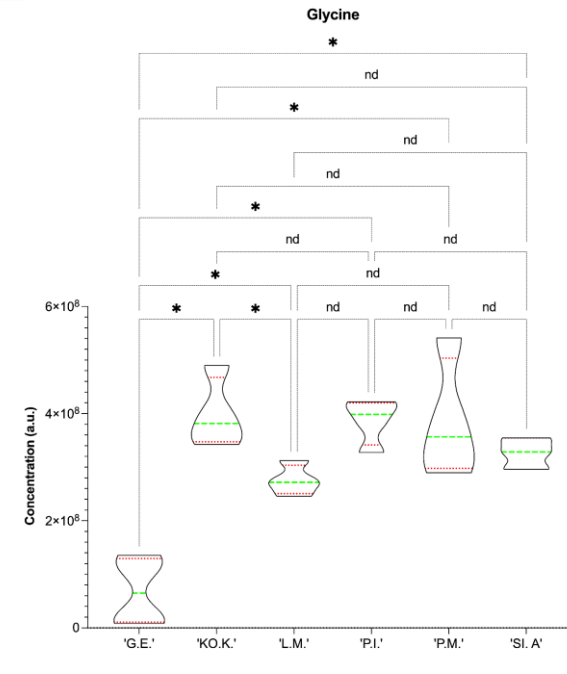
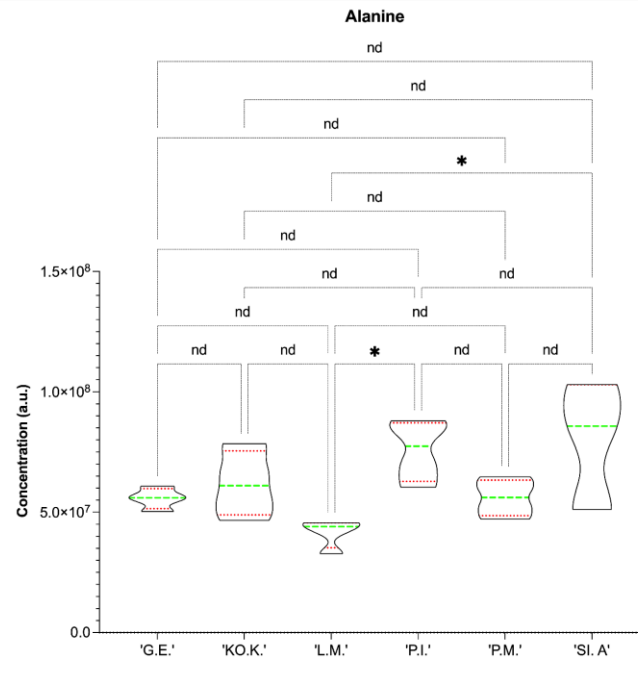
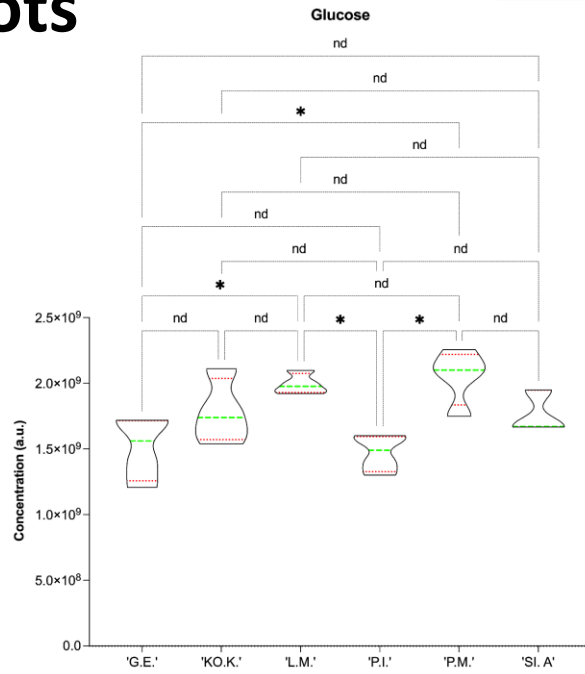
VIP scores



Έξι μεταβολίτες (γαλακτικό, αλανίνη, κρεατινίνη, γλυκίνη, κρεατίνη, γλυκόζη) αναγνωρίστηκαν ως βασικοί παράγοντες διαφοροποίησης.

Violin plots

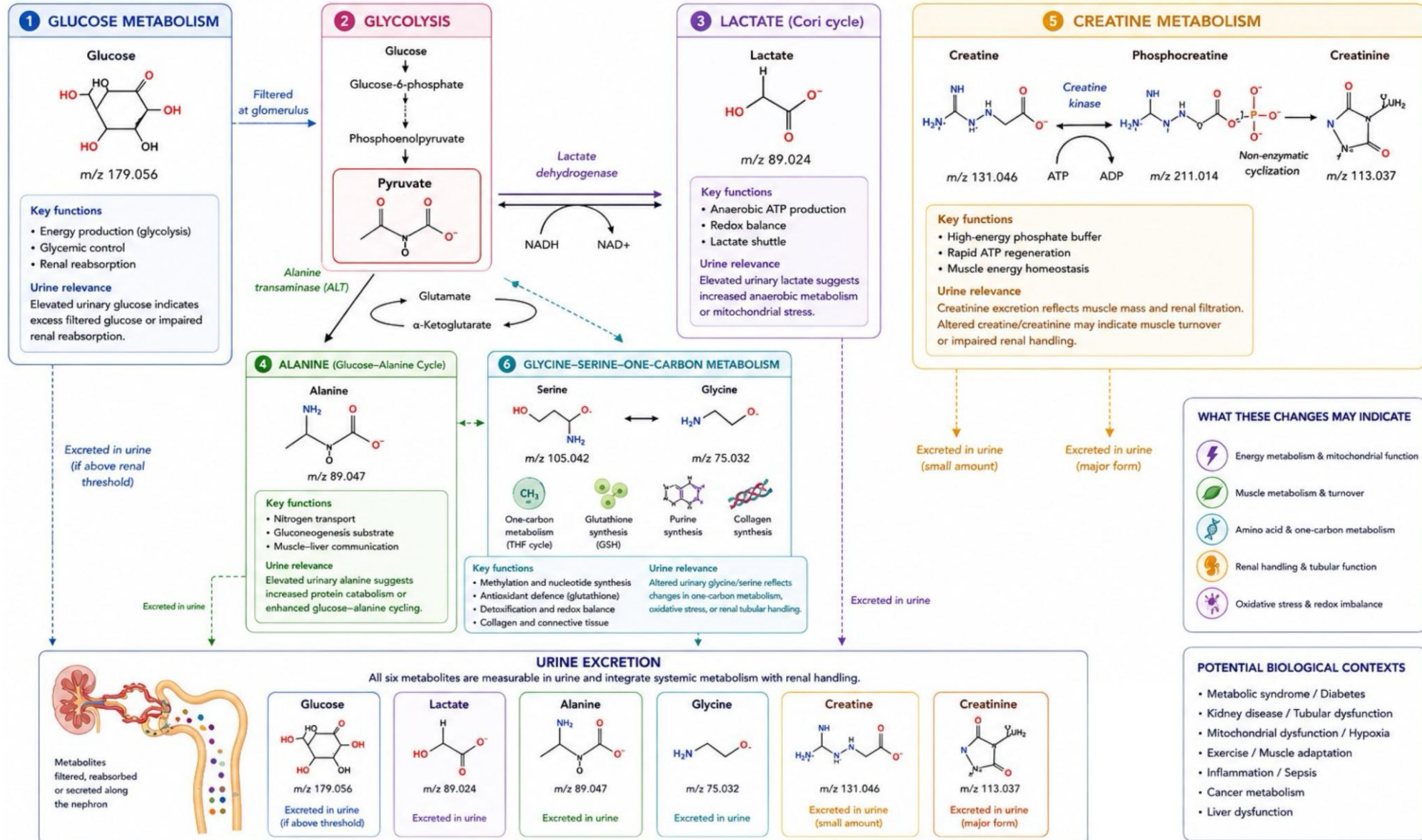
FDR method to correct for multiple comparisons. An asterisk represents a "discovery" ($q < Q$), while "nd" represents "not a discovery" ($q \geq Q$). [$Q = 0.05$]



Metabolic Pathway analyses

Urinary Metabolites: Integrated Pathways and Functions (Urine-Focused)

Alterations in six urinary metabolites reflect changes in energy metabolism, amino acid metabolism, muscle energy buffering and renal handling.



ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η χαμηλή ενδοατομική και υψηλή δια-ατομική μεταβλητότητα του περιτοναϊκού υγρού υποστηρίζει την ύπαρξη εξατομικευμένου μεταβολικού «baseline» για κάθε ασθενή και αυτό αποτελεί αξιόπιστο υπόστρωμα για μεταβολομική ανάλυση με απώτερες εφαρμογές....

εξατομικευμένη
παρακολούθηση
ασθενών υπό
περιτοναϊκή κάθαρση.

Ανίχνευση διαχρονικών
απόκλισεων .

Ανακάλυψη βιοδεικτών
πρώιμης ανεπάρκειας
της μεμβράνης .

Η συνέχεια...

Ολοκλήρωση μεταβολομικής ανάλυσης στο σύνολο των ασθενών της μελέτης

Γενίκευση της πολυπαραγοντικής ανάλυσης σε πλήρες dataset

Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των σημαντικών μεταβολιτών

Διερεύνηση διαχρονικών μεταβολών στο μεταβολικό προφίλ ανά ασθενή

Συσχέτιση μεταβολικών προτύπων με κλινικές παραμέτρους (D/P, RRF, φλεγμονή)

Ανάπτυξη προγνωστικών μοντέλων για την αξιολόγηση της περιτοναϊκής μεμβράνης

Ανάδειξη υποψήφιων βιοδεικτών πρώιμης δυσλειτουργίας της μεμβράνης

To be continued...