

Реконструкция и анализ молекулярно-генетических механизмов регуляции метаболических путей при глиобластоме с использованием данных ВЭЖХ-МС/МС

Адамовская А.В.^{1, 2*}, Басов Н.В.^{2, 3}, Деменков П.С.^{1, 2}, Гайслер Е.В.²,
Рогачев А.Д.^{2, 3}, Иванисенко В.А.^{1, 2}, Мишинов С.В.⁴, Ступак В.В.⁴, Чересиз С.В.²,
Олешко О.С.², Покровский А.Г.²

¹ Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия

² Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

³ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск, Россия

⁴ Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна, Новосибирск, Россия

* a.adamovskaya@g.nsu.ru

Ключевые слова: глиобластома; ВЭЖХ-МС/МС; метаболомный скрининг; генные сети; ANDSystem

Мотивация и цель: Глиобластома – наиболее распространенная злокачественная опухоль головного мозга, характеризующаяся низкой пятилетней выживаемостью и высокой частотой рецидивов [1]. Известно, что клетки претерпевают метаболические трансформации в процессе онкогенеза, а метаболизм в опухолях отличается от нормального метаболизма. Изучение метаболома опухоли головного мозга, а также поиск диагностических и прогностических биомаркеров имеют ключевое значение для улучшения выживаемости пациентов и разработки новых персонализированных методов лечения. Цель данной работы – реконструкция и анализ молекулярно-генетических механизмов регуляции метаболических путей, нарушенных при глиобластоме, с использованием данных метаболомного анализа.

Методы и алгоритмы: Методом ВЭЖХ-МС/МС, разработанным нами ранее [2], был выполнен таргетированный скрининг метаболитов тканей глиобластомы и перитуморального пространства. Для определения значимости различий между значениями уровня метаболитов в глиобластоме и перитуморальной зоне использовали комбинацию критерия Манна–Уитни и теста Cusconi. Перепредставленность метаболических путей KEGG оценивалась с помощью анализа обогащенности, представленного в веб-инструменте MetaboAnalyst 6.0. Реконструкция и анализ генных сетей проводились с использованием программно-информационной системы ANDSystem [3].

Результаты: По результатам статистической обработки данных метаболомного скрининга, содержание ряда метаболитов различалось в тканях глиобластомы и перитуморального пространства. Анализ перепредставленности метаболических путей KEGG для найденного набора значимых метаболитов, выполненный в веб-инструменте MetaboAnalyst 6.0, позволил выявить, что метаболизм сфинголипидов является статистически значимым метаболическим процессом ($FDR < 0.05$). С помощью программно-информационной системы ANDSystem были реконструированы и проанализированы генные сети, описывающие генетическую регуляцию

ферментов метаболизма сфинголипидов с участием генетических маркеров глиобластомы. Было показано, что ферменты SPHK1, NEUR1 и ASM подвержены воздействию наибольшего количества белков, ассоциированных с развитием и прогрессированием глиобластомы. При этом наибольшее число ферментов регулируется маркерами P53 и TNFA.

Выводы: В настоящей работе с использованием статистических тестов были идентифицированы потенциальные метаболические маркеры глиобластомы на основе анализа метаболомных данных тканей опухоли и перитуморального пространства. Анализ перепредставленности метаболических путей и реконструкция регуляторных генных сетей позволили выдвинуть гипотезы о связи нарушений функционирования метаболизма сфинголипидов с известными генетическими маркерами глиобластомы, включая P53, EGFR, HIF2 α и другие.

Финансирование: Исследование поддержано Министерством науки и высшего образования РФ (государственное задание No. FSUS-2020-0035).

Reconstruction and analysis of molecular-genetic mechanisms of metabolic pathways regulation in glioblastoma using LC-MS/MS data

Adamovskaya A.V.^{1,2*}, Basov N.V.^{2,3}, Demenkov P.S.^{1,2}, Gaisler E.V.², Rogachev A.D.^{2,3}, Ivanisenko V.A.^{1,2}, Mishinov S.V.⁴, Stupak V.V.⁴, Cheresiz S.V.², Oleshko O.S.², Pokrovsky A.G.²

¹ Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, SB RAS, Novosibirsk, Russia

⁴ FSBI "Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics named after Ya.L. Tsiviyan", Novosibirsk, Russia

* a.adamovskaya@g.nsu.ru

Key words: glioblastoma; LC-MS/MS; metabolomic screening; gene network; ANDSystem

Motivation and Aim: Glioblastoma is the most common malignant brain tumor, characterized by low five-year survival and high relapse rates [1]. Malignant cells, including brain tumors, are known to exhibit metabolic changes. Studying the brain tumor metabolome, as well as searching for diagnostic and prognostic biomarkers, is key to improving patient survival and developing new personalized treatments. The purpose of this work is to reconstruct and analyze the molecular genetic mechanisms of regulation of metabolic pathways disrupted in glioblastoma using metabolomic analysis data.

Methods and Algorithms: Using the LC-MS/MS method, which we previously developed [2], we performed targeted screening of metabolites in glioblastoma tissues and the peritumoral brain zone. To determine the significance of differences between the values of metabolite levels in glioblastoma and the peritumoral zone, a combination of the Mann-Whitney test and the Cucconi test was used. The overrepresentation of KEGG metabolic pathways was assessed using enrichment analysis provided in the MetaboAnalyst 6.0 web tool. Reconstruction and analysis of gene networks were carried out using the ANDSystem [3].

Results: According to the results of statistical processing of metabolomic screening data, the content of a number of metabolites differed in the tissues of glioblastoma and peritumoral space. Analysis of the overrepresentation of KEGG metabolic pathways for the found set of significant metabolites, performed in the MetaboAnalyst 6.0 web tool, revealed that sphingolipid metabolism is a statistically significant metabolic process (FDR < 0.05). Using the ANDSystem, gene networks describing the genetic regulation of enzymes of sphingolipid metabolism involving genetic markers of glioblastoma were reconstructed and analyzed. The enzymes SPHK1, NEUR1 and ASM have been shown to be affected by the largest number of proteins associated with the development and progression of glioblastoma. In this case, the largest number of enzymes is regulated by the P53 and TNFA markers.

Conclusion: In this work, using statistical tests, potential metabolic markers of glioblastoma were identified based on the analysis of metabolomic data from tumor tissues and peritumoral space. Analysis of the overrepresentation of metabolic pathways and reconstruction of regulatory gene networks allowed us to put forward hypotheses about the connection between disorders of sphingolipid metabolism and known genetic markers of glioblastoma, including P53, EGFR, HIF2 α and others.

Funding: The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (state project No. FSUS-2020-0035).

Список литературы/References

1. Omuro A., DeAngelis L.M. Glioblastoma and other malignant gliomas: a clinical review. *JAMA*. 2013;310(17):1842-1850
2. Basov N.V., Rogachev A.D. et al. Global LC-MS/MS targeted metabolomics using a combination of HILIC and RP LC separation modes on an organic monolithic column based on 1-vinyl-1, 2, 4- triazole. *Talanta*. 2024;267:125168
3. Ivanisenko V.A. et al. A new version of the ANDSystem tool for automatic extraction of knowledge from scientific publications with expanded functionality for reconstruction of associative gene networks by considering tissue-specific gene expression. *BMC Bioinformatics*. 2019;20(Suppl 1):34