

ΜΕΤΑΒΟΛΟΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΟΥ ΟΡΟΥ ΑΣΘΕΝΩΝ ΜΕ ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΕΠΑΓΟΜΕΝΗ ΣΤΕΑΤΩΤΙΚΗ ΝΟΣΟ ΤΟΥ ΗΠΑΤΟΣ



Καρτσώλη Σ.^{1,2}, Κωσταρά Χ.³, Τσιμιχόδημος Β.⁴, Μπαϊρακτάρη Ε.³, Χριστουδούλου Δ.²

1. Γαστρεντερολογική κλινική, Γ.Ν. Πειραιά «Τζάνειο», 2. Γαστρεντερολογική κλινική, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, 3. Εργαστήριο Κλινικής Χημείας, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων 4. Β' Παθολογική κλινική, Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων

**ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η μεταβολικά επαγόμενη στεατωτική νόσος του ήπατος (MASLD) αποτελεί συχνή αιτία χρόνιας ηπατοπάθειας, με περιορισμένη διαθεσιμότητα αξιόπιστων μη επεμβατικών βιοδεικτών, ενώ οι υποκείμενες μεταβολικές διαταραχές παραμένουν ελλιπώς κατανοητές. Η μεταβολομική ανάλυση με φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού NMR προσφέρει ποσοτική και αναπαραγώγιμη εκτίμηση του μεταβολικού προφίλ, αναδεικνύοντας πιθανούς βιοδείκτες για την ανίχνευση, σταδιοποίηση και διαστρωμάτωση κινδύνου στη MASLD.

2 ΣΚΟΠΟΣ

Η διερεύνηση συνολικού μεταβολικού προφίλ του ορού των ασθενών με MASLD, με στόχο την αναγνώριση των μεταβολικών διαταραχών που σχετίζονται με την πάθηση

3 ΜΕΘΟΔΟΙ

Στη μελέτη συμμετείχαν 62 ασθενείς με υπερηχογραφικά επιβεβαιωμένη στεατώση, μετά από αποκλεισμό άλλων αιτιών στεατώσης και 43 υγιείς εθελοντές. Τα ανθρωπομετρικά και μεταβολικά χαρακτηριστικά των δύο ομάδων παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

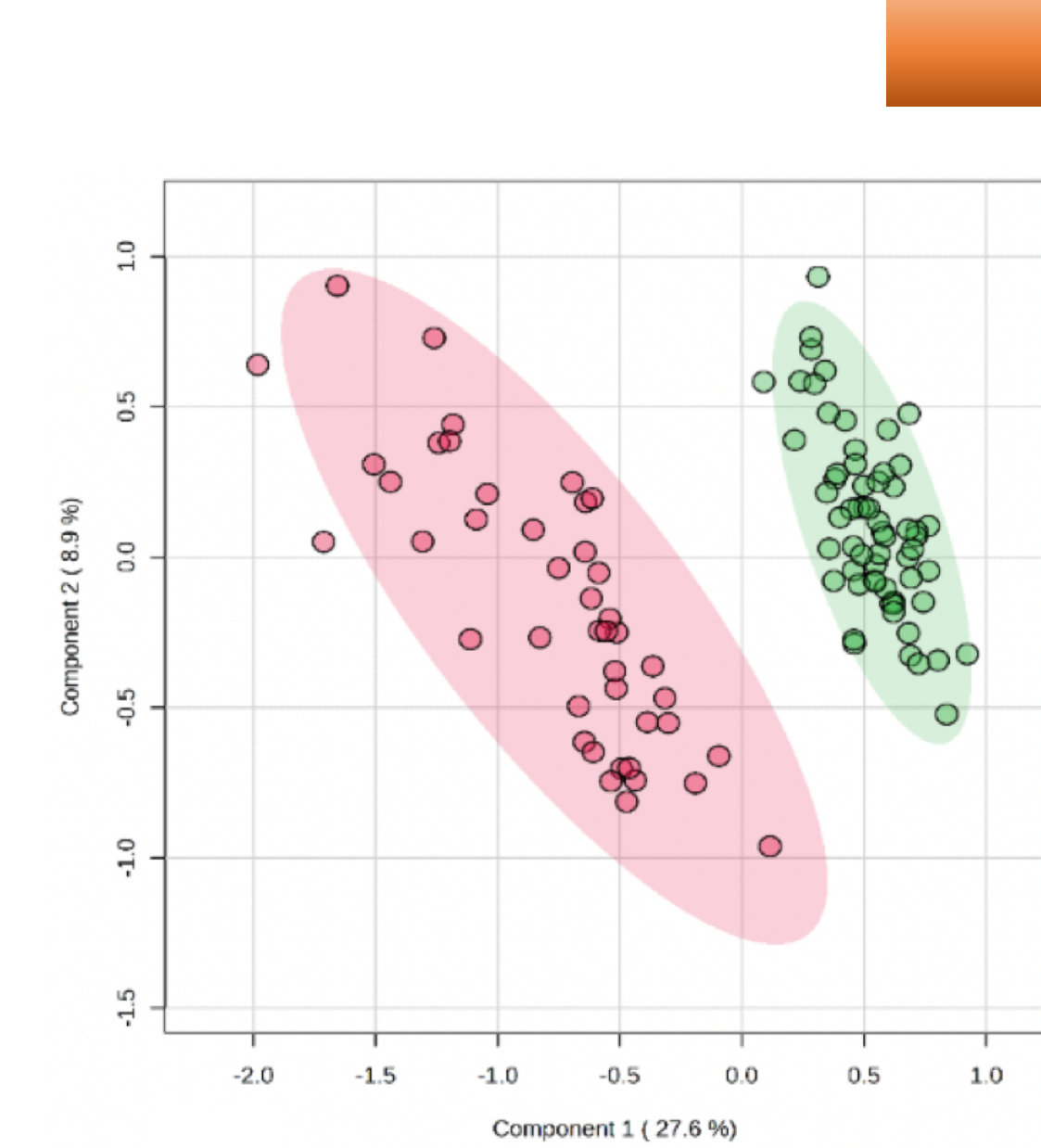
	Control Group (n=43)	MASLD Group (n=62)	p Value
Ηλικία (έτη)	51 ± 7	51 ± 8	NS
Φύλο (Α/Γ)	11/32	31/31	
Μεταβολικοί Παράμετροι			
Ολική Χοληστερόλη (mg/dL)	212 ± 35	202 ± 46	NS
Τριγλυκερίδια (mg/dL)	89 ± 38	137 ± 51	< 0.001
HDL-Cholesterol (mg/dL)	61 ± 15	49 ± 12	< 0.001
LDL-Cholesterol (mg/dL)	133 ± 31	125 ± 39	NS
Glucose (mg/dl)	87 ± 9	97 ± 13*	< 0.001
Creatine (mg/dl)	0.92 ± 0.15	0.88 ± 0.15	NS
AST (IU/ml)	22 ± 5	34 ± 29*	< 0.01
ALT (IU/ml)	19 ± 7	48 ± 40*	< 0.001
γ-GT (IU/ml)	18 ± 6	41 ± 36*	< 0.001
ALP (IU/ml)	63 ± 15	72 ± 24*	NS
TBIL (mg/dl)	0.5 ± 0.2	0.72 ± 0.36	< 0.001
ALB (g/dl)	4.3 ± 0.3	4.5 ± 0.3	NS

4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Targeted analysis

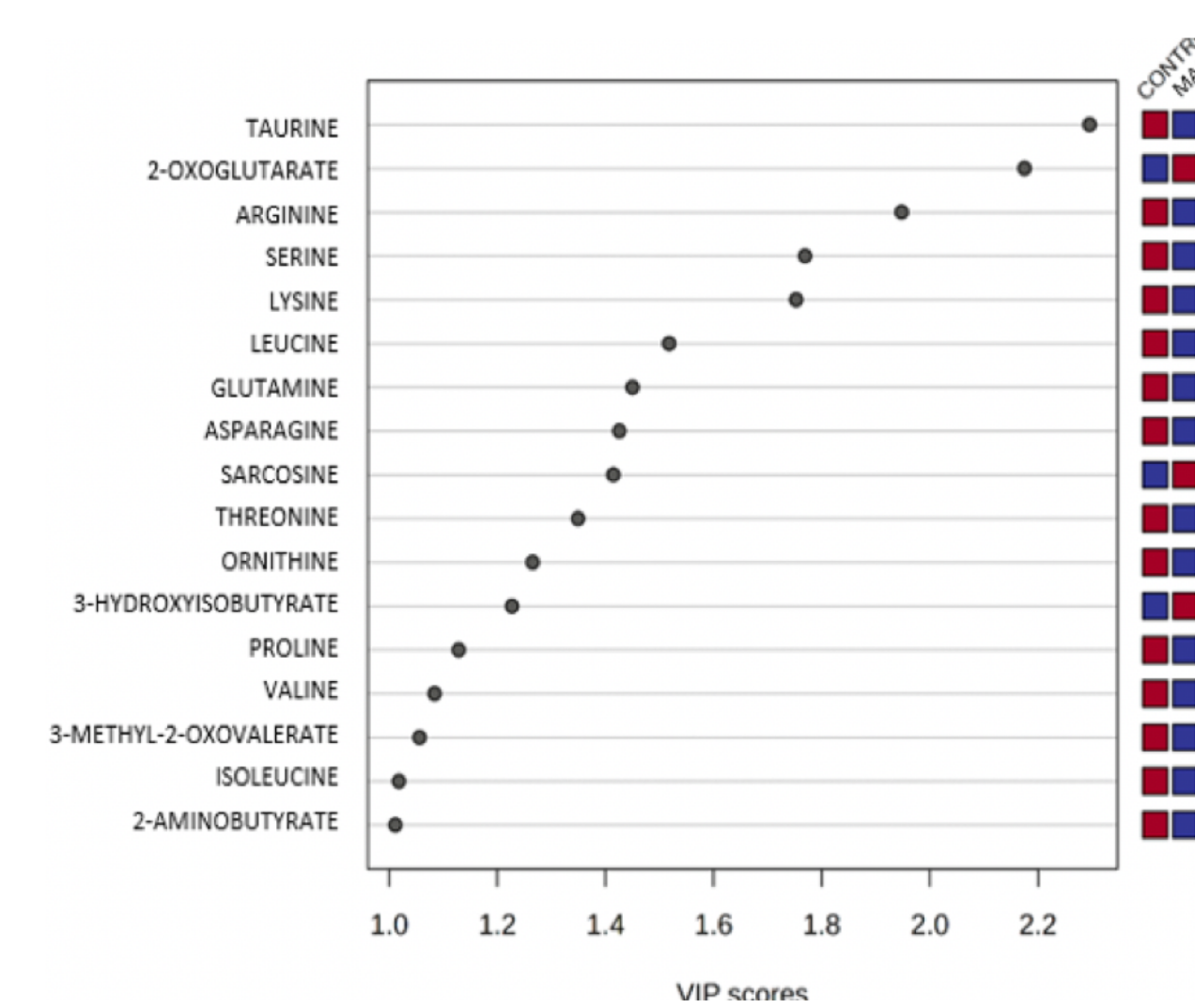
Από τους συνολικά 53 μεταβολίτες που ποσοτικοποιήθηκαν, 37 παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ ασθενών με MASLD και υγιών. Η πλειοψηφία βρέθηκαν αυξημένοι στην MASLD ενώ ανευρέθηκαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα των αμινοξέων αργινίνη, γλουταμίνη, ορνιθίνη και σερίνη καθώς και των μεταβολιτών ακετόνη και ταυρίνη

Μεταβολίτες (uM)	MASLD	Υγιείς	p value	Μεταβολίτες (uM)	MASLD	Υγιείς	p value
1 2-Αμινοβουτυρικό	19.41 ± 1.18	18.47 ± 4.31	NS	28 Ισταδίνη	89.92 ± 21.33	94.56 ± 22.02	NS
2 2-Υδροξυβουτυρικό	106.35 ± 26.15	79.39 ± 19.09	<0.001	29 Υποξανθίνη	20.82 ± 2.56	15.16 ± 5.44	<0.001
3 2-Υδροξυισοβαλερικό	10.95 ± 1.69	9.55 ± 4.16	<0.05	30 Ισοβουτυρικό	7.97 ± 0.96	8.37 ± 2.71	NS
4 2-Οξοκαπροικό	10.67 ± 0.88	7.80 ± 3.34	<0.001	31 Ισοελεϊκή	76.97 ± 17.00	67.56 ± 13.01	<0.01
5 2-Οξογλουταρικό	29.03 ± 4.64	12.56 ± 4.50	<0.001	32 Κυνουρενίνη	4.15 ± 0.57	2.96 ± 0.53	<0.001
6 2-Οξοισοκαπροικό	20.90 ± 1.75	18.89 ± 5.83	<0.05	33 Γαλακτικό	2822.8 ± 835.2	2336.7 ± 606.1	<0.01
7 3-Υδροξυβουτυρικό	87.26 ± 81.57	57.99 ± 24.04	<0.05	34 Λευκίνη	142.90 ± 28.05	152.38 ± 30.90	NS
8 3-Υδροξυισοβαλερικό	11.80 ± 1.38	6.87 ± 2.56	<0.001	35 Αυλίνη	171.52 ± 16.08	180.02 ± 34.85	NS
9 3-Υδροξυισοβαλερικό	8.91 ± 1.79	10.66 ± 5.48	NS	36 Μηλονικό	17.06 ± 2.33	16.68 ± 5.05	NS
10 3-Μεθυλ-2-οξοβαλερικό	10.65 ± 1.23	10.10 ± 2.38	NS	37 Μαννική	77.11 ± 8.22	76.17 ± 22.09	NS
11 Οξικό	68.78 ± 22.64	50.90 ± 19.78	<0.001	38 Μεθειονίνη	42.41 ± 7.71	32.76 ± 7.57	<0.001
12 Ακετικό	46.59 ± 35.38	25.70 ± 16.99	<0.001	39 Μιο-ινσοϊτόλη	58.34 ± 3.27	44.31 ± 8.44	<0.001
13 Ακετόνη	18.52 ± 11.63	28.26 ± 8.1	<0.05	40 Ν,Ν-Διμεθυλογλουκίνη	5.14 ± 0.94	3.59 ± 1.17	<0.001
14 Δαλνίνη	546.18 ± 100.44	488.77 ± 99.62	<0.01	41 Ο-Ακετυλοκαρβονίνη	13.90 ± 4.21	8.99 ± 3.57	<0.001
15 Δορνίνη	103.10 ± 5.07	185.21 ± 49.02	<0.001	42 Ορνιθίνη	63.47 ± 8.02	72.56 ± 26.03	<0.05
16 Ασπαργίνη	60.80 ± 5.36	64.15 ± 15.54	NS	43 Φαινυλαλανίνη	78.54 ± 12.49	77.36 ± 21.06	NS
17 Ασπαρτικό	49.41 ± 4.55	38.51 ± 9.50	<0.001	44 Πρωλίνη	221.18 ± 20.22	238.43 ± 69.36	NS
18 Βεταΐνη	84.45 ± 17.41	69.73 ± 15.05	<0.001	45 Πυροσταφυλικό	101.00 ± 46.48	51.63 ± 21.24	<0.001
19 Καρανίνη	53.52 ± 11.48	40.93 ± 9.06	<0.001	46 Σταροξίνη	7.01 ± 1.36	3.61 ± 1.63	<0.001
20 Χολίνη	16.70 ± 3.97	12.42 ± 4.20	<0.001	47 Ξερίνη	177.18 ± 10.38	196.81 ± 22.86	<0.001
21 Κιτρικό	152.35 ± 30.89	150.16 ± 32.67	NS	48 Ηλεκτρικό	13.72 ± 3.87	12.66 ± 5.22	NS
22 Κρεατίνη	47.00 ± 19.99	30.66 ± 15.56	<0.001	49 Ταυρίνη	104.01 ± 7.31	146.19 ± 27.36	<0.001
23 Διμεθυλαμίνη	8.79 ± 2.93	5.72 ± 3.18	<0.001	50 Ορασίνη	197.34 ± 11.05	210.70 ± 44.25	NS
24 Μυρμηκικό	45.84 ± 12.98	32.79 ± 14.16	<0.001	51 Τρυπτοφάνη	45.16 ± 4.37	34.88 ± 12.31	<0.001
25 Γλουταμικό	110.89 ± 12.39	102.92 ± 53.59	NS	52 Τυροσίνη	88.09 ± 17.67	70.72 ± 13.91	<0.001
26 Γλουταμίνη	492.90 ± 53.34	530.44 ± 89.86	<0.05	53 Βαλίνη	276.78 ± 45.74	246.33 ± 36.65	<0.001
27 Γλουκίνη	341.40 ± 92.91	308.45 ± 51.08	<0.05				

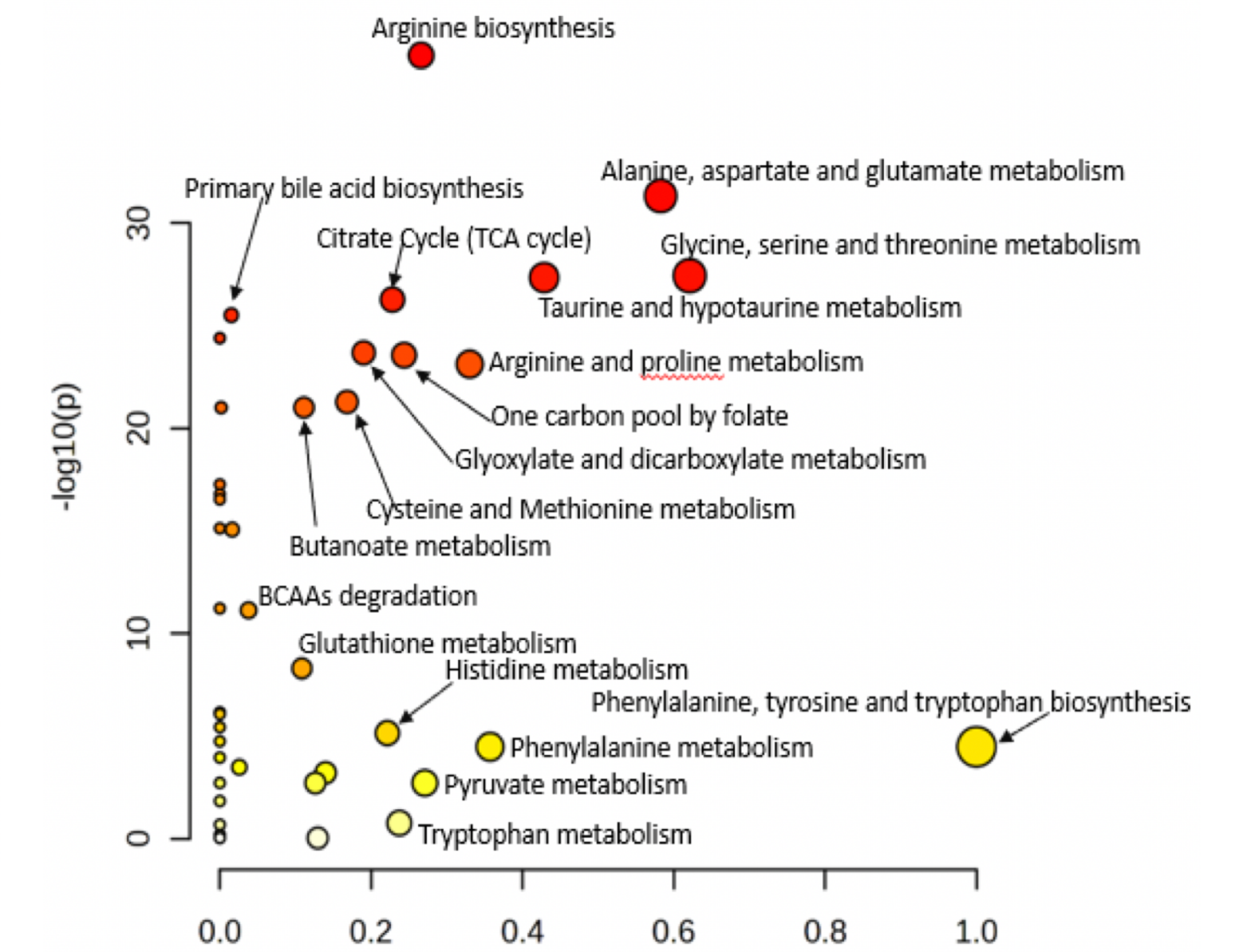


Διάγραμμα βαθμολογίας PLS-DA που σαφώς διαχωρίζει τους 62 ασθενείς με MASLD (πράσινοι κύκλοι) από τους 43 μάρτυρες (κόκκινοι κύκλοι).

Untargeted analysis



Οι 17 κορυφαίοι μεταβολίτες ορού που διαχωρίζουν τους ασθενείς με MASLD από τους μάρτυρες, βάσει της βαθμολογίας σπουδαιότητας μεταβλητής στην προβολή (VIP) του μοντέλου PLS-DA



Μεταβολικά μονοπάτια που επηρεάστηκαν διαφορετικά μεταξύ ασθενών και μαρτύρων. Άξονας x και μέγεθος των κύκλων: επίδραση των μεταβολιτών στο μονοπάτι. Άξονας y και χρώμα: στατιστική σημαντικότητα των μεταβολικών αλλαγών.

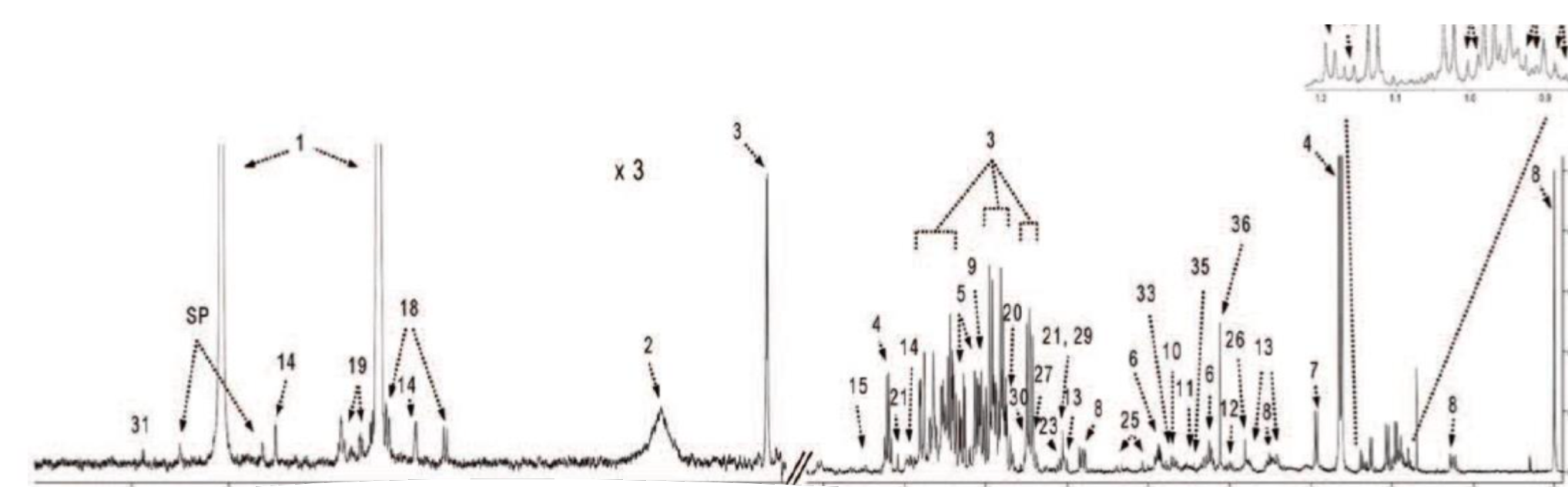
5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η στοχευμένη ανάλυση ανέδειξε σημαντικές διαφορές σε ασθενείς με MASLD σε σχέση με τους υγιείς στον μεταβολισμό των BCAAs, στη δραστηριότητα του κύκλου κιτρικού οξέος, στον κύκλο της ουρίας, στη γλυκόλυση, στη σύνθεση κετονικών σωμάτων και στον μεταβολισμό των αρωματικών αμινοξέων. Η πολυπαραγοντική ανάλυση ανέδειξε σαφή διαχωρισμό MASLD και υγιών με βάση το μεταβολικό προφίλ του ορού και οι διαφορές εντοπίζονται στα μεταβολικά μονοπάτια που εμπλέκονται στον μεταβολισμό της αλανίνης, του ασπαρτικού και του γλουταμικού, στον μεταβολισμό της γλουκίνης, της σερίνης και της θρεονίνης, στον μεταβολισμό της ταυρίνης, στον μεταβολισμό της αργινίνης και της προλίνης. Τα ευρήματα υποδηλώνουν πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις που επηρεάζουν την ενεργειακή ομοιόσταση και αναδεικνύουν την ανάγκη περαιτέρω διερεύνησης των μηχανισμών της νόσου.

Για την απομάκρυνση μακρομορίων του ορού έγινε διήθηση υπό φυγοκέντρηση (υπερδιήθηση) του ορού. Ακολούθησε λήψη των φασμάτων ¹H NMR σε 1.7 T Bruker Avance DRX 500 MHz spectrometer καθώς και επεξεργασία των φασμάτων. Διενεργήθηκε ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των μεταβολιτών του μεταβολικού προφίλ του ορού.

Στατιστική ανάλυση:

- Μονομεταβλητή ανάλυση- ποσοτικοποίηση (univariate analysis): SPSS, Students' t-test, επίπεδο εμπιστοσύνης p<0.05, Μέση Τιμή ± Τυπική Απόκλιση (Mean ± SD).
- Πολυπαραγοντική ανάλυση (multivariate analysis): MetaboAnalyst (v.4.0). PCA, Διακριτή ανάλυση PLS-DA



Εικόνα 1. Φάσμα ¹H NMR ορού

6 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Nicholson JK et al. Nature 2012; 491:384–92.
- Han X, Gross RW. J Lipid Res 2003; 44:1071–9.
- Psychogios N, et al. PLoS One. 2011;6:e16957.

Contact : skartsoli@outlook.com.gr