

37. OTDK Biológia Szekció

Evolúciósan konzervált metabolitarányok szisztematikus feltérképezése emlősökben

Széles Lilla

Info-bionika mérnök MSc 2.

Szegedi Tudományegyetem
Szegedi Biológiai Kutatóközpont
Biokémiai Intézet

Témavezető: Dr. Papp Balázs

Szegedi Biológiai Kutatóközpont Biokémiai Intézet

Belső konzulens: Dr. Kós Péter

Biotechnológiai Tanszék

2024, Szeged

Tartalomjegyzék

Tartalomjegyzék.....	1
Bevezető	2
Metabolom	2
Metabolitok arányainak szerepe a sejt fiziológiájában.....	2
A metabolitarányok evolúciós változásai és jelentőségük	3
Humán betegségek evolúciós alapja.....	4
Célkitűzés	5
Anyagok és módszerek.....	6
Elemzéshez használt adatok	6
Emlős metabolitkoncentrációk	6
Metabolitok anyagcsereregulációban betöltött szerepe	6
Metabolitok az anyagcsere útvonalakban és transzportfolyamatokban.....	6
Betegségek biomarkerei	7
Evolúciós korreláció számítása	7
Evolúciósan konzervált arányú metabolitok feldúsulás vizsgálata biológiai jellemzők és folyamatok között.....	9
Eredmények és értékelésük	11
Evolúciósan konzervált metabolitarányok feltérképezése.....	11
Funkcionális feldúsulások	12
Metabolikus kémiai osztályok.....	12
Anyagcsere útvonalak	15
Transzport reakciók.....	17
Enzim szabályozás	18
Az evolúciósan konzervált metabolitarányok humán anyagcserére gyakorolt hatása.....	20
Összefoglalás.....	23
Köszönetnyilvánítás	25
Irodalom	26
Függelék.....	29

Bevezető

A metabolom

A metabolitok kis molekulatömegű molekulák, amelyek a sejt anyagcserefolyamatainak intermediereiként működnek, ezzel fenntartva a sejtfunkciót (Piazza és mtsai. 2018). A metabolom a metabolitok együttesét jelenti, ami többek között szénhidrátokat, aminosavakat, lipideket és nukleinsavakat tartalmaz (Baghel és mtsai. 2021). Az intracelluláris metabolitkoncentrációk határozzák meg a sejt enzimatikus működését és a reakciók sebességét, ezzel megadva a szervezet végső fenotípusát (Rinschen és mtsai. 2019, Hackett és mtsai. 2016). A metabolitkoncentrációk mind genetikai és környezeti hatások alatt állnak, így részletesebb információt nyújtanak a sejtek fiziológiai állapotáról, mint a genom (Bozek és mtsai. 2014, Ma, Yim, és mtsai. 2015). Továbbá a metabolomban bekövetkező változások sokféle betegséget is jelezhetnek. A metabolom vizsgálatával foglalkozó tudományág a metabolomika, ami ezeknek az anyagoknak az azonosítására és mennyiségének meghatározására irányul (Shulaev 2006). A metabolomika lehetővé teszi számunkra, hogy mélyebben megértsük a biológiai rendszerek működését és reakcióit, valamint, hogy új biomarkereket és terápiás célpontokat azonosítsunk a betegségek kezelésére (Johnson, Ivanisevic, és Siuzdak 2016).

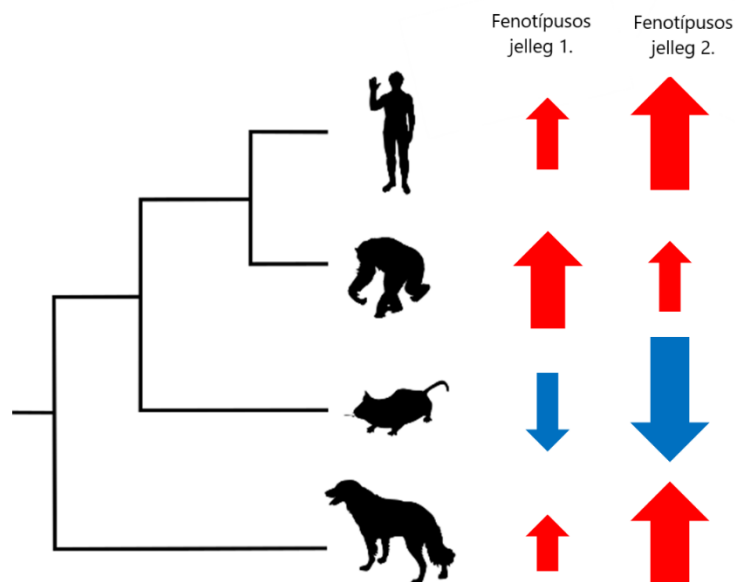
Metabolitok arányainak szerepe a sejt fiziológiájában

Bár az egyedi metabolitok mennyisége fontos mérőszáma a különböző biológiai folyamatoknak, nem ez az egyetlen meghatározó faktor. A különböző metabolikus folyamatok fenntartásához és megfelelő működéséhez nélkülözhetetlenek a megfelelő metabolitarányok. Az egészséges anyagcsere esetében egy adott prekursor több útvonal között oszlik el, és így az egészséges állapot alatt a prekursorok eloszlása relatíve fixált metabolitarányokat eredményez. Ezek az arányok és az ezeket létrehozó vagy fenntartó folyamatok sokat elárulnak a sejt fiziológiájáról és az anyagcsere működéséről (Steuer és mtsai. 2004). Például, az anyagcserében zajló enzimatikus reakciókban a reakció termékek és prekursorok arányának felborulása egyértelműen jelzi az enzim diszfunkcióját (Petersen és mtsai. 2012). Nem csak az egy reakcióban szereplő metabolitok aránya lehet kitüntetett, a különböző metabolikus útvonalak is alakítják a hozzájuk közvetetten vagy közvetlenül kapcsolódó metabolitok koncentrációit és azok arányát (Camacho, de la Fuente, és Mendes 2005, Suhre és Gieger 2012). Ezeknek az arányoknak a változása információt nyújthat az anyagcserében zajló folyamatok egyensúlyáról és a metabolikus útvonalak aktivitásáról (Altmaier és mtsai. 2008). Ezért a metabolomika

segítségével az arányok és a mögöttük álló folyamatok vizsgálata lehetővé teszi számunkra, hogy mélyebb betekintést nyerjünk az anyagcsere szabályozásába és a betegségek patomechanizmusába. Ezzel a diagnosztikai megközelítéssel lehetőség nyílik olyan betegségek és metabolikus változások kimutatására, amik egyes metabolit szintekkel nem vagy kevésbé pontosan azonosíthatók (Chace és mtsai. 1998).

Az evolúciósan konzervált arányok kialakulása és jelentősége

Az evolúciós folyamatok filogenetikai módszerekkel vizsgálhatók, amik komparatív, törzsfán alapuló számításokat használnak, ezáltal figyelembe veszik a vizsgálatban szereplő fajok rokonsági kapcsolatait is az analízis során (Pennell és Harmon 2013). Az egyedi jellegek evolúciós változásainak vizsgálata mellett olyan filogenetikai módszerek is léteznek, amelyek két jelleg együttes evolúciós változását mutatják ki. Számos fenotípusos jellegről ismert, hogy együtt változnak az evolúció során (Sinervo és Svensson 2002, Svensson és mtsai. 2021). Ennek egy jól ismert példája az agy tömeg és a testtömeg evolúciós korrelációja, miszerint a két fenotípus logaritmususa közel tökéletes lineáris kapcsolatot mutat az emlősök között (Lande 1979).



1. ábra Evolúciósan konzervált arányú fenotípusos tulajdonság párokról akkor beszélünk, amikor két tulajdonság együtt fejlődik és az egyik tulajdonság fajok közötti változásának nagysága és iránya előre jelzi a másik tulajdonság fajok közötti változásának nagyságát és irányát.

A molekuláris evolúció a molekuláris fenotípusok evolúciójával foglalkozik, amelyek közé tartoznak a gének, fehérjék és metabolitok (Yang és Rannala 2012). Több oka is lehet az evolúciósan konzervált arányok kialakulásának. Az egyik a fenotípusos jellegek funkcionális kapcsolata, amiben kölcsönösen előnyöket biztosítanak egymás evolúciójához a másik az arány változásának károssága (Sinervo és Svensson 2002). Egy metabolitpár evolúciósan konzerváltnak tekinthető abban az esetben, ha a két metabolit aránya relatíve állandó marad a fajok között, akár nagyon eltérő környezeti feltételek mellett is (1. ábra) (Armbruster és mtsai. 2014). Ez a konzerváció általában azt jelezheti, hogy ezeknek az arányoknak a változása negatív hatással lehet az élőlények túlélésére vagy reprodukciós sikerére.

Humán betegségek evolúciós alapja

Az evolúció alapelveinek megértése új perspektívába helyezi az emberi betegségek kutatását, és lehetővé teszi az emberi biológia és orvostudomány integrált megértését. Eltérő a betegségek orvosi és evolúciós meghatározása. A betegségek kialakulását mind a genotípus mind a környezet befolyásolja (Williams és Nesse 1991). Erre példa a fenilketonuria, amit a fenilalaninhidroxiláz enzimet érintő mutáció okoz, viszont csak fenilalanint tartalmazó étrend hatására nyilvánul meg (Hsia 1958).

Sok modern betegség gyakran azért alakul ki, mert az eddigi evolúció során kialakult genotípus nem tudott alkalmazkodni a környezet hirtelen változásához. Fontos, hogy a betegségek nem csak a modern világ termékei. A fenotípusos variáció jelenléte miatt, egyesek jobban alkalmazkodnak bizonyos környezetekhez ezért egészségesebbek, mint mások. Ezeket az ismereteket használja fel az evolúciós orvoslás.

Az evolúciós orvoslás alapja hogy az evolúciós elvek alkalmazásával vizsgáljuk az emberi fenotípusos tulajdonságokat és az ezek által meghatározott betegségeket (Benton és mtsai. 2021). Ezen megközelítés segít új szemszögből vizsgálni a humán anyagcsere egészséges és patológiás működését. Mivel az anyagcserefolyamatok működéséről a metabolom pontos képet fest, ezért megfelelő célpont a betegségeket kialakító evolúciós hatások vizsgálatára.

Célkitűzés

Jelen dolgozat célja az evolúciósan konzervált emlős metabolitarányok azonosítása és ezek biológiai szerepének feltárása. Munkám során ezeket a lépéseket fogom végrehajtani:

- Evolúciósan konzervált emlős metabolitarányok kimutatása filogenetikai módszerek segítségével
- A konzervált arányok biológiai szerepének feltárása, különböző adatbázisok bevonásával
- Humán anyagcserére gyakorolt hatásuk vizsgálata

Ezek az eredmények hozzájárulnak az emberi anyagcsere szabályozásának és evolúciójának jobb megértéséhez, továbbá információt szerzünk ezeknek a metabolitoknak a szerepéről az emberi betegségekben.

Anyagok és módszerek

Elemzéshez használt adatok

Emlős metabolitkoncentrációk

Dolgozatomban egy már publikált adatsort használtam fel (Ma, Lee, és mtsai. 2015), mely 139 metabolit és 123 lipid relatív koncentrációját tartalmazza. Az adatsor 26 emlősfaj metabolom profilját öleli fel, melyek 9 különböző taxonómiai rendet képviselnek, többek között a rágcsálókat, ragadozókat, páros- és páratlan ujjú patásokat, valamint főemlősöket. A mérések során a folyadékkromatográffal kapcsol tömegspektrometriás (LC-MS) módszert alkalmazták, hogy célzott metabolom profilozást végezzenek az emlősök agy-, szív-, vese- és máj szöveteiben, lehetővé téve a metabolitok és lipidek relatív koncentrációjának meghatározását. Az azonosított metabolitok különböző metabolit osztályokhoz tartoznak, beleértve az aminosavakat, glicerolipideket, nukleotidokat és szénhidrátokat, amelyek révén széleskörű vizsgálatokra nyílik lehetőség, mint a központi anyagcsere-útvonalak, például a szénhidrát-, aminosav- és energia-anyagcsere vizsgálatát is.

Metabolitok anyagcsereregulációban betöltött szerepe

A BRENDA Enzim Adatbázis egy online adatbázis (Chang és mtsai. 2021), amely az enzimekkel kapcsolatos információkat gyűjti és rendszerezi. Az adatbázis alapvetően az enzimekkel kapcsolatos adatokat tartalmaz, mint például az enzimek katalizált reakciói, a reakciók kémiai és kinetikai tulajdonságai, valamint az enzimek szerkezeti és funkcionális jellemzői. Emellett tartalmaz az enzimatis reakciókban résztvevő és azokat befolyásoló allosztérikus regulátorokról is információt. Ezek közül használtam fel az inhibitorként és aktivátorként működő metabolitok listáját.

Metabolitok az anyagcsere útvonalakban és transzportfolyamatokban

A Metabolic Atlas egy adatbázis, amely számos modell faj, köztük az ember, genomszkalájú anyagcseremodelljét tartalmazza (Chen és mtsai. 2023). Ezek a modellek széles körű kutatásokra és analízisekre használhatók, és az anyagcserefolyamatok szimulációjára is alkalmasak. Munkám során az emberi anyagcseremodellt használtam, amely részletes és átfogó leírást nyújt az emberi metabolizmusról, beleértve az anyagcsere-útvonalakat, a metabolitok és enzimek kapcsolatait, valamint az energiatermelést. A metabolitarányok konzervációjának

megismeréséhez ebből a modellből, használtam fel az anyagcsere útvonalakat és a transzport reakciókat.

Betegségek biomarkerei

A HMDB (Human Metabolome Database) egy online adatbázis (Wishart és mtsai. 2022), amely a humán metabolommal kapcsolatos információkat gyűjti és rendszerezi. A HMDB az emberi szervezetben előforduló metabolitokat és azok biokémiai tulajdonságait tartalmazza. Az adatbázis tartalmaz kémiai struktúrákat, az anyagcsere-útvonalakat, a fizikai tulajdonságokat, az anyagcsere reakciókat, a fiziológiás koncentrációkat és a betegség-asszociációkat. Az analízisem során a fenti adatok közül az adatbázisban fellelhető betegség-asszociált biomarkereket használtam.

Evolúciós korreláció számítása

Munkám során a metabolitarányok evolúciós konzervációjának feltárása érdekében először kiszámoltam a metabolitpárok között fennálló evolúciós korreláló mértékét, majd a kapott evolúciósan korreláló párokból a fiziológiás korrelációkkal magyarázhatókat kiszűrtem. Továbbá az egyes pároknál azt, hogy az evolúciós vagy a fiziológiás korreláció a meghatározó, szimulációs analízissel vizsgáltam. Ezt a számítást egy már publikált cikk alapján végeztem el (Jiang és Zhang 2023).

Az evolúciós korrelációt egy klasszikus filogenetikai módszer, a PIC (phylogenetically independent contrasts) segítségével számítottam ki. A PIC módszer lényege, hogy az evolúciós fa ágain végzett páronkénti kontrasztokat alkalmazza az adatokhoz, így lehetővé teszi a valódi független változók és a környezeti hatások közötti kapcsolatok vizsgálatát (Felsenstein 1985). Ezt követően, kiszámoltam a kapott PIC értékek Pearson korrelációs együtthatóját, ami jellemezi a metabolitpárok között fennálló evolúciós korrelációt. Mivel a kiugró pontok drámaian megváltoztatják a Pearson r értékét, ezért ennek elkerülése érdekében szűrjük a kiugró pontokat így kizárva a gyors, drámai fenotípusos eltolódásokat, amelyeket a környezeti változások okozta adaptív folyamatok alakítanak ki, gyakran leszármazás-specifikus újdonságként.

Bizonyos esetekben a kimutatott evolúciós korreláció valójában egy, minden külön fajban fennálló fiziológiás korreláció eredménye. Ahhoz, hogy az ilyen fals pozitív eseteket kiszűrjük, ki kellett zárni a fiziológiásan korreláló eseteket. A metabolitok közötti fiziológiás korrelációk kiszámításához többszintű korrelációs eljárást használtam, a 26 emlős faj

metabolom adatait felhasználva. Ebben az analízisben külön adatpontként használtuk a 26 emlős faj összes lemért – fajonként 2-4 – biológiai replikátumát. Annak érdekében, hogy a két metabolit között egy általános, minden emlős fajt figyelembe vevő fiziológiai korreláció értéket tudjak kiszámítani, először, egy vegyes modellt illesztettem a két metabolit szintjeire, amelyet korrigál a fajokat tartalmazó vektorral. Ezt követően, a Pearson korrelációkat a modellek reziduálisai között számoljuk. Az így kapott korrelációs értékek nem csak azt veszik figyelembe, hogy a két metabolit szintje az egyes fajokon belül korrelál-e, hanem azt is, hogy ez a tendencia mennyire konzisztens a fajok között. Ezzel meg kapjuk, hogy melyik metabolipárok arányát alakítja a fiziológiás korreláció.

Ezt követően teszteljük, hogy az evolúciós és fiziológiás korrelációk szignifikánsan eltérnek-e egymástól. Annak megfigyelése érdekében, hogy az evolúciós korrelációs együttható jelentősen eltér-e a mutáció által kapott együtthatótól, minden metabolitpárnak az evolúciós- és a fiziológiás- korrelációs együtthatóit átalakítjuk z-értékekké. Így a Fisher Z a korrelációs értékek közvetlen összehasonlítását teszi lehetővé (Fisher 1915). Ezzel megkapva melyek azok a korrelációk, ami alapján azt megállapíthatjuk, hogy az evolúciósan konzervált arányok elkülöníthetők a fiziológiás korrelációktól.

Annak teszteléséhez, hogy az evolúciós korrelációkat nem lehet a mutációk általi evolúciós változással magyarázni, két fenotípusos jelleget szimulálunk 10000 alkalommal, amiknek a korrelációs kapcsolatát az előbb leírt fiziológiás korreláció határozza meg. Ez adja meg a kovariánca mátrixot, aminek segítségével a filogenetikai fa minden ágán szimuláltuk az evolúciós változásokat. Az így kapott szimulált fenotípusos jellegek értékekből kiszámoltuk a PIC módszer segítségével a szimulált evolúciós korreláció értékeket. A p-értéket úgy kapjuk, meg hogy megszámloljuk hányszor nagyobb a valós evolúciós korreláció értéke a szimulációval kapott értéktől.

Mivel a nagyszámú statisztikai tesztek elvégzése megnöveli annak az esélyét, hogy a kapott szignifikáns eredmények között fals eredmények is szerepelnek, szükség volt a p-értékek korrekciójára. Ezt a False Discovery Rate (FDR) módszerrel végeztem ($FDR < 0.05$).

A fenti módszer alapján a metabolitpárokat három korrelációs csoportba soroltam:

- Evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok: Az evolúciós korreláció pozitív, valamint, vagy csak az evolúciós korreláció szignifikáns, vagy az evolúciós korreláció és a fiziológiás korreláció közötti különbség szignifikáns és az evolúciós korreláció z-

értéke nagyobb fiziológiásnál, vagy az evolúciós korreláció és a fiziológiás korreláció is szignifikáns, és nincs jelentős különbség.

- Fiziológiásan korreláló metabolitpárok: Vagy csak a fiziológiás korreláció szignifikáns, vagy a különbség szignifikáns, és a fiziológiás korreláció z-értéke nagyobb.
- Egyik sem: Se fiziológiás, se pozitív evolúciós korreláció nem áll fent a metabolitok között.

Evolúciósan konzervált arányú metabolitok feldúsulásának vizsgálata biológiai jellemzők és folyamatok között

Annak vizsgálatára, hogy az evolúciósan konzervált metabolitarányok feldúsulása megfigyelhető-e bizonyos biológiai jellemzőkön belül, permutációs tesztet alkalmaztam. Feldúsulást vizsgáltam a metabolitok kémiai osztályai, anyagcsere útvonalak, enzim regulációban résztvevő inhibitorok és aktivátorok, valamint azonos transzportfolyamatokban résztvevő és azonos betegségek biomarker metabolitjai között.

Elsőként minden alkalommal azt vizsgáltam, hogy általánosan az evolúciósan konzervált metabolitok között, feldúsulnak-e azok a metabolitpárok, amelyeknek mindkét tagja egy biológiai csoporthoz tartozik, azokhoz a metabolitpárokhöz képest, amik nem mutatnak evolúciós konzervációt. Például az evolúciósan konzervált metabolitarányok között feldúsulnak-e azok a metabolitok aminek mindkét tagja azonos anyagcsere útvonalban szerepel.

Ennek kiszámítására permutációs tesztet használtam. Megkevertem, hogy az egyes metabolitok mely csoportba tartoznak, a csoportokban szereplő metabolitok számát megtartva. Ezt a permutációs lépést 10000-szer végeztem el és minden alkalommal megnéztem, hogy az evolúciósan konzervált metabolitpárok közül mennyi esik azonos csoportba. A teszt p-értékét az adja, hogy a permutációk esetében hányszor volt nagyobb az azonos permutált csoportba eső evolúciós konzervációk száma a tényleges azonos csoportba eső evolúciósan konzervált metabolitpárokénál. A teszt mérőszámát (fold-change) az azonos csoportba eső evolúciós konzervációk és a permutált értékek átlagának aránya adja meg.

Ennek alapján a fiziológiás korrelációkra is kiszámoltam a feldúsulásokat, hogy össze lehessen hasonlítani hatásukat.

Ezt követően kiszámoltam az egyes csoportokon belül melyek azok a jellemzők, amelyek esetében az evolúciósan konzervált arányú metabolitok feldúsulnak. Például a

metabolikus útvonalak esetében míg az előző vizsgálat azt mutatta ki, hogy az evolúciósan korrelált metabolitok azonos útvonalakban feldúsulnak-e, ez a teszt minden egyes útvonal esetében külön vizsgálja, hogy a benne jelenlévő metabolitpárok között látunk-e evolúciósan konzervált arányú metabolitpár feldúsulást.

Akkor beszélhetünk feldúsulásról mikor a jellemzőn belüli evolúciósan konzervált metabolitpárok száma nagyobb, mint a permutált adat alapján várt érték. A permutációhoz 10 000-szer véletlenszerűen generáltunk metabolitpárokat a metabolitok cseréjével a jellemzők között, miközben megőriztük a jellemzők eredeti metabolitszámát. Ezután megszámoltuk az evolúciósan konzervált metabolitpárokat az egyes jellemzőkön belül a permutált adatokban. A p-értéket az adja meg, hogy a permutációknál hányszor volt nagyobb az egyes biológiai jellemzőkben a véletlenszerűen formált evolúciós konzervációk száma a tényleges evolúciósan konzervált metabolitpárokénál. A teszt mérőszámát (fold change) az evolúciós konzervációk és a permutált értékek átlagának aránya adja. A p-érték korrekciót a False Discovery Rate (FDR) módszerrel végeztem ($FDR < 0.05$). Az fent leírt módszer segítségével feltártuk az összefüggést az evolúciós konzerváció és az alábbi metabolikus jellemzők között.

A következő csoportokban vizsgáltam az evolúciósan konzervált arányú metabolitok feldúsulását: kémiai osztályokban, metabolikus anyagcsere útvonalakban, transzport reakciókban, enzim regulációban, valamint humán betegségekben. Csak azokat a jellemzőket használtam ezeken a csoportokon belül, amikben legalább 4 metabolit szerepelt az általam vizsgálatokból. Továbbá az anyagcsere útvonalak vizsgálatánál kiszűrtem a kofaktorokat.

Eredmények és értékelésük

Evolúciósan konzervált metabolitarányok feltérképezése

A kutatásom első lépése az volt, hogy feltárjam az evolúciósan konzervált metabolitarányokat az evolúciós korreláció módszerével. Ennek révén átfogó képet kaphattunk arról, hogy mely metabolitpárok alakulnak együtt az evolúció során. Ehhez egy publikált adathalmazon végeztünk elemzést, melyben 262 metabolit koncentrációját vizsgáltuk négy szervben (agy, vese, szív és máj) és 26 emlős fajban.

A filogenetikai összehasonlító módszerek az evolúciós biológia kulcsfontosságú eszközei, amelyek lehetővé teszik az adatok vizsgálatát a fajok filogenetikai rokonságát is figyelembe véve. Ez azért szükséges, mert a több rokon fajt magába ölelő adatsorok egyes pontjai nem függetlenek egymástól, a közelebbi rokonok morfológiai és molekuláris jellemzői általában jobban hasonlítanak egymásra, mint távolabbi rokonoké. A filogenetikai módszerek alkalmazásával ez a függőség kiküszöbölhető, és valós evolúciós mintázatok felderíthetővé válnak. Ezen módszerek nélkülözhetetlen eszközök az evolúciós biológia és a filogenetika területén, és lehetővé teszik a pontos és megbízható evolúciós modellek létrehozását.

Az evolúciósan konzervált metabolitarányok megismeréséhez az összes lehetséges metabolitpár között összehasonlítottam a fiziológiásan korrelált és evolúciósan konzervált arányú párokat. Továbbá az evolúciósan konzervált arányú párok közül kiszűrtem azon eseteket, amelyeknél a fiziológiás korrelációs értékek törzsfán való szimulálása alapján kimutatható volt, hogy a detektált fals evolúciósan konzervált arányt valójában a fiziológiás kapcsolat okozta. Az evolúciósan konzervált arányú párokat csak akkor vettük figyelembe, ha az evolúciós korreláció mértéke nagyobb vagy egyenlő volt a fiziológiás korrelációéval. Az elemzés során 1740 evolúciósan konzervált párt azonosítottunk a 34 191 vizsgált metabolitpár közül (1. táblázat). Az eredmények azt mutatják, hogy az adathalmazban lévő metabolitok többsége evolúciós kapcsolatban állt legalább egy másik metabolittal. Továbbá, az evolúciós korrelációk nagy része pozitív volt, ami azt sugallja, hogy a metabolitok koncentrációi, melyek evolúciós kapcsolatot mutatnak, az evolúció során általában ugyanazon irányba változnak.

1. táblázat A 4 szövetben található evolúciósan konzervált metabolitárányok száma és a fizioiógiás korrelációt mutató metabolitok száma.

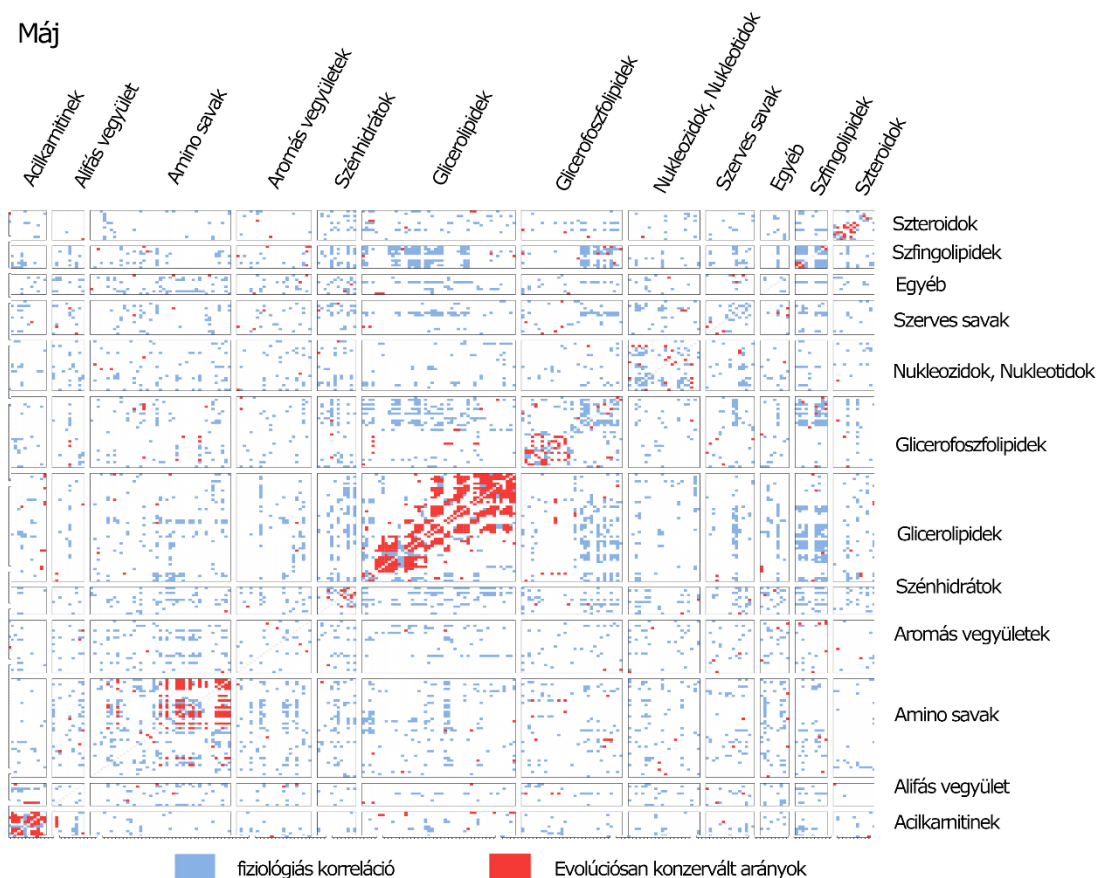
	evolúciósan korrelált párok száma	fizioiógiásan korrelált párok száma	korrelációt nem mutató párok
Agy	615	796	21167
Szív	487	1861	25855
Vese	431	2075	25935
Máj	561	1580	27994

Ezek alapján sikerült kimutatni, hogy az evolúciósan konzervált arányok jelensége valóban jelen van a metabollomban jelentős mennyiségben. Ezek az arányok és a hozzájuk kapcsolódó folyamatok fontosak a sejt homeosztázisának fenntartásában. Az evolúciósan konzervált metabolitárányok hozzájárulhatnak a biokémiai hálózatok és rendszerek stabilitásához és működéséhez. Ezáltal lehetővé teszik az anyagsere-útvonalak megfelelő szabályozását és koordinációját, ami elengedhetetlen az élőlények optimális működéshez és bármilyen eltérés ezekben az arányokban jelzi az esetleges patológiás állapotokat vagy betegségeket.

Funkcionális feldúsulások

Metabolikus kémiai osztályok

A metabolitok kémiai osztályai bizonyos kémiai, funkcionális vagy szerkezeti tulajdonságok szerint csoportosítják a metabolitokat. Az általam vizsgált metabolitok 12 osztályba sorolhatók: acilkarnitinek, amino savak és származékjaik, aromás vegyületek, szénhidrátok, glicerolipidek, glicerofosfolipidek, nukleozidok, nukleotidok és származékjaik, szerves savak és származékjaik, szfingolipidek és egyéb ezekbe az osztályokba nem sorolható metabolitok (2.ábra). A szívben, vesében és májban, a kémiai osztályok között hasonlóan oszlanak el az evolúciósan konzervált arányú metabolitok, pár szövetspecifikus különbséggel, míg az agyban ez előző szövetekhez képest több elszórtabb kapcsolatot találtunk a kémiai osztályok között. Továbbá az is látható, hogy inkább a kémiai osztályokon belül és nem két osztály között jelennek meg ezek a kapcsolatok.



2. ábra Az evolúciósan konzervált metabolitarányok és a fiziológias korrelációk eloszlása az egyes metabolitosztályok között a májban. Az ábrán a vizsgált metabolitpárok tagjai kémiai csoportba vannak sorolva, és ezen metabolitok evolúciós vagy fiziológias kapcsolatait látjuk csoportok közötti. Az evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok pirossal, a fiziológiasan korrelált metabolitpárok kékkel vannak jelölve. Az agy, szív és vese ábrája a függelékben található.

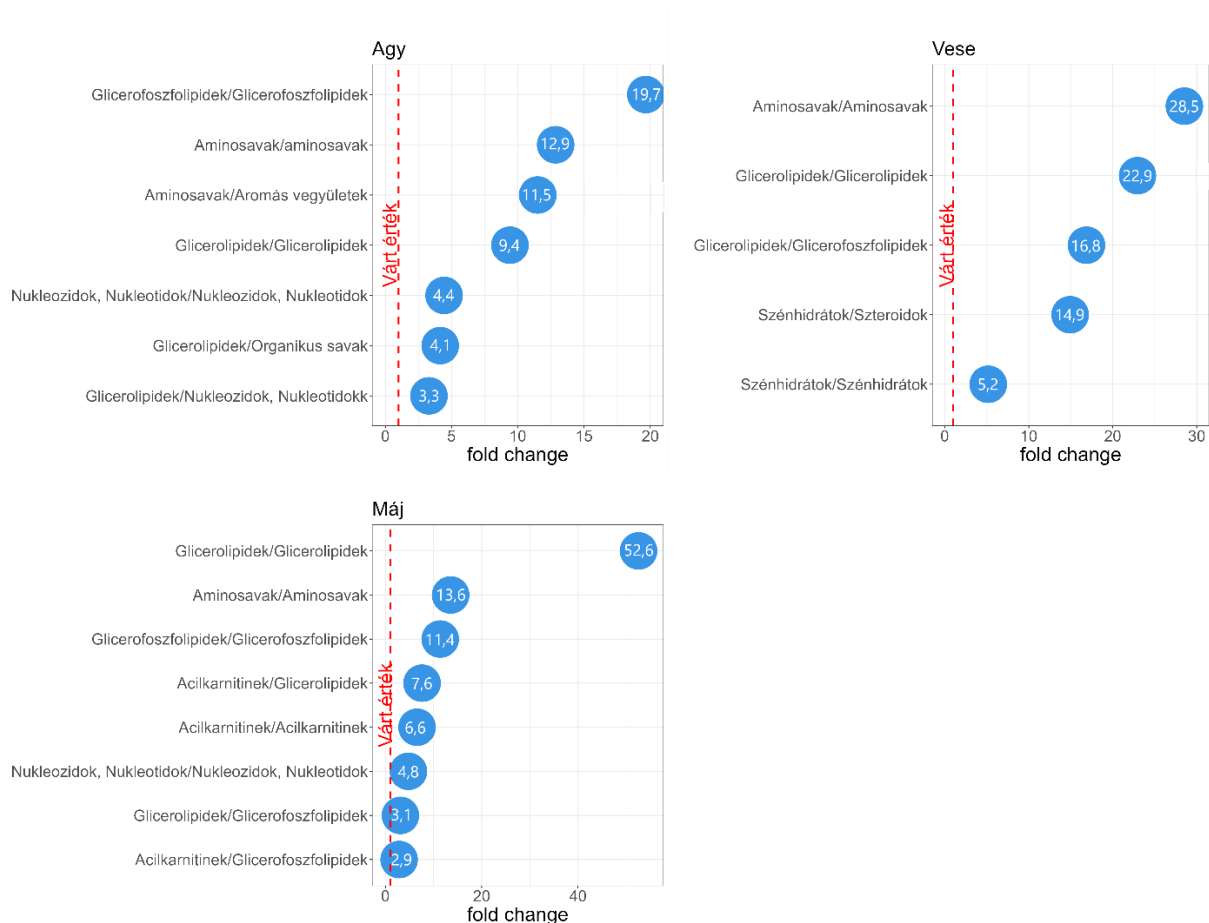
Először megvizsgáltam, hogy az azonos osztályba tartozó metabolitok között általában feldúsulnak-e az evolúciós konzervációt mutató metabolitarányok. Ehhez permutációs tesztet használtam, mind az evolúciósan konzervált metabolitarányok mind a fiziológiasan korrelált metabolitpárok feldúsulásának vizsgálatához. A szíven kívül minden szövetben szignifikánsan feldúsultak az evolúciósan konzervált metabolitarányok (2. táblázat).

2. táblázat Az evolúciósan konzervált metabolitárányok és a fiziológiás korrelációk feldúsulásának mértéke a kémiai osztályokban, szövetenként.

	evolúciós konzerváció		fiziológiás korreláció	
	feldúsulás (fold change)	p érték	feldúsulás (fold change)	p érték
Agy	4.6449	0.0001	3.5964	0.0001
Szív	0.0183	0.4414	2.5708	0.0001
Vese	6.0586	0.0001	0.0264	0.6452
Máj	0.4943	0.0167	1.9049	0.0001

Ezt követően azt is megvizsgáltam, hogy az evolúciósan konzervált metabolitárányok feldúsulnak-e az egyes kémiai osztályokban vagy két kémiai osztály között. Ebben az esetben is a permutációs tesztet alkalmaztam annak meghatározására, hogy az evolúciósan konzervált arányok száma mennyivel nagyobb az adott osztályon belül, mint amit véletlenszerűen várnánk. Először meghatároztam az egyes metabolit osztályokban előforduló evolúciósan konzervált arányú metabolitok számát, majd csak azokat az osztályokat vizsgáltam tovább, ahol legalább 3 ilyen metabolitpár volt. A permutációs teszttel megállapítottam, hogy hány evolúciós kapcsolatot várnánk véletlenszerűen az egyes metabolit osztályokban. Ebből számolható, hogy az egyes osztályokban az evolúciósan konzervált arányú metabolipárok száma hányszorosa a várt értéknek.

Agyban, vesében és májban a vizsgált metabolit osztályban és osztályok között az evolúciósan konzervált arányú metabolitok száma szignifikánsan feldúsulást mutatott több esetben ($FDR < 0.1$). Az evolúciósan konzervált arányok feldúsulnak aminosavak, glicerolipidek és glicerofosfolipidek között több szövetben. Vannak szövetsepcifikus feldúsulások is mint, az acil-karnitinek között kiemelkedő feldúsulás van a májban (3. ábra).



3. ábra Az ábrán az evolúciósan konzervált arányú metabolitok feldúsulása látható az egyes kémiai osztályokban és kémiai osztályok között. Mivel az agyban, vesében és májban találtunk feldúsulást, így ezek láthatók az ábrán. Az Y-tengelyen a metabolitpárok tagjainak kémiai osztályi szerepelnek. Az X-tengely az evolúciósan konzervált metabolitarányok valós és várt számának fold change-ét mutatja, ami a pontokban a pontos értékek szerepel.

Ez azt mutatja, hogy a biológiailag hasonló szerkezetű és szerepkörű metabolitok aránya kulcsfontosságú a metabolikus folyamatokban. Ezek alapján a hasonló tulajdonságokkal rendelkező és funkciót betöltő metabolitok aránya fixálódhat az evolúció során.

Anyagcsere útvonalak

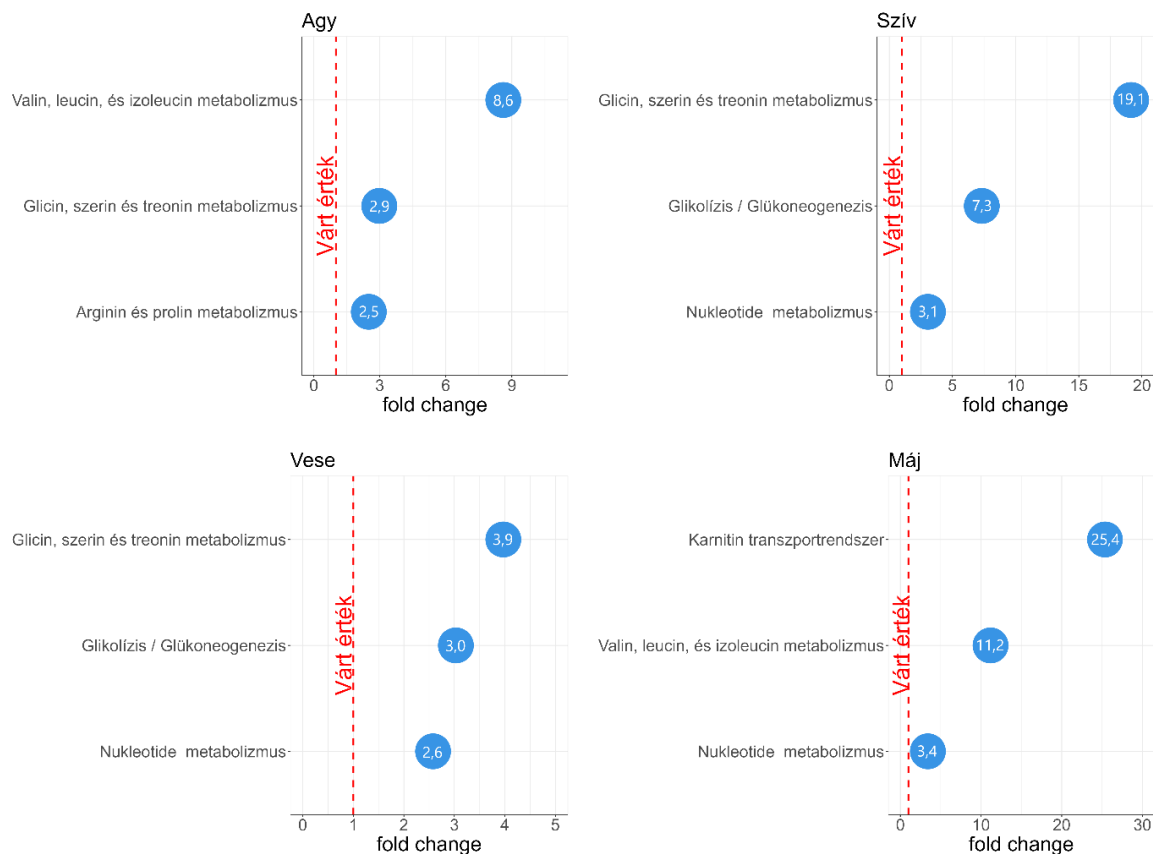
Az anyagcsere útvonalak olyan enzim által mediált kémiai reakciók sorozatai, amelyek kulcsfontosságú szerepet játszanak különböző fiziológiai funkciókban, ideértve az energiatermelést, a biomolekulák szintézisét és a bonyolult vegyületek lebontását. Annak érdekében, hogy felderítsem az evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok szerepét az

útvonalakban, teszteltem ezeknek a metabolitoknak az egyidejű előfordulását azonos útvonalban. Az evolúciósan konzervált arányú metabolitok szignifikáns feldúsulást mutatnak a metabolikus útvonalakban, és minden szervben a feldúsulás aránya magasabb, mint a fiziológiás összefüggéseké (3. táblázat).

3. táblázat Az evolúciósan konzervált metabolitarányok és a fiziológiás korrelációk feldúsulásának mértéke az egy anyagcsere útvonalba tartozó metabolitpárok között, szövetenként.

	evolúciós konzerváció		fiziológiás korreláció	
	feldúsulás (fold change)	p érték	feldúsulás (fold change)	p érték
Agy	2.2279	0.0012	1.3815	0.0554
Szív	2.7136	0.0002	1.2199	0.1225
Vese	3.1383	0.0001	1.5695	0.0011
Máj	2.1851	0.0014	1.7377	0.0005

Ezután az evolúciósan konzervált arányú metabolitok egyes anyagcsere útvonalakban való feldúsulását vizsgáltam. A metabolitokat a Metabolic Atlas humán modellje alapján soroltam be anyagcsereútvonalakba. A számításaimat ebben az esetben is permutációs tesztel végeztem. Először meghatároztam az egyes útvonalakban lévő evolúciós konzervált arányok számát, aszerint, hogy az útvonalban résztvevő metabolitok között hány szignifikáns evolúciósan konzervált arányú metabolitpár szerepel. Csak azokat az útvonalakat vettem figyelembe, amelyekben legalább 4, az evolúciós adatszettünkben megtalálható metabolit szerepelt és legalább 3 evolúciósan konzervált arányt tartalmazott. Ezután elvégeztem a permutációs tesztet, amivel megkaptam, hogy mennyi lenne a véletlenszerűen várt evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok száma az egyes útvonalakban. Ez alapján kiszámíthatjuk, hogy az egyes útvonalakban, hányszorosa a valós evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok száma a várt értéknek (4. ábra).



4. ábra Az ábrán az evolúciósan konzervált arányú metabolitok feldúsulása látható az egyes anyagcsere útvonalakban. Mind a négy szövetbe találtunk feldúsulást. Az Y-tengelyen az anyagcsere útvonalak szerepelnek. Az X-tengely az evolúciósan konzervált metabolitarányok valós és várt számának fold change-ét mutatja, ami a pontokban a pontos értékek szerepel.

Az egyes útvonalakban feldúsuló evolúciósan konzervált metabolitarányok arra utalnak, hogy az evolúciósan konzervált párok kialakulását azonos enzimatikus szabályozási mechanizmusok befolyásolhatják. Például egy metabolit szolgálhat a másik prekursoraként, vagy az arányuk közvetlenül meghatározhatja a reakció lezajlásához szükséges fluxust.

Transzport reakciók

A metabolikus transzportreakció a molekulák átvitelére utal a sejt membránokon keresztül és az organellek között az anyagcsere-folyamatok részeként. Ezek a reakciók kulcsfontosságú szerepet játszanak a sejt homeosztázisának fenntartásában, valamint olyan alapvető funkciók támogatásában, mint az energiaeelőállítás, a bioszintézis és az elektrokémiai gradiens kialakítása. A transzportreakciók alakítják a metabolitarányokat is. A Metabolic Atlas adatbázist használtam azon metabolitpárok azonosítására, amelyek részt vesznek közös

transzportreakciókban. Itt is permutációs tesztet használtam annak megállapítására, hogy azok a metabolitok között, amelyek azonos transzport folyamatban vesznek részt feldúsulnak-e az evolúciósan konzervált metabolitarányok. Először megnéztem, hogy hány olyan metabolitpár van, ami evolúciósan konzervált arányt mutat és egy transzport folyamatban vesz részt, majd 10000-szer megkevertem a metabolitokat a transzport folyamatok között így megkapva a várt értékeket. Ez alapján kiszámíthatjuk, hogy az egyes transzportfolyamatokban, hányszorosa a valós evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok száma a várt értéknek (fold change). Minden szövetben szignifikáns és a fiziológiás korrelációnál nagyobb feldúsulást kaptam (4. táblázat)

4. táblázat Az evolúciósan konzervált metabolitarányok és a fiziológiás korrelációk feldúsulásának mértéke az azonos transzport folyamatban szereplő metabolitok között, szövetenként.

	evolúciós konzerváció		fiziológiás korreláció	
	feldúsulás (fold change)	p érték	feldúsulás (fold change)	p érték
Agy	5.2975	0.0001	1.1667	0.2125
Szív	4.5022	0.0003	1.9006	0.0001
Vese	4.1005	0.0002	1.5939	0.0007
Máj	5.5144	0.0001	1.8233	0.0012

Enzim szabályozás

Az enzim szabályozás magában foglalja, az enzimaktivitás allosztérikus regulátorokon, pontosabban aktivátor és inhibitor metabolitokon keresztüli módosítását. Az enzimszabályozás szerepe kulcsfontosságú a sejtben végbemenő folyamatok pontos irányításához, az változó körülményekhez való alkalmazkodásban és a sejt homeosztázisának fenntartásában. A a regulátor metabolitok összegyűjtésére a Brenda adatbázist használtam, ami tartalmazza az enzimatis reakciókban résztvevő és azokat befolyásoló inhibitorokat és aktivátorokat. Itt is permutációs tesztet használtam annak feltárására, hogy az evolúciósan konzervált metabolitpárok feldúsulnak-e az enzim regulátorok között. Először megnéztem hány olyan metabolitpár van, ami evolúciósan konzervált arányt mutat és egy enzimet regulál, majd 10000-

szer megkevertem a metabolitokat az enzim regulációk között így megkapva a várt értéket. Ez alapján kiszámíthatjuk, hogy az egyes útvonalakban, hányszorosa a valós evolúciósan konzervált arányok száma a várt értéknek (fold change).

Az enzimszabályozásban szignifikánsan feldúsultak az evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok, ezek többsége az inhibitorok között található. Továbbá minden esetben nagyobb feldúsulást mutattak, mint a fiziológiás korrelációk (5. táblázat).

5. táblázat Az evolúciósan konzervált metabolitarányok és a fiziológiás korrelációk feldúsulásának mértéke az enzimregulátorok között, szövetenként.

	evolúciós konzerváció		fiziológiás korreláció	
	feldúsulás (fold change)	p érték	feldúsulás (fold change)	p érték
Agy	2.6617	0.0001	0.8501	0.9756
Szív	2.0603	0.0001	1.2391	0.0001
Vese	3.3327	0.0002	0.5772	1.0000
Máj	2.9642	0.0004	1.2948	0.0001

Az fent bemutatott eredmények, arra utalnak, hogy a kimutatott evolúciós kapcsolatok nem csak véletlenszerű, elszórt kapcsolatok, hanem biológiai mintázat áll mögöttük. A evolúciós konzervációt mutató metabolitarányok kialakulásában fontos szerepet kap, hogy a metabolitok hasonló felépítésű és szerepű metabolitok legyenek. Továbbá az anyagcserefolyamatokban való feldúsulása jelezheti az anyagcsere-reakciók fluxusának szabályozásában betöltött szerepet és a hasonló regulációs mechanizmusokban való részvételt.

Az evolúciósan konzervált metabolitarányok humán anyagcserére gyakorolt hatása

Az anyagcsere-zavarok, a genetikai rendellenességek és a környezeti tényezők hatására kialakuló betegségek gyakran megváltoztatják a metabolitok arányait a szervezetben. Ezek a változások specifikusak lehetnek a betegségre, és számos esetben a diagnózistól a terápiás kezelésig fontos információkat nyújthatnak.

Bizonyos metabolitok koncentrációinak arányait biomarkerként is használják különböző orvosi alkalmazásokban. Ezen ismert metabolitpárok közül számosról kimutattuk, hogy evolúciósan konzervált az arányuk. Például, a tirozin és fenilalanin vérben fennálló arányának leérése alkalmazható a fenilketonuria azonosítására. A fenilketonúria egy veleszületett betegség, amely a fenilalanin-hidroxiláz káros mutációjából ered, ami a fenilalanin felhalmozódásához vezet súlyos idegrendszeri problémákat okozva kezelés nélkül. A tirozin-fenilalanin arány felborulása jelzi az enzimműködés diszfunkcióját és a betegség jelenlétét (Chace és mtsai. 1998). Egy másik példa az újszülött szűrések során alkalmazott a rövid láncú acil-CoA dehidrogenáz hiányának kimutatására, amelyet a butiril-karnitin és propionil-karnitin arány változása jelez. Ezt a betegséget az ACADS gén mutációi okozzák, és a mitokondriális zsírsav oxidáció zavarához vezet (Wolfe és mtsai. 1993). További példák az evolúciósan konzervált metabolitarányok betegségekben való részvételére, az olyan esetek, amelyekben több metabolitból álló, komplex arányok változásait követik. Ilyen a Fisher arány, GSG index és az arginin homeosztázis, amelyeket gyakran alkalmaznak az aminosavakhoz kapcsolódó betegségek vizsgálatában. A Fisher arány az elágazó láncú aminosavak aránya az aromás aminosavakhoz viszonyítva, amelyet diagnosztikai markerként alkalmaznak a máj anyagcsere diszfunkcióinak kimutatására (Yamakado és mtsai. 2017). A GSG index azokat az aminosavakat használja, amelyek részt vesznek a glutation szintézisében. A GSG index erős kapcsolatban áll a májenzimekkel, és lehetséges markere a májbetegségeknek függetlenül a testtömegtől (Morris és mtsai. 2017). Az alacsony arginin szint szerepet játszik több betegség patogenezisében. Az arginin homeosztázishoz kapcsolódó aminosavak aránya biomarkere az argináz enzim hiálynak, ez alacsony arginin/ornitin arányt okoz (Masoodi és mtsai. 2021). Az ezekben a komplex arányokban résztvevő számos metabolitpárról kimutattuk, hogy evolúciósan konzervált arányt mutat.

Annak további bizonyítására, hogy a metabolitarányok változása diszfunkcióhoz vezethet az anyagcsere-utakban és különböző betegségek kialakulását okozhatja,

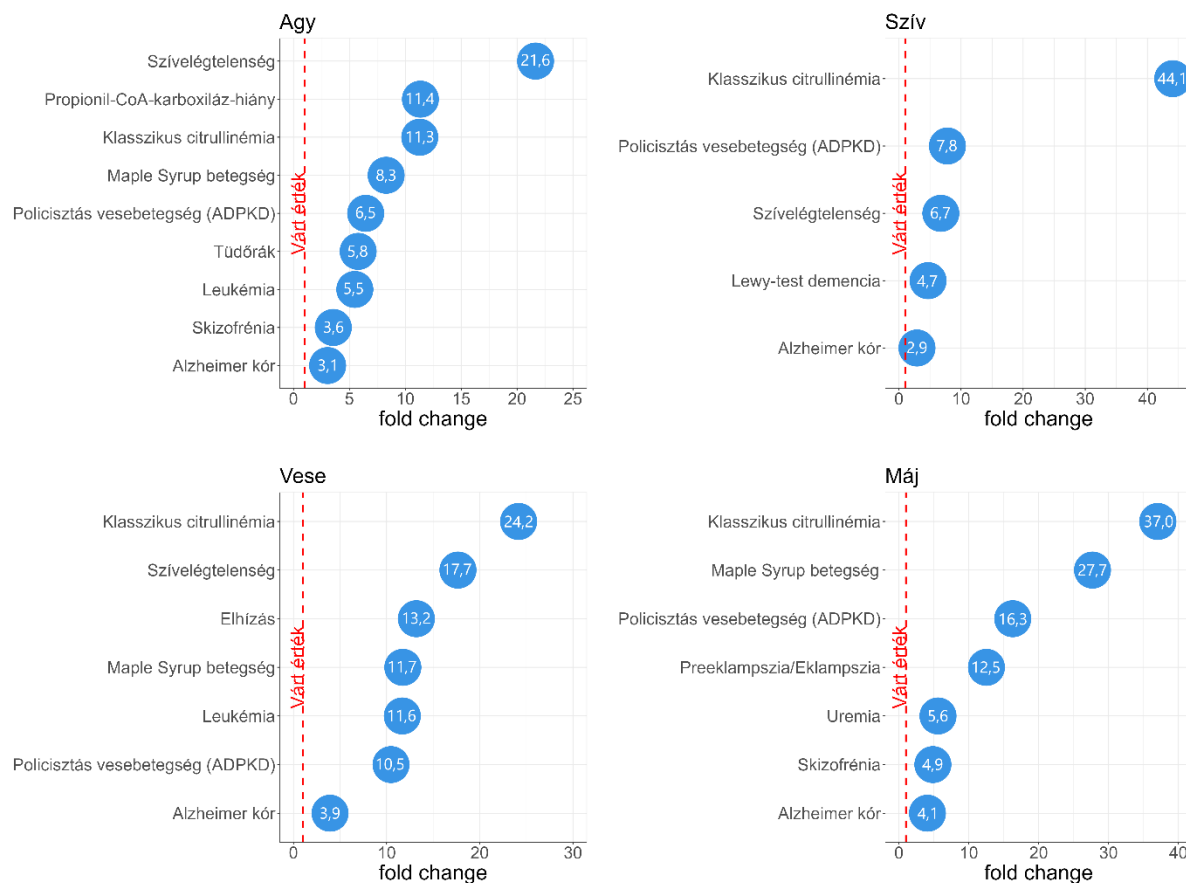
általánosabban is megvizsgáltam az evolúciósan konzervált metabolitpárok és betegségek kapcsolatát. A HMDB adatbázis használatával, ami a humán betegségek biomarkereit is tartalmazza, teszteltem, az evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok betegségek biomarkerei közötti feldúsulását. Permutációs tesztet használtam itt is annak vizsgálatára, hogy az azonos betegséghez tartozó biomarkerek között feldúsulnak-e az evolúciósan konzervált metabolitok. Az evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok feldúsulást mutatnak a betegségek biomarkerei között mind a négy szervben (6. táblázat).

6. táblázat Az evolúciósan konzervált metabolitarányok és a fiziológiás korrelációk feldúsulásának mértéke a betegség biomarkerek között, szövetenként.

	evolúciós konzerváció		fiziológiás korreláció	
	feldúsulás (fold change)	p érték	feldúsulás (fold change)	p érték
Agy	2.6617	0.0001	0.8501	0.9756
Szív	2.0603	0.0001	1.2391	0.0001
Vese	3.3327	0.0002	0.5772	1.0000
Máj	2.9642	0.0004	1.2948	0.0001

Továbbá azt is megvizsgáltam, hogy melyek azok a betegségek, amikben feldúsulnak az evolúciósan konzervált metabolitarányok. Itt is permutációs tesztet végeztem csak azoknak a betegségeknek a figyelembevételével, amelyekben legalább 4, az evolúciós adatszettünkben megtalálható biomarker metabolit szerepelt és legalább 3 evolúciósan konzervált arányt tartalmazott. Több szövetben is megjelenik az Alzheimer kór, a klasszikus citrullinémia, a policisztás vesebetegség és a maple syrup vese betegség (5. ábra).

Ezek az eredmények arra utalnak, hogy az evolúció során konzervált metabolitarányok változása károsabb lehet az egészségre, mint a metabolom más részeinek változása.



5. ábra Az ábrán az evolúciósan konzervált arányú metabolitok feldúsulása látható az egyes betegségek biomarkerei között. Mind a négy szövetbe találtunk feldúsulást. Az Y-tengelyen a betegségek szerepelnek. Az X-tengely az evolúciósan konzervált metabolitarányok valós és várt számának fold change-ét mutatja, ami a pontokban a pontos értékek szerepel.

Összefoglalás

Az evolúciósan konzervált metabolitarányok vizsgálata jelentős mértékben hozzájárulhat a humán metabolom megértéséhez és az anyagcsere folyamatok mélyebb átlátásához. Az evolúciósan konzervált metabolitarányok olyan arányok, amelyek közel állandóak maradnak az eltérő fajok között, még különböző környezeti feltételek és genetikai változatosság mellett is. Ennek oka az, hogy az evolúciósan konzervált arányok mögött álló folyamatok alapvető szerepet játszanak az élőlények túlélésében és adaptációjában. Az evolúciósan konzervált metabolitarányok tanulmányozása lehetővé teszi számunkra, hogy azonosítsuk azokat a metabolikus folyamatokat, amelyek kulcsszerepet játszanak az emberi egészségben és betegségek kialakulásában.

Ebben a munkában az emlős metabolom evolúciós mintázatait vizsgáltam összehasonlító filogenetikai módszerek használatával, hogy a metabolitarányok evolúciójának általános szabályozó elveit keressem. Az evolúciós korrelációk kiszámolásával, megkapuk azokat a metabolitpárokat, amelyek koncentrációinak aránya konzerválódott az evolúció során. Célom volt meghatározni ezeknek az evolúciósan konzervált arányú metabolitoknak a biológiai funkcióját. Azt találtam, hogy az evolúciósan konzervált arányú metabolitok feldúsulnak a metabolit osztályokban, anyagcsereútvonalakban, enzim regulátorok között és a transzport folyamatokban. Ez az eredmény arra utal, hogy ezek a metabolitok fontos szerepet töltenek be anyagcsere fluxus és enzimatisz szabályozásában és felborulásuk várhatóan káros hatással lenne az anyagcsere megfelelő működésére.

Továbbá vizsgáltam a korrelált evolúció humán egészségre gyakorolt hatását. Az evolúciósan konzervált metabolitarányok megjelentek a metabolitkoncentráció arány biomarkerek között, és feldúsulást mutatnak a betegségek biomarkerei között. Ez az eredmény azt jelezheti, hogy ezeknek az arányoknak eltérése károsabb lehet az emberi egészségre, ezzel egyes betegségeket jelezhetnek.

Az evolúciósan konzervált metabolitarányok tanulmányozása lehetővé teszi számunkra, hogy mélyebb betekintést nyerjünk az élőlények anyagcsere folyamataiba evolúciós nézőpontból. Ez a jelenség 1-1 metabolit hatásán túl egyéb biológiai összefüggéseket és egészségügyi problémákat is kimutathat. Az evolúciósan konzervált arányok segíthetnek azonosítani azokat a metabolitokat és anyagcsere-útvonalakat, amelyek kulcsszerepet játszanak az élőlények alkalmazkodóképességében és túlélésében. Emellett az evolúciósan konzervált

metabolitarányok tanulmányozása segíthet megérteni az egészséges anyagcseréhez és az evolúcióhoz kapcsolódó mechanizmusokat, ami hozzájárulhat az emberi egészség jobb megértéséhez. Ezek az információk lehetővé teszik számunkra, hogy célpontokat azonosítsunk a betegségek kezelésére és megelőzésére. Emellett az evolúciósan konzervált metabolitarányok tanulmányozása segíthet abban is, hogy általánosabb megértést nyerjünk az anyagcsere összefüggéseiről és az emberi biológia evolúciós hátteréről.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Liska Orsolyának, aki segítségével és munkája nélkül nem jöhetett volna létre ez a dolgozat.

Irodalom

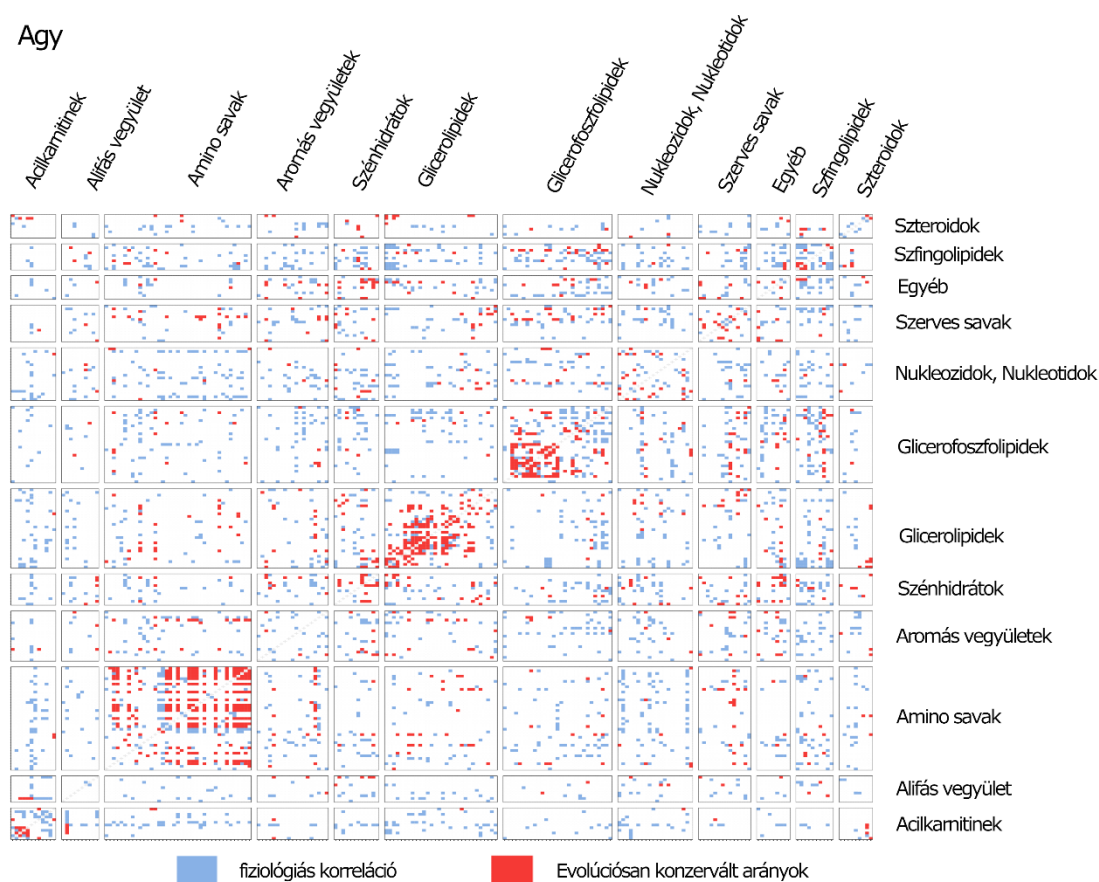
- Altmaier, Elisabeth, Steven L. Ramsay, Armin Graber, Hans-Werner Mewes, Klaus M. Weinberger, és Karsten Suhre. 2008. „Bioinformatics Analysis of Targeted Metabolomics—Uncovering Old and New Tales of Diabetic Mice under Medication”. *Endocrinology* 149 (7): 3478–89. <https://doi.org/10.1210/en.2007-1747>.
- Armbruster, W. Scott, Christophe Pélabon, Geir H. Bolstad, és Thomas F. Hansen. 2014. „Integrated phenotypes: understanding trait covariation in plants and animals”. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369 (1649): 20130245. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0245>.
- Baghel, Ruchi, Kiran Maan, Teena Haritwal, és Poonam Rana. 2021. „Chapter 2 - Integration of epigenomics and metabolomics: From biomarkers discovery to personalized medicine”. In *Epigenetics and Metabolomics*, szerkesztette Paban K. Agrawala és Poonam Rana, 28:31–73. Translational Epigenetics. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85652-2.00002-6>.
- Benton, Mary Lauren, Abin Abraham, Abigail L. LaBella, Patrick Abbot, Antonis Rokas, és John A. Capra. 2021. „The Influence of Evolutionary History on Human Health and Disease”. *Nature Reviews Genetics* 22 (5): 269–83. <https://doi.org/10.1038/s41576-020-00305-9>.
- Bozek, Katarzyna, Yuning Wei, Zheng Yan, Xiling Liu, Jieyi Xiong, Masahiro Sugimoto, Masaru Tomita, és mtsai. 2014. „Exceptional Evolutionary Divergence of Human Muscle and Brain Metabolomes Parallels Human Cognitive and Physical Uniqueness”. *PLOS Biology* 12 (5): e1001871. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001871>.
- Camacho, Diogo, Alberto de la Fuente, és Pedro Mendes. 2005. „The Origin of Correlations in Metabolomics Data”. *Metabolomics* 1 (1): 53–63. <https://doi.org/10.1007/s11306-005-1107-3>.
- Chace, Donald H, John E Sherwin, Steven L Hillman, Fred Lorey, és George C Cunningham. 1998. „Use of phenylalanine-to-tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry to improve newborn screening for phenylketonuria of early discharge specimens collected in the first 24 hours”. *Clinical Chemistry* 44 (12): 2405–9. <https://doi.org/10.1093/clinchem/44.12.2405>.
- Chang, Antje, Lisa Jeske, Sandra Ulbrich, Julia Hofmann, Julia Koblitz, Ida Schomburg, Meina Neumann-Schaal, Dieter Jahn, és Dietmar Schomburg. 2021. „BRENDA, the ELIXIR core data resource in 2021: new developments and updates”. *Nucleic Acids Research* 49 (D1): D498–508. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1025>.
- Chen, Yiheng, Tianyuan Lu, Ulrika Pettersson-Kymmer, Isobel D. Stewart, Guillaume Butler-Laporte, Tomoko Nakanishi, Agustin Cerani, és mtsai. 2023. „Genomic Atlas of the Plasma Metabolome Prioritizes Metabolites Implicated in Human Diseases”. *Nature Genetics* 55 (1): 44–53. <https://doi.org/10.1038/s41588-022-01270-1>.
- Felsenstein, Joseph. 1985. „Phylogenies and the Comparative Method”. *The American Naturalist* 125 (1): 1–15. <https://doi.org/10.1086/284325>.
- FISHER, R. A. 1915. „FREQUENCY DISTRIBUTION OF THE VALUES OF THE CORRELATION COEFFICIENTS IN SAMPLES FROM AN INDEFINITELY LARGE POPULATION”. *Biometrika* 10 (4): 507–21. <https://doi.org/10.1093/biomet/10.4.507>.
- Hackett, Sean R., Vito R. T. Zanutelli, Wenxin Xu, Jonathan Goya, Junyoung O. Park, David H. Perlman, Patrick A. Gibney, David Botstein, John D. Storey, és Joshua D. Rabinowitz. 2016. „Systems-Level Analysis of Mechanisms Regulating Yeast

- Metabolic Flux". *Science (New York, N.Y.)* 354 (6311): aaf2786. <https://doi.org/10.1126/science.aaf2786>.
- Hsia, David Yi-Yung. 1958. „Phenylketonuria: The Phenylalanine-Tyrosine Ratio in the Detection of the Heterozygous Carrier". *Journal of Intellectual Disability Research* 2 (1): 8–17. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2788.1958.tb00380.x>.
- Jiang, Daohan, és Jianzhi Zhang. 2023. „Detecting Natural Selection in Trait-Trait Coevolution". *BMC Ecology and Evolution* 23 (1): 50. <https://doi.org/10.1186/s12862-023-02164-4>.
- Johnson, Caroline H., Julijana Ivanisevic, és Gary Siuzdak. 2016. „Metabolomics: Beyond Biomarkers and towards Mechanisms". *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 17 (7): 451–59. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.25>.
- Lande, Russell. 1979. „QUANTITATIVE GENETIC ANALYSIS OF MULTIVARIATE EVOLUTION, APPLIED TO BRAIN:BODY SIZE ALLOMETRY". *Evolution* 33 (1Part2): 402–16. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1979.tb04694.x>.
- Ma, Siming, Sang-Goo Lee, Eun Bae Kim, Thomas J. Park, Andrei Seluanov, Vera Gorbunova, Rochelle Buffenstein, Javier Seravalli, és Vadim N. Gladyshev. 2015. „Organization of the Mammalian Ionome According to Organ Origin, Lineage Specialization, and Longevity". *Cell Reports* 13 (7): 1319–26. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.10.014>.
- Ma, Siming, Sun Hee Yim, Sang-Goo Lee, Eun Bae Kim, Sang-Rae Lee, Kyu-Tae Chang, Rochelle Buffenstein, és mtsai. 2015. „Organization of the Mammalian Metabolome According to Organ Function, Lineage Specialization, and Longevity". *Cell Metabolism* 22 (2): 332–43. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.07.005>.
- Masoodi, Mojgan, Amalia Gastaldelli, Tuulia Hyötyläinen, Enara Arretxe, Cristina Alonso, Melania Gaggini, Julia Brosnan, és mtsai. 2021. „Metabolomics and Lipidomics in NAFLD: Biomarkers and Non-Invasive Diagnostic Tests". *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology* 18 (12): 835–56. <https://doi.org/10.1038/s41575-021-00502-9>.
- Morris, Claudia R., Jill Hamilton-Reeves, Robert G. Martindale, Menaka Sarav, és Juan B. Ochoa Gautier. 2017. „Acquired Amino Acid Deficiencies: A Focus on Arginine and Glutamine". *Nutrition in Clinical Practice: Official Publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition* 32 (1_suppl): 30S-47S. <https://doi.org/10.1177/0884533617691250>.
- Pennell, Matthew W., és Luke J. Harmon. 2013. „An Integrative View of Phylogenetic Comparative Methods: Connections to Population Genetics, Community Ecology, and Paleobiology". *Annals of the New York Academy of Sciences* 1289 (június): 90–105. <https://doi.org/10.1111/nyas.12157>.
- Petersen, Ann-Kristin, Jan Krumsiek, Brigitte Wägele, Fabian J. Theis, H-Erich Wichmann, Christian Gieger, és Karsten Suhre. 2012. „On the hypothesis-free testing of metabolite ratios in genome-wide and metabolome-wide association studies". *BMC Bioinformatics* 13 (1): 120. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-120>.
- Piazza, Iliaria, Karl Kochanowski, Valentina Cappelletti, Tobias Fuhrer, Elad Noor, Uwe Sauer, és Paola Picotti. 2018. „A Map of Protein-Metabolite Interactions Reveals Principles of Chemical Communication". *Cell* 172 (1–2): 358-372.e23. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.12.006>.
- Rinschen, Markus M., Julijana Ivanisevic, Martin Giera, és Gary Siuzdak. 2019. „Identification of Bioactive Metabolites Using Activity Metabolomics". *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 20 (6): 353–67. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0108-4>.
- Shulaev, Vladimir. 2006. „Metabolomics technology and bioinformatics". *Briefings in Bioinformatics* 7 (2): 128–39. <https://doi.org/10.1093/bib/bbl012>.

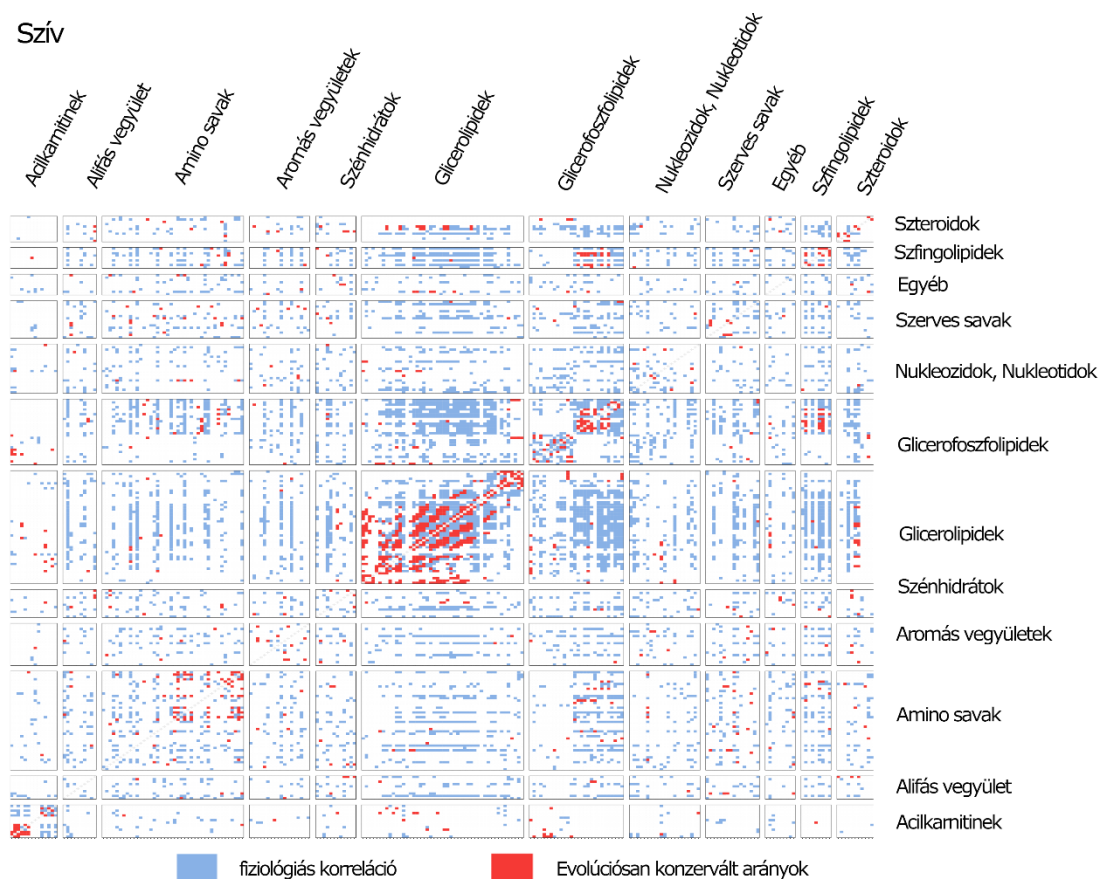
- Sinervo, B., és E. Svensson. 2002. „Correlational Selection and the Evolution of Genomic Architecture”. *Heredity* 89 (5): 329–38. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800148>.
- Steuer, Ralf, Juergen Kurths, Oliver Fiehn, és Wolfram Weckwerth. 2004. „Interpreting correlations in metabolomic networks”. *Biochemical Society transactions* 31 (január): 1476–78. <https://doi.org/10.1042/BST0311476>.
- Suhre, Karsten, és Christian Gieger. 2012. „Genetic Variation in Metabolic Phenotypes: Study Designs and Applications”. *Nature Reviews Genetics* 13 (11): 759–69. <https://doi.org/10.1038/nrg3314>.
- Svensson, Erik I., Stevan J. Arnold, Reinhard Bürger, Katalin Csilléry, Jeremy Draghi, Jonathan M. Henshaw, Adam G. Jones, és mtsai. 2021. „Correlational Selection in the Age of Genomics”. *Nature Ecology & Evolution* 5 (5): 562–73. <https://doi.org/10.1038/s41559-021-01413-3>.
- Williams, George C., és Randolph M. Nesse. 1991. „The Dawn of Darwinian Medicine”. *The Quarterly Review of Biology* 66 (1): 1–22. <https://doi.org/10.1086/417048>.
- Wishart, David S., AnChi Guo, Eponine Oler, Fei Wang, Afia Anjum, Harrison Peters, Raynard Dizon, és mtsai. 2022. „HMDB 5.0: The Human Metabolome Database for 2022”. *Nucleic Acids Research* 50 (D1): D622–31. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab1062>.
- Wolfe, Lynne, Reena Jethva, Devin Oglesbee, és Jerry Vockley. 1993. „Short-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency”. In *GeneReviews®*, szerkesztette Margaret P. Adam, Jerry Feldman, Ghayda M. Mirzaa, Roberta A. Pagon, Stephanie E. Wallace, Lora JH Bean, Karen W. Gripp, és Anne Amemiya. Seattle (WA): University of Washington, Seattle. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK63582/>.
- Yamakado, Minoru, Takayuki Tanaka, Kenji Nagao, Akira Imaizumi, Michiharu Komatsu, Takashi Daimon, Hiroshi Miyano, és mtsai. 2017. „Plasma Amino Acid Profile Associated with Fatty Liver Disease and Co-Occurrence of Metabolic Risk Factors”. *Scientific Reports* 7 (1): 14485. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-14974-w>.
- Yang, Ziheng, és Bruce Rannala. 2012. „Molecular Phylogenetics: Principles and Practice”. *Nature Reviews Genetics* 13 (5): 303–14. <https://doi.org/10.1038/nrg3186>.

Függelék

Az evolúciósan konzervált metabolitarányok és a fiziológias korrelációk eloszlása az egyes metabolit osztályok között. Az ábrákon a vizsgált metabolitpárok tagjai kémiai csoportba vannak sorolva, és ezen metabolitok evolúciós vagy fiziológias kapcsolatait látjuk csoportok közötti. Az evolúciósan konzervált arányú metabolitpárok pirossal, a fiziológiasan korrelált metabolitpárok kékkel vannak jelölve.



Szív



Vese

