

# **Metabolômica no Câncer de Próstata**

Ciência e Visualização de Dados em Saúde



Adriana K. Kawashima (271269)  
Francisco A. G. Santos (249023)  
Gyovana M. Moriyama (216190)  
Lucas A. Ito (273130)  
Rafael A. Matumoto (273085)  
Wendy T. A. Olarte (214561)

# **Sumário**

**1**

**Introdução**

**2**

**Metodologia**

**3**

**Resultados**

**4**

**Interpretação**

**5**

**Conclusão**

**6**

**Próximos passos**

1

# Introdução

Motivação e contextualização do problema

# Motivação

## **483 mil novos casos de câncer estimados pelo INCA**

Número de casos estimados pelo Instituto Nacional do Câncer para o triênio de 2023 a 2025.

## **Elevada incidência do câncer de próstata**

O mais frequente entre homens, no Brasil, e o segundo mais frequente no mundo.

## **Segunda maior causa de mortalidade entre homens**

No Brasil, em 2020, ocorreram 15.841 óbitos pela doença.



**71.730**

Número estimado de novos casos de câncer de próstata no Brasil no triênio de 2023 a 2025

# Motivação

## **É um câncer de evolução lenta**

O que dificulta o aparecimento dos sintomas e a busca por diagnósticos

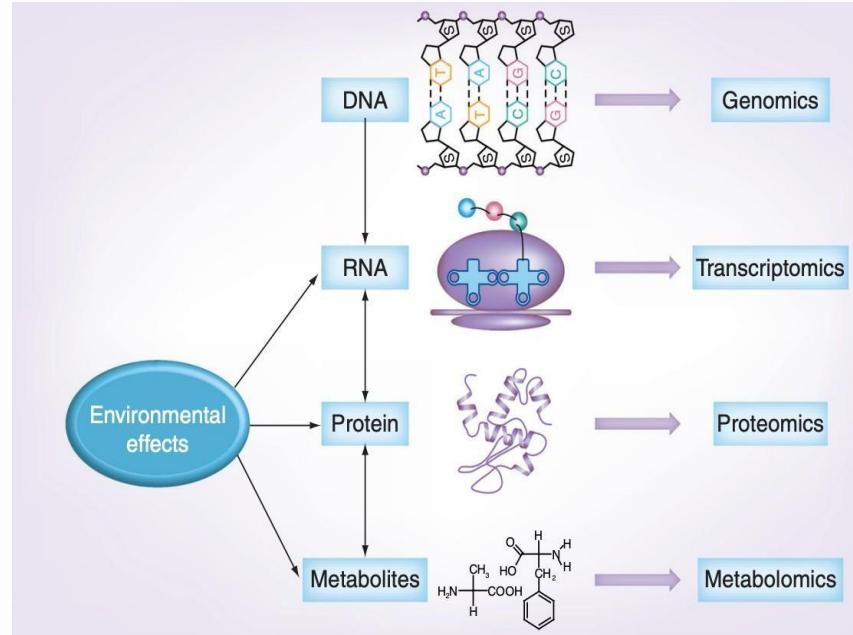
## **e seu diagnóstico ainda é invasivo,**

Um diagnóstico não invasivo, menos perigoso e mais eficaz ainda é um desafio

## **mas a metabolômica possibilita avanços.**

Busca por biomarcadores e novos conhecimentos sobre os mecanismos de desenvolvimento da doença

# Contextualização



Os metabólitos representam a parte **final do fluxo de informações dentro do organismo humano**, demonstrando-se como a resposta final que o organismo irá apresentar a agentes externos.



## Metabolômica

Análise quantitativa e qualitativa abrangente de todas as **pequenas moléculas em um sistema**, seja uma amostra de células, fluidos corporais como urina, plasma, tecidos, e saliva.



## Metabólitos

Qualquer substância química que desempenhe **funções** em uma determinada célula, seja através da sua ingestão e/ou síntese.

# Proposta



## Objetivo

Identificar os principais metabólitos e vias metabólicas associados ao câncer de próstata



## Perguntas

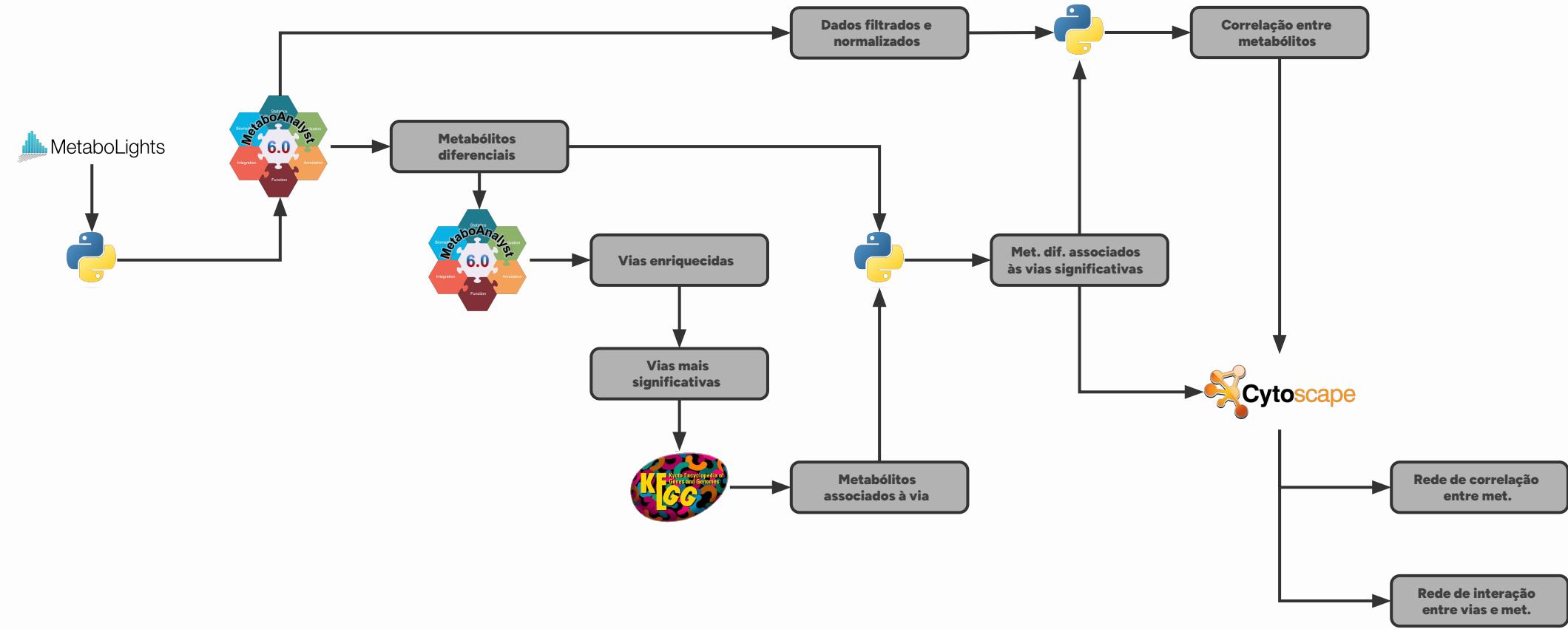
Quais são os metabólitos candidatos a biomarcadores do câncer de próstata?

Quais as funções desses metabólitos, e como estão relacionados ao desenvolvimento do câncer de próstata?

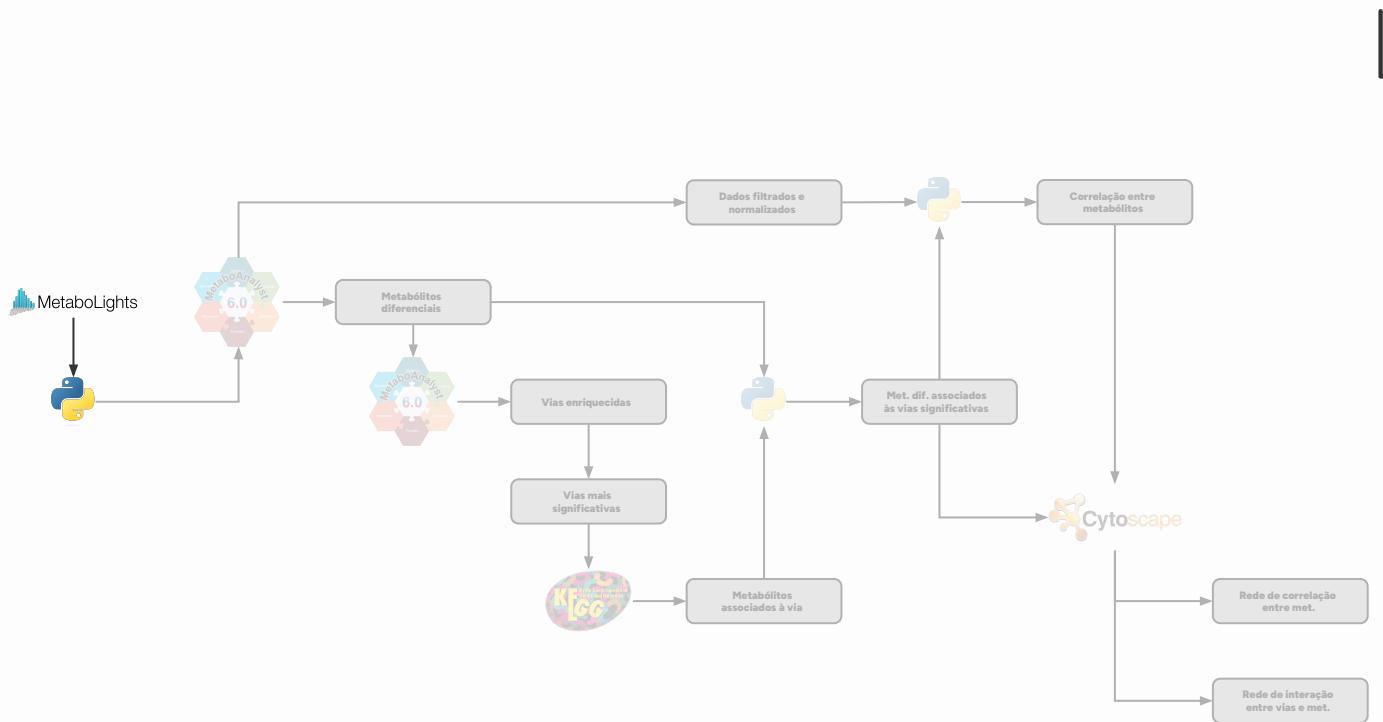
**2**

# **Metodologia**

# Metodologia



# Metodologia

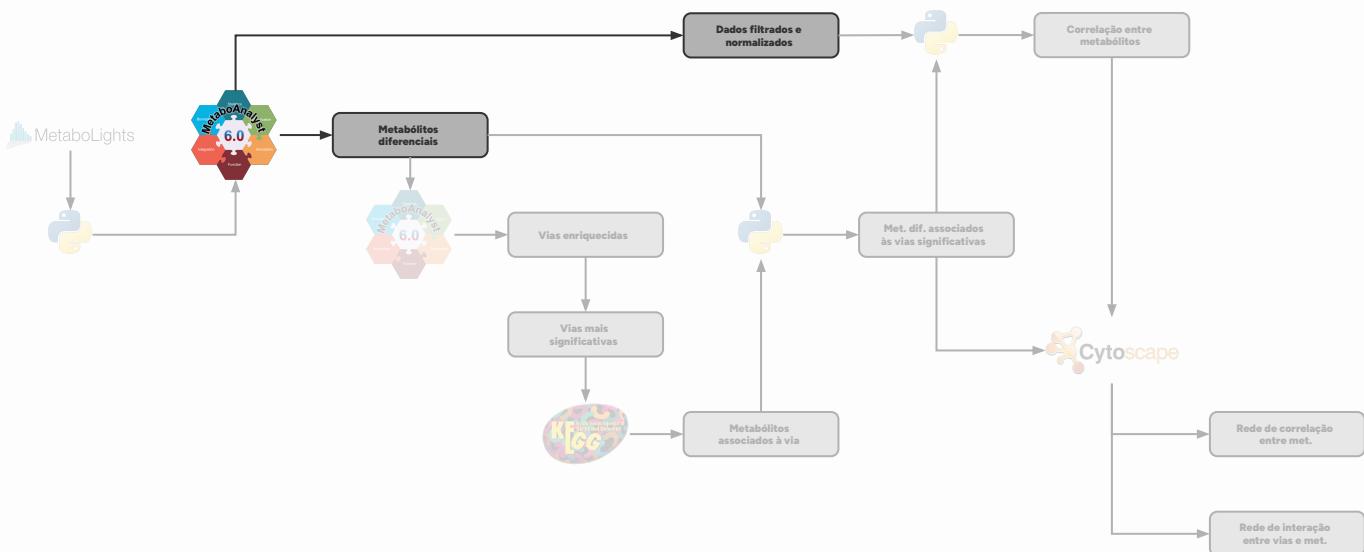


# Obtenção de dados experimentais

Estudo **MTBLS6039**: Serum organic acid metabolites can used as potential biomarkers to identify prostatitis, benign prostatic hyperplasia, and prostate cancer (Untargeted assay).

- **40 participantes:** 20 no grupo controle (saudável), 20 no câncer de próstata.
  - Técnica: cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas.
  - **411 metabólitos** coletados do soro sanguíneo.
  - Os dados representam as **intensidades dos picos** correspondentes a cada um dos metabólitos identificados.

# Metodologia



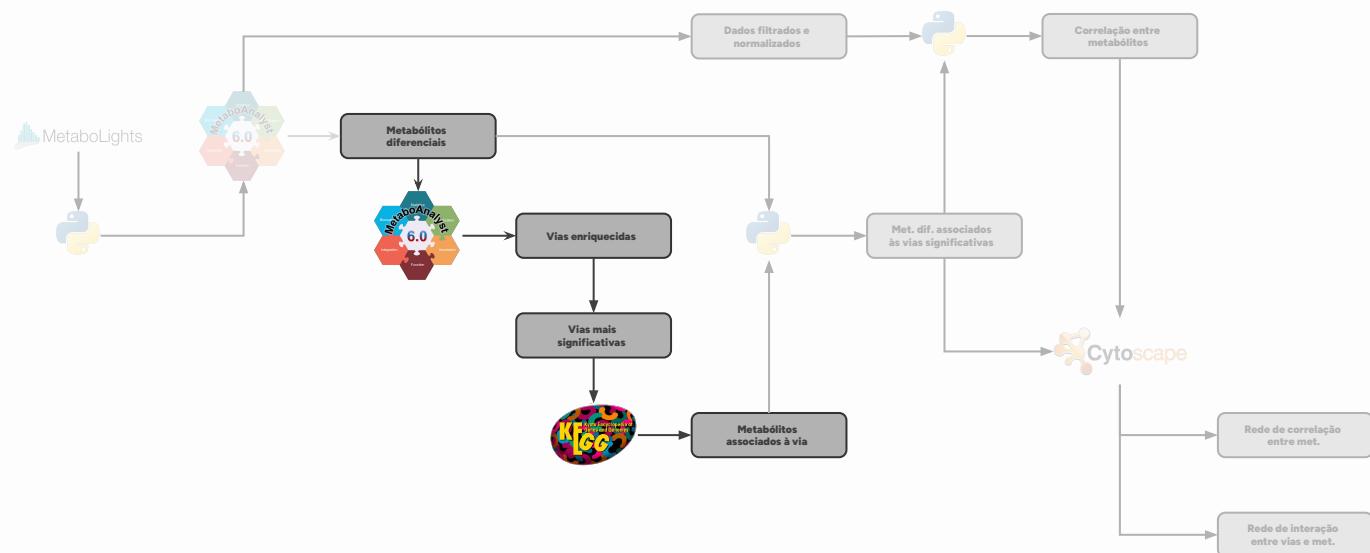
## Análise estatística dos metabólitos

Uso da ferramenta WEB MetaboAnalyst.

- **Filtragem e normalização** dos dados.
- Determinação de metabólitos que tiveram alterações significativas e expressivas entre indivíduos de diferentes condições.
  - $\log_2(\text{FC}) > 2$  e  $p\text{-value} < 0.05$

Separação dos **metabólitos diferenciais** em dois **subgrupos: sobre, e sub-representados** no grupo câncer em relação ao saudável.

# Metodologia



## Enriquecimento de vias

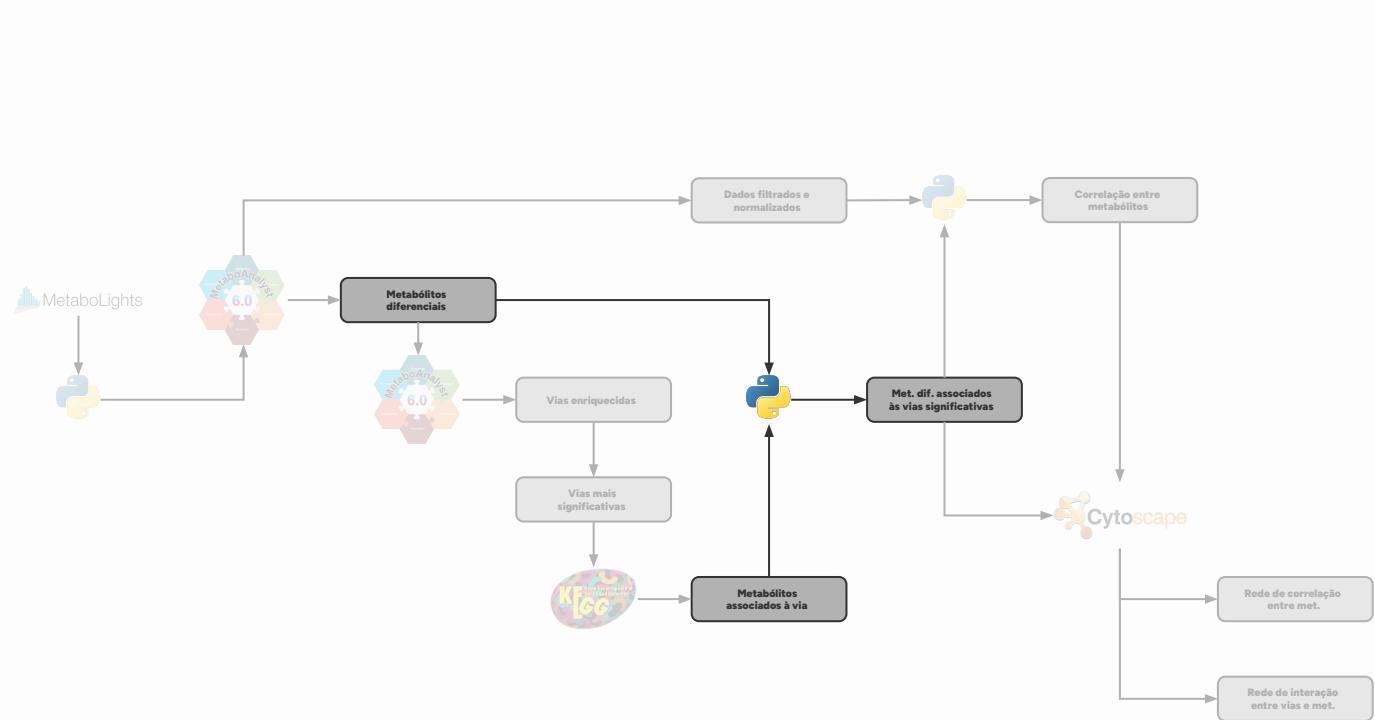
Análise de sobrerepresentação de metabólitos com a ferramenta MetaboAnalyst.

- Determinação das vias metabólicas associadas aos metabólitos de cada subgrupo.
  - Vias metabólicas sub-representadas.
  - Vias metabólicas sobrerepresentadas.

Seleção das **vias mais significativas** ( $p\text{-value} < 0.05$ ) em cada subgrupo.

Determinação dos **metabólitos pertencentes a cada uma das vias** usando a base de dados do KEGG.

# Metodologia

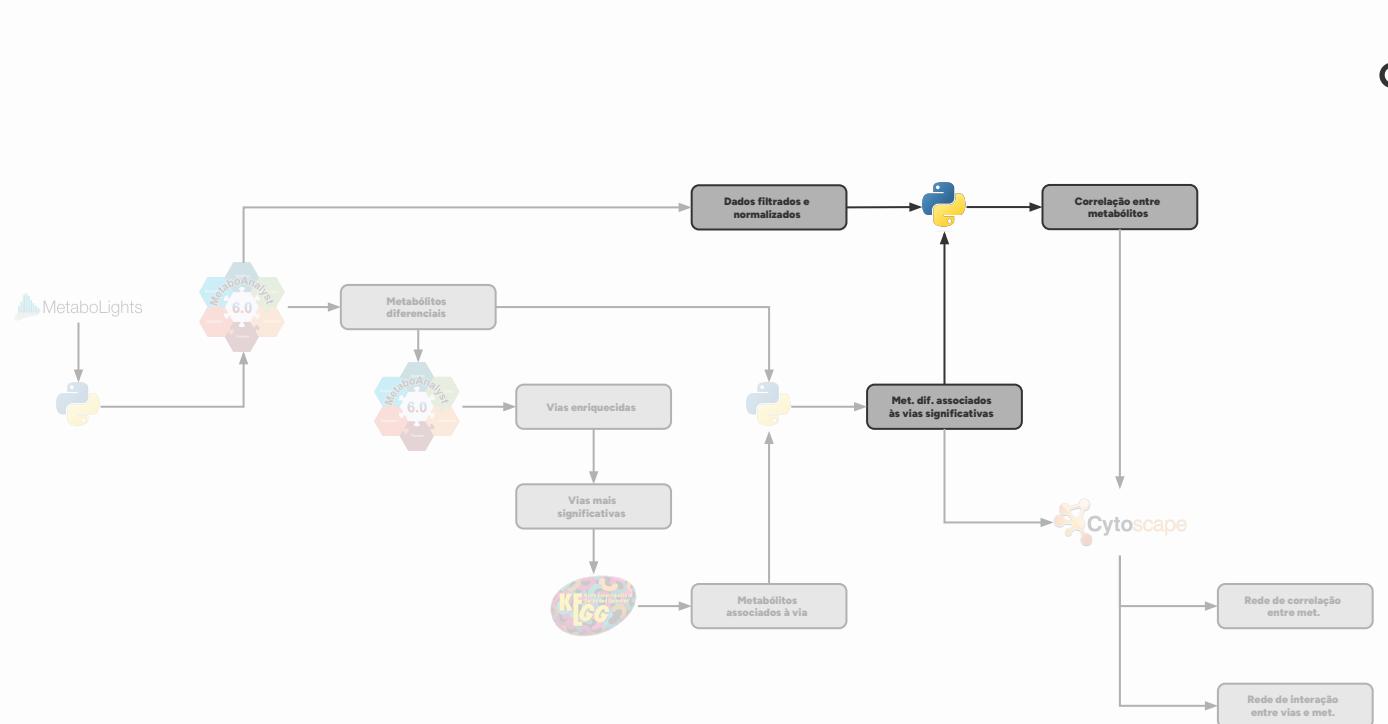


## Base de dados processada

Filtragem dos metabólitos diferenciais associados às vias enriquecidas mais significativas.

- Identificador do metabólito *Compound ID* da base de dados do KEGG

# Metodologia

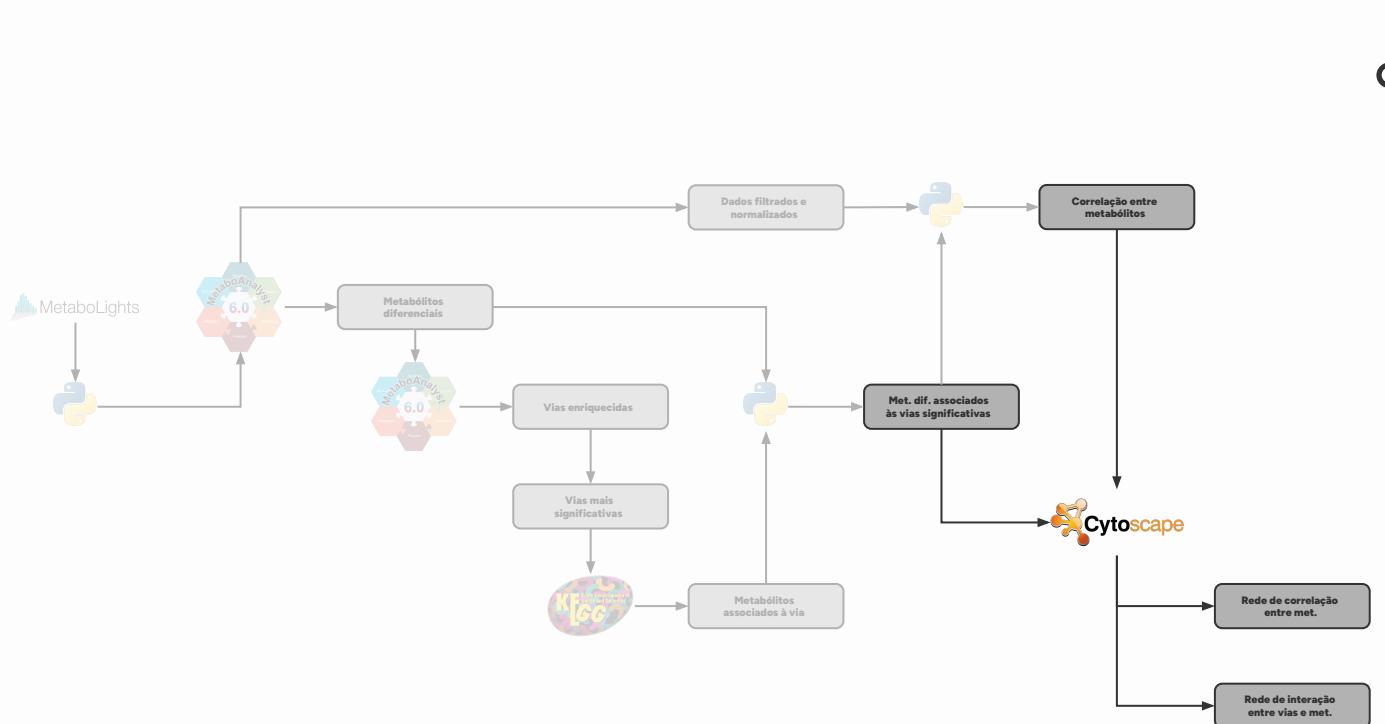


## Estruturação das redes

Determinação da **correlação de Pearson** entre os metabólitos de cada subgrupo em cada condição.

- Em relação ao subgrupo:
  - Metabólito sub ou sobrerepresentado.
- Em relação à condição:
  - Câncer ou saudável.

# Metodologia

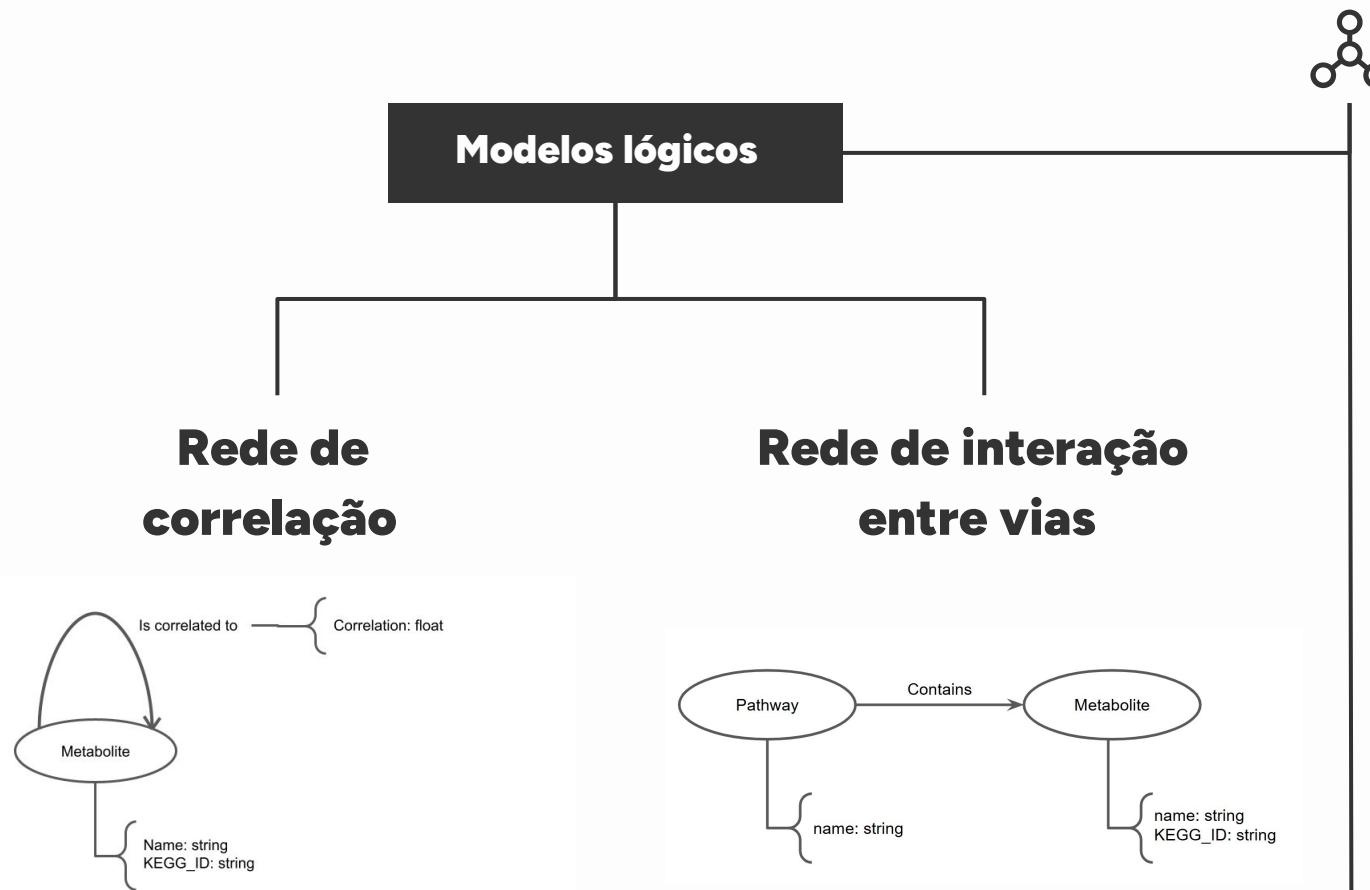


## Estruturação das redes

Estruturação de 6 redes no Cytoscape:

- **4 redes de correlação entre metabólitos:**
  - Uma para cada condição em cada subgrupo.
  - Consideradas somente as correlações superiores a 0.6 ou inferiores a -0.6.
- **2 redes de interação entre os metabólitos das vias enriquecidas significativas:**
  - Uma para cada subgrupo.

# Metodologia

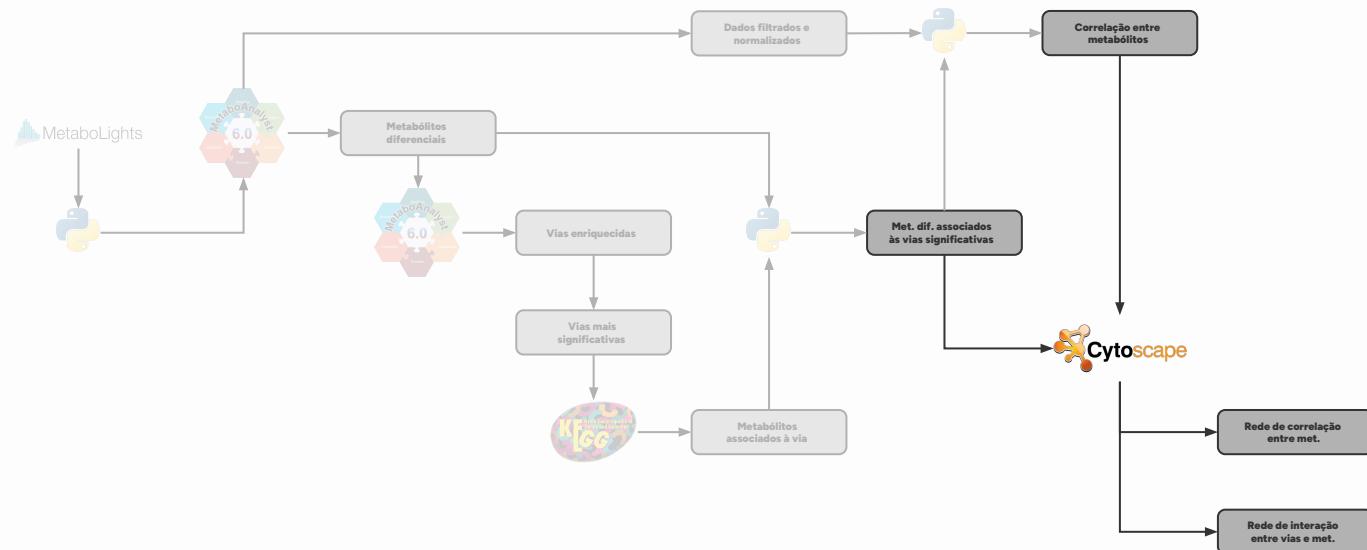


## Estruturação das redes

Estruturação de 6 redes no Cytoscape:

- **4 redes de correlação entre metabólitos:**
  - Uma para cada condição em cada subgrupo.
  - Consideradas somente as correlações superiores a 0.6 ou inferiores a -0.6.
- **2 redes de interação entre as vias enriquecidas significativas:**
  - Uma para cada subgrupo.

# Metodologia



## Análise e interpretação

Análise topológica diferencial das redes de correlação e de interação entre vias.

- Medidas de centralidade:
  - Betweenness, Closeness e Eigenvector.
- Clusterização
  - Algoritmo GLay.

Interpretação biológica das diferenças.

- Análise das vias alteradas.
- Análise funcional dos metabólitos no contexto do câncer de próstata.

**3**

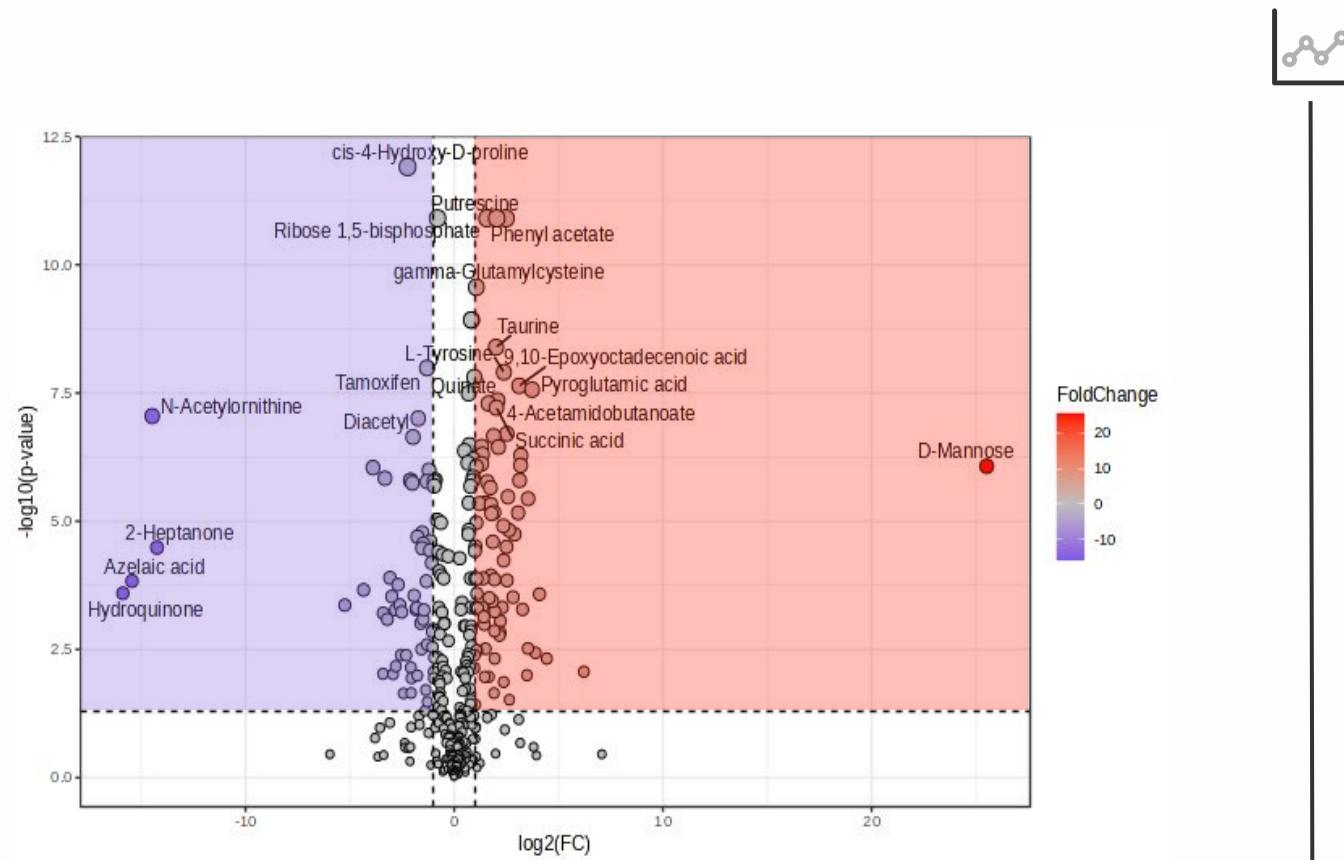
# **Resultados**

Processamento de dados e análise de rede



# **Processamento de dados**

# Metabólitos diferenciais



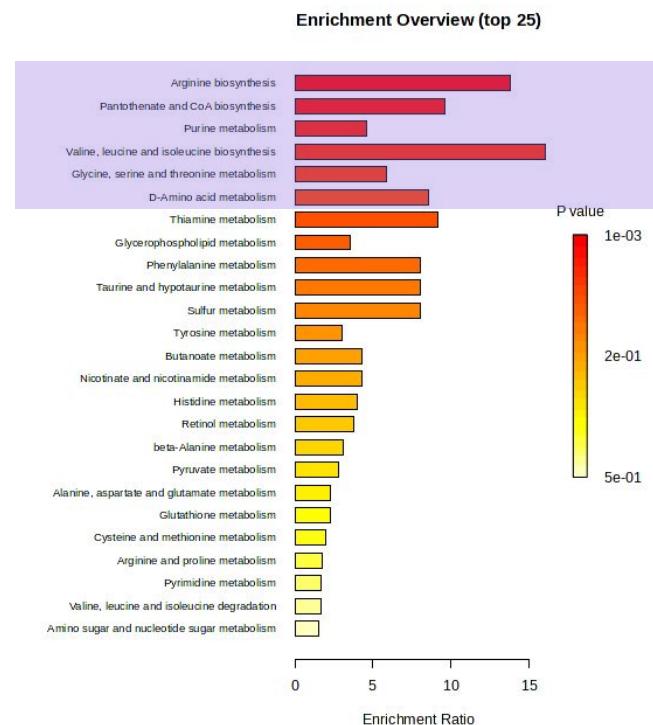
## Metabólitos significativos

Quantidade de metabólitos em cada subgrupo:

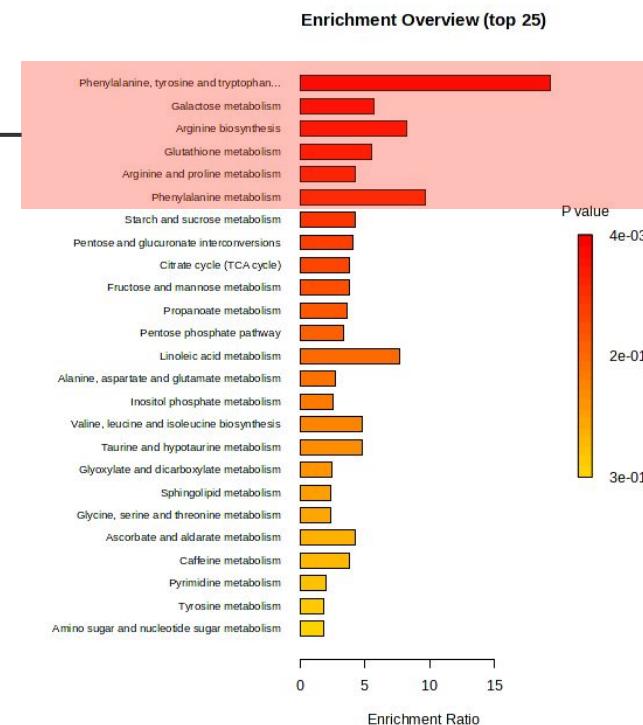
- 56 sub-representados
- 77 sobrerrepresentados

# Enriquecimiento de vías metabólicas

## Vias metabólicas sub-representadas



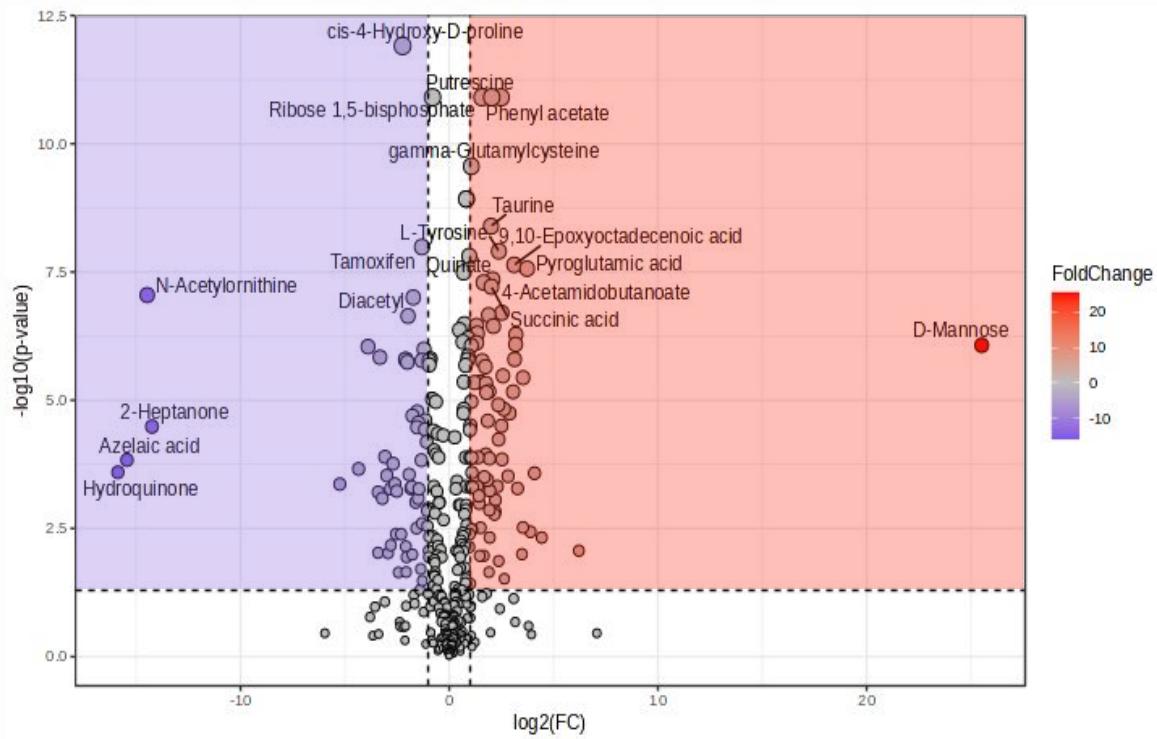
## Vias metabólicas sobrerepresentadas



Vias significativas

p-value < 0.05

# Metabólitos diferenciais



## Metabólitos significativos

Quantidade de metabólitos em cada subgrupo:

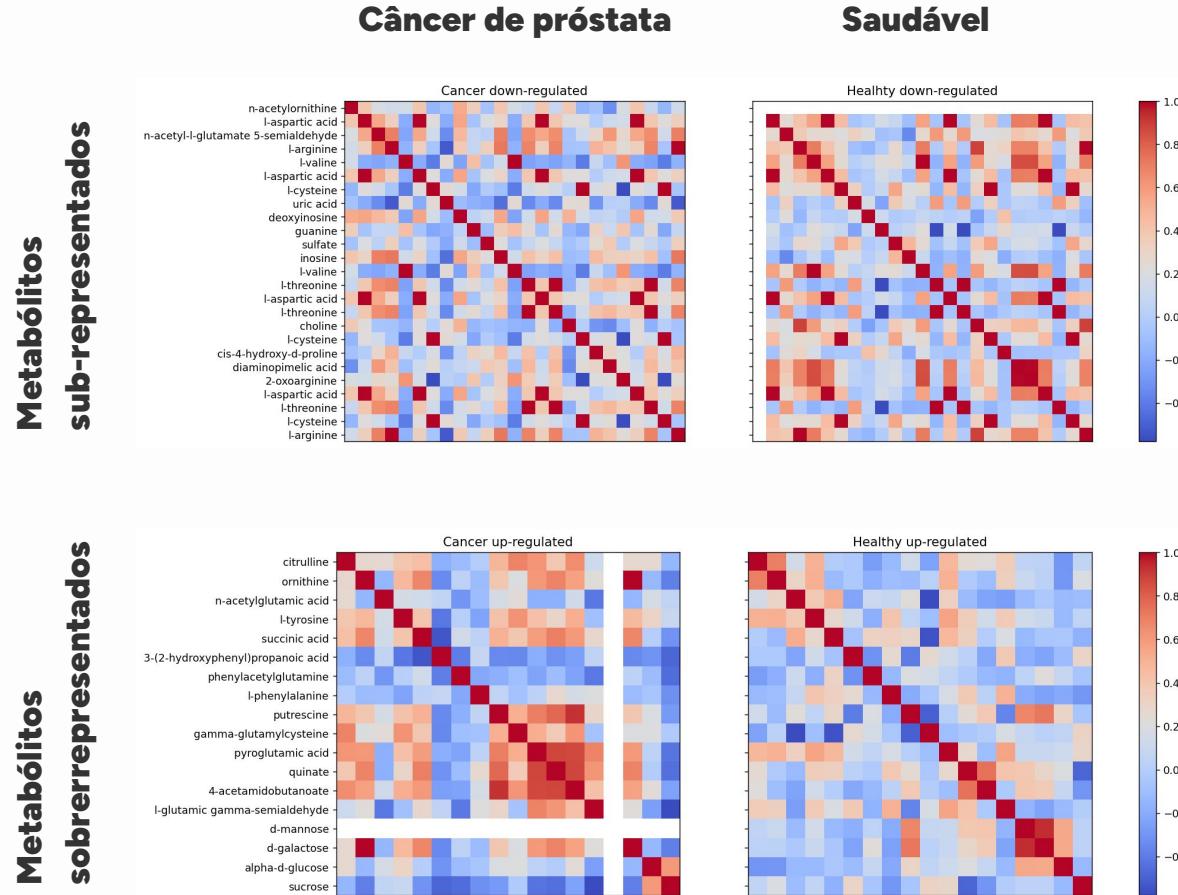
- 56 sub-representados
- 77 sobrerrepresentados

## Metabólitos significativos nas vias enriquecidas

Quantidade de metabólitos em cada subgrupo:

- 25 sub-representados
- 23 sobrerrepresentados

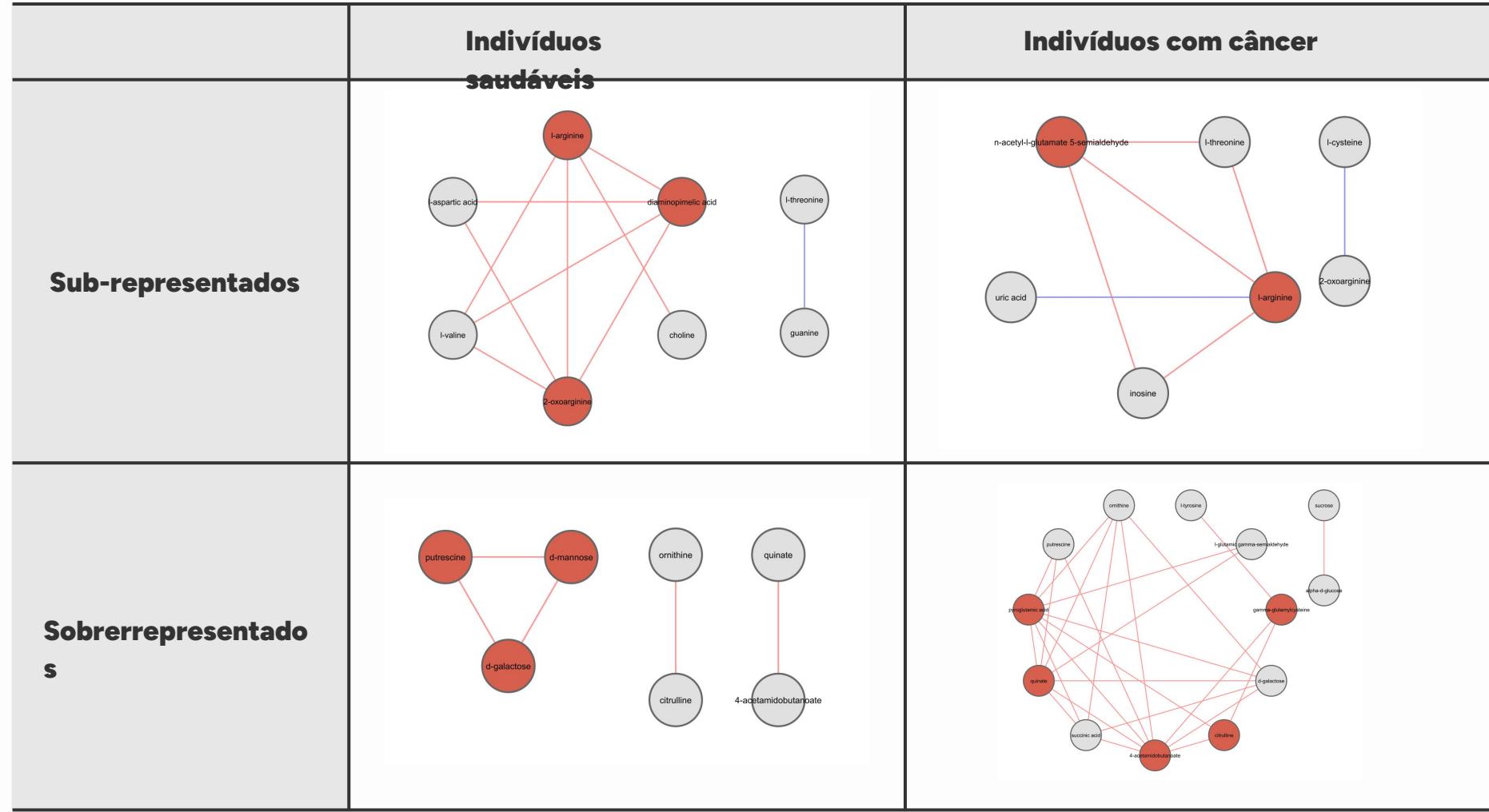
# Correlação de Pearson entre metabólitos



# Análise de redes

Redes de correlação entre metabólitos e de  
interação entre vias metabólicas

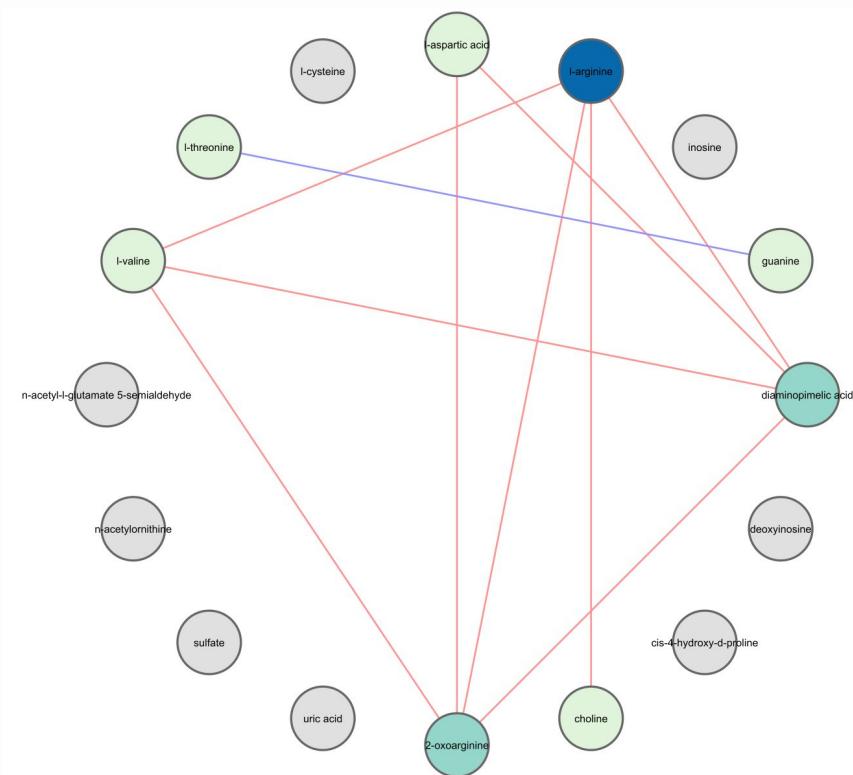
# Redes de correlação entre metabólitos



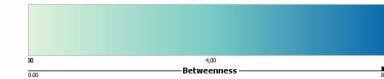
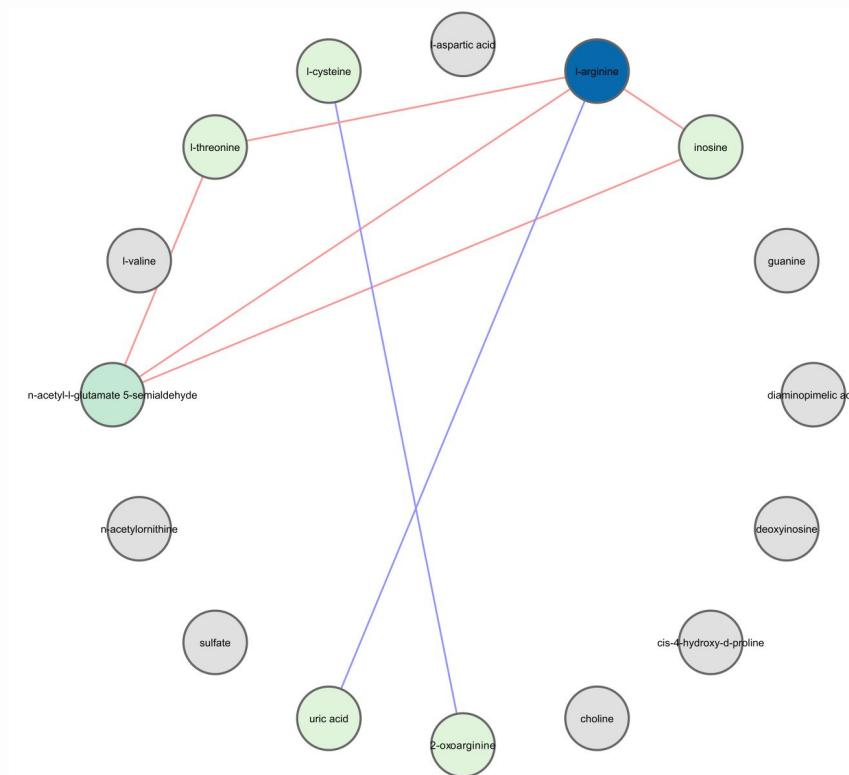
Metabólito significativo

# Análise diferencial das redes

**Indivíduos saudáveis**  
(metabólitos sub-representados)

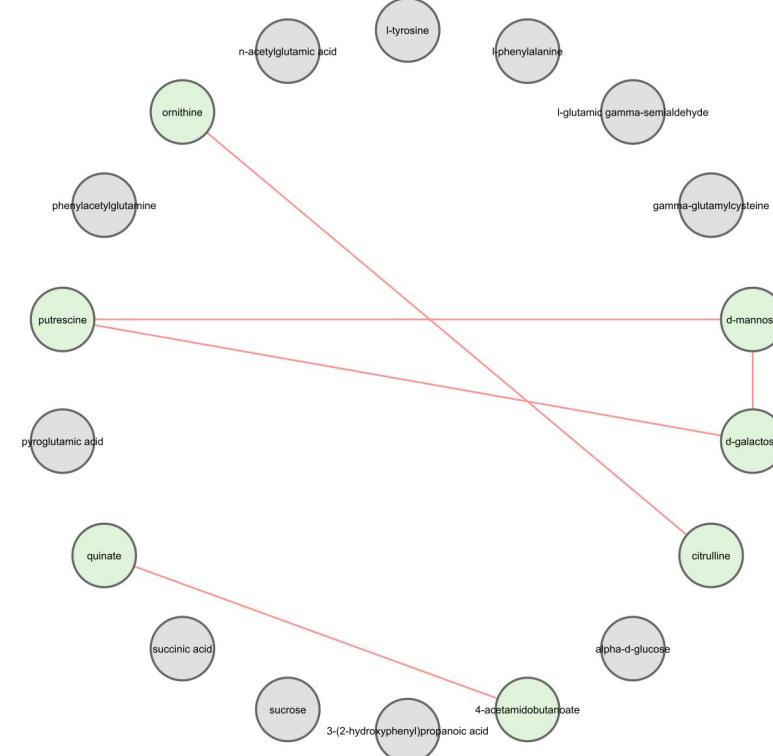


**Indivíduos com câncer**  
(metabólitos sub-representados)

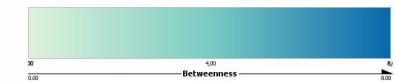
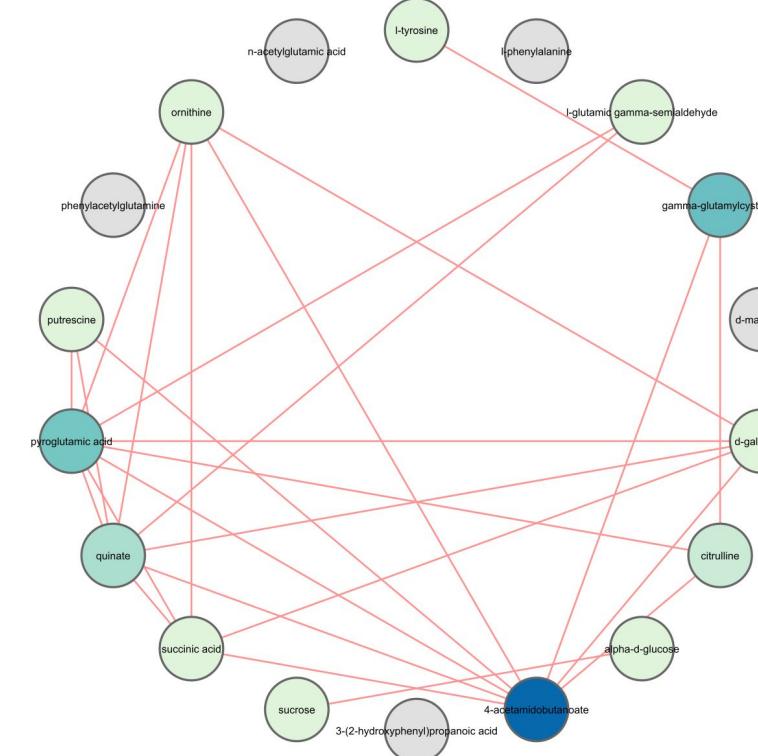


# Análise diferencial das redes

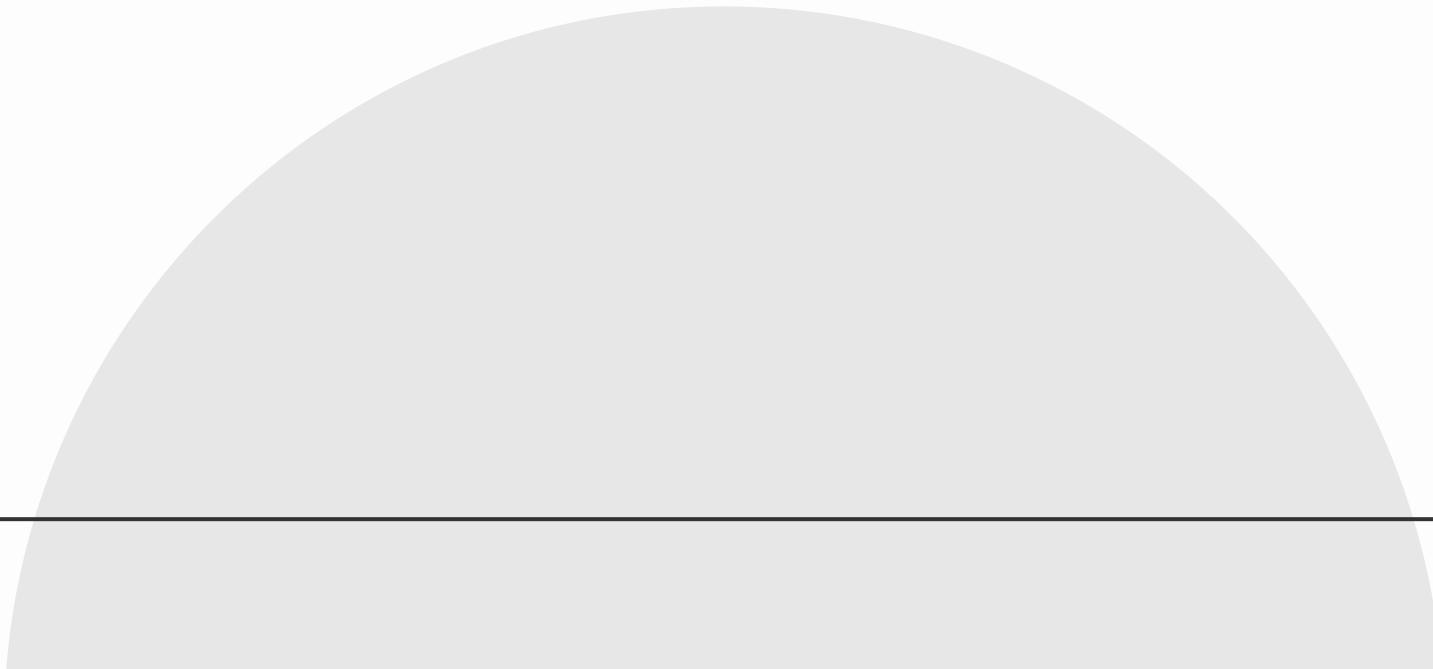
**Indivíduos saudáveis**  
(metabólitos sobrerepresentados)



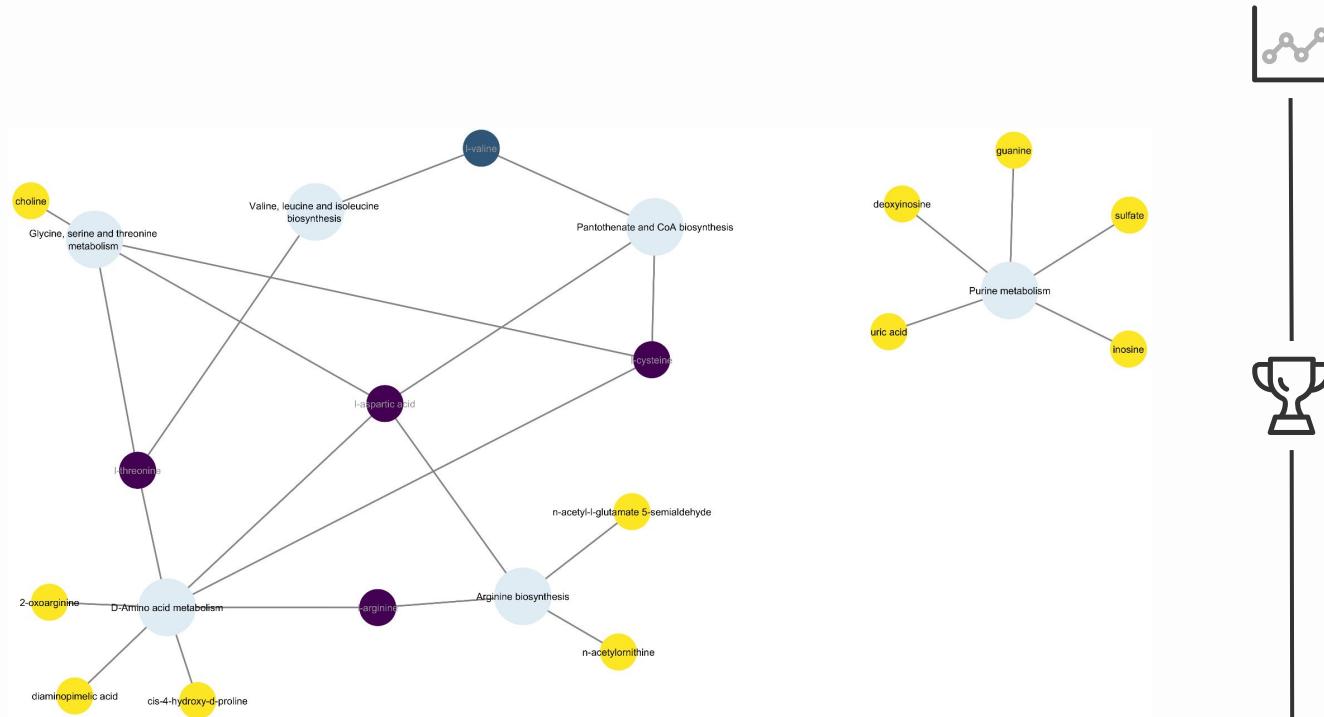
**Indivíduos com câncer**  
(metabólitos sobrerepresentados)



# **Redes de interação entre vias metabólicas**



# Vias metabólicas sub-representadas



## Topologia da rede

Betweenness



## Metabólitos significativos

1. l-threonine
2. l-aspartic acid
3. l-cysteine
4. l-arginine

# Vias metabólicas sub-representadas

	name	Degree	Eigenvector	Betweenness	Closeness
	D-Amino acid metabolism	7.0	0.5088921189308167	105.63333333333335	0.1320754716981...
	L-aspartic acid	4.0	0.39701446890830994	69.466666666666667	0.1320754716981...
	Arginine biosynthesis	4.0	0.22809475660324097	57.166666666666664	0.1257485029940...
	Glycine, serine and threonine metabolism	4.0	0.3342610001564026	37.799999999999999	0.127272727272727...
	L-threonine	3.0	0.28911399841308594	32.0	0.127272727272727...
	Pantothenate and CoA biosynthesis	3.0	0.25090351700782776	24.500000000000004	0.1257485029940...
	Purine metabolism	5.0	1.568827343589873...	20.0	0.0588235294117...
	L-cysteine	3.0	0.328523725271225	18.3	0.127272727272727...
	L-arginine	2.0	0.22130054235458374	16.999999999999996	0.1257485029940...
	Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	2.0	0.11965969949960709	6.899999999999995	0.12...
	L-valine	2.0	0.11127365380525589	5.233333333333333	0.1186440677966...
	2-oxoarginine	1.0	0.15280967950820923	0.0	0.1213872832369...
	choline	1.0	0.10037235170602798	0.0	0.1173184357541...
	cis-4-hydroxy-d-proline	1.0	0.15280967950820923	0.0	0.1213872832369...
	deoxyinosine	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...
	diaminopimelic acid	1.0	0.15280967950820923	0.0	0.1213872832369...
	guanine	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...
	inosine	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...
	n-acetyl-L-glutamate 5-semialdehyde	1.0	0.06849078088998795	0.0	0.1160220994475...
	n-acetylnorlathine	1.0	0.06849078088998795	0.0	0.1160220994475...
	sulfate	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...
	uric acid	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...



## Topologia da rede

Betweenness



## Metabólitos significativos

1. L-threonine
2. L-aspartic acid
3. L-cysteine
4. L-arginine

# Vias metabólicas sub-representadas

	name	Degree	Eigenvector	Betweenness	Closeness
	D-Amino acid metabolism	7.0	0.5088921189308167	105.63333333333335	0.1320754716981...
	L-aspartic acid	4.0	0.39701446890830994	69.466666666666667	0.1320754716981...
	Arginine biosynthesis	4.0	0.22809475660324097	57.166666666666664	0.1257485029940...
	Glycine, serine and threonine metabolism	4.0	0.3342610001564026	37.799999999999999	0.127272727272727...
	L-threonine	3.0	0.28911399841308594	32.0	0.127272727272727...
	Pantothenate and CoA biosynthesis	3.0	0.25090351700782776	24.500000000000004	0.1257485029940...
	Purine metabolism	5.0	1.568827343589873...	20.0	0.0588235294117...
	L-cysteine	3.0	0.328523725271225	18.3	0.127272727272727...
	L-arginine	2.0	0.22130054235458374	16.999999999999996	0.1257485029940...
	Valine, leucine and isoleucine biosynthesis	2.0	0.11965969949960709	6.899999999999995	0.12...
	L-valine	2.0	0.11127365380525589	5.233333333333333	0.1186440677966...
	2-oxoarginine	1.0	0.15280967950820923	0.0	0.1213872832369...
	choline	1.0	0.10037235170602798	0.0	0.1173184357541...
	cis-4-hydroxy-d-proline	1.0	0.15280967950820923	0.0	0.1213872832369...
	deoxyinosine	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...
	diaminopimelic acid	1.0	0.15280967950820923	0.0	0.1213872832369...
	guanine	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...
	inosine	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...
	n-acetyl-L-glutamate 5-semialdehyde	1.0	0.06849078088998795	0.0	0.1160220994475...
	n-acetylnorlathine	1.0	0.06849078088998795	0.0	0.1160220994475...
	sulfate	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...
	uric acid	1.0	4.622435056944596...	0.0	0.0581717451523...



## Topologia da rede

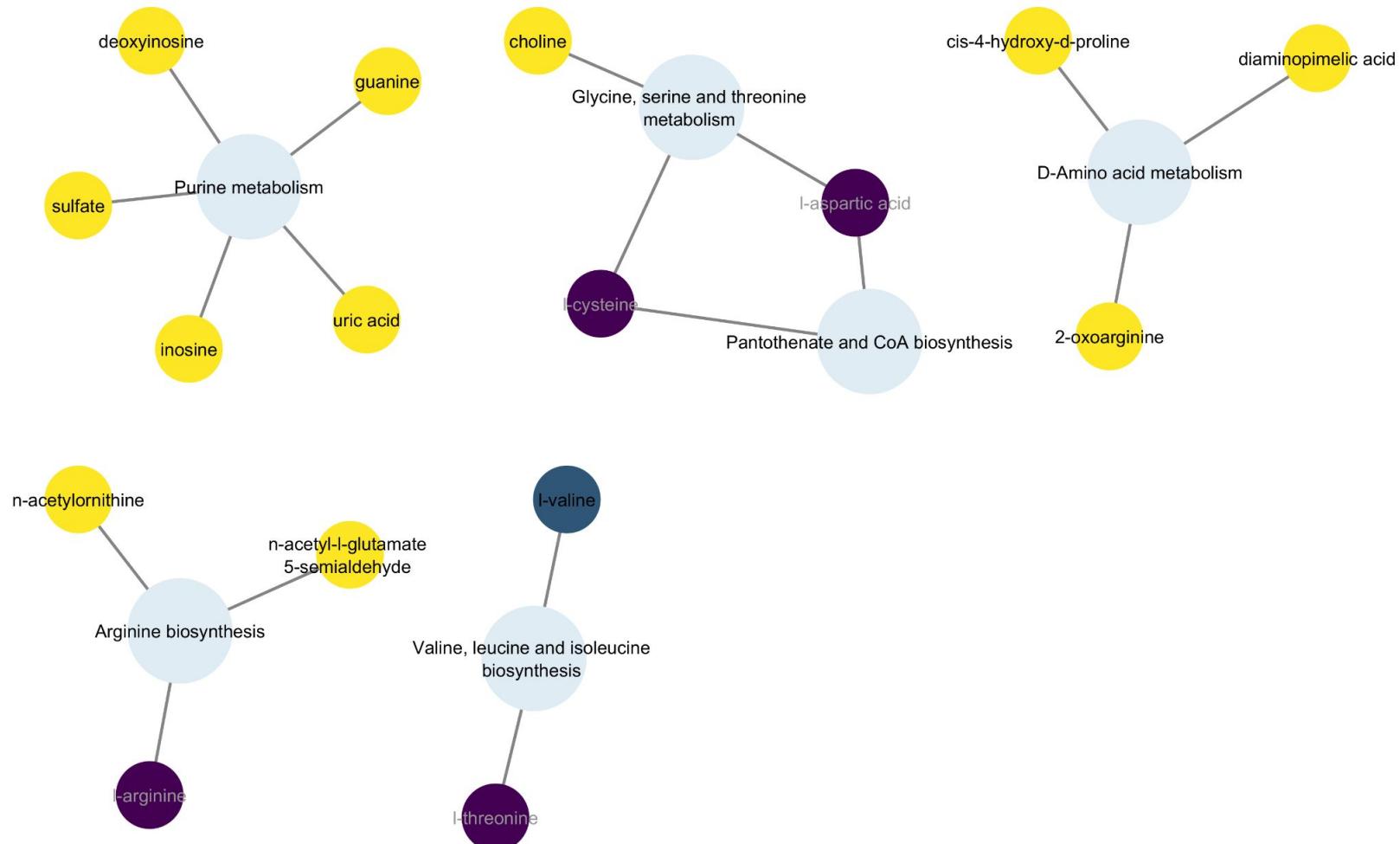
Betweenness



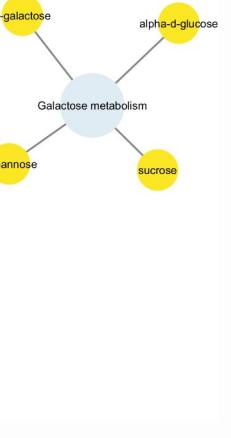
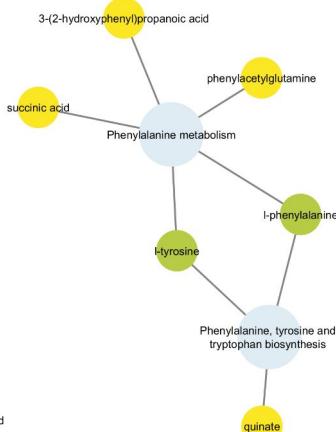
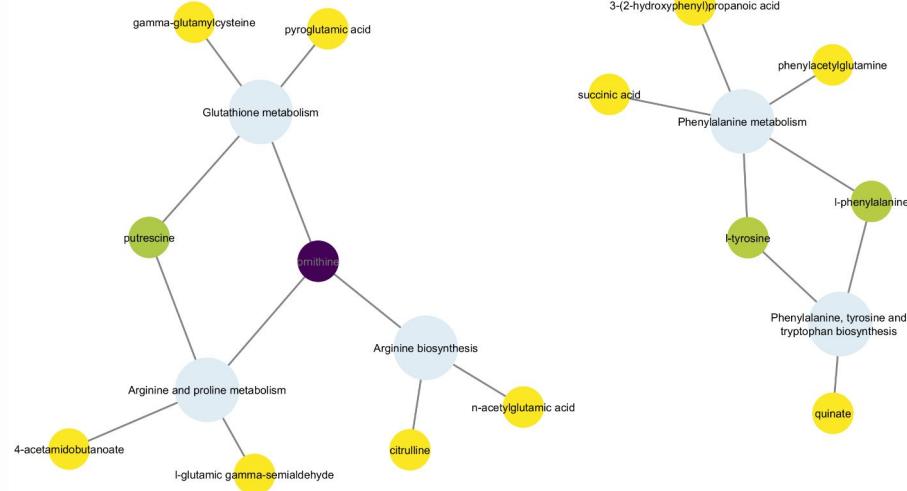
## Metabólitos significativos

1. L-threonine
2. L-aspartic acid
3. L-cysteine
4. L-arginine

# Clusterização vias sub-representadas



# Vias metabólicas sobrerrepresentadas



## Topologia da rede

Betweenness



## Metabólitos significativos

1. ornithine
2. putrescine
3. L-tyrosine
4. L-phenylalanine

# Vias metabólicas sobrerrepresentadas

	name	Degree	Eigenvector	Betweenness	Closeness
	Phenylalanine metabolism	5.0	0.0	31.0	0.0583756345177665
	Glutathione metabolism	4.0	0.4656446874141693	38.0	0.06927710843373494
	Galactose metabolism	4.0	0.0	12.0	0.05
	Arginine and proline metabolism	4.0	0.4656446874141693	38.0	0.06927710843373494
	ornithine	3.0	0.4636446535587311	51.0	0.06990881458966565
	Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	3.0	0.0	13.0	0.05778894472361809
	Arginine biosynthesis	3.0	0.25704729557037354	34.0	0.0688622754491018
	putrescine	2.0	0.3644345998764038	9.0	0.06865671641791045
	l-tyrosine	2.0	0.0	8.0	0.05808080808080808
	l-phenylalanine	2.0	0.0	8.0	0.05808080808080808
	sucrose	1.0	0.0	0.0	0.04967602591792657
	succinic acid	1.0	0.0	0.0	0.0575
	quinate	1.0	0.0	0.0	0.05693069306930693
	pyroglutamic acid	1.0	0.1822172999382019	0.0	0.06744868035190615
	phenylacetylglutamine	1.0	0.0	0.0	0.0575
	n-acetylglutamic acid	1.0	0.09921010583639145	0.0	0.06705539358600583
	l-glutamic gamma-semialdehyde	1.0	0.1822172999382019	0.0	0.06744868035190615
	gamma-glutamylcysteine	1.0	0.1822172999382019	0.0	0.06744868035190615
	d-mannose	1.0	0.0	0.0	0.04967602591792657
	d-galactose	1.0	0.0	0.0	0.04967602591792657
	citrulline	1.0	0.09921002388000488	0.0	0.06705539358600583
	alpha-d-glucose	1.0	0.0	0.0	0.04967602591792657



## Topologia da rede

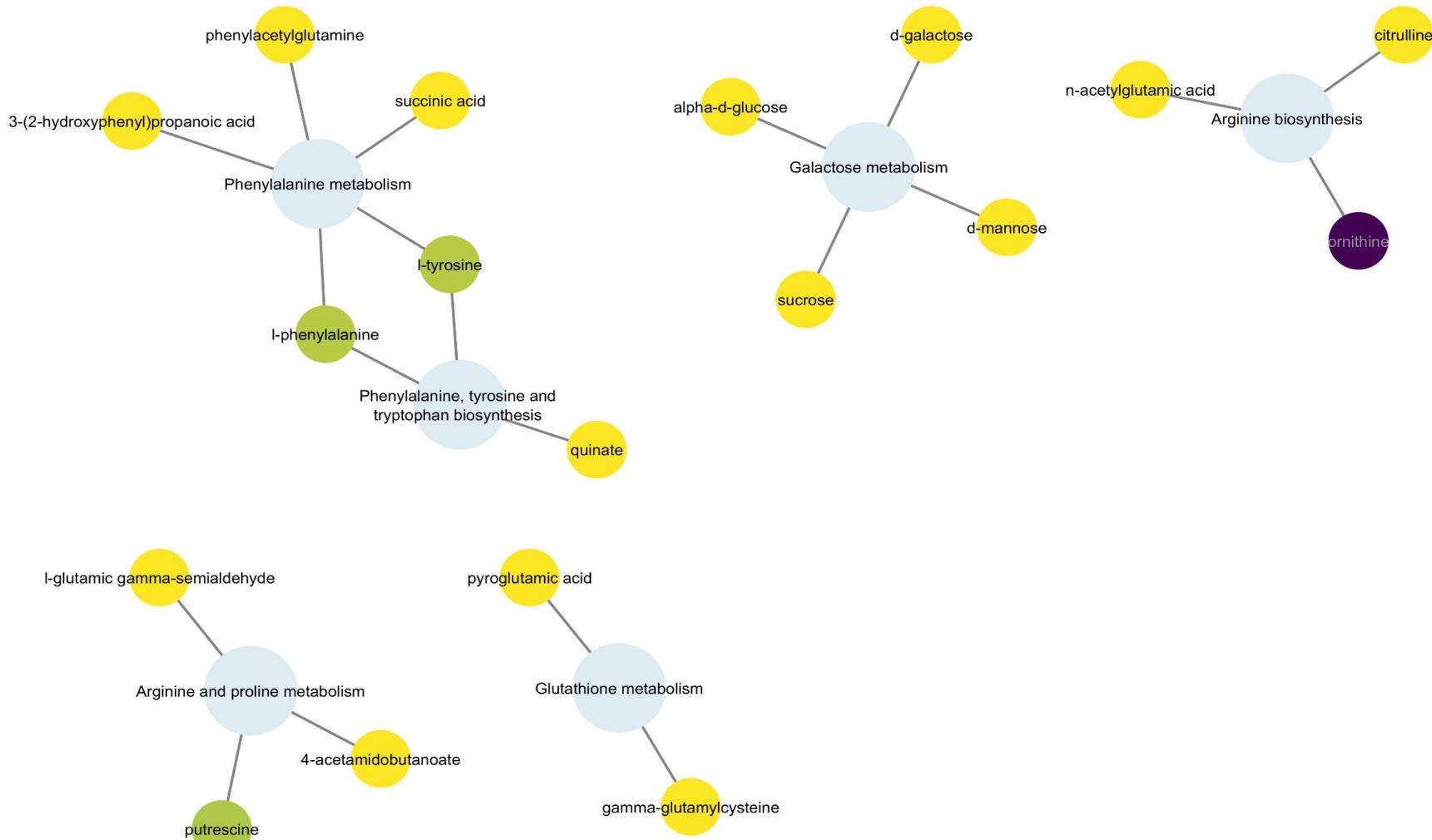
Betweenness



## Metabólitos significativos

1. ornithine
2. putrescine
3. l-tyrosine
4. l-phenylalanine

# Clusterização vias sobrerrepresentadas



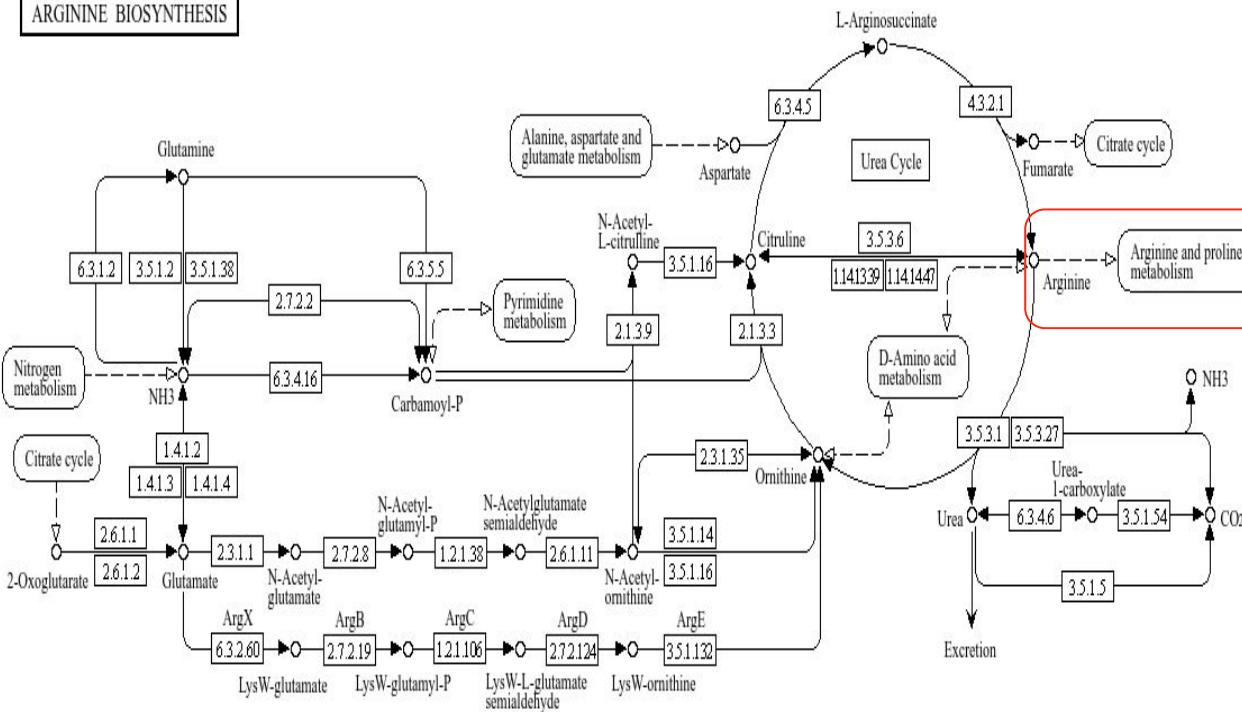
# 4

# Interpretação

Interpretação biológica das redes de metabólitos

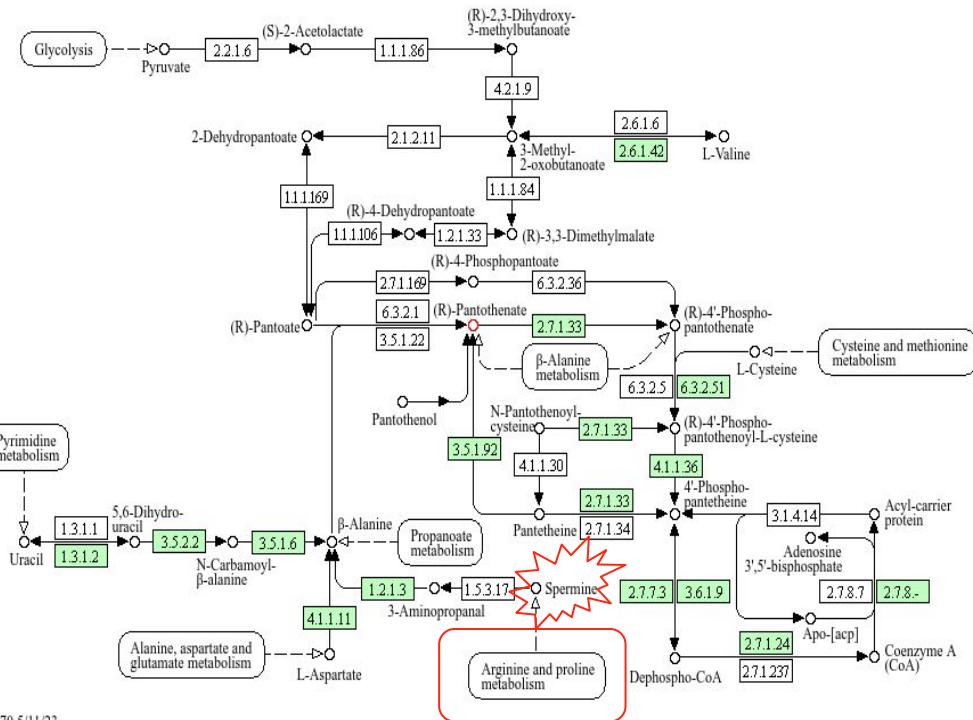
# Vias enriquecidas sub-representadas

ARGININE BIOSYNTHESIS



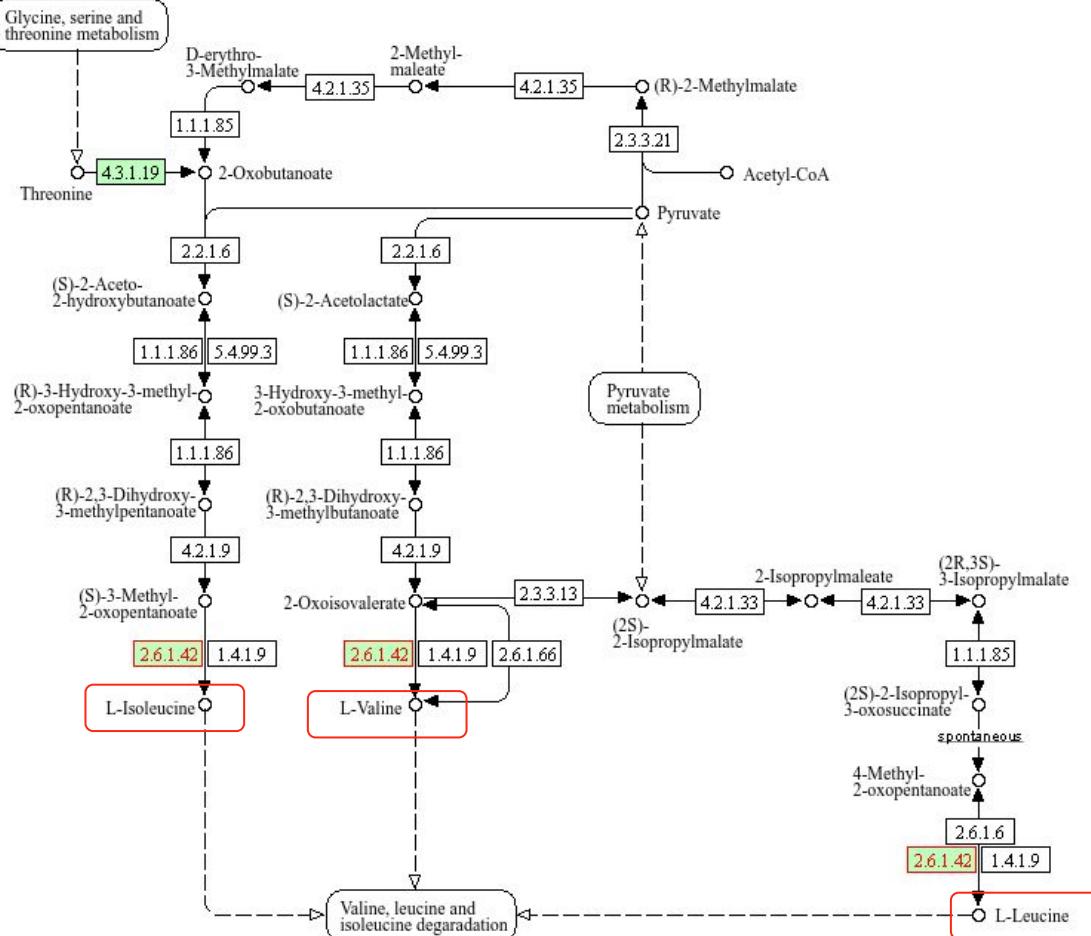
00220 5/28/24  
(c) Kanehisa Laboratories

PANTOTHENATE AND CoA BIOSYNTHESIS



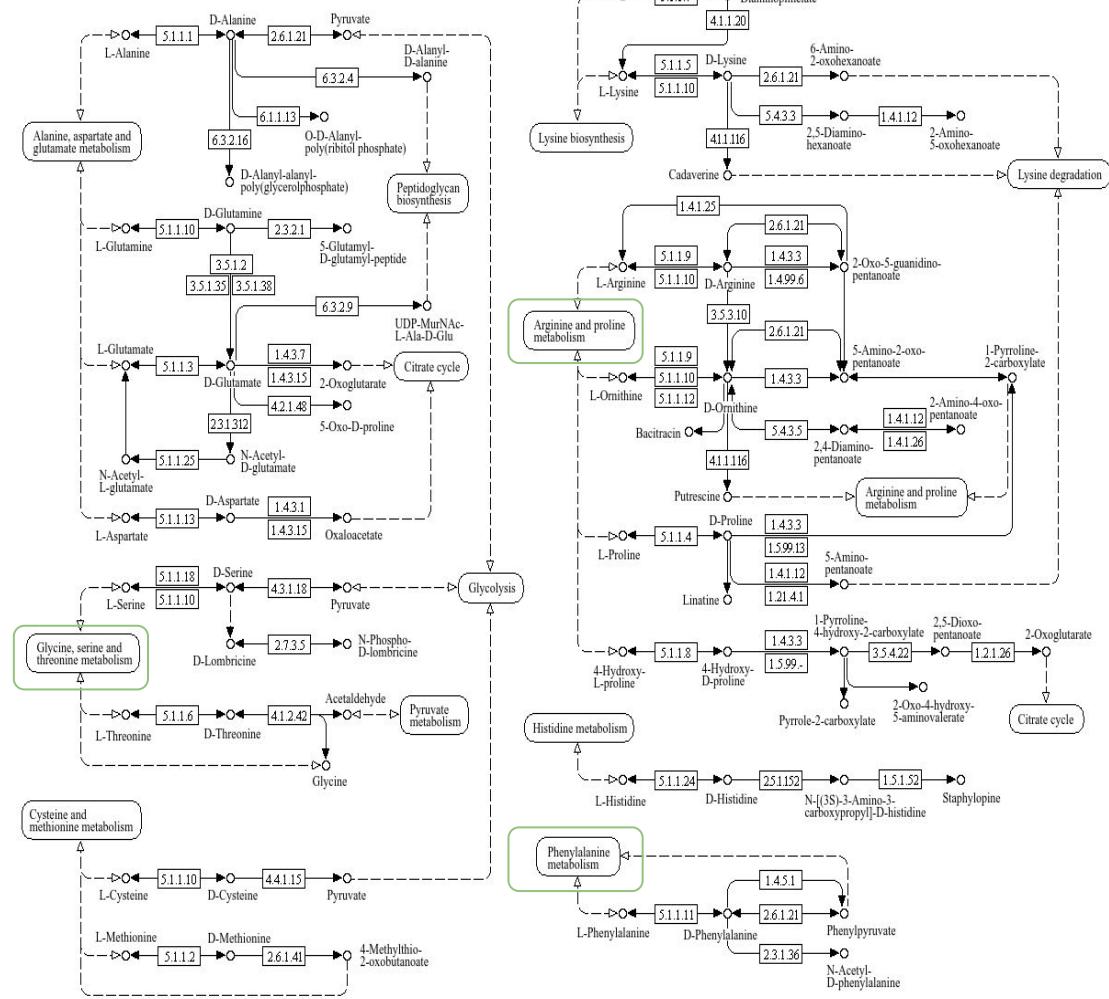
00770 5/11/23  
(c) Kanehisa Laboratories

VALINE, LEUCINE AND ISOLEUCINE BIOSYNTHESIS



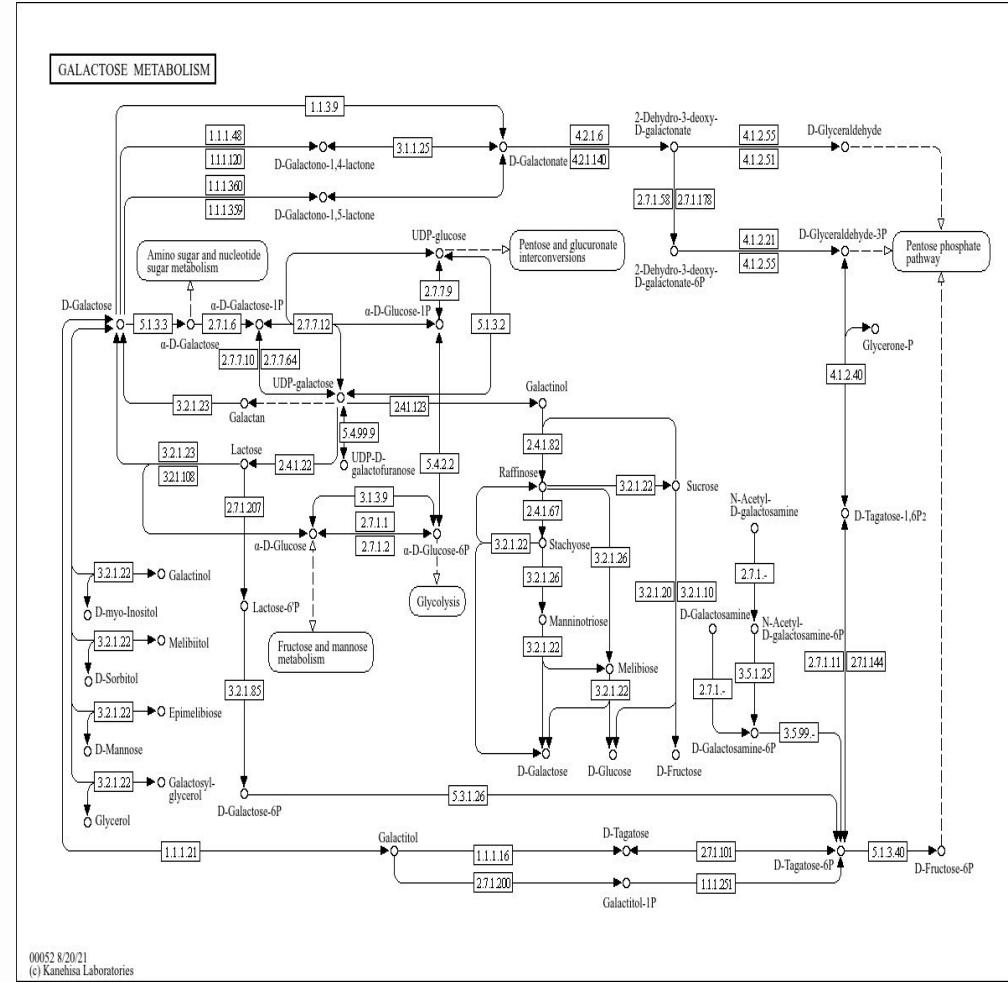
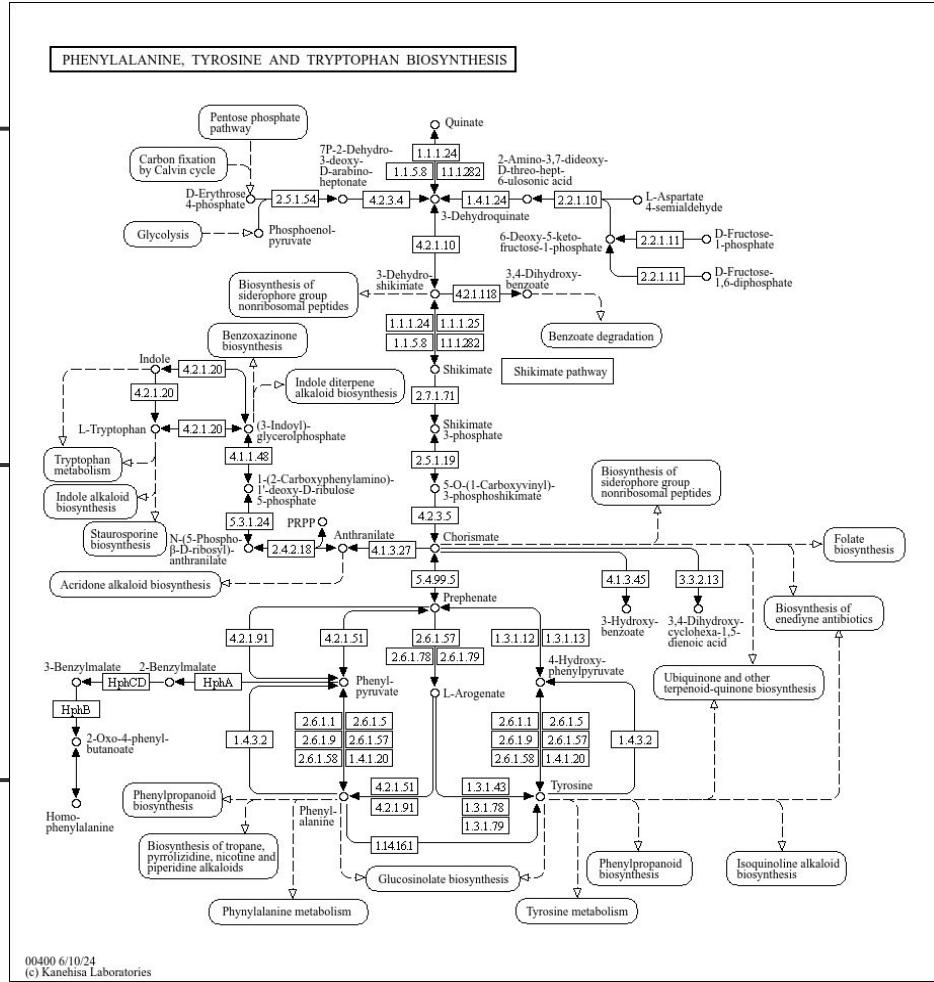
00290 12/27/21  
(c) Kanehisa Laboratories

D-AMINO ACID METABOLISM

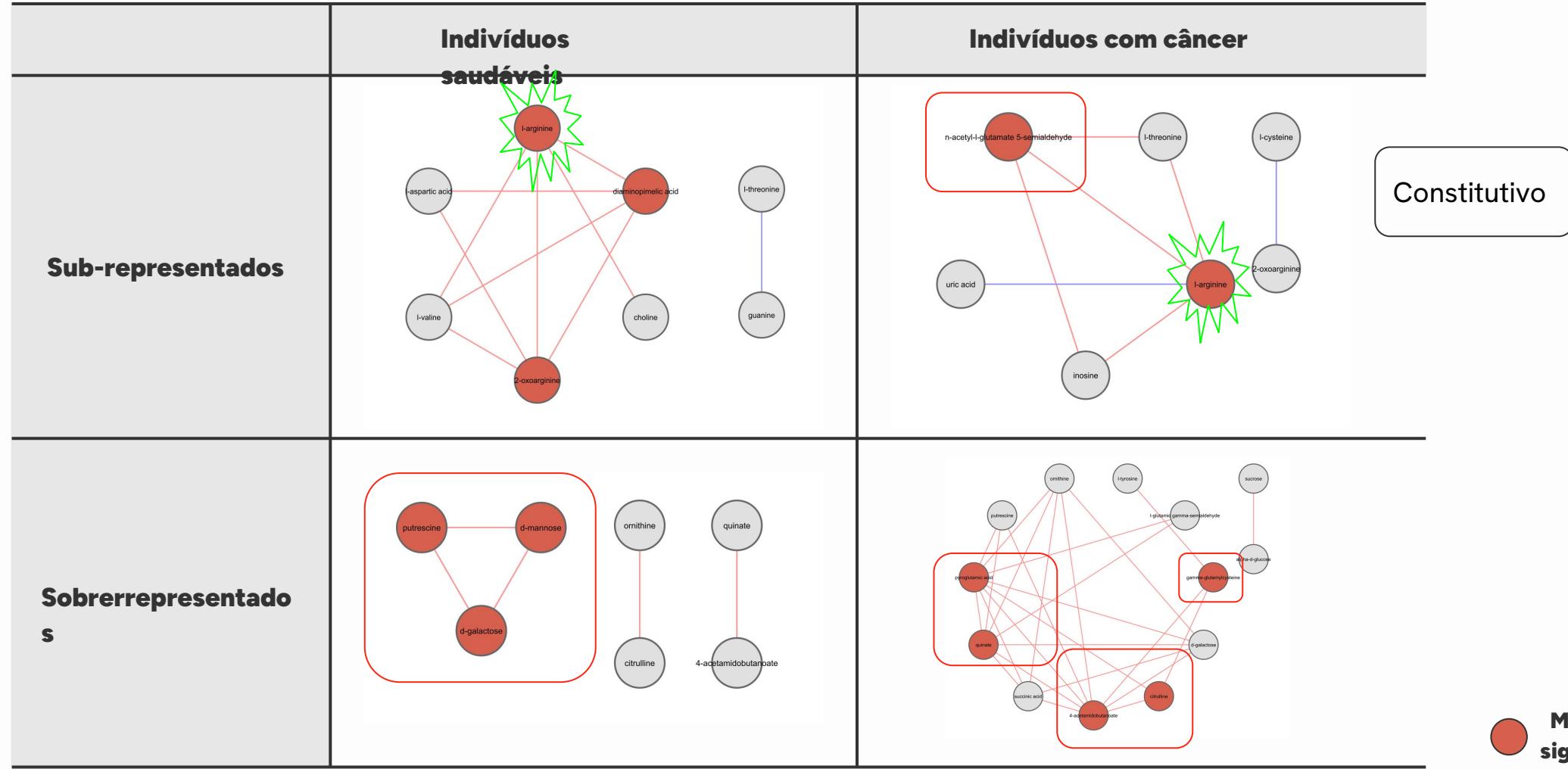


00470 9/20/23  
(c) Kanehisa Laboratory

# Vias enriquecidas Sobrerepresentadas



# Redes de correlação entre metabólitos

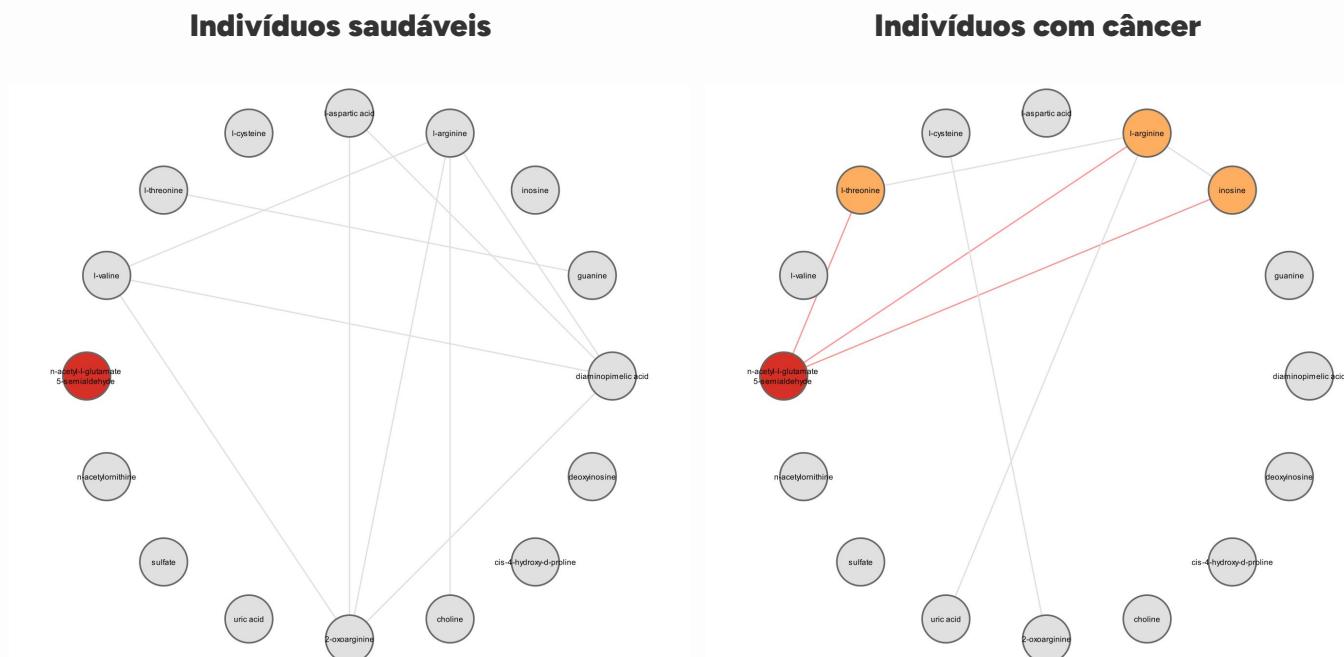


# Análise diferencial

## **n-acetyl-l-glutamate 5 semialdehyde**

Intermediário no metabolismo da prolina e da arginina, aminoácidos que desempenham papéis importantes no crescimento e na sobrevivência celular. Alterações no metabolismo desses aminoácidos podem ser indicativas de mudanças metabólicas que sustentam o crescimento e a proliferação das células cancerígenas.

Esse metabolismo alterado inclui a reprogramação das vias de síntese e degradação de aminoácidos.

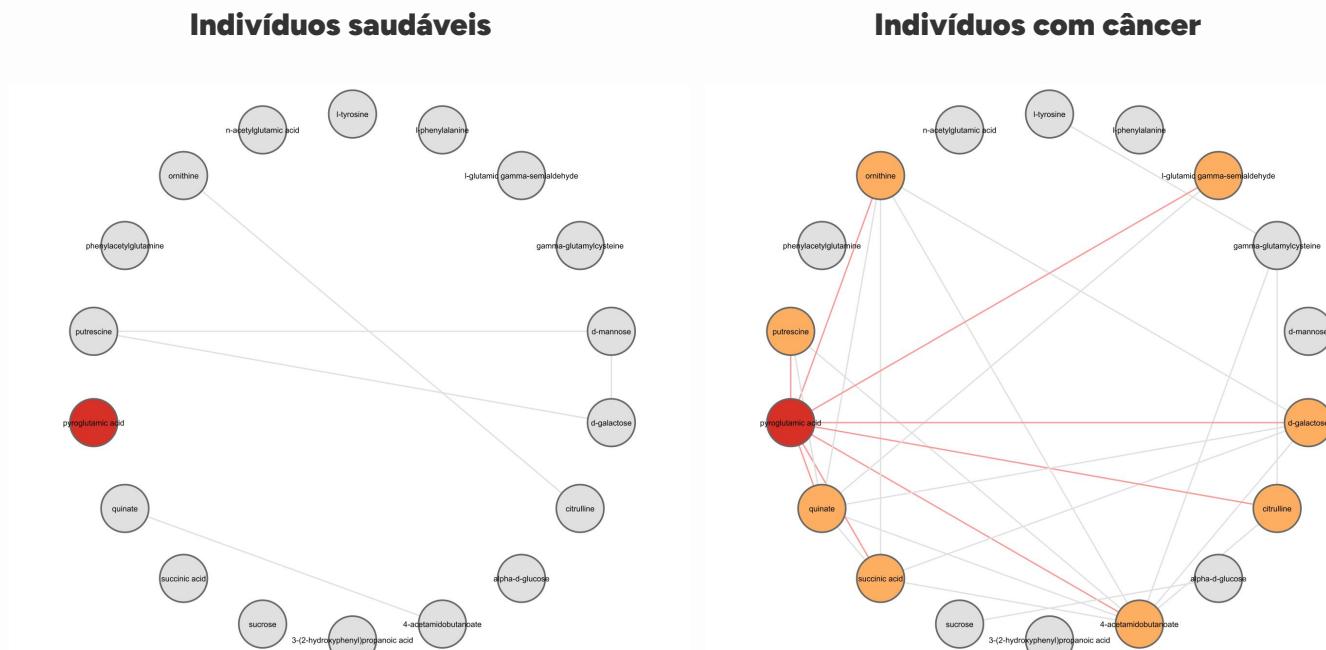


# Análise diferencial

## pyroglutamic acid

Conhecido como 5-oxoprolina, também é um intermediário do metabolismo da glutatona. Como parte da via de síntese e degradação da glutatona, pode ter seus níveis aumentados em resposta à maior demanda por antioxidantes.

Num estudo executaram dois modelos de diagnósticos onde distinguiram paciente com CaP (Câncer de próstata) e dois metabolitos foram significantes o ácido fenilático e ácido piroglutâmico .



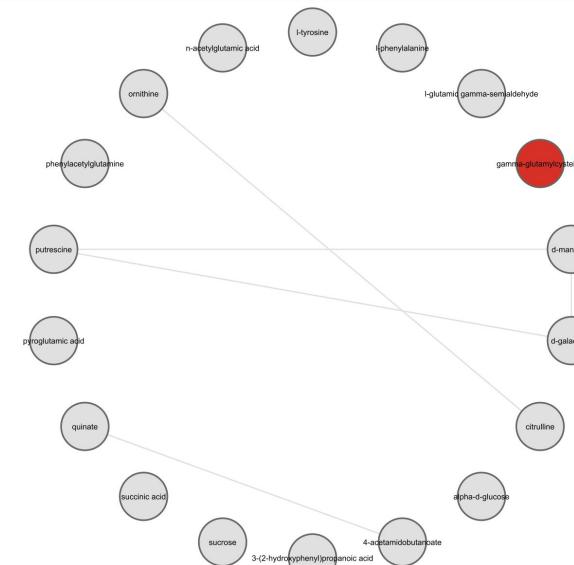
# Análise diferencial

## gamma-glutamylcysteine

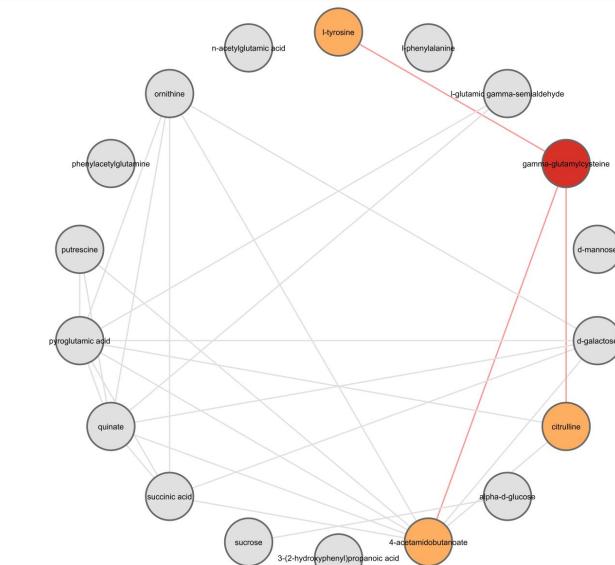
Intermediária na síntese do glutationa, é um importante antioxidante celular que protege as células contra o estresse oxidativo e danos causados por radicais livres.

O aumento dos níveis de gama-glutamilcisteína pode refletir a maior atividade na via de síntese do glutatona, sugerindo que as células cancerígenas estão tentando se proteger contra danos oxidativos. Esse fenômeno pode estar relacionado à resistência ao tratamento e à progressão da doença.

Indivíduos saudáveis



Indivíduos com câncer

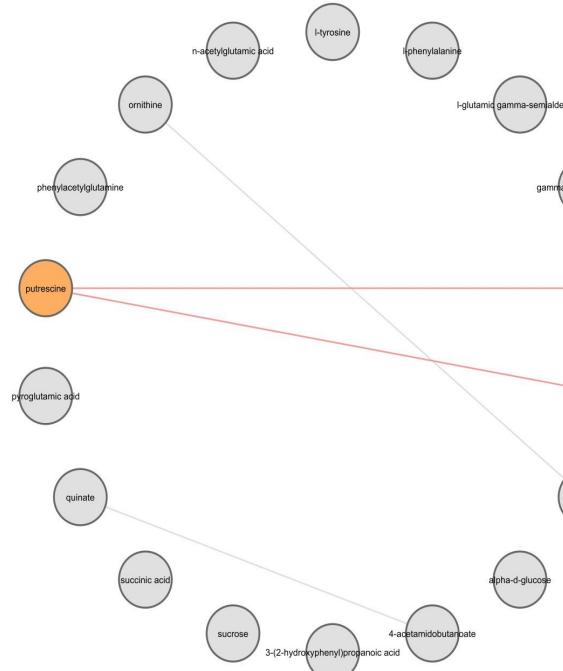


# Análise diferencial

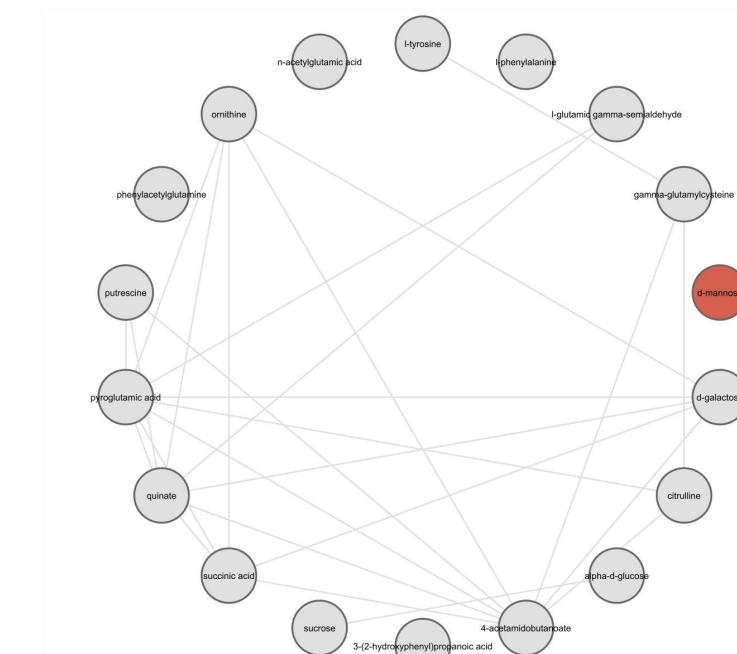
## d-mannose

A D- manose, e um isômero da glicose, tem um efeito anticancerígeno em vários tumores. No entanto, o efeito anticancerígeno da manose no CaP permanece obscuro.

### Indivíduos saudáveis



### Indivíduos com câncer



# Análise diferencial

## **putrescine**

Na próstata, o metabolismo da poliamina é importante, pois sintetiza e acumula os mais elevados níveis de poliaminas, principalmente espermina. A alta atividade secretora das células epiteliais luminais que circundam os ductos glandulares mantém um nível relativamente alto de espermina no fluido secretor de uma próstata saudável.

## **d-galactose**

No campo da medicina, a galactose funciona como um ligante para atingir seletivamente células que expressam receptores de galactose, como hepatócitos, macrófagos e células cancerígenas.

As frações de lectinas específicas da galactose citosólica dependem da forma da doença do tecido glandular e também do tipo de célula. Um estudo sugere que lectinas específicas de galactose podem ter propriedades antitumorais defensivas em células tumorais - linfócitos da linha MEC1 e linhagem celular PC3 da próstata

**5**

# **Conclusões**

# Conclusões

## Biomarcadores

As técnicas de redes utilizadas no estudo permitiram a identificação de 11 metabólitos significativamente alterados no câncer de próstata, o que aponta para possíveis biomarcadores da doença.

## Via da arginina

A via de biossíntese de arginina está enriquecida tanto nas condições de sub-representação quanto nas de sobre-representação, sendo uma via constitutiva nos seres humanos.

## Metabólitos no câncer

Desde sobrevivência celular, rápido crescimento a ações antioxidante e anti envelhecimento celular.

Metabólitos que apresentam propriedades anticancerígenas e metabólitos reportados em estudos de câncer de próstata.

## Via de D-aminoácidos

O metabolismo dos D-aminoácidos é importante porque vias como o metabolismo da glicina, serina e treonina são partes dessa via principal, além das vias da arginina e prolina, como também a fenilalanina.

# Dificuldades encontradas

## Obtenção de dados

Poucos estudos com fins similares foram encontrados, e muitos não disponibilizaram os dados. Embora a base utilizada neste estudo tenha um número limitado de participantes, é a única encontrada que satisfez os requisitos para avanço do projeto.

## Ferramentas da metabolômica

Ferramentas que trabalham com e integram dados de metabolômica foram encontradas com dificuldade. Além disso, há pouca documentação sobre como utilizá-las.

6

# Próximos passos

# Próximos passos

## Aprofundamento de análises

Aprofundamento das análises de relação entre metabólitos, vias metabólicas e o câncer de próstata para melhor entender os mecanismos de desenvolvimento da doença.

## Integração com outras ômicas

Integração com dados de proteínas e/ou genes associados ao câncer de próstata.

# Obrigado!

CREDITS: This presentation template was created by [Slidesgo](#), and includes icons by [Flaticon](#), and infographics & images by [Freepik](#)