



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Metabolomics of biofluids : from analytical tools to data interpretation

Nevedomskaya, E.

Citation

Nevedomskaya, E. (2011, November 23). *Metabolomics of biofluids : from analytical tools to data interpretation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/18135>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/18135>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Summary

Nederlandse samenvatting

Acknowledgements

Curriculum vitae

List of publications

SUMMARY

Metabolomics is the quantitative measurement of metabolites present in biological samples. It can be used to characterize phenotypes that occur due to a certain genetic background, understand the organism's reaction to an intervention or toxins and in biomarker discovery. The metabolomics workflow includes study design, sample collection, data acquisition, data pre-processing, data analysis and biological interpretation of the findings. On the level of study design and sample collection the problems faced in metabolic research are similar to those in other disciplines of systems biology and in biochemical research in general: study groups have to be carefully selected and all the possible bias minimized. Data acquisition in metabolomics poses different challenges in comparison to other 'omics' fields due to the diversity of the chemical and physical properties of metabolites and the absence of a single analytical platform capable of covering the whole metabolome. The choice of the statistical method for data analysis should take specific features of metabolic profiles, such as the megavariate and highly correlated structure of the data, into account. When all the requirements at the different steps of the workflow are fulfilled, metabolomics has a great potential for clinical research not only for traditional "case-control" studies, but also for more "individualized" research ultimately aiming at personalized medicine.

In **Part I** of this thesis novel we presented and evaluated methods for obtaining and pre-processing metabolomics data. **Part II** was dedicated to metabolic profiling in animal models. **Part III** addressed applications of metabolomics in humans.

Part I Method Development

In **Chapter 1** a novel combination of a separation technique (gas chromatography), ionization (atmospheric pressure chemical ionization) and detection method (time of flight mass spectrometry (ToF-MS)) (GC/APCI-MS) was evaluated. The whole analytical method, including derivatization and acquisition parameters, was optimized. A comprehensive mix of analytical standards was used to assess linearity, limits of detection, reproducibility and repeatability of the method. The latter two are of great importance especially for clinical experiments in which cohorts of multiple samples have to be measured. And finally we demonstrated the applicability of the method for one of the biological fluids, namely cerebrospinal fluid (CSF), by showing that it was possible to detect more than 300 different molecules and confident identification of these entities based on the accurate mass and isotopic distribution.

Regardless of the analytical method applied, the generated data can not be directly used for the statistical analysis without prior pre-processing. One of the essential steps of pre-processing is peak alignment, which is necessary for metabolomics data independently of whether it is based on nuclear magnetic resonance (NMR) or hyphenated MS measurements. Various methods exist for chromatographic time correction, but very few of them use available mass information. In **Chapter 2** we introduced such a method that is based on pair-wise matching masses across samples, finding the curve best fitting to the distribution of those matches using a genetic algorithm and correcting the retention/migration times according to the curve. The algorithm can be applied to any hyphenated MS dataset, but in order to demonstrate its utility we chose one of the most difficult cases for the alignment: capillary electrophoresis (CE) coupled to MS. CE is known for its large and irregular shifts in migration time. On a set of electropherograms of mouse urines we demonstrated that our algorithm significantly improved peak positions, which was very advantageous for the subsequent statistical analysis. On the examined dataset the genetic algorithm outperformed one of the often used algorithms for alignment. As mentioned above, the described algorithm is based on matching masses across samples, thus the mass accuracy in the dataset is an important parameter. Though the genetic algorithm was robust enough to fit a curve to the matches in the case of a lower mass accuracy, the improved accuracy of the novel mass analyzer was beneficial for the performance of the alignment.

Part II Application to Animal Studies

As we have demonstrated, the major drawback of CE-MS, the low reproducibility of migration time, can be diminished by the use of advanced data processing methods. Thus, the specific advantages of the technology can be used more efficiently. These include separation efficiency and the small sample volume needed. In **Chapter 3** we demonstrated the feasibility of CE-ToF-MS for metabolic profiling of volume-limited samples. The method was able to efficiently separate compounds belonging to diverse chemical families. We discussed the whole analytical workflow, including sample preparation, analysis and data treatment. The feasibility of the approach was demonstrated on the comparative metabolic analysis of wild type mice versus accelerated aging TTD mutant mice, the latter animals delivering only very limited volumes of urine, which made this study an excellent example for our CE-MS method. The differential compounds were putatively identified using accurate mass information and isotopic distribution and subsequently their identity was confirmed by using MS/MS analysis. Some of these compounds, for instance S-Adenosyl-L-methionine, are associated with oxidative stress defense. They can be of

potential interest as biomarkers of osteoporosis, which is one of the main abnormalities affecting TTD mutants.

Metabolomics studies in experimental animals are of great importance as they allow developing and testing new methodologies and are an essential part of translational medicine. In **Chapter 4** we investigated metabolic perturbations in serum and urine of $ERRC1^{d/-}$ mutant mice, which show accelerated aging, in comparison to wild type controls by profiling with 1H NMR. The advantage of the study set-up was that serum samples were collected from the same mice over time. Such a longitudinal design opened possibilities for monitoring the changes in metabolic profiles in time. We observed that the difference in metabolic composition of serum of mutant and wild type animals becomes more prominent after maturation. The differential molecules were identified in both serum and urine. Interestingly, the changes in both of the biological fluids pointed towards the same phenomenon: $ERRC1^{d/-}$ animals exhibit a similar biochemical phenotype as mice under calorie restricted diet. We found a specific change in the relative abundance of lipoprotein particles in serum (very low and low density lipoproteins decreased and high density lipoproteins increased) that is characteristic for caloric restriction. 3-Hydroxybutyrate, which is a compound released in urine in ketosis, was found in urine of mutant animals and was absent in the urine of wild type animals. This finding is in agreement with previous research done on other levels of biological regulation, such as, for instance, gene expression. Other differences observed in the mutants in our study were related to altered energy metabolism, as well as kidney and liver malfunction.

Using animal studies we demonstrated the applicability of metabolic profiling for the analysis of body fluids and its potential for obtaining biochemical information and discovery of putative biomarkers. The approach is even more beneficial when a complex study design such as a longitudinal one is used. In the following chapters the method was applied to two human studies with such an underlying design.

Part III Application to Human Studies

The object of investigation in **Chapter 5** was Urinary Tract Infection (UTI) which is the most common bacterial infection among adults. Based on the metabolic profiles of urine, obtained with 1H NMR, we were able to identify molecular discriminators of UTI. Using the availability of clinical characteristics of the cohort and the longitudinal design of the study with multiple samples available for UTI patients, we associated some of those discriminators with bacterial contamination of urine (*e.g.* acetate, hippurate and trimethylamine) and found that others might be potential markers of morbidity (*e.g.* para-aminohippuric acid and scyllo-inositol). Thus, such a design offered possibilities for

improved biological interpretation of the data. The samples from the time point at which the patients were considered to be symptom-free were used to test the predictive ability of the discriminative model: most of them were classified as controls, which suggested that our model can be of potential use for predicting the status of new samples. Another time point, at which the patients were under therapy, served as proof that our model was not reflecting therapy, but a real disease-related phenomenon.

We have shown that a longitudinal design improves interpretation of metabolomics studies. With the use of various statistical methods available for the analysis of such a design it is possible to go further and look at the different levels of biological variation present in longitudinal metabolomics data. In **Chapter 6** we demonstrated this approach on a small selection of urine samples that were collected from healthy individuals over a few days. The two statistical methods applied to the data yielded complementary information: individual-specific profiles were produced with person recognition approach, while within- or between-individual variation was recovered with multilevel component analysis. We also showed for the first time that individual profiles are present not only in ^1H NMR, but also in liquid chromatography coupled to MS (LC-MS) data. Comparing the two analytical techniques we discovered that they may reflect different biological phenomena.

The chapters that comprised this thesis covered a broad range of subjects from analytical method development to clinical application of metabolic profiling. They were united by the facts that all of these studies aimed at analysis of biological fluids and that the presented methods and approaches may ultimately become parts of a robust metabolomics workflow that might be used in a future personalized medicine.

Nederlandse samenvatting

Metabolomics houdt zich bezig met de kwantitatieve analyse van metabolieten in biologische monsters. Het kan gebruikt worden voor de karakterisering van fenotypen in relatie tot een bepaalde genetische achtergrond, de bepaling van de reactie van een organisme op een interventie of giftige stof en in de zoektocht naar biomarkers.

Een metabolomics onderzoek start met de opzet van de studie en het verzamelen van de monsters gevolgd door data acquisitie, data voorbewerking, data analyse en biologische interpretatie van de resultaten. Voor wat betreft de opzet van de studie en het verzamelen van de monsters gelden voor metabolomics onderzoek dezelfde regels als voor systeembioïogie en biochemisch onderzoek: de studiegroepen moeten zorgvuldig geselecteerd worden en alle mogelijke bias moet zoveel mogelijk geminimaliseerd worden. Als gevolg van de grote verscheidenheid aan fysisch-chemische eigenschappen van metabolieten kent de data acquisitie binnen metabolomics, in vergelijking met andere “omics”-technologieën, grotere uitdagingen omdat er geen enkel analytisch platform beschikbaar is dat al deze metabolieten tegelijkertijd kan analyseren. Bij de keuze van de statistische methoden voor de analyse van metabolomics data moet daarnaast specifiek rekening gehouden worden met het sterk gecorreleerde en megavariante karakter van deze data. Als aan al de bovengenoemde voorwaarden is voldaan, biedt metabolomics grote mogelijkheden binnen het klinisch onderzoek, niet alleen voor traditioneel case-control onderzoek maar ook voor op het individu-gericht onderzoek met als doel om tot een persoonsgerichte geneeskunde te komen.

In **Deel I** van dit proefschrift zijn nieuwe methoden voor het verkrijgen en voorbewerken van metabolomics data gepresenteerd en geëvalueerd. **Deel II** is gericht op metabolomics analyse in diermodellen. In **Deel III** is metabolomics toegepast op patiënten studies.

Deel I Methode ontwikkeling

In **Hoofdstuk I** is een nieuwe combinatie van technieken voor de scheiding (gaschromatografie), ionisatie (chemische ionisatie bij atmosferische druk (APCI: “Atmospheric Pressure Chemical Ionisation”)) en detectie (“Time-of-Flight” massaspectrometrie (ToF-MS)) van metabolieten (GC/APCI-MS) geëvalueerd. Hiervoor hebben we de gehele analytische methode, inclusief de derivatisering en data acquisitie geoptimaliseerd. Een complex mengsel van analytische standaarden is gebruikt om de

lineariteit, gevoeligheid, reproduceerbaarheid en herhaalbaarheid van de methode te bepalen. De twee laatste parameters zijn zeer belangrijk voor klinische studies waarbij grote cohorten met meerdere monsters per individu geanalyseerd moeten worden. Als laatste hebben we de toepasbaarheid van de methode voor de analyse van een lichaamsvloeistof (CSF) aangetoond; meer dan 300 verschillende moleculen konden hierin worden geïdentificeerd op basis van hun accurate massa en isotopenverdeling.

Ongeacht de analytische methode die wordt toegepast kunnen de gegenereerde data niet direct met statistische methoden worden geanalyseerd voordat er een voorbereiding heeft plaatsgevonden. Eén van de essentiële stappen is het uitlijnen (tijds- of frequentiecorrectie (“alignen”)) van de gemeten pieken, wat zowel nodig is voor metabolomics data afkomstig van nucleair magnetische resonantie (NMR) metingen als voor MS data afkomstig van systemen waarbij een scheidingstechniek is toegepast. Voor de correctie van de verschillen in chromatografische elutietijden zijn al verscheidene methoden ontwikkeld maar van de beschikbare accurate massa wordt hiervoor slechts zelden gebruik gemaakt. In **Hoofdstuk 2** wordt een dergelijke methode gepresenteerd waarbij drie stappen van belang zijn: het paarsgewijs koppelen van identieke massa's in verschillende monsters, het vinden van de curve die de distributie van deze massa's op basis van een genetisch algoritme het beste beschrijft, en vervolgens het corrigeren van de retentie- c.q. migratietijden op basis van deze curve. In principe is het ontwikkelde algoritme algemeen toepasbaar voor analyses waarbij MS aan een scheidingstechniek gekoppeld is. Wij hebben ervoor gekozen om deze aanpak te testen op een methode waar een relatief grote tijdcorrectie nodig is, capillaire electroforese (CE), vanwege de grote, onregelmatige verschuivingen in migratietijden die inherent zijn aan deze techniek. Gebruikmakend van een set aan electropherogrammen van urines van muizen konden we aantonen dat het algoritme de variatie in de positie van pieken in de verschillende runs sterk vermindert. Dit heeft een groot voordeel voor daaropvolgende statistische analyses. Daarnaast bleek dat dit nieuwe genetische algoritme voor deze dataset duidelijk beter werkte dan één van de tot dan toe meest gebruikte methoden. Zoals hierboven aangegeven, wordt het algoritme gebruikt nadat dezelfde massa's in de verschillende runs aan elkaar gekoppeld zijn. Daardoor speelt de massa-nauwkeurigheid van de dataset een belangrijke rol. Ondanks het feit dat het algoritme robuust is en toepasbaar bleek op datasets met een relatief lage massa-nauwkeurigheid, was de uiteindelijke uitlijning duidelijk beter als er van een nieuwe massaspectrometer met een hogere massa-nauwkeurigheid gebruik werd gemaakt.

Deel II Toepasbaarheid in studies van diermodellen

Zoals boven beschreven kan de belangrijkste tekortkoming van CE-MS, de lage reproduceerbaarheid van migratietijden, sterk verminderd worden door gebruik te maken van geavanceerde datavoorbewerking. Hierdoor kunnen de specifieke voordelen van de techniek, zoals het grote scheidend vermogen en de mogelijkheid tot het gebruik van hele kleine volumina, beter tot hun recht komen. In **Hoofdstuk 3** hebben we aangetoond dat het mogelijk is om CE-ToF-MS te gebruiken voor het genereren van profielen van metabolieten in monsters waarvan de hoeveelheid gelimiteerd is. De methode bleek geschikt om een grote verscheidenheid aan chemische componenten te scheiden. De hele analytische methode is onder de loep genomen, inclusief de monstervoorbereiding, analyse en dataverwerking. Daarnaast hebben we de toepasbaarheid van deze methode aangetoond in een vergelijkende studie, waarbij met deze methode metabolische profielen van wild type en snel verouderende (TTD) muizen zijn gegenereerd. Omdat van de TTD muizen slechts zeer beperkte hoeveelheden urine aanwezig waren, vormde dit een uitstekend model voor onze CE-MS methode. De identiteit van de discriminerende moleculen kon in eerste instantie op basis van accurate massa en isotopenverdeling worden voorspeld en vervolgens worden bevestigd aan de hand van MS/MS experimenten. Sommige van deze componenten, zoals S-adenosyl-L-methionine, worden geassocieerd met de oxidatieve stress response. Het zou mogelijk kunnen dienen als een biomarker voor osteoporose, wat één van de belangrijkste aandoeningen is in TTD muizen.

Metabolomics studies in diermodellen zijn van groot belang omdat ze de mogelijkheid bieden om nieuwe methodologieën te ontwikkelen en te testen, en vormen als zodanig een belangrijke bijdrage in de translationele geneeskunde. In **Hoofdstuk 4** hebben we met behulp van ^1H NMR de metabolische veranderingen in serum en urine van mutante, snel verouderende, ERRC^{d/-} muizen onderzocht in vergelijking met wild type muizen. Het voordeel van deze studie was dat op meerdere momenten tijdens de studie serum monsters verzameld en gemeten konden worden. Een dergelijke longitudinale studie gaf nieuwe mogelijkheden om de veranderingen in de metabolische profielen te bestuderen. We konden aantonen dat de verschillen in dergelijke profielen in serum van mutante versus wild type muizen het grootst waren nadat de dieren geslachtsrijp waren. De moleculen die ten grondslag lagen aan de verschillen in de profielen van zowel serum als urine konden worden geïdentificeerd. Het was heel interessant om te zien dat de veranderingen in beide lichaamsvloeistoffen in de richting van eenzelfde verschijnsel duiden, namelijk, dat ERRC^{d/-} muizen een biochemisch fenotype vertonen dat lijkt op dat van muizen op een caloriebeperkend dieet. We vonden o.a. specifieke veranderingen in de relatieve hoeveelheden van lipoproteïne deeltjes in serum (vermindering van heel lage en lage

dichtheid lipoproteïnen en verhoging van hoge dichtheid lipoproteïnen) die karakteristiek zijn voor caloriebeperkende omstandigheden. Daarnaast werd alleen in urine van mutante muizen 3-hydroxybutaraat, een molecuul dat alleen bij ketose in de urine wordt uitgescheiden, aangetoond. Dit is in overeenstemming met eerder onderzoek dat op andere niveaus van biologische regulatie, zoals genexpressie, in dit model zijn uitgevoerd. Andere verschillen die wij in onze analyse vonden waren gerelateerd aan veranderingen in energie metabolisme en verstoringen in nier- en leverfuncties.

Door gebruik te maken van de diermodellen hebben we dus laten zien dat het haalbaar is om metaboliet-profielen van lichaamsvloeistoffen te bepalen en op die manier biochemische veranderingen en potentiële biomarkers aan te tonen. Deze benadering biedt extra voordelen wanneer een complexe studie, zoals een longitudinale, wordt gebruikt en in de daaropvolgende hoofdstukken hebben we dit toegepast binnen een dergelijke studie van patiëntenpopulaties.

Deel III Toepasbaarheid in patiënten studies

In **Hoofdstuk 5** is onderzoek verricht aan urineweginfecties, de meest voorkomende bacteriële infectie bij volwassenen. Door vergelijking van de metaboliet-profielen die werden gegenereerd met behulp van ^1H NMR, konden we verschillende moleculen aantonen die specifiek geassocieerd waren met deze infecties. Gebruikmakend van de klinische gegevens van het studiecohort en de longitudinale studieopzet, waarbij meerdere urinemonsters van dezelfde patiënten beschikbaar waren, konden een aantal veranderingen geassocieerd worden met bacteriële verontreiniging van de urine (bv. acetaat, hippuraat en trimethylamine) terwijl andere mogelijke markers zijn voor morbiditeit (bv. para-aminohippurinezuur en scyllo-inositol). Een dergelijke studieopzet geeft dus mogelijkheden voor een meer verfijnde biologische interpretatie van de data. De urinemonsters die werden verzameld op het moment dat de patiënten als symptoomvrij werden beschouwd, werden vervolgens gebruikt om de voorspellende kracht van het model te testen; de meeste werden hierbij geclassificeerd als niet-geïnfecteerde controles wat aangeeft dat ons model mogelijk gebruikt kan worden om de status van onbekende urinemonsters te bepalen. De gegevens van een ander tijdpunt gedurende de behandeling van de patiënten werden gebruikt om aan te tonen dat ons model niet de gebruikte therapie weerspiegelde maar inderdaad de status van de infectie.

We hebben aangetoond dat een longitudinale studieopzet de interpretatie van metabolomics studies verbetert. Door gebruik te maken van verschillende statistische methoden die specifiek geschikt zijn voor een dergelijke studieopzet is het zelfs mogelijk om nog dieper op de data in te gaan en de verschillende niveaus van de biologische variatie die

in metabolomics data aanwezig zijn, te bestuderen. In **Hoofdstuk 6** is deze benadering toegepast op een relatief kleine selectie van urinemonsters die over verschillende dagen bij gezonde personen zijn verzameld. De twee gebruikte statistische methoden leverden complementaire informatie op: persoonsgebonden profielen konden worden gegenereerd door middel van een persoonsherkenning benadering terwijl de intra- en inter-individuele variatie met behulp van een “multilevel component” analyse konden worden geëxtraheerd. We konden hiermee voor het eerst laten zien dat een individu-specifiek profiel niet alleen in ^1H NMR maar ook in LC-MS data (vloeistofchromatografie gekoppeld aan massaspectrometrie) aanwezig is. Vergelijking van de twee analytische technieken liet verder zien dat de technieken mogelijk verschillende verschijnselen weerspiegelen. Onze analyse suggereert dat LC-MS data meer individu-specifieke kenmerken bevat dan ^1H NMR data.

De hoofdstukken in dit proefschrift bestreken een breed scala aan onderwerpen met betrekking tot analytische methodeontwikkeling en de klinische toepassing van de analyse van metaboliet-profielen. Bij beide stond de analyse van biologische lichaamsvloeistoffen centraal en hopelijk kunnen de beschreven methoden en benaderingen in de toekomst onderdeel worden van een robuuste metabolomics pijplijn die een belangrijke bijdrage kan leveren aan de ontwikkeling van persoonsgebonden geneeskunde.

ACKNOWLEDGEMENTS

The four years of my PhD-studentship was an incredible experience. It was the time of professional and personal growth. I would like to thank all the people that I met and worked together with during this period.

First of all, my promotor, André. Thank you for giving me the opportunity to join your group and opening possibilities to do research on various subjects and projects. I admire the breadth of your scientific knowledge and the quickness of understanding of any given subject.

Oleg, my co-promotor, I could hardly wish for a better supervisor than you. You are always there to listen to me, you give me freedom, but also guidance. And you give me the confidence that whatever happens you will always be on my side.

I'm very grateful to the committee for the critical evaluation of my thesis.

I would also like to thank all the co-authors of my publications for their contributions and useful comments.

Thanks to all the other colleagues. You are a group of friendly, supportive people with the sense of humor that makes days go easier.

In the first year I worked in the lab, and although it is not the case anymore, I believe that experience was important for better understanding of what I am now doing behind the computer. Rico, Rawi and Bart, thank you for teaching me working with the instruments.

Axel, thanks for what you have taught me about NMR and data analysis and for your careful examination of my results and papers.

I'm very fortunate with my office-mates. Judit, Irina, Paul, Oleg, Tiziana, Anton and previously Alegría, Rocio, Artem, Jean-Marc, Janine, it's been fun! Special thanks to Paul for all the support. If you ever want a career switch, go for tax-advisor for foreigners!

Moving to another country always requires a lot of organizational things to be done. Caroline, your help was splendid!

I'm looking forward to the day of my defense to have such a beautiful paranymph by my side as Sibel. My friend and colleague, thank you for the late evenings in the lab before Christmas, for being a great companion in travelling, shopping and talking about everything.

There are many more people I would like to mention and though here I cannot dedicate some words for each and every one of them, I hope they know how much I appreciate belonging to this group: Alex, Aswin, Carolien, Crina, Dick-Paul, Dorien, Emrys, Gerhild, Hans, Kate, Kristell, Liam, Magnus, Manfred, Marco, Martin, Maurice, Ollie, Ralf, Rene, Rob, Ron, Simone, Suzanne, Yassene, Yuri.

In the Netherlands I met a lot of incredible people and I am very happy to have them as friends. The sad thing is that some of them leave the country after a while, however it's great that we stay in touch: Lisa, Roman, Polyna, I miss you!

I'm very grateful to Anton for the cover of this thesis. You have a great talent!

Dmitry, two of these four years we spent together and there is and always will be a special place for you in my heart.

My other paranymph, Eric, you are, I guess, the first person I met in the Netherlands, besides the colleagues. Being friends with you is a lot of fun!

It is incredible that, despite the distance, I still have close connection with my friends in Russia. Ромчик, спасибо тебе за твою дружбу и доверие. Катя и Никита, мои школьные друзья, с вами всегда тепло и уютно; я так рада, что у вас в семье скоро будет пополнение!

My dearest aunt and uncle, Lana and Ken, you are far away, over the Atlantic Ocean, still I always feel your support and care. I love you and miss you.

Мои дорогие мамулечка, папулечка, Лёничка, бабушка, я вас очень люблю. Спасибо, что вы у меня есть, что поддерживаете и гордитесь мной. Безумно по вам скучаю.

Katja

Leiden, 2011

CURRICULUM VITAE

Ekaterina Nevedomskaya was born on June 2, 1985, in Moscow, Russia. After finishing secondary school in Chernogolovka, Moscow region, in 2002, she continued her education at the newly established Faculty of Bioengineering and Bioinformatics at Moscow State University. During her studies she was, together with nine other students, selected for a summer internship at the Leiden University Medical Center (LUMC), the Netherlands, where she spent one month in 2005 in the Department of Parasitology, working on the pre-processing of capillary-electrophoresis coupled to mass-spectrometry data under the supervision of Dr. O.A. Mayboroda and Dr. A. Henneman. In 2007 she graduated *cum laude* from Moscow State University. The same year she started her PhD studies in the LUMC, at the Department of Parasitology, under the supervision of Prof. Dr. A.M. Deelder and Dr. O.A. Mayboroda. Her research resulted in the current thesis entitled “Metabolomics of biofluids: from analytical tools to data interpretation”. Since September 2011 she works as a post-doc in the same department, continuing her exploration of the analysis of metabolomics data, in part continuing the research initiated in collaboration with Prof. Dr. T.W.J. Huizinga (Dept. Rheumatology) and Prof. Dr. P. Slagboom (Dept. Molecular Epidemiology) on osteoarthritis and rheumatoid arthritis.

LIST OF PUBLICATIONS

Nevedomskaya E., Pacchiarotta T., Artemov A., Meissner A., van Nieuwkoop C., van Dissel J.T., Mayboroda O.A., Deelder A.M. Integrating study design and clinical data into metabolic profiling of urinary tract infection. *Manuscript in preparation*.

Pacchiarotta T., Hensbergen P.J., Wuhrer M., van Nieuwkoop C., **Nevedomskaya E.**, Derks R., Schoenmaker B., Koeleman C.A.M., van Dissel J.T., Deelder A.M., Mayboroda O.A. Fibrinogen alpha chain O-glycopeptides as possible markers of urinary tract infection. *Submitted for publication*.

Nevedomskaya E., Mayboroda O.A., Deelder A.M. Cross-platform analysis of longitudinal data in metabolomics. *Mol. Biosyst.*, **2011**, DOI: 10.1039/C1MB05280B

Ramautar R., **Nevedomskaya E.**, Mayboroda O.A., Deelder A.M., Wilson I.D., Gika H.G., Theodoridis G.A., Somsen G.W., de Jong G.J. Metabolic profiling of human urine by CE-MS using a positively charged capillary coating and comparison with UPLC-MS. *Mol Biosyst.*, **2011**, 7(1):194-9.

Pacchiarotta T., **Nevedomskaya E.**, Carrasco-Pancorbo A., Deelder A.M., Mayboroda O.A. Evaluation of GC-APCI/MS and GC-FID as a complementary platform. *J Biomol Tech.*, **2010**, 21(4):205-13.

Nevedomskaya E., Ramautar R., Derks R., Westbroek I., Zondag G., van der Pluijm I., Deelder A.M., Mayboroda O.A. CE-MS for metabolic profiling of volume-limited urine samples: application to accelerated aging TTD mice. *J Proteome Res.*, **2010**, 9(9):4869-74.

García-Villalba R., Carrasco-Pancorbo A., **Nevedomskaya E.**, Mayboroda O.A., Deelder A.M., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. Exploratory analysis of human urine by LC-ESI-TOF MS after high intake of olive oil: understanding the metabolism of polyphenols. *Anal Bioanal Chem.*, **2010**, 398(1):463-75.

Nevedomskaya E., Meissner A., Goral S., de Waard M., Ridwan Y., Zondag G., van der Pluijm I., Deelder A.M., Mayboroda O.A. Metabolic profiling of accelerated aging ERCC1^{d/-} mice. *J Proteome Res.*, **2010**, 9(7):3680-7.

Carrasco-Pancorbo A., **Nevedomskaya E.**, Arthen-Engeland T., Zey T., Zurek G., Baessmann C., Deelder A.M., Mayboroda O.A. Gas chromatography/atmospheric pressure chemical ionization-time of flight mass spectrometry: analytical validation and applicability to metabolic profiling. *Anal Chem.*, **2009**, 81(24):10071-9.

Nevedomskaya E., Derks R., Deelder A.M., Mayboroda O.A., Palmblad M. Alignment of capillary electrophoresis-mass spectrometry datasets using accurate mass information. *Anal Bioanal Chem.*, **2009**, 395(8):2527-33.

Ramautar R., van der Plas A.A., **Nevedomskaya E.**, Derks R.J., Somsen G.W., de Jong G.J., van Hilten J.J., Deelder A.M., Mayboroda O.A. Explorative analysis of urine by capillary electrophoresis-mass spectrometry in chronic patients with complex regional pain syndrome. *J Proteome Res.*, **2009**, 8(12):5559-67.

