

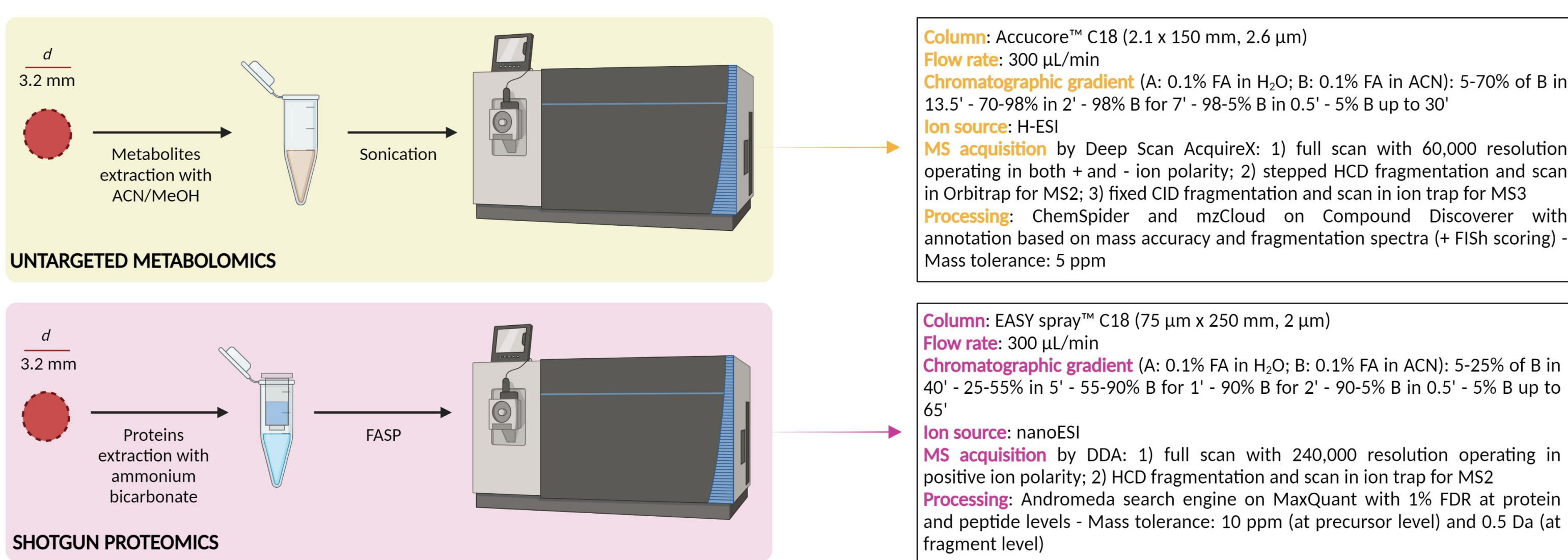
^a Center for Advanced Studies and Technology (CAST), "G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Italy; ^b Department of Pharmacy, "G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Italy; ^c Department of Innovative Technologies in Medicine & Dentistry, "G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Italy; ^d Department of Psychological, Health and Territorial Sciences, "G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Italy; ^e Department of Medicine and Aging Science, "G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Italy.

Background

Lo spot di sangue secco (DBS) sta diventando sempre più utile da un punto di vista diagnostico. Già ampiamente usato per lo screening neonatale, il DBS può rappresentare una fonte importante di informazioni se analizzato attraverso approcci di proteomica e metabolomica untargeted per lo studio dei profili biomolecolari. È importante sottolineare che la caratterizzazione omica del DBS può aprire nuove strade alla comprensione molecolare di malattie rare attualmente associate a scarse conoscenze e trattamenti limitati, come i disturbi da accumulo lisosomiale (LSD).

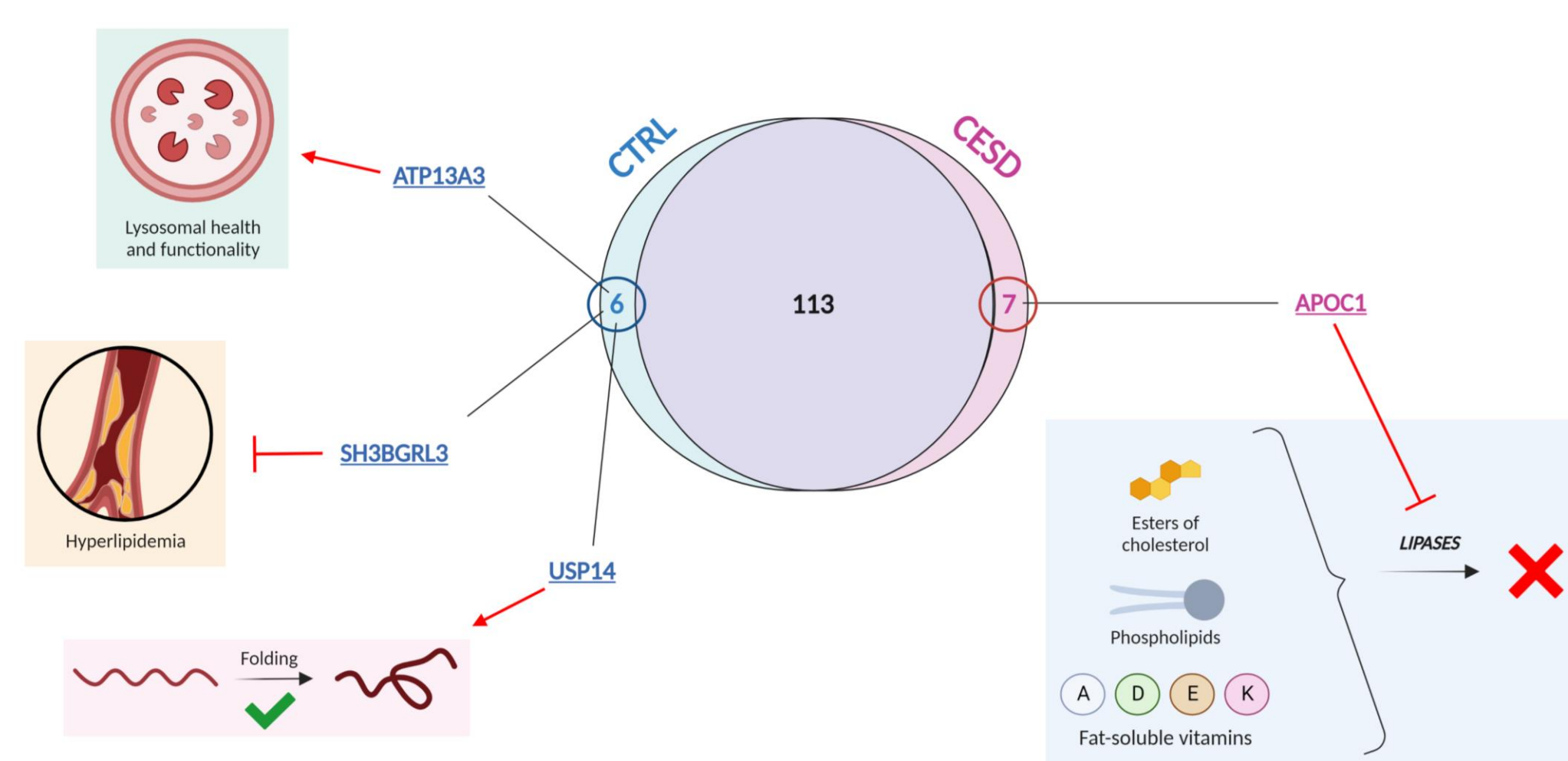
Metodi

Campioni DBS di un paziente con malattia da accumulo di esteri del colesterolo (CESD) e un controllo sano (HC) sono stati sottoposti ad analisi di proteomica shot-gun e, in parallelo, ad analisi di metabolomica untargeted attraverso un approccio omico integrato. Le analisi di proteomica e metabolomica sono state eseguite mediante UHPLC-Orbitrap-MS in data-dependent acquisition (DDA).



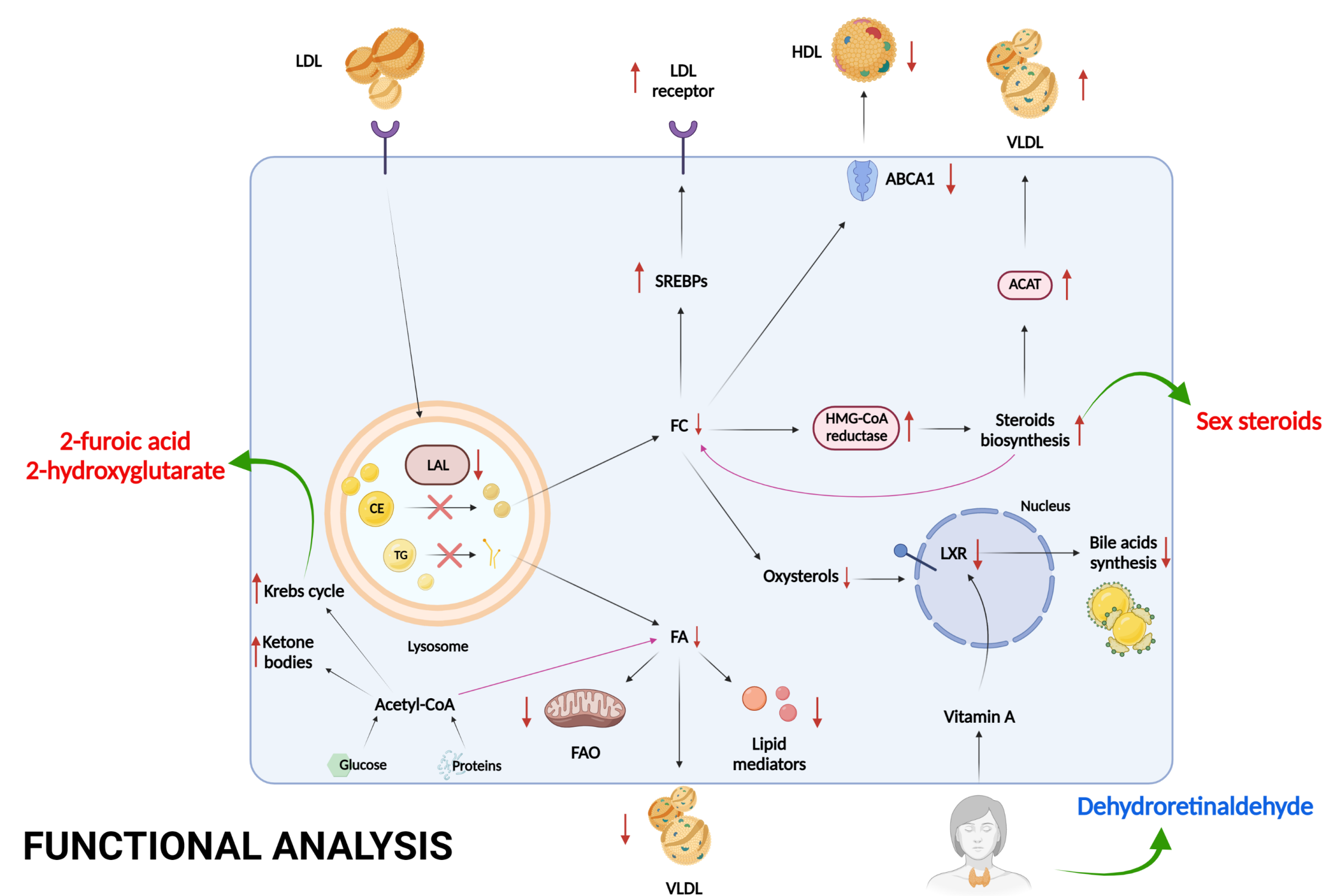
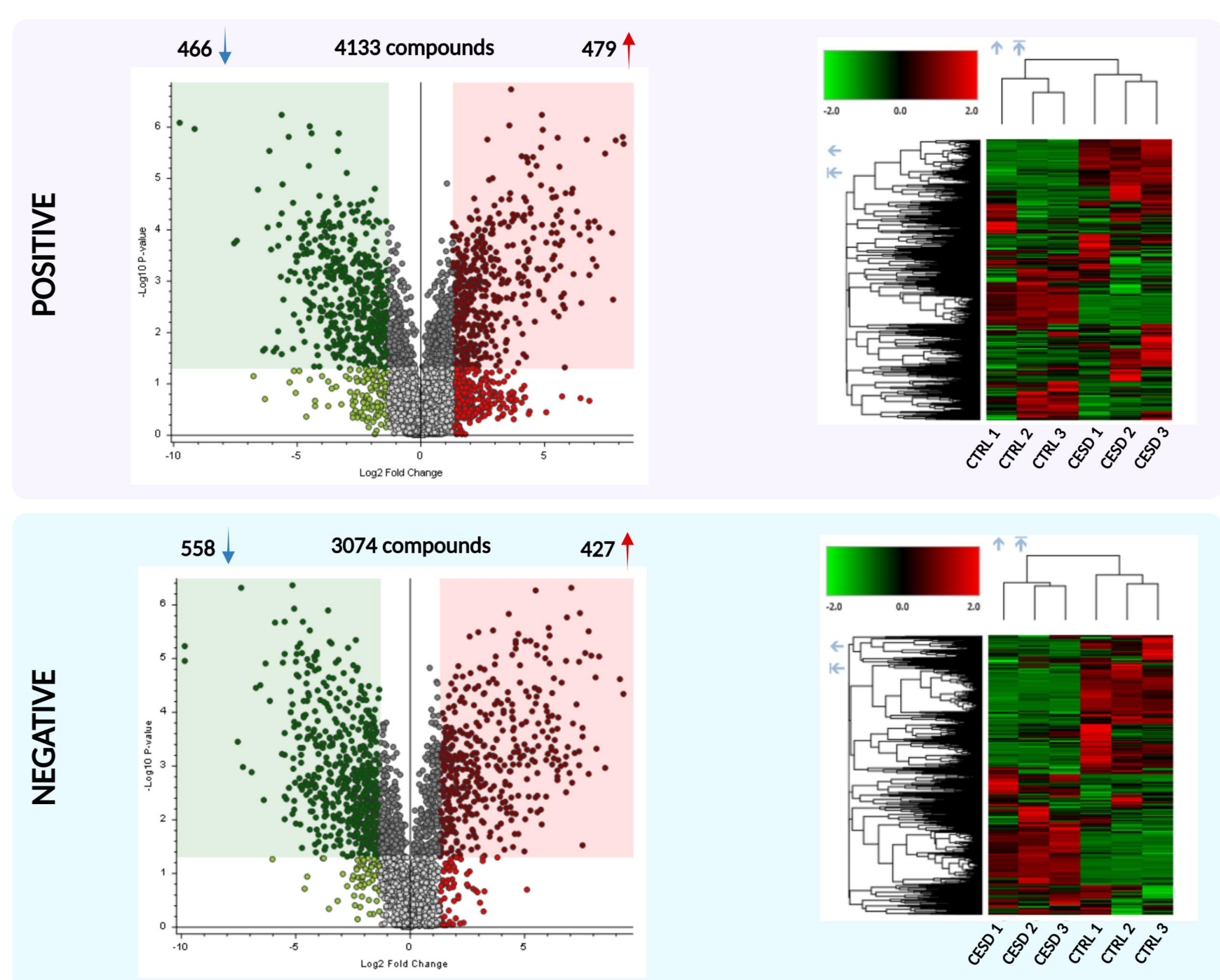
Risultati: Proteomica

113 proteine identificate, di cui il 90% in comune tra CESD e HC. Tra le proteine espresse in modo univoco in ciascuna condizione, è stata individuata l'espressione di APOC1 nella CESD che porta alla sottoregolazione delle lipasi, l'espressione nel controllo di USP14 che ripristina il folding proteico, di ATP13A3 che supporta la funzionalità lisosomiale e di SH3BGRL3 con effetto ipolipemizzante.

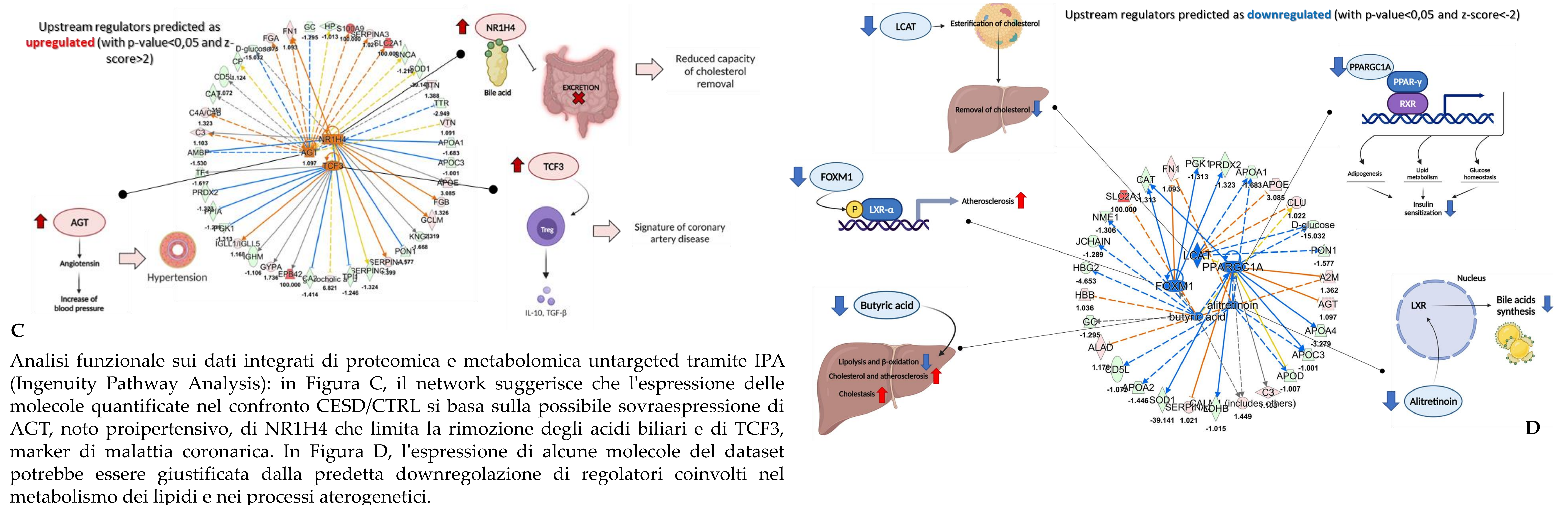


Risultati: Metabolomica

In Figura A, i Volcano Plot mostrano l'elevata numerosità dei composti differenzialmente espressi nelle due condizioni, in modalità di acquisizione positiva e negativa. Gli Heatmap tramite clustering gerarchico evidenziano in maniera pronunciata i diversi pattern di espressione tra CESD e HC e un buon grado di concordanza tra i replicati biologici. Tra i composti differenzialmente espressi con differenze statisticamente significative, solo 65 sono stati annotati con successo ed implicati nell'analisi funzionale. I più interessanti sono riportati in Figura B, unitamente al loro trend nella CESD rispetto al controllo (upregolazione in rosso/downregolazione in blu): risultano coinvolti nell'inibizione dell'attività della lipasi acida lisosomiale, nell'oncometabolismo, nel metabolismo mediato da vitamine e nell'aterogenesi.



Integrazione dei dati



Conclusioni: Il DBS, facilmente accessibile e maneggiabile, contiene informazioni preziose sia dal punto di vista proteico che metabolico. L'approccio combinato di proteomica e metabolomica untargeted su DBS è una strategia che rende possibile la caratterizzazione della CESD e ne predice il decorso, aprendo nuovi orizzonti allo studio di altre LSD.