

Il profilo dei sulfatidi su plasma e DBS nelle malattie neurometaboliche: utilizzo di un nuovo metodo UHPLC-MS/MS

Introduzione

Le malattie neurometaboliche (MNM) causano quadri multisistemiche con prevalente neurodegenerazione. La diagnosi precoce, anche attraverso lo screening neonatale esteso (SNE), permette nelle forme trattabili di prevenire e contrastare la progressione della malattia. I sulfatidi, glicosfingolipidi contenenti un gruppo solfato, si accumulano nella leucodistrofia metacromatica (MLD) e ne rappresentano il biomarcatore diagnostico. Riportiamo i dati ottenuti dalla misurazione dei sulfatidi plasmatici in una coorte di pazienti affetti da MNM.

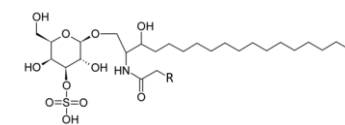


Fig.1 Struttura chimica di un sulfatide

Materiali & Metodi

Abbiamo raccolto campioni di plasma e DBS da 97 pazienti MNM [MLD (3 naive, 2 post trattamento); Krabbe (4 naive, 1 pre/post trapianto, 2 forme atipiche); Fabry; Gaucher; ASMD; NP-C; Wolman/CESD; GM1; GM2; perossisomiali (X-ALD, PBD), sindrome MEDNIK/MEDNIK-like (AP12S1/AP1B1 proteine del traffico intracellulare). L'analisi multiplex di 4 sulfatidi (C18, C16, C16:1-OH e C16-OH) è stata effettuata con un nuovo metodo UHPLC accoppiato a spettrometria di massa tandem.

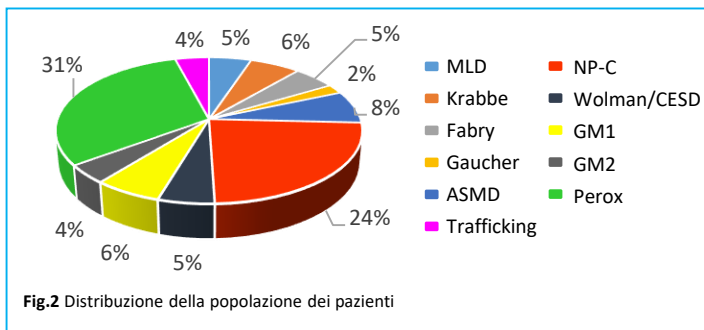
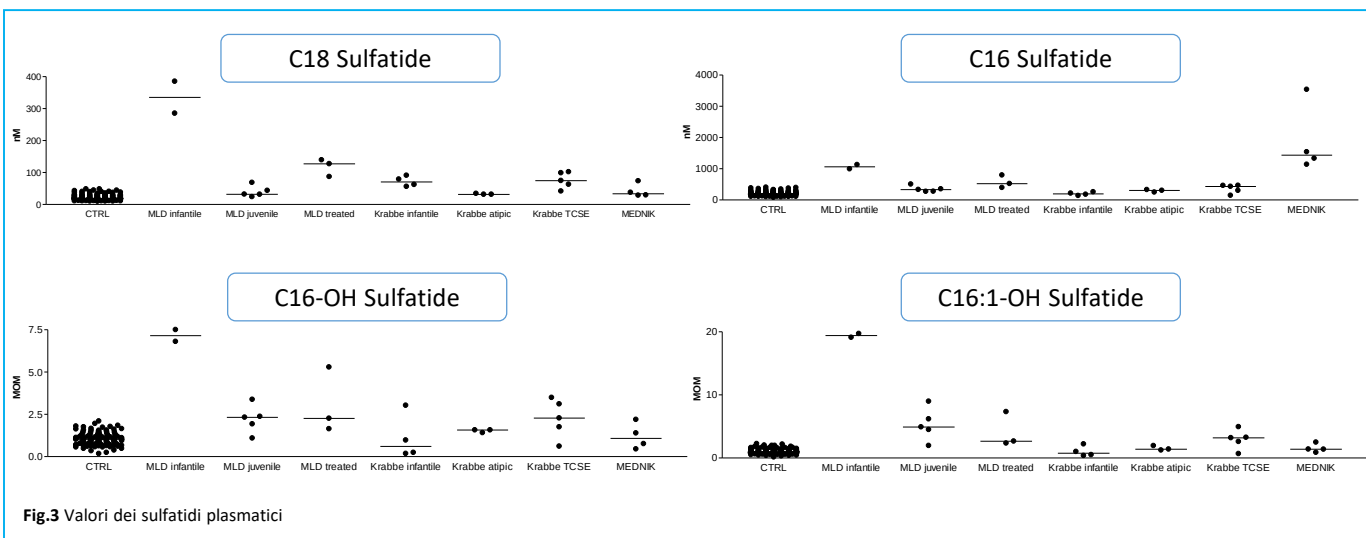


Fig.2 Distribuzione della popolazione dei pazienti

Risultati



Nella MLD i 4 sulfatidi sono risultati aumentati in tutti i pazienti naive, più elevati nella forma infantile rispetto alla forma giovanile. I sulfatidi che maggiormente discriminano la MLD risultano C16:1-OH e C16-OH. I 2 pz MLD trattati [terapia genica/trapianto cellule staminali ematopoietiche (TCSE)] mantengono valori aumentati di C18 e C16:1-OH con livelli di C16 e C16-OH borderline. Nella Krabbe è aumentato il sulfatide C18, sia nei casi naive sia dopo TCSE; nei 2 pz con forma mild/atipica il profilo è normale. I pazienti MEDNIK/MEDNIK-like hanno un aumento isolato del C16. In tutte le altre MNM i valori dei sulfatidi sono risultati nella norma.

Discussione

Lo studio ha confermato la presenza di un profilo anomalo dei sulfatidi plasmatici nella MLD. Rispetto a quanto riportato le forme C16 idrossilate sono risultate essere maggiormente discriminanti per la diagnosi. Il metodo ha permesso di identificare nella malattia di Krabbe la presenza isolata di sulfatide C18 e nella sindrome MEDNIK/MEDNIK-like di sulfatide C16. Questo nuovo metodo diagnostico risulta potenzialmente applicabile anche allo screening neonatale e al monitoraggio terapeutico di alcune MNM.

Bibliografia

1. Hong X. et al Toward newborn screening of metachromatic leukodystrophy: results from analysis of over 27,000 newborn dried blood spots. *Genet Med.* 2021 Mar;23(3):555-561.
2. Hong X et al H. A highly multiplexed biochemical assay for analytes in dried blood spots: application to newborn screening and diagnosis of lysosomal storage disorders and other inborn errors of metabolism. *Genet Med.* 2020 Jul;22(7):1262-1268. doi: 10.1038/s41436-020-0790-9. Epub 2020 Apr 20
3. Saville JT et al Utility for metachromatic leukodystrophy. *Anal Chim Acta.* 2017 Feb 22;955:79-85. doi: 10.1016/j.aca.2016.12.002. Epub 2016 Dec 19
4. Spacil Z et al. Sulfatide Analysis by Mass Spectrometry for Screening of Metachromatic Leukodystrophy in Dried Blood and Urine Samples. *Clin Chem.* 2016 Jan;62(1):279-86. doi: 10.1373/clinchem.2015.245159. Epub 2015 Nov 19
5. "Atypical" Krabbe disease in two siblings harboring biallelic GALC mutations including a deep intronic variant. Nicita F et al *Eur J Hum Genet.* 2022 Aug;30(8):984-988. doi: 10.1038/s41431-022-01111-z. Epub 2022 May 17.