

## SERVICE METABOLOMICA TARGETED: ACIDI BILIARI (BA)

### Introduzione

Gli acidi biliari sono un gruppo di molecole biologicamente attive derivate dal metabolismo del colesterolo e sono prodotti principalmente nel fegato. Svolgono un ruolo cruciale nella digestione e nell'assorbimento dei lipidi e delle vitamine liposolubili, agendo come emulsionanti nel lume intestinale. Gli acidi biliari primari, come l'acido colico e l'acido chenodesossicolico, vengono sintetizzati nel fegato e successivamente modificati dai batteri intestinali in acidi biliari secondari, tra cui l'acido desossicolico e l'acido litocolico.

Negli studi di metabolomica, gli acidi biliari sono di particolare interesse per la loro capacità di riflettere lo stato fisiopatologico dell'organismo. Il loro profilo può variare significativamente in condizioni di malattie epatiche, metaboliche e gastrointestinali, rendendoli biomarcatori potenziali per la diagnosi e il monitoraggio di tali patologie. Inoltre, la loro interazione con i recettori nucleari e di membrana, come il recettore farnesoide X (FXR), ha un impatto sul metabolismo energetico e sull'infiammazione, collegandoli anche a patologie croniche come il diabete e l'obesità. La rilevanza degli acidi biliari nella metabolomica sta quindi nel loro potenziale non solo come marker diagnostici, ma anche come mediatori di importanti processi metabolici e infiammatori.

Diverse strategie sono state proposte per l'analisi degli acidi biliari dalle matrici biologiche. Theoreo ha testato molte di queste strategie e nel corso degli anni ha implementato una tecnica di analisi che combina una elevata sensibilità strumentale con un'ottima ripetibilità e robustezza analitica e un eccellente fattore di recupero. Inoltre, la metodologia applicata consente, grazie alla rilevazione per mezzo di spettrometria di massa ad alta risoluzione e a multi-frammentazione di coniugare le ottime performance quantitative ad una accurata identificazione qualitativa delle molecole di interesse.

### Pannello Proposto

Il pannello base proposto da Theoreo comprende i seguenti acidi biliari primari e secondari:

Acronimo	Nome completo	Classificazione
CA	cholic acid	Primario
CDCA	chenodeoxycholic acid	Primario
DCA	deoxycholic acid	Secondario
GCDCA	glycochenodeoxycholate	Primario
GDCA	glycodeoxycholic acid	Secondario
GHCA	glycohyocholate	Secondario
GUDCA	glycoursodeoxycholic acid	Secondario
HCA	hyodeoxycholic acid	Secondario

LCA	lithocholic acid	Secondario
TCA	taurocholic acid	Primario
TDCA	taurodeoxycholate	Secondario
TUDCA	tauroursodeoxycholic acid	Secondario
UDCA	ursodeoxycholic acid	Secondario

## Metodologia Analitica

### *Estrazione e purificazione BA*

Il siero scongelato (20  $\mu$ L) viene miscelato con 180  $\mu$ L di una soluzione 80/20 in volume di acetonitrile/metanolo contenente 10  $\mu$ L di uno standard interno marcato. Dopo agitazione e centrifugazione, il surnatante viene trasferito in una provetta da centrifuga da 600  $\mu$ L e quindi liofilizzato. Il campione liofilizzato, tutte le soluzioni standard per la costruzione della curva di calibrazione e i campioni di controllo qualità vengono quindi ricostituiti con una soluzione di acetonitrile/metanolo (80/20) e acqua ultrapura in rapporto 1:1.

### *Analisi strumentale*

L'analisi strumentale viene eseguita con un sistema LC-HRMS di tipo Orbitrap, nello specifico il sistema HPLC Vanquish (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) comprende un comparto colonna (VC-C10-A), un campionatore automatico (CV-A12-A) e una pompa binaria (CV-P10-A), utilizzando una colonna Kinetex Evo C18 con dimensioni di 150 mm x 2,1 mm e una dimensione delle particelle di 2,6  $\mu$ m e una dimensione dei pori di 130 Å (Phenomenex, Torrance, CA, USA). La quantificazione di tutti i BA viene eseguita utilizzando una curva di calibrazione basata su 10 punti, ciascuno analizzato in triplice copia.