

## **ID: 21 - Oltre lo SNE: il primo anno di screening neonatale in Abruzzo per immunodeficienze congenite severe, malattie neuromuscolari genetiche, metaboliche e da accumulo lisosomiale**

**Claudia Rossi**<sup>1</sup>, Ines Bucci<sup>2</sup>, Damiana Pieragostino<sup>1</sup>, Iaria Cicalini<sup>1</sup>, Maria Concetta Cufaro<sup>1</sup>, Mirco Zucchelli<sup>1</sup>, Daniela Semeraro<sup>2</sup>, Sara Verrocchio<sup>2</sup>, Silvia Valentinuzzi<sup>1</sup>, Maria Lucia Tommolini<sup>1</sup>, Rossella Ferrante<sup>3</sup>, Iaria Angilletta<sup>3</sup>, Sara Boenzi<sup>4</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>4</sup>, Francesco Chiarelli<sup>2</sup>, Maurizio Arico<sup>5</sup>, Luca Federici<sup>1</sup>, Liborio Stuppia<sup>3</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Dipartimento di Tecnologie Innovative in Medicina & Odontoiatria DTIMO, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, 66100 Chieti, Italy, <sup>2</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Dipartimento di Tecnologie Innovative in Medicina & Odontoiatria DTIMO, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, 66100 Chieti, Italy., <sup>3</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Dipartimento di Scienze Psicologiche, della Salute e del Territorio DiSPuTer, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, 66100 Chieti, Italy., <sup>4</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Roma, Italy, <sup>5</sup> Pediatria, P.O. Ospedale di Pescara, Azienda Sanitaria Locale Pescara, Italy

---

### **INTRODUZIONE**

Lo screening neonatale (SN) è un programma di medicina preventiva volto a supportare la diagnosi precoce di errori congeniti del metabolismo (ECM) che: 1. se non individuati entro i primi giorni di vita, potrebbero compromettere la vita del paziente con danni gravi e spesso irreversibili; 2. siano suscettibili ad un trattamento efficace immediato. In Italia, la Legge 167/2016 ha introdotto lo SN esteso (SNE) obbligatorio per oltre 40 ECM, garantendone la massima uniformità. Alcune Regioni italiane hanno autonomamente esteso lo SN a un maggior numero di ECM, grazie all'attivazione di progetti pilota.

### **METODI**

Il laboratorio di SN per l'Abruzzo ha proposto un progetto pilota, approvato dal Comitato Etico nel settembre 2021, ed ha avviato nel giugno 2022 lo SN anche per l'immunodeficienza combinata grave da deficit di adenosina deaminasi (ADA-SCID), il deficit di decarbossilasi degli L-aminoacidi aromatici (deficit di AADC), misurando simultaneamente i rispettivi marcatori mediante spettrometria di massa tandem (MS/MS) nella stessa analisi già eseguita per lo SNE obbligatorio, e per la Sindrome Adreno Genitale (SAG) mediante dosaggio immunofluorimetrico. A dicembre 2022 il pannello Regionale ha introdotto anche lo SN per l'atrofia muscolare spinale (SMA), mediante un test molecolare in Real-Time PCR, e per le 3 malattie da accumulo lisosomiale (LSD) malattia di Fabry, malattia di Gaucher e Mucopolisaccaridosi tipo 1, attraverso la misura quantitativa delle relative attività enzimatiche mediante un'unica analisi in MS/MS. Fogli informativi e moduli di consenso sono stati messi a disposizione delle famiglie, essendo la partecipazione allo studio pilota su base volontaria. Sono stati inoltre garantiti tutti i test di secondo livello per le malattie di nuovo inserimento.

### **RISULTATI**

La partecipazione al progetto è stata da subito significativa, dal 92,5% fino ad oltre il 99% di adesione fra giugno 2022 e maggio 2023. Inoltre, l'esecuzione di test di secondo livello in caso di positività al test di screening per deficit di AADC, SAG e le LSD, ha permesso di limitare al massimo il numero di richiami e di falsi positivi, consentendo di attenzionare solo lo 0,138% dei campioni analizzati nel programma.

### **DISCUSSIONE**

Con oltre 8.000 neonati sottoposti a screening, grazie ad una quasi totale adesione al progetto, descriviamo l'organizzazione dello studio e mostriamo risultati, sospetti diagnostici e conferme aggiornati al primo anno di attività in Abruzzo.

---

## **ID: 23 - SNE in Regione Abruzzo: l'inconsueta frequenza di difetto di 3-metilcrotonil-CoA-carbossilasi**

**Silvia Di Michele**<sup>1</sup>, Cristiano Rizzo<sup>2</sup>, Claudia Rossi<sup>3</sup>, Damiana Pieragostino<sup>3</sup>, Ines Bucci<sup>4</sup>, Susanna Di Valerio<sup>5</sup>, Francesca Lepri<sup>6</sup>, Giovanna Cotugno<sup>2</sup>, Carlo Dionisi Vici<sup>2</sup>, Maurizio Aricò<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pediatria Medica, P.O. Ospedale di Pescara, Azienda Sanitaria Locale Pescara, Italia, <sup>2</sup> Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS Roma, Italia, <sup>3</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara; Dipartimento di Tecnologie Innovative in Medicina & Odontoiatria DTIMO, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, Chieti, Italia, <sup>4</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara; Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento DMSI, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, Chieti, Italia, <sup>5</sup> Neonatologia, P.O. Ospedale di Pescara, Azienda Sanitaria Locale Pescara, Italia, <sup>6</sup> Genetica Medica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS Roma, Italia

---

### **Introduzione**

Il deficit isolato di 3-metilcrotonil-CoA carbossilasi (MCC) è una malattia autosomica recessiva del metabolismo della leucina causato da mutazioni in MCCC1 o MCCC2. Il fenotipo può variare da forme severe con esordio neonatale acuto a casi del tutto asintomatici. L'aumento dei livelli di 3-idrossiisovalerilcarnitina (C5OH) nel sangue e di acido 3-idrossiisovalerico e 3-metilcrotonilglicina nelle urine sono caratteristici della MCC ma possono essere osservati anche negli eterozigoti monoallelici MCCC1 o MCCC2. Per definire l'incidenza della MCC, sono stati analizzati i dati SNE della regione Abruzzo nel periodo novembre 2018 aprile 2023.

### **Metodi**

Il dosaggio delle acilcarnitine su DBS/plasma è stata eseguito in MS/MS mentre l'analisi degli acidi organici urinari in GC/MS. I casi confermati biochimicamente sono stati sottoposti ad analisi di sequenza dei geni MCCC1 e MCCC2 e posti in follow-up clinico.

### **Risultati**

Dei 36.749 neonati sottoposti a SNE, 12 (1:3.062) sono stati richiamati per sospetto deficit di MCC (aumento di C5OH/C4DC; cut off 0.57 uM/l) e confermati biochimicamente (plasma C5OH ↑ ed acidi organici). La ricerca di mutazioni ha evidenziato 2 casi (1:18.374) con mutazione biallelica (eterozigosi composta MCCC2) e 7 casi con mutazione monoallelica (MCCC1). La mutazione prevalente è risultata essere la c.C2079del A (p.Val694Ter). Al follow-up tutti i soggetti sono asintomatici, tranne un caso con mutazione biallelica che dall'età di 20 mesi mostra un lieve quadro di deficit dell'attenzione/iperattività, peraltro non ascrivibile alle caratteristiche fenotipiche della malattia.

### **Discussione**

I dati dello SNE nella regione Abruzzo mostrano che: 1) l'incidenza per MCC (32,6/100 000) è 11 volte maggiore rispetto a quella della popolazione Italiana sottoposta a SNE (2,8/100 000) (1); 2) gli eterozigoti monoallelici MCCC1 o MCCC2 positivi allo SNE presentano livelli elevati di metaboliti simili alle forme bialleliche del deficit di MCC. Ulteriori studi saranno necessari per comprendere i motivi della espressione biochimica delle mutazioni monoalleliche nei casi identificati allo SNE e nei genitori oltre a valutare la ricorrenza di eventuali aplotipi specifici in Abruzzo. La documentazione della asintomaticità dei soggetti MCC, eterozigoti ed omozigoti, sarà utile per valutare l'opportunità di proseguire nello screening neonatale per la MCC. 1. Ruoppolo M, et al. Int. J. Neonatal Screen. 2022, 8, 47

---

## **ID: 24 - Caratterizzazione dei difetti congeniti con iperfenilalaninemia in Abruzzo: risultati di cinque anni di SNE**

Silvia Di Michele<sup>1</sup>, Giovanna Cotugno<sup>2</sup>, Claudia Rossi<sup>3</sup>, Damiana Pieragostino<sup>3</sup>, Ines Bucci<sup>4</sup>, Claudia Carducci<sup>5</sup>, Rossella Ferrante<sup>6</sup>, Carlo Dionisi Vici<sup>2</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>3</sup>, Maurizio Arico<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pediatria Medica, P.O. Ospedale di Pescara, Azienda Sanitaria Locale Pescara, Italia, <sup>2</sup> Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS Roma, Italia, <sup>3</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara; Dipartimento di Tecnologie Innovative in Medicina & Odontoiatria DTIMO, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, Chieti, Italia, <sup>4</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara; Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento DMSI, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, Chieti, Italia, <sup>5</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università della Sapienza di Roma, Italia, <sup>6</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, Chieti, Italia

---

### **Introduzione**

Le iperfenilalaninemie (HPA) sono causate da un deficit congenito dell'enzima PAH che comporta un incremento della fenilalanina plasmatica. Lo spettro di fenotipi va da forme lievi a forme più severe (PKU), che richiedono interventi dietetici per garantire un normale sviluppo neuro-cognitivo. Scopo dello studio è caratterizzare genotipo e fenotipo delle HPA nella popolazione abruzzese.

### **Metodi**

I livelli di amminoacidi da campione DBS, prelevato a 48/72 h, sono stati determinati mediante spettrometria di massa tandem, come test di primo livello, nel Laboratorio Screening, Università di Chieti, Centro di Studi e Tecnologie Avanzate (CAST). I casi positivi alla analisi di primo livello sono stati confermati mediante lo studio degli amminoacidi plasmatici presso l'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù (OPBG). Per la diagnosi differenziale con i difetti di BH4 sono stati eseguiti il dosaggio delle pterine urinarie e l'attività DHPR in altra regione. I casi confermati sono stati studiati con analisi genetica. La valutazione clinica dei neonati è stata eseguita nell'ambulatorio screening della UOC Pediatria di Pescara, con la collaborazione convenzionale della UOC Patologia Metabolica OPBG.

### **Risultati**

Di 36.749 neonati sottoposti a SNE tra novembre 2018 e aprile 2023, PKU è stata diagnosticata in 3 casi, incidenza (1:12.249), leggermente inferiore alla media europea (1). HPA è stata diagnosticata in 13 pazienti (1:2.826), con buona correlazione genotipo-fenotipo atteso in base al sistema APV/GPV. Non sono stati riscontrati difetti di BH4. Nei 15/16 pazienti studiati, sono state osservate le seguenti varianti: c.1208C>T (p.Ala403Val) (n=6), c.898G>T (p.Ala300Ser) (n=5), c.473G>A (p.Arg158Gln) (n=2), c.782G>A (p.Arg261Gln) (n=3), c.368G>T (p.Arg123Ile) (n=1), c.734T>C (p.Val245Ala) (n=1), c.1222C>T (p.Arg408Trp) (n=1), c.842C>T (p.Pro281Leu) (n=1), c.722G>A (p.Arg241His) (n=1), c.688G>A (p.Val230Ile) (n=1), c.115\_117delTTC (p.Phe39del) (n=1), c.143T>C (p.Leu48Ser) (n=1), c.8425G>A (n=1), c.4415G>T (n=2) e c.13151G>A (n=1) nel gene PAH.

### **Discussione**

Lo SNE offre la opportunità di identificare soggetti con HPA di grado variabile e genotipo eterozigote, che possono fornire utili indicazioni per la conoscenza della malattia e delle sue variabilità fenotipiche. Caratterizzare la nostra popolazione permetterà di rifinire i criteri di valutazione clinica, follow-up e richiami per HPA. 1) Hillert A, Am J Hum Genet 2020

---

## **ID: 25 - Diagnosi e follow-up di quattro organico-acidurie in tre regioni dell'Italia centrale (Emilia-Romagna, Toscana e Umbria): cosa abbiamo imparato e come migliorare.**

**Egidio Candela**<sup>1</sup>, Andrea Pession<sup>1</sup>, Amelia Morrone<sup>3</sup>, Federico Baronio<sup>1</sup>, Marta Daniotti<sup>2</sup>, Valeria Di Natale<sup>1</sup>, Michele Sacchini<sup>2</sup>, Rita Ortolano<sup>1</sup>, Francesca Pochiero<sup>2</sup>, Catia Cavicchi<sup>3</sup>, Lorenzo Ferri<sup>3</sup>, Giacomo Biasucci<sup>4</sup>, Giancarlo La Marca<sup>5</sup>, Alessandra Cassio<sup>1</sup>, Elena Procopio<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro di riferimento regionale per lo screening neonatale, IRCCS AOU di Bologna, UO Pediatria Pession, <sup>2</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, IRCCS AOU Meyer di Firenze, <sup>3</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, IRCCS AOU Meyer di Firenze, <sup>4</sup> UO Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Parma, <sup>5</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Biochimica e Farmacologia, IRCCS AOU Meyer di Firenze

---

### **Introduzione**

Le organico-acidurie (OA) costituiscono un'importante classe di errori congeniti del metabolismo intermedio caratterizzate dall'accumulo di acidi carbossilici, composti che possono essere rilevati mediante lo screening neonatale esteso (SNE).

### **Metodi**

In questo studio retrospettivo di coorte abbiamo indagato quattro OA frequenti, metilmalonico aciduria (MMA), isovalerico aciduria (IVA), propionico aciduria (PA) e glutarico aciduria tipo 1 (GA1), confrontando i pazienti dell'unità di Malattie Metaboliche di Firenze (nati in Toscana e Umbria) con i pazienti seguiti a Bologna (nati in Emilia-Romagna) nel periodo Gennaio 2011 - Dicembre 2022. Particolare attenzione è stata posta all'esordio clinico o laboratoristico ed alle complicanze nel follow-up.

### **Risultati**

23 pazienti (10 MMA, 5 PA, 5 IVA, 3 GA1) sono stati diagnosticati a Firenze e 7 (2 MMA, 2 IVA, 3 GA1) a Bologna. L'incidenza aggregata nelle 3 regioni è risultata: per MMA = 1 :68.000 ; per PA e IVA = 1 : 164.000 ; per GA-1: 1 : 136.000. Sette pazienti (4/4 MMA\_Mut0, 1/5 PA, 2/7 IVA) hanno presentato scompenso metabolico acuto (AMD) nell'intervallo fra 24 ore a 5 giorni dopo la nascita, prima dell'esito dello SNE. La durata dell'iperammoniemia, piuttosto che il picco massimo raggiunto sembra essere il principale fattore determinante l'outcome neurologico. Due pazienti sono deceduti: uno affetto da IVA al 7° giorno di vita per arresto cardiaco in corso di AMD e uno con PA a 26 mesi per cardiomiopatia dilatativa ipocinetica. Durante il follow-up, le complicanze più frequenti sono state neurologiche. I pazienti con IVA, insieme ad i MMA\_Mut -, presentano la prognosi migliore. Le complicanze cardiache, con maggiore impatto sulla prognosi, sono state riscontrate esclusivamente nei pazienti con PA. Il coinvolgimento neurologico è stato costantemente presente in tutti i casi di GA-1 con macrocrania alla nascita ed in 2/6 dei pazienti le classiche anomalie cerebrali erano già presenti nel periodo prenatale. In tutti i casi diagnosticati per familiarità, i marker biochimici erano risultavano positivi già al momento della nascita.

### **Conclusioni**

il presente studio conferma ulteriormente l'utilità dello SNE nella diagnosi di OA. Nello specifico, una diagnosi quanto più precoce sembra essere particolarmente importante per i fenotipi gravi. L'anticipazione del DBS nelle prime 24 ore, timing in cui i marker risultano essere già alterati, potrebbe evitare in alcuni casi l'AMD, riducendo morbilità e mortalità.

---

**ID: 47 - SCREENING NEONATALE ESTESO E DEFICIT MATERNO DI VITAMINA B12: DOSAGGIO DELLA COBALAMINA SU SIERO MATERNO NEL PRIMO SEMESTRE DI GRAVIDANZA** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Pina Sauro<sup>1</sup>, Laura Taggiasco<sup>1</sup>, Luiselda Foglia<sup>1</sup>, Varvara Guaraldo<sup>1</sup>, Alessandro Mussa<sup>1</sup>, Barbara Bortolaso<sup>1</sup>, Francesco Porta<sup>2</sup>, Veronica Pagliardini<sup>2</sup>, Marco Spada<sup>2</sup>, Enza Pavanello<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SS Screening prenatale e neonatale, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino, Italia, <sup>2</sup> SC Pediatria, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino, Italia

---

## INTRODUZIONE/BACKGROUND

La vitamina B12 (Cobalamina, Cbl) è una vitamina idrosolubile di origine animale, accumulabile solo in parte nell'organismo. La Cbl assunta con la dieta viene legata nello stomaco al Fattore Intrinseco (*CBLIF*), assorbita nell'ileo grazie al recettore del gene cubilina (*CUBN*, *AMN*), trasportata legata alla transcobalamina II (*TCII*) nel sangue fino al fegato, dove è successivamente legata al recettore TCII (*CD320*) mediante endocitosi. Viene scissa nei lisosomi dalla proteina di trasporto legata alla membrana (*LMBDI*, *ABCD4*) e preparata per il successivo processamento da parte di MMACHC: a livello intracellulare viene metabolizzata nelle forme attive adenosilCbl (AdoCbl) e metilCbl (MeCbl). Il difetto fetale di vitamina B12 può provocare alterazioni nello sviluppo del cervello, che possono portare anche ad atrofia cerebrale, e aumenta la probabilità dei difetti del tubo neurale come la spina bifida.

## METODI

Da gennaio 2022, sono stati analizzati in Spettrometria di Massa Tandem 37.321 *Dried Blood Spot* di neonati per il dosaggio della Propionilcarnitina (C3) e, nel caso di superamento del cut-off (C3 > 4 µM, circa 5% dei neonati), dell'Acido Metilmalonico (MMA) e dell'Omocisteina (HCY) al 2° Tier Test (2TT). Nelle madri dei neonati con 2TT positivo è stata determinata la Cbl sui sieri collezionati in occasione dei test di screening prenatali (11°-13° settimana per il Test Combinato, TC, e/o 15°-18° settimana per il Test Integrato, TI).

## RISULTATI

Sono stati identificati 5 neonati con incremento combinato di C3, MMA e/o HCY, i cui valori sono: C3 (µM) 4.77, 4.17, 4.34, 6.72, 5.43; MMA (µM) 18.5, 3.3, 12.3, 2.5, 7.3 (v.n. < 2,5 µM); HCY (µM) 4.3, 4.8, 13.2, 23.0, 39.9 (v.n. < 8 µM), rispettivamente. 4 madri avevano eseguito il TI e 1 sola il TC. In tutti i prelievi, la concentrazione media di Cbl è stata 176±27 ng/L, quindi inferiore alla norma (v.n. 300-950 ng/L). In particolare, 3/5 dosaggi del I trimestre e 2/4 del II trimestre sono risultati inferiori al LOQ (< 148 ng/L).

## DISCUSSIONE/CONCLUSIONI

L'inclusione dell'acidemia propionica e metilmalonica e dei difetti di rimetilazione nei programmi di Screening Neonatale Esteso impone la diagnosi differenziale con i difetti materni acquisiti di vitamina B12. Questo lavoro evidenzia come il difetto di B12 materno sia spesso presente nel I trimestre di gravidanza, suggerendo l'opportunità del dosaggio vitaminico in occasione dei controlli prenatali, al fine di poter intraprendere una terapia sostitutiva.

---

**ID: 48 - Progetto pilota per lo Screening della Iperplasia Surrenalica Congenita in Abruzzo** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Daniela Semeraro**<sup>1</sup>, Sara Verrocchio<sup>1</sup>, Mirco Zucchelli<sup>2</sup>, Damiana Pieragostino<sup>2</sup>, Ilaria Cicalini<sup>2</sup>, Maria Concetta Cufaro<sup>2</sup>, Maria Lucia Tommolini<sup>2</sup>, Rossella Ferrante<sup>3</sup>, Alberto Frisco<sup>2</sup>, Francesco Chiarelli<sup>4</sup>, Angelika Mohn<sup>4</sup>, Maurizio Aricò<sup>5</sup>, Luca Federici<sup>2</sup>, Liborio Stuppia<sup>3</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>2</sup>, Ines Bucci<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento DMSI, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, 66100 Chieti, Italy, <sup>2</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Dipartimento di Tecnologie Innovative in Medicina & Odontoiatria DTIMO, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, 66100 Chieti, Italy, <sup>3</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Dipartimento di Scienze Psicologiche, della Salute e del Territorio DiSPuTer, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, 66100 Chieti, Italy, <sup>4</sup> Clinica Pediatrica, Dipartimento di Medicina e Scienze dell'Invecchiamento DMSI, Università degli Studi "G. d'Annunzio" di Chieti-Pescara, 66100 Chieti, Italy, <sup>5</sup> Pediatria, Ospedale Spirito Santo, 66100 Pescara, Italy

---

## Introduzione

L'iperplasia surrenalica congenita (ISC) è una malattia autosomica recessiva secondaria a difetti della steroidogenesi; in più del 95% dei casi è causata da carenza dell'enzima 21-idrossilasi. Lo screening neonatale per ISC consente una diagnosi precoce riducendone morbilità e mortalità.

## Materiali e Metodi

Il laboratorio della Regione Abruzzo ha attivato, a giugno 2022, un progetto pilota per lo screening della ISC. L'adesione è volontaria e richiede il consenso informato. Il protocollo prevede: -1) misurazione del 17 $\alpha$ -idrossiprogesterone (17-OHP) su spot di sangue essiccato (DBS) prelevato a 48-72 ore dalla nascita (metodo immunofluorimetrico) -2) *second tier* sullo stesso DBS con analisi di 17-OHP, 21-deossicortisolo (21-S), androstenedione (4AS) e 11-deossicortisolo (11-S) Cortisolo (C) mediante cromatografia liquida-spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS) con calcolo del rapporto (17-OHP/4AS)/C -3) valutazione clinica specialistica e conferma diagnostica con profilo steroideo su plasma in LC-MS/MS per i neonati con positività al test di screening di primo livello e al *second tier*; -4) analisi mutazionale del gene CYP21A2 mediante MLPA. I valori di cut-off del 17-OHP al test di primo livello sono basati sull'età gestazionale. Sono previsti più prelievi per neonati prematuri/di basso peso/trasfusi/trattati con steroidi.

## Risultati

L'adesione al progetto pilota è stata alta e ha raggiunto il 99% a maggio 2023. Sono stati sottoposti a screening 7.236 neonati; per 258 è stato effettuato il *second tier*; la percentuale di positività al primo livello è risultata doppia nei prematuri rispetto ai neonati a termine. Per 15 neonati (in maggioranza prematuri) con *second tier* positivo è stato richiesto un secondo DBS con esito negativo alla ripetizione del test. Per 6 neonati è stata richiesta valutazione clinica specialistica e conferma diagnostica, nessuno è risultato affetto da ISC.

## Discussione

Il test di screening per ISC a due livelli (17-OHP e *second tier*), si conferma come strategia utile per ridurre la percentuale di falsi positivi. Stress perinatale e prematurità comportano un aumento del 17-OHP, ostacolando l'interpretazione del test; anche nella nostra esperienza è alta la percentuale di neonati pretermine con test di primo livello positivo. È necessario l'utilizzo di cut-off differenziati per più fasce di età gestazionale per primo e livello e *second tier* per ottimizzare l'efficienza del programma.

---

## **ID: 54 - Diagnosi precoce di deficit di ACOX1 in soggetto positivo allo screening neonatale per X-ALD**

luisella alberti<sup>1</sup>, eleonora bonaventura<sup>5</sup>, andrea meta<sup>1</sup>, maria iascone<sup>4</sup>, ilara bosio<sup>6</sup>, chiara montanari<sup>7</sup>, laura fiori<sup>3</sup>, elvira verduci<sup>8</sup>, luigina spaccini<sup>2</sup>, cristina cereda<sup>1</sup>, davide tonduti<sup>9</sup>, laura malerba<sup>10</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Riferimento regionale per lo Screening Neonatale, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milano, <sup>2</sup> Struttura Semplice di Genetica Medica, UOC Ostetricia e Ginecologia, Ospedale Vittore Buzzi ASST-FBF-Sacco, <sup>3</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei bambini Vittore Buzzi, Buzzi – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milano, <sup>4</sup> SSD Laboratorio di Genetica Medica, ASST-Papa Giovanni XXIII Bergamo, <sup>5</sup> Unit of Pediatric Neurology, V. Buzzi Childrens Hospital – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milan; C.O.A.L.A (Center for Diagnosis and Treatment of Leukodystrophies), <sup>6</sup> UO di Neonatologia e Terapia Intensiva Neonatale, Ospedale dei Bambini, ASST Spedali Civili di Brescia, <sup>7</sup> : Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei bambini Vittore Buzzi, Buzzi – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milano Dipartimento di Scienze biomediche e cliniche, Università degli studi di Milano , <sup>8</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei bambini Vittore Buzzi, Buzzi – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milano, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Milano , <sup>9</sup> Unit of Pediatric Neurology, V. Buzzi Childrens Hospital – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milan; C.O.A.L.A (Center for Diagnosis and Treatment of Leukodystrophies), Department of Biomedical and Clinical Sciences, University of Milano, <sup>10</sup> Unit of Child Neurology and Psychiatry, ASST-Spedali Civili of Brescia, Brescia, Italy

---

### **Introduzione/background**

Il deficit di acil-CoA ossidasi 1 disturbo della beta-ossidazione perossisomale degli acidi grassi grassi a catena molto lunga. Fino ad oggi sono stati descritti poco più di 30 pazienti, la presentazione clinica più frequente assomiglia alle forme intermedie di disturbi dello spettro Zellweger (ZSD). La malattia si verifica in presenza di mutazioni bialleliche inattivanti il gene ACOX1 ed è caratterizzata da ipotonia e convulsioni nel periodo neonatale e regressione neurologica nella prima infanzia. In una minoranza di pazienti sono state riportate anomalie dello sviluppo corticale, come si osserva nelle forme severe di ZSD. La diagnosi si basa sul riscontro di elevati livelli di VLCFA nel siero seguito dalla conferma molecolare. Lo screening neonatale per X-ALD, basato sulla determinazione di C26:0-LPC, ha evidenziato come soggetti affetti da ZSD potevano essere selezionati dal questo specifico programma di screening poichè biochimicamente positivi ma con analisi genetica di ABCD1 negativa.

### **Metodi**

Il percorso di screening neonatale in corso presso il nostro Centro per i nati in Regione Lombardia prevede, per gli individui in cui non sia stata identificata alcuna variante ABCD1, l'analisi dei geni responsabili delle forme in diagnosi differenziale (disturbi del metabolismo perossisomale e sindrome di Aicardi Goutières).

### **Risultati**

Riportiamo il caso di un soggetto selezionato allo screening neonatale per X-ALD risultato positivo sia al primo livello, FIA-MS/MS, sia al secondo livello, UHPLC-MS/MS, ma negativo all'analisi genetica di ABCD1. Sin dai primi giorni di vita il bambino presentava un quadro neurologico caratterizzato da una sindrome ipotonica generalizzata normoreflessica e normostenica in presenza di normali indici di funzionalità epatica e renale, ecografia addominale normale. La RMN dell'encefalo ha messo in evidenza un'estesa malformazione dello sviluppo corticale.

### **Discussione/conclusioni**

L'esame ha permesso di identificare nel nostro paziente uno stato di eterozigosi composta a carico di ACOX1, porre diagnosi precoce di malattia perossisomale "ZSD-like" -fenotipo severo/intermedio e avviare rapidamente una presa in carico multidisciplinare mirata. L'ampliamento del pannello di screening a X-ALD consentirebbe di identificare precocemente anche queste patologie rare, al momento senza cura e non sempre di facile diagnosi evitando l'odissea diagnostica e permettendo un counseling genetico tempestivo alla famiglia

---

**ID: 56 - Screening Neonatale dell'Iperplasia Surrenalica Congenita: risultati degli ultimi 10 anni in Lombardia** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Laura Cappelletti<sup>1</sup>, Simona Lucchi<sup>1</sup>, Luisella Alberti<sup>1</sup>, Lorenza Cannella<sup>1</sup>, Silvia Meroni<sup>2</sup>, Gianni Russo<sup>2</sup>, Cristina Cereda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Riferimento regionale per lo Screening Neonatale, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi – ASST Fatebenefratelli-Sacco Milano, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Unità di Endocrinologia, IRCCS S. Raffaele, Milano

---

## INTRODUZIONE

L'Iperplasia Surrenalica Congenita (ISC) rappresenta un gruppo di patologie ereditarie monogeniche, autosomiche recessive, causate dall'assente o ridotta attività di uno degli enzimi coinvolti nella biosintesi del cortisolo. In particolare, i difetti enzimatici più frequenti interessano gli enzimi 21-idrossilasi (21-OHD) (90-95% dei casi) e 11 $\beta$ -idrossilasi (5-8% dei casi). Per quanto riguarda il deficit di 21-OHD, si distinguono una forma classica, caratterizzata da segni di virilizzazione e/o perdita di sali, e una forma non classica nella quale il deficit enzimatico è solo parziale. L'incidenza varia in base all'etnia e all'area geografica; la prevalenza media di forme classiche riportata in letteratura è di circa 1:15.000 neonati. In Lombardia lo Screening Neonatale per ISC è stato avviato il 1° ottobre 2005.

## METODI

Lo Screening per ISC viene eseguito su Dried Blood Spot (DBS) ottenuto mediante puntura del tallone del neonato e consiste nella determinazione di 17-alfa-idrossiprogesterone (b-17OHP) con metodo fluoroimmunologico. Sono stati valutati i risultati degli ultimi 10 anni.

## RISULTATI

Complessivamente in regione Lombardia dal 1° gennaio 2013 al 31 dicembre 2022 sono stati sottoposti a screening per ISC 788.605 neonati e sono stati individuati 44 neonati affetti dalla forma classica di ISC da 21-OHD, di cui 27 maschi (61.4%) e 17 femmine (38.6%). In particolare, alla diagnosi 22 neonati presentavano la forma virilizzante semplice mentre 17 neonati mostravano perdita di sali e segni di virilizzazione. In 5 casi non erano presenti alterazioni evidenti. Dai dati ottenuti ne deriva un'incidenza della patologia, valutata su un arco temporale di dieci anni, pari a 1: 17.923 con un tasso di 4,4 nuovi casi per anno.

## CONCLUSIONI

L'ISC da 21-OHD è una patologia congenita rara, ma potenzialmente fatale se non prontamente riconosciuta e trattata. Lo Screening neonatale mediante determinazione di b-17OHP, in Lombardia, ha permesso l'identificazione precoce e quindi un intervento tempestivo nei 44 neonati identificati, per questo sarebbe importante che venisse eseguito in tutta Italia. L'incidenza riscontrata in Lombardia negli ultimi 10 anni è paragonabile a quella riportata in letteratura.

---



**ID: 59 - Approccio di metabolomica aperta per la caratterizzazione di pathway molecolari associati alla malattia di Gaucher** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Silvia Valentinuzzi<sup>1</sup>, Ilaria Cicalini<sup>1</sup>, Maria Concetta Cufaro<sup>1</sup>, Mirco Zucchelli<sup>1</sup>, Rossella Ferrante<sup>1</sup>, Carlotta Buccolini<sup>1</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>, Maurizio Aricò<sup>2</sup>, Liborio Stuppia<sup>1</sup>, Piero Del Boccio<sup>1</sup>, Luca Federici<sup>1</sup>, **Damiana Pieragostino**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center for Advanced Studies and Technology (CAST), "G. d'Annunzio" University of Chieti-Pescara, Italy, <sup>2</sup> Pediatria P.O. Ospedale di Pescara, Azienda Sanitaria Locale Pescara, Italia

---

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 metabolomica "untargeted" per lo studio dei profili biomolecolari. Infatti la caratterizzazione omica del DBS può aprire nuove strade alla comprensione molecolare di malattie rare per le quali le conoscenze sono scarse e i trattamenti limitati allo stato attuale, come le malattie da accumulo lisosomiale (LSD). In questo lavoro uno studio di metabolomica untargeted è stato utilizzato per caratterizzare il DBS di un paziente con malattia di Gaucher conclamata, rispetto al fratello eterozigote e clinicamente sano. Il DBS del paziente ha mostrato attività enzimatica della Glucosidasi Acida ridotta (ABG activity=0.38  $\mu\text{mol/L/h}$ , cut-off 3,89  $\mu\text{mol/L/h}$ ) e accumulo importante di glucosil-sfingosina (LysoGb1) = 833.4 nM (cut-off<31.1 nM). Il caso è stato caratterizzato anche da un punto di vista genetico e mostra un genotipo omozigote c.[1448T>C];[1448T>C]. Il fratello usato come controllo mostra un genotipo eterozigote c.[1448T>C];[=], attività ABG nella norma e livelli normali di LysoGb1. I due campioni DBS, di paziente e fratello, sono stati sottoposti ad analisi di metabolomica untargeted mediante UHPLC-Orbitrap-MS, rivelando più di 3000 composti, di cui numerosi differenziali tra Gaucher in omozigosi ed eterozigosi. Tali dati sono stati analizzati mediante il tool bioinformatico Ingenuity Pathways Analysis (IPA) al fine di ricostruire le implicazioni funzionali dei pathway molecolari evidenziati ed il loro possibile coinvolgimento nella malattia. I principali risultati messi in luce dall'analisi bioinformatica hanno evidenziato la modulazione di diversi pathway metabolici implicati nella malattia. Questo studio omico da DBS rappresenta uno strumento efficace per la scoperta di biomarcatori nella caratterizzazione delle LSD, aiutando a comprendere i meccanismi molecolari sottesi all'espressione fenotipica sfruttabili da un punto di vista diagnostico, prognostico e per nuovi approcci terapeutici.

---

## **ID: 73 - Relazione tra deficit di vitamina B12 evidenziato allo screening neonatale e valori di creatina nella diade -mamma bambino nelle prime epoche di vita**

Laura Fiori<sup>1</sup>, Chiara Montanari<sup>2</sup>, **Veronica Maria Tagi**<sup>1</sup>, Mirko Gambino<sup>1</sup>, Luisella Alberti<sup>3</sup>, Cristina Cereda<sup>3</sup>, Eleonora Bonaventura<sup>4</sup>, Davide Tonduti<sup>5</sup>, Gianvincenzo Zuccotti<sup>2</sup>, Elvira Verduci<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, <sup>3</sup> Laboratorio di genomica funzionale e malattie rare, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, <sup>4</sup> U.O.C. Neurologia Pediatrica – Centro per la diagnosi e il trattamento delle leucodistrofie e delle leucoencefalopatia metaboliche (COALA), Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, <sup>5</sup> U.O.C. Neurologia Pediatrica – Centro per la diagnosi e il trattamento delle leucodistrofie e delle leucoencefalopatia metaboliche (COALA), Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, <sup>6</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Milano, Milano

---

### **Introduzione**

L'intake di creatina (Cr), contenuta in alimenti di origine animale, è ridotto in soggetti vegani o vegetariani. I substrati della via endogena di sintesi della Cr sono arginina, glicina e metionina. Un deficit di vitamina B12 (cofattore della metionina sintasi), comune in vegani e vegetariani, determina un'alterata produzione di metionina potendo concorrere a una riduzione del valore di Cr. Lo Screening Neonatale Esteso (SNE) permette di evidenziare un deficit di vitamina B12 materno-neonatale attraverso il dosaggio di specifici metaboliti. Una dieta carente di alimenti di origine animale in gravidanza e allattamento, oltre che causare nel neonato un deficit di vitamina B12, potrebbe determinare anche livelli subottimali di Cr. Lo scopo del lavoro è stato valutare i livelli di Cr nella diade mamma-bambino segnalati allo screening neonatale per deficit di vitamina B12.

### **Metodi**

E' stata valutata la concentrazione di Cr con spettrometria di massa tandem su dried blood spot di 35 neonati durante la prima visita (T0) a circa 20 giorni di vita, successivamente alla segnalazione. Sono stati confrontati i valori di Cr con quelli di 36 neonati sani e delle relative madri. Dopo adeguato counseling nutrizionale e supplementazione con vitamina B12 ai neonati e alle madri, è stato raccolto un secondo campione a distanza di 1 mese (T1) in 18 pazienti.

### **Risultati**

Il valore medio di Cr dei pazienti (180,11  $\mu\text{M/l}$ , ds 109,05) è risultato significativamente inferiore rispetto al valore medio dei controlli (221,91  $\mu\text{M/l}$ , ds 51,22) con una notevole dispersione dei valori di creatina nel gruppo pazienti. I valori di Cr sono aumentati in maniera statisticamente significativa da T0 (145,78  $\mu\text{M/l}$ , ds 38,26) a T1 (209,96  $\mu\text{M/l}$ , ds 76,51) (p-value 0,0217). Non è stata evidenziata una differenza statisticamente rilevante ( $p > 0,05$ ) tra i valori dei pazienti e quelli delle madri.

### **Discussione e conclusioni**

Il riscontro di valori di Cr significativamente inferiori nei pazienti allattati al seno, figli di madri a dieta prevalentemente vegetariana e richiamati allo SNE per un deficit di B12, potrebbe sottendere sia un deficit di disponibilità di Cr, sia in gravidanza che in allattamento, sia un deficit di sintesi endogena di metionina e conseguentemente di Cr postnatale dovuto al deficit di B12. La Cr potrebbe rappresentare un marker facilmente dosabile del deficit di B12. Ulteriori studi sono necessari per definirne l'attendibilità e gli eventuali cut-off per età.

---

## **ID: 86 - Separazione di composti isobarici isovalerilcarnitina, metilbutirilcarnitina e pivaloilcarnitina come second-Tier test per valori aumentati di C5-acilcarnitina**

Elena Porcù<sup>1</sup>, Paolo Miglioranza<sup>1</sup>, Maria Stornaiuolo<sup>1</sup>, Michela Bertan<sup>1</sup>, Elisa Lusiani<sup>1</sup>, Alice Saracini<sup>1</sup>, Latoszek Martina<sup>1</sup>, Burlina Alberto<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche Ereditarie - Centro Interregionale Screening Neonatale Esteso Azienda Ospedale-Università di Padova, Padova, Italy

---

### **INTRODUZIONE/BACKGROUND**

Nello screening neonatale esteso, livelli aumentati del marcatore C5-acilcarnitina possono essere associati a cause genetiche quali Acidemia isovalerica (IVA) e deficit di Acil-CoA deidrogenasi a catena corta/ramificata (SBCADD), o cause esogene quali l'assunzione di acido pivalico, generando un elevato numero di richiami. Recenti studi hanno ipotizzato che l'applicazione di un second-tier test (2TT) nei casi con C5 elevato consente la separazione dei composti isobarici isovalerilcarnitina (IVC), 2-metilbutirilcarnitina (2MBC) e pivaloilcarnitina (PC). Presentiamo i risultati dell'introduzione di un 2TT per valori elevati di C5-acilcarnitina nel percorso diagnostico dello screening metabolico esteso.

### **METODI**

Presso il laboratorio del centro Interregionale per lo screening neonatale esteso dell'Azienda Ospedale-Università di Padova sono stati esaminati con metodica flow-injection FIA-MS/MS 30 campioni che presentavano livelli elevati di C5 nello spot di sangue (DBS). In tutti i campioni sono stati quantificati i composti isobarici mediante separazione cromatografica e sono stati inoltre valutati 500 DBS anonimi per la definizione di valori di riferimento.

### **RISULTATI**

I valori di riferimento (v.r.) ottenuti su DBS sono stati i seguenti: C5 = 0,04-0,35 µmol/L, IVC = 0,02-0,20 µmol/L, 2MBC = 0,01-0,16 µmol/L. Nei DBS di pazienti con diagnosi di IVA, i valori di C5 = 2,1-19,6 µmol/L e IVC = 2,0-18,5 µmol/L evidenziano una significativa separazione rispetto ai v.r. e ai valori elevati dovuti a cause esogene (C5 = 0,35-0,85 µmol/L, IVC = 0,25-0,76 µmol/L) ( $p < 0,05$ ). Nei DBS dei pazienti con SBCADD, i valori di C5 (C5 = 0,43-0,80 µmol/L) non sono discriminanti rispetto ai valori di falsi positivi (C5 = 0,35-0,85 µmol/L), mentre valutando la presenza della 2MBC possiamo individuare positivi per SBCADD (2MBC = 0,36-0,73 µmol/L) da falsi positivi (2MBC = 0,01-0,24 µmol/L). Nei DBS di neonati con contaminazione da acido pivalico i valori di C5 sono elevati (1,99 µmol/L), ma è presente la PC (PC = 1,97 µmol/L) che permette di distinguere chiaramente questa condizione rispetto alle forme genetiche.

### **DISCUSSIONE/CONCLUSIONI**

Nei DBS con C5 elevata, l'introduzione del 2TT con valutazione quantitativa di isovalerilcarnitina, 2-metilbutirilcarnitina e pivaloilcarnitina, ha permesso di identificare soggetti a rischio di malattia (IVA e SBCADD) da falsi positivi, con una forte diminuzione del numero di richiami.

---

## **ID: 96 - LO SCREENING NEONATALE DELL'ATROFIA MUSCOLARE SPINALE IN PIEMONTE E VALLE D'AOSTA: IL PROGETTO PILOTA NeoSMA** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Federica Ricci**<sup>1</sup>, Rossella D Alessandro<sup>1</sup>, Antonina Rinninella<sup>2</sup>, Lelio Sciulli<sup>2</sup>, Marco Barberis<sup>2</sup>, Luca Sbaiz<sup>2</sup>, Pina Sauro<sup>3</sup>, Luiselda Foglia<sup>3</sup>, Enza Pavanello<sup>3</sup>, Marco Spada<sup>4</sup>, Barbara Pasini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SC Neuropsichiatria Infantile U, Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Ospedale infantile Regina Margherita, Università degli Studi di Torino, Italia, <sup>2</sup> SC Genetica Medica U, Città della Salute e della Scienza, Torino, Italia, <sup>3</sup> SS Screening Prenatale e Neonatale, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino, Italia, <sup>4</sup> SC Pediatria, Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino, Italia

---

### **INTRODUZIONE/BACKGROUND**

L'atrofia muscolare spinale (SMA 5q) è una malattia genetica rara autosomica recessiva, caratterizzata da progressiva debolezza e atrofia muscolare per degenerazione degli  $\alpha$ -motoneuroni, con incidenza di circa 1:6-10.000 nati vivi. Il 97-98% dei casi è caratterizzato dall'assenza dell'esone 7 del gene *SMN1* per delezione o conversione genica biallelica, mentre la restante parte presenta varianti patogenetiche puntiformi. Il progetto NeoSMA ha lo scopo di effettuare la diagnosi precoce della SMA nei neonati di Piemonte e Valle d'Aosta, così da somministrare tempestivamente trattamenti specifici ed efficaci che portano a prognosi migliori, secondo il concetto che "il tempo è motoneurone".

### **METODI**

Da novembre 2022 è prevista la raccolta tra le 48-72 ore di vita di un 2° *Dried Blood Spot* (DBS) presso i 22 centri nascita aderenti, previa acquisizione di consenso informato dei genitori. I DBS dedicati sono consegnati presso il Centro di Riferimento Regionale per lo Screening Neonatale Allargato e indi inviati alla Struttura di Genetica Medica per l'esecuzione del test genetico. Il *Lamp SMA detection KIT-LaCar* prevede la lisi diretta di una parte di DBS, seguita da amplificazione isoterma mediata da loop. La presenza dell'esone 7 di *SMN1* è determinata in un successivo step di *annealing* dei prodotti amplificati e il test ne consente la rilevazione, insieme all'eventuale presenza dello SNP c.840C>T responsabile della conversione genica, con una DR del 95-98%. In caso di risultato positivo, l'analisi viene ripetuta sullo stesso campione. La conferma diagnostica è eseguita tramite *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* su DNA estratto da sangue periferico, che conferma la delezione/conversione genica di *SMN1* e definisce il numero di copie di *SMN2*, che è il principale fattore prognostico rispetto al fenotipo e risulta determinante, in associazione alla clinica, nell'orientare le tempistiche del trattamento dei neonati positivi.

### **RISULTATI**

In 7 mesi sono stati esaminati per la SMA circa 8.890 campioni, senza identificare casi positivi. In nessun caso si è reso necessario ripetere il prelievo per materiale non idoneo.

### **DISCUSSIONE/CONCLUSIONI**

Le nuove terapie per la SMA mostrano risultati promettenti se somministrate nei primi mesi di vita, pertanto lo screening neonatale è essenziale per il tempestivo riconoscimento degli affetti, in modo da massimizzare i risultati terapeutici, prolungare l'aspettativa di vita e migliorarne la qualità.

---

**ID: 103 - Citrullinemia tipo I: tre casi con fenotipo mild identificati allo Screening Neonatale Esteso in Sicilia Orientale** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Luisa La Spina<sup>1</sup>, Maria Anna Messina<sup>1</sup>, Riccardo Iacobacci<sup>1</sup>, Federica Raudino<sup>1</sup>, Maria Grazia Pappalardo<sup>2</sup>, Annamaria Sapuppo<sup>1</sup>, Catia Cavicchi<sup>3</sup>, Lorenzo Ferri<sup>3</sup>, Amelia Morrone<sup>3</sup>, Francesca Romana Lepri<sup>4</sup>, Barbara Siri<sup>5</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>5</sup>, Martino Ruggieri<sup>6</sup>, Concetta Anna Maria Romana Meli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.S. Screening Neonatale e Malattie Metaboliche, U.O. Clinica Pediatrica, AOUP "G. Rodolico-San Marco", Catania, <sup>2</sup> Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università degli Studi di Catania, <sup>3</sup> Laboratorio Biologia Molecolare, Mal Neuromet, AOU Meyer, Firenze, <sup>4</sup> U.O.S. di Genetica Medica, OPBG, Roma, <sup>5</sup> U.O.C. di Malattie metaboliche, OPBG, Roma, <sup>6</sup> U.O. Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Catania, AOUP "G. Rodolico - San marco", Catania

---

## Background/Introduzione

La citrullinemia tipo I (CTLN1, #215700) è un raro errore congenito del ciclo dell'urea, trasmesso con modalità autosomico-recessiva e causato da varianti patogenetiche nel gene *ASS1*. Si distinguono una forma neonatale, caratterizzata da grave iperammoniemia e conseguente decesso del neonato o gravi esiti neurologici, e una forma mild ad esordio tardivo con sintomi più lievi che possono insorgere ad età e per cause variabili. Sono state riportate anche donne con scompenso metabolico acuto durante la gravidanza o nell'immediato post-partum e soggetti adulti completamente asintomatici. La diagnosi è sospettata in presenza di aumentati livelli di Citrullina (Cit) ematica con o senza iperammoniemia e confermata mediante analisi genetico-molecolare.

## Metodi

Riportiamo 3 casi di mild CTLN1 diagnosticati allo SNE in Sicilia Orientale dal Dicembre 2017 a Maggio 2023.

## Risultati

I valori di Cit allo SNE erano 832  $\mu\text{mol/L}$ , 387  $\mu\text{mol/L}$  e 58  $\mu\text{mol/L}$  (v.n. < 26  $\mu\text{mol/L}$ ). Al richiamo 3/3 erano asintomatici e con normale ammoniemia. Allo svezzamento 1/3 ha presentato vomito e soffre dopo carico proteico ed è in trattamento con glicerolofenilbutirrato. 2/3 proseguono dieta libera o lieve restrizione delle proteine animali; di questi 1/2 assume arginina. 3/3 mantengono normali livelli di ammonio. In un caso è stata posta diagnosi in un fratello maggiore asintomatico, a dieta libera, con normali livelli di ammonio e valori di Cit pari a 1138  $\mu\text{mol/L}$ . L'analisi genetico-molecolare in NGS del gene *ASS1* ha mostrato: 1/3 eterozigosi composta c.535T>C (probabilmente patogenetica) e c.835C>T (patogenetica), 1/3 omozigosi per la variante di splicing c.77349C>T, 1/3 3 eterozigosi composta c.298C>T (probabilmente patogenetica) e c.1168G>A (patogenetica).

## Conclusioni

Lo SNE ha permesso di identificare in Sicilia Orientale forme mild di CTLN1 che probabilmente sarebbero rimaste non diagnosticate eccetto che in corso di scompenso metabolico acuto. Al follow-up 1 pz ha necessitato di iniziare tp scavenger e 1 pz integrazione con arginina; tutti proseguono dieta libera o con lieve restrizione delle proteine animali con buona qualità di vita. Riteniamo che individuare precocemente tali forme di CTLN1 sia utile al fine di evitare o prevenire scompensi metabolici acuti e iperammoniemia nel corso della vita ed in particolari momenti di stress per l'organismo come un intervento chirurgico o il parto.

---

## **ID: 107 - Screening neonatale per la malattia di Krabbe e il deficit di sfingomielina acida: i risultati di un progetto pilota**

Vincenza Gragnaniello<sup>1</sup>, Daniela Guerardi<sup>1</sup>, Andrea Puma<sup>1</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Christian Loro<sup>1</sup>, Elena Porcù<sup>1</sup>, Maria Stornaiuolo<sup>1</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Division of Inherited Metabolic Diseases, University Hospital of Padua, Italy

---

### **Introduzione**

Lo screening neonatale (SN) per le malattie lisosomiali (LSD) è metodica diagnostica ormai consolidata, data la disponibilità di efficaci metodologie di laboratorio e terapie. Lo SN per la malattia di Krabbe è stato introdotto nello stato di New York nel 2006 ed è ora attivo in 11 Stati. Lo screening per il deficit di sfingomielinasi acida (ASMD) è limitato a progetti pilota, anche in Europa (Ungheria e Austria). Nel Triveneto dal 2015 è attivo per legge regionale lo SN di 4 LSD: Pompe, Fabry, Gaucher e MPS I, mentre come progetto pilota sono state ricercate anche la malattia di Krabbe e l'ASMD.

### **Materiali e metodi**

Dal 2015 al maggio 2023 abbiamo analizzato 240,020 DBS, con un kit multiplex (PerkinElmer®) per la malattia di Pompe, Gaucher, Fabry, Krabbe, ASMD e MPS I, mediante MS/MS. Second tier test (2TT) sono stati introdotti, quando l'attività enzimatica risultava inferiore al cutoff (0.2 MoM). In caso di ASMD è dosata la lisosfingomielina (LysoSM), in caso di malattia di Krabbe è stata valutata la psicosina, entrambe su DBS.

### **Risultati**

ASMD: Un campione ha presentato ridotti livelli di sfingomielinasi e elevati livelli di LysoSM (attività ASMD 0,53 umol/h, vn >1,2; LysoSM 135,6 nmol/L, vn < 112,8). La diagnosi è stata confermata presso un altro Centro, con un'incidenza di 1: 240,020. Malattia di Krabbe: 5 neonati hanno presentato una ridotta attività della galattocerebrosidasi (0,15-0,32 umol/l) e presenza di psicosina su DBS. I pazienti 1 e 2 sono risultati portatori eterozigoti, con psicosina plasmatica nella norma. Il paziente 3 ha presentato una variante compatibile con una forma non infantile precoce (p.Ser259Leu p.Ile384Thr). Il follow-up (18 mesi) mostra uno sviluppo regolare, con psicosina plasmatica e liquorale rispettivamente di 1,55 nmol/l e assente, e risonanza magnetica nella norma. Due pazienti hanno presentato una forma infantile precoce: paziente 4 (p.GlyAspfs\*6) con psicosina plasmatica di 13,83 nmol/l, paziente 5 (omozigote p.Tyr174Leufs\*3) con psicosina su plasma di 13,30 nmol/l e su liquor di 8,08 nmol/l. La paziente 5 è stata avviata a TSCE, effettuato a 90 giorni di vita, la paziente 4 è deceduta per comorbidità con trisomia del cromosoma 18. L'incidenza della malattia è risultata 1:80.000 (forma infantile precoce 1: 120.000).

### **Conclusioni**

Lo SN per l'ASMD e la malattia di Krabbe è tecnicamente fattibile nel pannello delle LSD, ma necessita dell'introduzione del 2TT per migliorare l'efficacia diagnostica.

---

## **ID: 112 - IL NUOVO RUOLO DELLA GENETICA NELLO SCREENING NEONATALE ESTESO: DALLA CONFERMA DIAGNOSTICA ALL'IMPATTO PSICOLOGICO SULLE FAMIGLIE**

**Giulia Rodella**<sup>1</sup>, Eleonora Carlesso<sup>2</sup>, Sarah Carcereri<sup>3</sup>, Alice Dianin<sup>4</sup>, Silvia Coacci<sup>4</sup>, Guido Zago<sup>5</sup>, Margherita Lucia De Bernardi<sup>6</sup>, Irene Monge<sup>3</sup>, Irene Cunial<sup>3</sup>, Leonardo Salviati<sup>7</sup>, Andrea Pasini<sup>8</sup>, Florina Ion Popa<sup>8</sup>, Natascia Camprostrini<sup>8</sup>, Monica Vincenzi<sup>8</sup>, Francesca T Teofoli<sup>8</sup>, Marta Camilot<sup>8</sup>, Angelo Pietrobelli<sup>1</sup>, Giorgio Piacentini<sup>1</sup>, Andrea Bordugo<sup>4</sup>

<sup>1</sup> UOC Pediatria C, Dipartimento Materno Infantile, Azienda ospedaliera Università Integrata Verona, <sup>2</sup> Università Degli Studi di Verona Scuola di Medicina e Chirurgia, <sup>3</sup> Associazione Italiana Sostegno Malattie Metaboliche Ereditarie APS, <sup>4</sup> UOS Malattie Metaboliche Ereditarie, Dipartimento Materno Infantile, Azienda Ospedaliera Università Integrata Verona, <sup>5</sup> Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Dentistiche, Ginecologia, Università di Medicina, Verona, <sup>6</sup> UOC Ginecologia e Ostetricia, Dipartimento Materno Infantile, Azienda ospedaliera Università Integrata, Verona, <sup>7</sup> Unità di Genetica Clinica, Azienda Ospedaliera Università Integrata, Verona, <sup>8</sup> Centro Regionale per lo Screening Neonatale, UOC Pediatria C, Azienda Ospedaliera Università Integrata, Verona

---

### **Background**

Lo screening neonatale esteso permette di diagnosticare più di 40 malattie metaboliche ereditarie. La fase della conferma diagnostica è fondamentale per definire i casi realmente positivi e quelli che invece non lo sono (falsi positivi) L'analisi genetica sta assumendo un ruolo sempre più importante nella fase di conferma diagnostica e di conseguenza anche negli aspetti legati alla comunicazione e all' impatto psicologico.

### **Metodi e Risultati**

Dal 01/01/2014 al 31/12/2022 372120 neonati delle regioni Veneto, Friuli Venezia Giulia( 2014-2015), Bolzano( dal 2017) e Trento(dal 2022) sono stati sottoposti a screening neonatale esteso. Di questi 328 sono stati richiamati per conferma diagnostica con diagnosi confermata anche geneticamente in 169 di questi( 153 falsi positivi e 6 neonati con genetica ancora in corso) Le diagnosi più rappresentate i disturbi degli aminoacidi(34%), disturbi delle vitamine e cofattori(30%), disturbi della beta ossidazione degli acidi grassi(28%) e disturbi dei carboidrati(8%). Nei 153 falsi positivi la genetica è risultata negativa in 29, ha identificato 50 portatori sani, 2 VUS e 5 neonati con p.(Asp444His) omozigoti( BTD). In 67 non è stato necessario eseguire lo studio genetico per escludere il sospetto. La tempistica di attesa per test genetico varia da 7 giorni a 366 giorni a seconda del laboratorio. Per quanto riguarda l'impatto psicologico sono stati sottoposti retrospettivamente a IES-R test, 30 genitori di neonati veri positivi (VP) e 18 genitori di falsi positivi(FP) per un totale di 48. Valori di score  $> 0 = a 33$  sono predittivi di PTSD( Disturbo da Stress Post Traumatico). La valutazione delle medie dei valori di score dei due gruppi con T Student non ha evidenziato differenze statisticamente significative tra i due, pur essendo presenti in entrambi i gruppi genitori con valori patologici( 10/30, VP e 3/18, FP).

### **Conclusioni**

L'applicazione dello IES Test ha individuato genitori con punteggi patologici anche se non vi è differenza statisticamente significativa tra veri e falsi positivi. Questo potrebbe essere anche collegato ad affinamento delle tecniche di comunicazione. L'analisi genetica tramite NGS come second tier potrebbe contrarre i numeri dei falsi positivi richiamati con riduzione degli IES score, accorciare i tempi di diagnosi per i veri positivi e permettere di discriminare le forme lievi evitando prese in carico troppo aggressive dal punto di vista terapeutico.

---

## **ID: 121 - Screening neonatale esteso: lesperienza di Torino**

**Damiano Mala**<sup>1</sup>, Francesco Porta<sup>1</sup>, Pina Sauro<sup>2</sup>, Enza Pavanello<sup>2</sup>, Veronica Pagliardini<sup>1</sup>, Sara Giorda<sup>1</sup>, Varvara Guaraldo<sup>2</sup>, Marco Spada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SC Pediatria, Malattie Metaboliche, AOU Città della Salute e della Scienza, Università di Torino, <sup>2</sup> Centro Screening neonatale, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino

---

### **Background**

Lo Screening Neonatale Esteso (SNE) è lo strumento più efficace per l'identificazione delle Malattie Metaboliche Ereditarie (MME). L'introduzione dello SNE in Piemonte e Valle d'Aosta risale al 2017.

### **Metodi**

Nel periodo 2017-2022, sono stati screenati 147.075 neonati.

### **Risultati**

L'incidenza totale delle MME è risultata 1:1149 nati (n=128). Tra le 47 condizioni metaboliche indagate dallo SNE è stato quindi possibile determinare un'incidenza per le quattro condizioni indagate già prima dell'introduzione dello SNE (PKU, HPA, BTM, GAL), per cinque disturbi del metabolismo e del trasporto degli aminoacidi (MSUD, GA I, CblC-D, 2MBG, 3MCC), per un disturbo del ciclo dell'urea (CIT1) e per cinque alterazioni congenite del metabolismo delle lipoproteine (CPT Ia, CPT II, VLCAD, MCAD, SCAD). È stato inoltre possibile identificare alcune condizioni escluse dal decreto di riferimento, due casi di deficit di ornitina transcarbamilasi (OTC-D), un caso di iperglicinemia non chetotica (NKH) e un caso di acidemia combinata malonica e metilmalonica (cMAMMA)(ntot=132). Per le MME ad "elevato rischio" di scompenso metabolico è stata calcolata un'incidenza di 1:1671 (n=88; 67%). È stato possibile individuare anche altri 97 casi così suddivisi: 58 forme transitorie fra galattosemia e tirosinemia (1:2400), 18 pazienti eterozigoti (1:7700) di cui 17 difetti della  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi e 1 metilcrotonilglicinuria, infine 21 forme "ambientali" (1:6300) causate da deficit materno di carnitina (n=9) e da deficit materno di vitamina B12 (n=12).

### **Conclusioni**

Il nostro studio dimostra come lo SNE sia uno strumento cruciale ed irrinunciabile per la diagnosi precoce delle MME ad elevato rischio clinico (circa 18 casi l'anno) e per la corretta gestione terapeutica. Questa Tesi di Laurea quindi evidenzia che lo SNE rappresenta attualmente il principale strumento di prevenzione secondaria della pediatria moderna. Si auspica pertanto che tale metodica venga implementata a livello nazionale includendo nuove condizioni metabolicamente rilevabili e trattabili.

---



## **ID: 124 - Quadri patologici caratterizzati da ipermetioninemia (iperMET) diagnosticati mediante Screening Neonatale Esteso (SNE): esperienza di un Centro Regionale di Screening Neonatale**

Valeria Di Natale<sup>1</sup>, Egidio Candela<sup>1</sup>, Rita Ortolano<sup>1</sup>, Federico Baronio<sup>1</sup>, Valentina Assirelli<sup>1</sup>, Francesca Righetti<sup>1</sup>, Annalisa Lonetti<sup>1</sup>, Giacomo Biasucci<sup>2</sup>, Catia Cavicchi<sup>3</sup>, Amelia Morrone<sup>3</sup>, Alessandra Cassio<sup>1</sup>, Andrea Pession<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di Riferimento Regionale per lo Screening Neonatale, IRCCS-AOU di Bologna, UO Pediatria Pession, <sup>2</sup> UO Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza - Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Parma, <sup>3</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze

---

### **INTRODUZIONE**

Nel pannello di patologie identificabili mediante SNE sono incluse le aminoacidopatie caratterizzate da iperMET. In letteratura vi è carenza di dati relativi ai pazienti (pz) con iperMET diagnosticati mediante SNE. Il nostro studio si pone l'obiettivo di valutare la frequenza di iperMET da SNE nel nostro Centro, la validità dell'algoritmo diagnostico, la frequenza e le caratteristiche dei pz con diagnosi genetica.

### **METODI**

Sono stati analizzati i dati relativi a 348 pz richiamati allo SNE per iperMET nella Regione Emilia-Romagna dall'1/3/2011 al 31/12/2022. L'iperMET è stata definita per valori  $\geq 45 \mu\text{mol/L}$  nei pz con peso neonatale (PN)  $>1800 \text{ g}$  e  $\geq 92 \mu\text{mol/L}$  per PN  $\leq 1800 \text{ g}$ . Il second tier test (2TT) è stato considerato positivo in caso di omocisteina  $>5 \mu\text{mol/L}$ . Soltanto i pz con iperMET persistente o con 2TT positivo, sono stati convocati e sottoposti agli esami di conferma diagnostica e ad analisi genetica specifica.

### **RISULTATI**

IperMET è stata riscontrata nello 0,08% (348/420.744) dei neonati sottoposti a SNE. Nel 98% dei casi (341) la MET si è normalizzata ai successivi controlli ed i principali fattori associati sono risultati la nutrizione parenterale totale (NPT) (58%), la prematurità (57%) e il PN  $<1500 \text{ g}$  (24%). Escludendo tali 3 fattori, i pz con iperMET transitoria sono risultati 68. Nel gruppo di pz in cui l'iperMET non si è confermata ai successivi controlli (341), il valore medio di MET è risultato significativamente più elevato per pz con EG  $<32 \text{ w}$  ( $120,75 \pm 65,77 \mu\text{mol/L}$  vs. EG  $>32 \text{ w}$   $55,73 \pm 18,81 \mu\text{mol/L}$ ;  $p < 0,001$ ) e con PN  $<1500 \text{ g}$  ( $113 \pm 65,4 \mu\text{mol/L}$  vs. PN  $>1500 \text{ g}$   $57,3 \pm 23,3 \mu\text{mol/L}$ ;  $p < 0,001$ ). 7 pz con iperMET persistente sono stati sottoposti ad analisi genetica: 4 pz sono risultati affetti da deficit di *cistationina- $\beta$ -sintasi (CBS)* e 3 da deficit di *metionina-adenosil-transferasi (MAT) I/III* con un'incidenza rispettivamente di 1:105.186 e 1:140.248. I 7 pz non hanno sviluppato complicanze e presentano ad oggi buon controllo metabolico in trattamento dietetico/farmacologico.

### **DISCUSSIONE/CONCLUSIONI**

Nella maggioranza dei pz con iperMET da SNE l'alterazione risulta transitoria, in relazione soprattutto a NPT, bassa EG e basso PN. Si conferma l'efficacia dello SNE nella prevenzione delle complicanze dei VP, sebbene la giovane età dei pz non consenta considerazioni sull'outcome nel lungo termine. Si evidenzia l'utilità di protocolli nazionali condivisi inerenti modalità diagnostiche e management dei pz diagnosticati precocemente mediante SNE.

---

**ID: 128 - Deficit di AADC: studio dei livelli della 3OMD nella popolazione neonatale della Sicilia Occidentale. Identificato il primo caso in corso di conferma** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Laura Santoro<sup>1</sup>, Rosaria Amodeo<sup>1</sup>, Stefania Graci<sup>1</sup>, Vincenzo Bellavia<sup>1</sup>, Nicola Volpe<sup>1</sup>, Anna Lelio<sup>1</sup>, Tommaso Aronica<sup>1</sup>, Antonella Di Fiore<sup>2</sup>, Giovanni Corsello<sup>2</sup>, Marco Tolone<sup>3</sup>

<sup>1</sup> CNS Sicilia Occ Osp Ped G Di Cristina ARNAS Civico - Palermo, <sup>2</sup> CRR Malattie Metab Osp G Di Cristina ARNAS Civico - Palermo, <sup>3</sup> Dip. SAAF UNIPA, Palermo

---

## INTRODUZIONE

Riportiamo i risultati dello studio dei livelli della 3-O-metildopa (3-OMD) sulla popolazione neonatale della Sicilia Occidentale. Lo studio prevede l'inserimento nello stesso pannello di screening neonatale in MS/MS della 3-OMD, utilizzata come marcatore per identificare il deficit della decarbossilasi degli L-aminoacidi aromatici (AADCd). La AADCd è un raro errore congenito del metabolismo dei neurotrasmettitori che porta alla carenza combinata di serotonina e catecolamine, provocando una compromissione neurologica gravemente invalidante. Varianti patogenetiche del gene DDC bloccano la via di biosintesi della dopamina, determinando l'accumulo della 3-OMD, metabolita della L-DOPA. Le terapie innovative, in aggiunta alle cure di supporto, modificano la prognosi della AADCd evidenziando la necessità di una diagnosi precoce. Presentiamo, inoltre, il primo caso di alterazione di 3-OMD individuato presso il nostro CSN, in corso di conferma diagnostica.

## METODO

I valori della 3-OMD sono stati determinati in FIA-MS/MS, con metodo non derivatizzato. Sono stati analizzati circa 16500 nati a termine, normopeso per la stima del valore soglia (cut-off), mediante l'applicazione CutOff Analyzer (PerkinElmer). E' stata eseguita un'analisi della varianza a una via (ANOVA) su 28.254 determinazioni, utilizzando il software R, per studiare l'effetto delle variabili prese in esame sulla 3-OMD.

## RISULTATI E DISCUSSIONE

Per lo screening dell'AADCd è stato scelto come cutoff il 99.9° percentile (<2 µmol/l). Le variabili età, gestazione e peso sono risultate significative (p<0.001). Il primo caso di sospetta AADCd di nato a termine e consanguineità sconosciuta, identificato allo screening, ha evidenziato una concentrazione della 3-OMD significativamente aumentata (7 volte>cutoff). L'alterazione è stata confermata al richiamo su DBS. All'esame obiettivo il paziente ha presentato modesto ipotono, prevalentemente assiale e lieve ipertono agli arti inferiori. Bozze frontali prominenti e storia di rigurgiti frequenti. Le analisi cliniche preliminari (emocromo, lattato, ammonio, aminoacidi plasmatici, etc.) sono risultate nella norma. In corso il test genetico su tampone buccale. La nostra esperienza ha messo in evidenza l'importanza di eseguire lo screening per AADCd attraverso il 3-OMD, su tutta la popolazione neonatale per una diagnosi preclinica, ha suggerito inoltre che l'incidenza della malattia è sottostimata (1:23.000).

---

## **ID: 129 - Nuovo caso di deficit di beta-galattosidasi: malattia di Morquio tipo B**

Elisa Biamino<sup>1</sup>, Lucia Padella<sup>2</sup>, Lucia Zampini<sup>2</sup>, Lucia Santoro<sup>2</sup>, Chiara Monachesi<sup>2</sup>, Alessandra Spano<sup>1</sup>, Marco Spada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SC Pediatria Osp.Inf.le Regina Margherita, Torino, Italy, <sup>2</sup> SOD Clinica Pediatrica Presidio Salesi – Az.Ospedaliero Universitaria delle Marche, Ancona, Italy

---

### **Introduzione/background**

La malattia di Morquio B (MorB), caratterizzata da accumulo di cheratan solfato con gravi deformità scheletriche, senza coinvolgimento neurologico, è causata dal deficit dell'enzima lisosomiale beta-galattosidasi, come la gangliosidosi GM1, associata invece ad accumulo del ganglioside GM1, con prevalente interessamento neurologico. Sono stati descritti alcuni casi con fenotipo intermedio e sovrapposizione dei prodotti di accumulo. Riportiamo la nuova diagnosi clinica e biochimica di una paziente, con biochimica suggestiva di questo raro fenotipo intermedio.

### **Metodi**

La paziente, 7 anni, egiziana, terzogenita di genitori consanguinei, viene inviata per sospetta mucopolisaccaridosi. Riferiti gibbo dorsale ed intervento di erniectomia ombelicale all'età di 5 anni. Alla visita riscontro di torace carenato, mani ad artiglio, valgismo AAII, dispnea da sforzo e lieve epatomegalia; displasia e lieve-moderata insufficienza valvole atrio-ventricolari, DIA II all'ecocardiogramma; grave ipoplasia di L1 con vertebra a cuneo all'rx colonna. Valutazione neurologica in corso, complicata da problematiche culturali e linguistiche, RMN programmata, da eseguire. Per l'analisi delle urine sono stati applicati due diversi metodi in LC-MS/MS, specifici per lo screening urinario delle oligosaccaridosi (Piraud et al 2017), e delle mucopolisaccaridosi (Saville et al 2019). Eseguito dosaggio enzimatico su campione di leucociti con metodo fluorimetrico ed indagine genetica.

### **Risultati**

Significativo aumento sia dei due galattosil-oligosaccaridi che del tetrasaccaride cheratan-derivato rispetto ai controlli. Attività pressochè assente della beta-galattosidasi (circa 2% rispetto ai controlli). Analisi whole exome sequencing: variante in omozigosi, non riportata in letteratura, nell'esone 1, gene GLB1 c.2T>C (p.Met1), con perdita del codone di inizio della traduzione e quindi perdita della proteina.

### **Discussione/conclusione**

L'iter diagnostico descritto, mediante spettrometria di massa, ci ha consentito di caratterizzare con maggiore sensibilità e specificità i metaboliti accumulati. Il riscontro di elevati livelli sia di galattosil-oligosaccaridi che del tetrasaccaride cheratan-derivato ci ha fatto ipotizzare che la paziente potrebbe essere associata al raro fenotipo intermedio GM1/MorB. D'altra parte, come già ipotizzato, il MorB e la GM1 potrebbero far parte dello spettro fenotipico della stessa malattia, il deficit di beta-galattosidasi (Kingma et al 2021).

---

## **ID: 132 - Dosaggio di 3-O-MetilDopa in DBS neonatale: risultati del primo anno di esperienza pugliese per lo screening neonatale del deficit di decarbossilasi degli L-amminoacidi aromatici (AADCD).**

Simonetta Simonetti<sup>1</sup>, Roberta Cardinali<sup>1</sup>, Silvia Russo<sup>1</sup>, Maria Giannoccaro<sup>1</sup>, Virna Petruzzelli<sup>1</sup>, Tania Lorè<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Patologia Clinica e Screening Neonatale Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico Giovanni XXIII Bari

---

### **Introduzione**

Il deficit di decarbossilasi degli L-amminoacidi aromatici (AADCD) è una malattia genetica rara a trasmissione autosomica recessiva che determina la compromissione del metabolismo di neurotrasmettitori, come la dopamina e la serotonina, portando ad un ampio fenotipo neurologico con crisi oculogire, ipotonia, ipocinesia e distonia. In particolare, il deficit di AADC impedisce la conversione della L-dopa in dopamina, con accumulo della rispettiva forma metilata, nota come 3-O-metildopa (3-OMD), ad opera della via alternativa della Catecolo O-metiltransferasi. Il 3-OMD si è dimostrato un marcatore affidabile per la diagnosi della AADCD nei DBS neonatali e può inoltre essere facilmente incorporato nei preesistenti flussi di lavoro per consentire l'identificazione precoce allo screening neonatale allargato (SNE). La diagnosi precoce è considerata necessaria al fine di ottenere il massimo risultato dalla terapia genica basata sul vettore AAV, già approvata in Europa a luglio 2022.

### **Metodi**

In Puglia il laboratorio di screening neonatale ha avviato un ulteriore ampliamento del programma di SNE, in seguito a legge regionale, partendo dallo studio osservazionale che propone come obiettivo quello di analizzare e raccogliere dati per il monitoraggio del AACDC mediante il dosaggio di 3-OMD in flow-injection analysis tandem mass spectrometry (FIA-MS/MS) con il kit NeoBase™ Non-derivatized MS/MS (PerkinElmer). I parametri utilizzati per l'analisi sono stati precedentemente descritti da Burlina A. et al. 2021.

### **Risultati e Conclusioni**

Il 3-OMD è stato misurato come analita aggiuntivo in 31763 DBS, raccolti in un anno, da maggio 2022 a maggio 2023 con consenso informato. Le concentrazioni di 3-OMD in neonati tra le 48 e le 72 ore di vita hanno determinato un valore di mediana della distribuzione di 0.42 µmol/L al 99th percentile di 0.958 µmol/L. Mentre individui di età maggiore di 7 giorni di vita hanno mostrato una mediana di 0.326 µmol/L al 99th percentile di 0.848 µmol/L. Ad oggi non sono stati identificati pazienti con deficit di AADC. In conclusione, l'aggiunta del biomarcatore 3-OMD ai programmi SNE consentirà la stima dell'incidenza della AADCD nella Regione Puglia, consentendo una diagnosi precoce per un trattamento efficace di terapia genica, dove possibile.

---

## **ID: 137 - IL RUOLO DELLO SCREENING NEONATALE NEL DIFETTO DI BETA OSSIDAZIONE DEGLI ACIDI GRASSI A CATENA CORTA (SCADD): ESPERIENZA DI UN CENTRO REGIONALE DI SCREENING NEONATALE**

Valentina Assirelli<sup>1</sup>, Elisa Bortolamedi<sup>2</sup>, Erika Cantarelli<sup>2</sup>, Francesca Righetti<sup>1</sup>, Valeria Di Natale<sup>1</sup>, Egidio Candela<sup>1</sup>, Rita Ortolano<sup>1</sup>, Federico Baronio<sup>1</sup>, Giancarlo Gaboardi<sup>1</sup>, Giacomo Biasucci<sup>3</sup>, Alessandra Cassio<sup>1</sup>, Andrea Pession<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di Riferimento Regionale per lo Screening Neonatale, IRCCS AOU di Bologna, UO Pediatria Pession, <sup>2</sup> Scuola di Specializzazione Pediatria, Università di Bologna, <sup>3</sup> UO Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Parma

---

### **INTRODUZIONE**

La SCADD viene identificata da screening neonatale esteso (SNE) mediante il riscontro di elevati livelli ematici di butirrilcarnitina (C4) e acido etilmalonico (EMA). Questa condizione non è compresa nel pannello delle malattie metaboliche ereditarie ricercate, ma rientra tra le patologie in diagnosi differenziale, e la maggior parte dei casi identificati si associa a un polimorfismo ACADS c.625G>A in eterozigosi composta (EZC) o omozigosi (OZ). Riportiamo le caratteristiche genetiche e biochimiche dei casi di SCADD identificati da SNE nel periodo 2016-2022 nella Regione Emilia-Romagna.

### **METODI**

I pazienti sono stati individuati da SNE per valori di C4 su Dried Blood Spot (DBS)>1 umol/l, con second tier test (2TT) positivo per EMA >6 umol/l ed EMA urinario (EMA-U)>7 mM/MCREU. Tutte le diagnosi sono state confermate geneticamente mediante analisi molecolare del gene ACADS. La supplementazione con Riboflavina è stata intrapresa per EMA-U >100 mM/MCREU, mentre è stata sospesa per valori stabili di EMA-U <20 mM/MCREU.

### **RISULTATI**

Sono stati diagnosticati SCADD 59 pz, suddivisi in 2 Gruppi (G) in base al genotipo: - G1 (54 pz, 91%): OZ/EZC c.625G>A /- variante patogenetica (VP); - G2 (5 pazienti, 8,5%): EZC/OZ per VP. Nel G2 sono stati riscontrati livelli di C4 al DBS (p 0.01), EMA-U alla prima determinazione e nel follow-up (FUP) significativamente più alti rispetto al G1 (p<0,0001). La supplementazione con Riboflavina è stata intrapresa nel 100% dei pz del G2, e nel 22% del G1 e successivamente sospesa nel 75% del G1 e nel 20% del G2 (p<0,0001). In ragione dell'andamento clinico e biochimico, il FUP metabolico è stato sospeso a un'età media di 14,2 mesi di vita nel 55% dei pz del G1, mentre 1 paziente del G2 (20%) è stato perso nel FUP. Nessun pz ha presentato manifestazioni cliniche, né episodi di scompenso metabolico durante il FUP presso il nostro Centro, né successivamente per quanto ci è noto.

### **CONCLUSIONI**

Il 90% dei neonati identificati da SNE per sospetta SCADD ha presentato forme mild, senza necessità di trattamento. Nella nostra esperienza, elevati livelli di EMA-U sembrerebbero maggiormente correlabili a condizioni di EZC/OZ per VP, con eventuale necessità di supplementazione con Riboflavina e/o Carnitina. Nei neonati EZ/OZ per c.625G>A, sulla base del riscontrato decorso benigno, appare invece ragionevole rassicurare la famiglia e sospendere il FUP metabolico anche nei primi 12 mesi di vita.

---

**ID: 143 - Screening mirato per l'identificazione precoce di neonati affetti da patologie neuromuscolari e neurometaboliche** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Emanuele Di Carlo**<sup>1</sup>, Teresa Giovanniello<sup>2</sup>, Silvia Santagata<sup>2</sup>, Manuela Tolve<sup>2</sup>, Cristiana Artiola<sup>2</sup>, Arianna Malgieri<sup>2</sup>, Maria Giuliano<sup>3</sup>, Filippo Manti<sup>4</sup>, Francesca Nardecchia<sup>5</sup>, Maura Migliori<sup>2</sup>, Luca Sauro<sup>2</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>5</sup>, Claudia Carducci<sup>6</sup>, Antonio Angeloni<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università La Sapienza, Roma, <sup>2</sup> UOC Patologia Clinica, AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>3</sup> Pediatra di Famiglia SIMPE, Napoli, <sup>4</sup> UOC Neuropsichiatria Infantile, AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>5</sup> Dipartimento di Neuroscienze, Università La Sapienza, Roma. UOC Neuropsichiatria Infantile, AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>6</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università La Sapienza, Roma. UOC Patologia Clinica, AOU Policlinico Umberto I, Roma

---

## INTRODUZIONE

L'eterogeneità fenotipica che caratterizza l'insorgenza e lo sviluppo di alcuni disordini neurometabolici e neuromuscolari, può essere determinante per un ritardo diagnostico. Il deficit di dopa decarbossilasi degli aminoacidi aromatici (AADCD) e la distrofia muscolare di Duchenne (DMD) sono due condizioni per le quali esistono trattamenti più efficaci se avviati precocemente. Il nostro studio ha avuto come obiettivo l'identificazione precoce del deficit di AADCD e DMD mediante il dosaggio dei biomarcatori 3-O-Metildopa (3-OMD) e CK-MM su Dried Blood Spot (DBS) attraverso la creazione di una rete costituita da pediatri delle regioni Campania e Lazio, Neuropsichiatria Infantile dell'Università Sapienza (AOU Policlinico Umberto I di Roma) e il laboratorio di riferimento regionale dello screening neonatale della regione Lazio (LRR).

## METODI

Dopo la raccolta del consenso informato, i campioni in DBS sia di neonati maschi che di neonati con manifestazioni cliniche suggestive delle due patologie in esame, come ipotonia, crisi oculogire, distonia, ritardo dello sviluppo neuromotorio, sono stati inviati presso il LRR. Il dosaggio di 3-OMD è stato effettuato mediante un metodo in UPLC-ESI-MS/MS (Di Carlo et al.) e CK-MM è stato dosato in immunofluorimetria su piattaforma GSP® su campioni in DBS. I soggetti positivi allo screening sono stati sottoposti a conferma molecolare attraverso sequenziamento diretto, per il gene DDC e dell'analisi MLPA del gene DMD.

## RISULTATI

Sono stati analizzati complessivamente 290 DBS, di cui 80 per il dosaggio di 3-OMD e 267 per CK-MM. Nei casi con valori borderline sono stati eseguiti il test molecolare di sequenziamento diretto del gene DDC per AADCD e l'analisi MLPA per la DMD. Non è stato identificato nessun caso positivo.

## DISCUSSIONE / CONCLUSIONI

Lo screening mirato per la AADC e la DMD rappresenta una importante strategia per l'identificazione precoce di patologie rare e trattabili. L'utilizzo del DBS presso gli ambulatori dei pediatri di famiglia facilita l'esecuzione del test di screening su un largo numero di soggetti, in tempi brevi e fuori da un contesto ospedaliero specialistico. Questo modello può essere adattato e implementato in diverse realtà territoriali, consentendo di identificare precocemente le condizioni patologiche in soggetti asintomatici o all'esordio, consentendo di avviare tempestivamente trattamenti e migliorare le prospettive di cura.

---

## **ID: 146 - Identificazione delle forme severe e mild di Citrullinemia tipo I (CTLN1): esperienza dello screening neonatale esteso (SNE) in Emilia Romagna (ER)**

**Francesca Righetti**<sup>1</sup>, Annalisa Lonetti<sup>1</sup>, Gian Carlo Gaboardi<sup>1</sup>, Federico Baronio<sup>1</sup>, Rita Ortolano<sup>1</sup>, Valeria Di Natale<sup>1</sup>, Giacomo Biasucci<sup>2</sup>, Alessandria Cassio<sup>1</sup>, Andrea Pession<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio e Centro Clinico di Riferimento Regionale per lo Screening Neonatale e MEM, UO Pediatria, IRCCS AOU Policlinico di Sant'Orsola, Bologna, Italy, <sup>2</sup> UO Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, Italy

---

### **INTRODUZIONE**

La spettrometria di massa tandem (MS/MS) in NBS ha offerto la possibilità di eseguire lo screening neonatale per circa 50 patologie da un singolo spot di sangue essiccato. Riportiamo i casi diagnosticati di CTLN1, patologia autosomica recessiva, dall'introduzione dello SNE in ER (2011) ad oggi che hanno presentato, a 48/72 ore di vita, valori di Citrullina (CIT) superiori al cut-off da noi adottato e confermati con diagnosi genetica.

### **METODI**

Da Gennaio 2011 a Maggio 2023 per lo SNE con MS/MS sono stati esaminati 429.977 neonati e diagnosticati 4 casi di CTLN1 (incidenza 1/107.494). Sono stati utilizzati il kit CE-IVD PE NeoBase Kit non derivattizzato (Perkin Elmer) e lo spettrometro di massa XEVO TQD (Waters).

### **RISULTATI**

Dei 4 pazienti (PZ) diagnosticati, tutti nati a termine, PZ1 e PZ2 sono fratelli, entrambi con mutazione del gene ASS1 c.1165G>A in omozigosi. All'esordio clinico, 24/48 ore di vita, PZ1 ha presentato iporeattività, alterazione della dinamica respiratoria, difficoltà ad alimentarsi ed iperammoniemia (770 µmol/L); la CIT in 2a giornata di vita era di 895 µmol/L ed è stato sottoposto a dialisi peritoneale. Il PZ2 (la sorella), con diagnosi prenatale, è stata subito sottoposta a detossificazione con sodio benzoato e somministrazione di Arginina non presentando iperammoniemia. La CIT era di 157 µmol/L e 1029 µmol/L rispettivamente in 1a e 2a giornata, e ha seguito una dieta a contenuto proteico controllato. Entrambi i PZ 1 e 2 seguono terapia farmacologica cronica e dieta a contenuto proteico controllato. PZ1 ha presentato un lieve ritardo di acquisizione delle tappe dello sviluppo psicomotorio (SPM) e, ad oggi, ha una lieve riduzione del QI. PZ2, nonostante la diagnosi prenatale ed intervento terapeutico immediato, ha presentato un lieve ritardo dello SPM; attualmente presenta scarsa crescita statuto ponderale. I PZ 3 e 4 sono forme mild. In 2a giornata di vita presentavano valori di CIT di 154 e 119 µmol/L, rispettivamente, non hanno mai presentato iperammoniemia, e hanno entrambi eterozigosi composta su ASS1 con mutazioni c.970G>A e c.919C>T (PZ3); c.919C>T e c.30delC (PZ4). Il loro SPM è nella norma. Il PZ3 al divezzamento ha seguito dieta con lieve restrizione proteica; il PZ4 è a dieta libera totalmente latte.

### **CONCLUSIONI**

Lo SNE si dimostra importante non solo per l'identificazione delle forme severe di CTLN1 ma anche per quelle mild che sfuggirebbero alla diagnosi clinica precoce ma che necessitano comunque di un follow-up.

---

**ID: 147 - Screening Neonatale SMA: l'esperienza nella Regione Lazio** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Cristiana Artiola**<sup>1</sup>, Teresa Giovanniello<sup>1</sup>, Manuela Tolve<sup>1</sup>, Arianna Malgieri<sup>1</sup>, Amelia Pasquali<sup>2</sup>, Carlo Pignattoni<sup>1</sup>, Eugenio Mercuri<sup>3</sup>, Danilo Tiziano<sup>4</sup>, Carla Carducci<sup>2</sup>, Antonio Angeloni<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UOC Patologia Clinica, AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università La Sapienza, Roma. UOC Patologia Clinica, AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>3</sup> UOC Neuropsichiatria Infantile, Università Cattolica e Fondazione Policlinico Universitario IRCCS "A. Gemelli", Roma, <sup>4</sup> Istituto di Medicina Genomica, Università Cattolica e Fondazione Policlinico Universitario IRCCS "A. Gemelli", Roma

---

## INTRODUZIONE/BACKGROUND

Nella regione Lazio è stato condotto uno studio pilota per lo Screening Neonatale (SN) per la Atrofia Muscolare Spinale (SMA) della durata di 2 anni, terminato il 4 settembre 2021. Durante lo studio sono stati diagnosticati 8 casi di SMA su circa 60.000 neonati analizzati, con un'incidenza di 1 su 7.500. Dal 5 settembre 2021, al fine di garantire la continuità dello SN per la SMA, questo programma è stato integrato nella rete dei servizi dello SN già esistente nel territorio regionale.

## METODI

Presso il Laboratorio di Screening Neonatale (LSN) della regione Lazio, è stata sviluppata e validata una procedura che prevede l'inserimento dei dati anagrafici dei neonati nel sistema informativo (SI) regionale da parte dei punti nascita e il trasferimento di tali dati nel LIS. Il metodo è basato su un'analisi molecolare che utilizza la tecnologia Real Time PCR semiquantitativa, utilizzando un kit commerciale, per rilevare la delezione in omozigosi dell'esone 7 del gene SMN1. Nella fase post-analitica, i risultati vengono trasferiti nel LIS e i referti inseriti nel SI Regionale. La richiesta del test sul LIS è attivata solo in caso di consenso esplicito per l'esecuzione dello SN SMA.

## RISULTATI

Dei 57.879 campioni pervenuti dal 5/09/21 al 31/03/2023, 57.105 sono stati analizzati per SMA (774 dissensi), con un tasso di adesione del 98,7%. 5 neonati hanno presentato un risultato positivo. I neonati positivi sono stati inviati presso il Laboratorio di Conferma e il Centro Clinico di riferimento regionale dove, dopo una tempestiva a conferma diagnostica, sono stati presi in carico. L'incidenza in questi due anni è stata di 1/11421. Dei 5 pazienti diagnosticati, 3 presentavano più di 3 copie del gene SMN2 e non sono in terapia farmacologica, ma sono seguiti nel follow-up; mentre i restanti 2 pazienti avevano 2 copie di SMN2 e attualmente sono in terapia farmacologica.

## DISCUSSIONE

La diagnosi precoce e il trattamento efficace sono requisiti fondamentali per l'inclusione di una patologia nello SN. La risposta positiva delle istituzioni e l'adesione elevata delle famiglie dimostrano l'importanza attribuita alla diagnosi precoce e all'intervento tempestivo. Grazie a questo programma, le persone affette da SMA potranno beneficiare di una terapia in grado di modificare la storia naturale della malattia.

---



## **ID: 148 - Il quadro clinico/biochimico di una variante genetica rara diagnosticabile con lo screening neonatale: un caso di deficit di ASS/ASL**

**DONATELLA DE GIOVANNI**<sup>1</sup>, GIULIA PATERNO<sup>1</sup>, ROSA CARELLA<sup>1</sup>, SIMONETTA SIMONETTI<sup>2</sup>, ROBERTA CARDINALI<sup>2</sup>, TANIA LORÈ<sup>2</sup>, RITA FISCHETTO<sup>1</sup>, LEONARDO SALVIATI<sup>3</sup>, ALBINA TUMMOLO<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Malattie Metaboliche e Genetiche Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII BARI, <sup>2</sup> PATOLOGIA CLINICA E SCREENING NEONATALE AUO POLICLINICO BARI, <sup>3</sup> UOC GENETICA ED EPIDEMIOLOGIA CLINICA- LABORATORIO DI GENETICA AOU DI PADOVA

---

### **Background**

La citrullinemia di tipo I è un raro disturbo del difetto del ciclo dell'urea, screenabile a partire dal 2017 in Puglia. Le forme mild di tale patologia sono molto frequenti e richiedono un monitoraggio regolare per decidere se e quando iniziare la terapia adeguata in base al livello degli indicatori biochimici e del fenotipo previsto dalla tipizzazione genetica.

### **Caso clinico**

Riportiamo il caso di una neonata, primogenita di genitori non consanguinei, nata a termine alla 40 settimana, da parto spontaneo con peso alla nascita pari a 3230 g. Positività allo SNE per valori elevati di citrullina (458 umol/l), con ammonio:93 mg/dl, glutammina: 540 umol/l, arginina 40 umol/l. Il dosaggio degli amminoacidi plasmatici confermava l'incremento della citrullina (700 umol/l) e valori di ammonio superiori al range. Veniva pertanto iniziata terapia con scavenger dell'ammonio (glicerolo fenilbutirrato), associato a ridotto apporto proteico in dieta. L'indagine genetica evidenziava una mutazione in eterozigosi del gene ASS1 c.787G>A (p.Val263Met) compatibile con lo stato di portatore di Citrullinemia tipo 1. Effettuata, la ricerca di microdelezioni del gene ASS1, questa dava esito negativo. Alla luce della persistente alterazione biochimica, si è deciso di estendere l'indagine genetica ad altri geni codificanti per enzimi coinvolti nel ciclo dell'urea. È stata riscontrata la seguente mutazione del gene ASL c.532G>A (p.Val178Met), variante riportata in letteratura come patogenetica per riduzione dell'attività dell'argininsuccinico liasi. L'analisi degli acidi organici urinari confermava l'assenza di acido argininsuccinico. La paziente non presenta deficit neurocognitivi, ha un trend accrescitivo staturale-ponderale nella norma e non ha presentato episodi di scompenso anche durante infezioni o stati di disidratazione e digiuno.

### **Conclusioni**

Il quadro clinico-biochimico può essere giustificato dalla combinazione delle mutazioni riscontrate. Sicuramente nel sospetto di patologia metabolica è sempre necessario ricercare oltre la mutazione attesa, per avere conferma della diagnosi, e non fermarsi al primo riscontro.

---

## **ID: 149 - SCREENING NEONATALE DELLA LEUCODITROFIA METACROMATICA (MLD): ALGORITMO PER MIGLIORARE LE PERFORMANCE DEL PROCESSO SCREENING**

**Sabrina Malvagia**<sup>1</sup>, Maria Luisa Della Bona<sup>1</sup>, Massimo Mura<sup>1</sup>, Daniela Ombrone<sup>1</sup>, Silvia Funghini<sup>1</sup>, Giulia Forni<sup>1</sup>, Roberta Damiano<sup>1</sup>, Marta Daniotti<sup>2</sup>, Elena Procopio<sup>2</sup>, Giancarlo la Marca<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Biochimica e Farmacologia, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze; <sup>2</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze;

---

### **Introduzione/background**

La Leucodistrofia Metacromatica (MLD) è una rara malattia genetica neurodegenerativa progressiva, caratterizzata da un grave e rapido deterioramento delle funzioni motorie e cognitive. Questa patologia è dovuta al deficit dell'enzima lisosomiale Arilsolfatasi A (ARSA) che provoca l'accumulo di sulfatidi in molti tessuti del corpo in particolare nel SNC e nel SNP con conseguente danneggiamento. Recentemente sono disponibili terapie innovative per la MLD, la cui efficacia è legata alla diagnosi precoce della malattia. Per questo motivo è importante effettuare lo screening neonatale. A Marzo 2023 è iniziato un progetto pilota, che offre a tutti i bambini nati in Toscana lo screening per questa patologia.

### **Metodi**

Il metodo utilizzato prevede il dosaggio su spot di sangue dei sulfatidi (C16:0, C16:0-OH, C18:0, C16:1) mediante spettrometria di massa. Per ogni seduta viene eseguita una normalizzazione dei risultati sulla base del valore medio di un controllo interno, analizzato in triplicato. I campioni che presentano livelli alterati di C16-sulfatide (marker primario) e/o della somma dei sulfatidi, sono inviati all'analisi del second-tier test per il dosaggio dell'attività dell'ARSA. In contemporanea viene eseguito un ulteriore second-tier test per l'analisi di un più ampio profilo di sulfatidi tramite separazione cromatografica e quantificazione con curva di calibrazione.

### **Risultati**

Ad oggi, abbiamo analizzato 5920 campioni, di cui 12 sono stati sottoposti a second-tier test con esito normale. Nessun neonato è stato richiamato.

### **Discussione/Conclusioni**

Il protocollo operativo adottato sembra garantire ottime performance, con la messa a punto dei second-tier test per ridurre il carico di lavoro dei punti nascita (che devono gestire i richiami) e dei clinici (che devono prendere in carico i neonati). L'applicazione di questo protocollo permette la riduzione dello stress alle famiglie provocato da inutili richiami, uno dei più importanti obiettivi di un buon programma di screening neonatale.

---

## **ID: 151 - Efficacia dell'utilizzo del pannello NGS\_SNE per la diagnosi di malattie metaboliche ereditarie: prima esperienza del centro di riferimento per lo screening neonatale esteso della Regione Campania**

**Ferdinando Barretta**<sup>1</sup>, Fabiana Uomo<sup>2</sup>, Lucia Albano<sup>3</sup>, Alessandra Verde<sup>4</sup>, Daniela Crisci<sup>3</sup>, Fabiana Vallone<sup>3</sup>, Chiara De Falco<sup>2</sup>, Michela Petrone<sup>2</sup>, Cristina Mazzaccara<sup>1</sup>, Marianna Alagia<sup>4</sup>, Alessandro Rossi<sup>4</sup>, Giancarlo Parenti<sup>4</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>1</sup>, Simona Fecarotta<sup>4</sup>, Giulia Frisso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università Federico II, Napoli (Italy); CEINGE Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore, s.c.a r.l., Napoli (Italy), <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università Federico II, Napoli (Italy), <sup>3</sup> CEINGE Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore, s.c.a r.l., Napoli (Italy), <sup>4</sup> Dipartimento di Medicina Translazionale-Sezione di Pediatria, Università Federico II, Napoli (Italy)

---

### **INTRODUZIONE**

La diagnosi precoce di malattie metaboliche ereditarie (MME) si avvale, nella Regione Campania, della sinergia tra il Laboratorio SNE (Screening Neonatale Esteso) del CEINGE, l'Unità di Malattie Metaboliche dell'AOU Federico II e il Laboratorio di Diagnostica Molecolare del CEINGE, che, mediante esecuzione di test genetico, contribuisce alla diagnosi definitiva e alla ridefinizione dei cut-off biochimici. È possibile effettuare diagnosi genetica di tutte le MME oggetto di SNE, mediante l'analisi NGS di pannelli di geni target, associati al sospetto diagnostico avanzato in seguito alle alterazioni dello SNE. Nella nostra esperienza, in circa il 6% dei neonati richiamati è stata richiesta l'esecuzione di un secondo test genetico per il completamento diagnostico del sospetto iniziale o per l'evidenza di ulteriori alterazioni biochimiche durante il monitoraggio, rilevando rispettivamente un soggetto affetto da deficit di isobutiril-CoA deidrogenasi ed un eterozigote per deficit di metil-crotonil-CoA-carbossilasi. Da febbraio 2023 utilizziamo un approccio differente, che prevede l'analisi di un pannello genetico SNE, da praticare a tutti i neonati positivi, indipendentemente dal profilo di biomarcatori alterati e contemporaneamente alla richiesta di analisi biochimica.

### **MATERIALE E METODI**

Il pannello NGS\_SNE include 139 geni che si associano alle MME identificate dallo SNE, nonché a malattie che entrano in diagnosi differenziale. Come per l'approccio tradizionale, utilizziamo un pannello in silico, estrapolato dal kit SureSelect CCP 17 Mb (Agilent). Sono stati finora analizzati 50 neonati SNE-positivi.

### **RISULTATI**

Il 17% dei neonati è risultato positivo al test genetico, confermando l'alterazione dello SNE; i rimanenti sono stati prontamente dimessi, essendo risultati eterozigoti (59%) o negativi (24%) a tutto il pannello SNE, in assenza di altri segni o sintomi di malattia.

### **CONCLUSIONI**

Sebbene l'esperienza sia ancora limitata, l'utilizzo del pannello NGS\_SNE consente di concludere che: i) non ci sono falsi negativi dello SNE; ii) il tempo per pervenire alla diagnosi definitiva o alla dimissione del neonato è ridotto, riducendo lo stress genitoriale e di famiglia. Inoltre, questa strategia offre maggiore possibilità di diagnosi differenziale e, applicata su grandi numeri, potrà fornire informazioni anche sulla prevalenza degli eterozigoti, utile per eventuali aggiustamenti dei cut-off biochimici dello SNE.

---

## **ID: 156 - Un caso di acidemia metilmalonica tipo CblA late onset diagnosticata da screening neonatale**

Niccolò Campagna<sup>1</sup>, Giusi Scaturro<sup>2</sup>, Francesca Pochiero<sup>2</sup>, Catia Cavicchi<sup>3</sup>, Amelia Morrone<sup>3</sup>, Sabrina Malvagia<sup>4</sup>, Silvia Funghini<sup>4</sup>, Giancarlo La Marca<sup>4</sup>, Marta Daniotti<sup>2</sup>, Elena Procopio<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Scienze della Salute, <sup>2</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>3</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>4</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Chimica Clinica e Farmacologia, AOU Meyer IRCCS, Firenze

---

### **Introduzione**

L'acidemia metilmalonica tipo CblA è un difetto congenito del metabolismo della cobalamina, causato da varianti patogenetiche del gene *MMAA*. Presentiamo due fratelli affetti da CblA late onset, uno dei quali è stato diagnosticato da screening neonatale esteso (SNE).

### **Presentazione del caso**

Il probando è stato richiamato per riscontro allo SNE di lieve incremento di propionilcarnitina (C3) con second-tier test positivo per acido metilmalonico (MMA), pari a 12 micromol/L, senza iperomocisteinemia. Al richiamo è stato rilevato deficit di vitamina B12 nella madre e nel neonato, trattati pertanto con idrossicobalamina intramuscolare. Dati i valori iniziali di MMA, è stato effettuato controllo ad un mese con riscontro di persistenza di MMA aumentato. È stata quindi avviata l'analisi molecolare di un pannello NGS di geni responsabili di acidemia metilmalonica. L'analisi molecolare nel probando ha mostrato l'eterozigosi composta per due varianti, ereditate dai genitori, del gene *MMAA*: la variante nuova c.304G>A p.(Ala102Thr), potenzialmente patogenetica, e la variante patogenetica nota c.593\_596del p.(Thr198Serfs\*6). Dopo la diagnosi di acidemia metilmalonica tipo CblA, abbiamo valutato la sorella maggiore il cui SNE era risultato negativo. Anche lei presentava le stesse alterazioni biochimiche (deficit di B12, lieve aumento di MMA) e lo stesso genotipo. I due fratelli, attualmente asintomatici, sono in terapia con idrossicobalamina intramuscolare 1 volta a settimana, a dieta libera, con ottimo controllo metabolico.

### **Discussione**

L'acidemia metilmalonica tipo CblA è diagnosticabile allo SNE mediante marker a comune con altri difetti congeniti del metabolismo ma anche con deficit materno di B12. In caso di acidemia metilmalonica secondaria a difetto materno di B12, il persistere di alti livelli di MMA dopo adeguata terapia con idrossicobalamina deve indurre il sospetto clinico di sottostante difetto congenito del metabolismo, da confermare mediante analisi molecolare con approccio NGS. Questa esperienza conferma inoltre che lo SNE può risultare negativo nei soggetti con forme late onset.

---

## **ID: 16 - Cistatina C nei pazienti affetti da fenilchetonuria.**

**Valentina Rovelli**<sup>1</sup>, Erica Venturelli<sup>1</sup>, Juri Zuvadelli<sup>1</sup>, Vittoria Ercoli<sup>1</sup>, Sabrina Paci<sup>1</sup>, Giuseppe Banderali<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Clinica Pediatrica ASST Santi Paolo e Carlo, PO San Paolo, Università degli Studi di Milano

---

### **INTRODUZIONE/BACKGROUND**

Gli intakes proteici raccomandati per i pazienti affetti da fenilchetonuria (PKU) sono superiori rispetto alla popolazione generale, a causa dello scarso valore biologico degli aminoacidi sintetici. Nella popolazione generale, aumentati intakes proteici possono tradursi in un aumento del flusso plasmatico renale e della velocità di filtrazione glomerulare, con conseguenti danni a lungo termine. Nella pratica clinica la stima della funzione glomerulare si basa solitamente sulla misurazione della creatinina sierica (Cr). Tuttavia, poiché i pazienti affetti da PKU assumono quantità minori di creatina, precursore della creatinina principalmente presente nella carne, tale parametro potrebbe non risultare sufficiente per una corretta valutazione della funzione renale. In un recente lavoro, è stato suggerito l'utilizzo della cistatina C (cC) come marker più sensibile a questo scopo in pazienti affetti da acidemia propionica e acidemia metilmalonica. La cistatina C risulterebbe più attendibile poiché non dipendente dalla massa muscolare né dalla quantità di proteine assunta. Scopo del presente studio è stato valutare la funzione renale dei pazienti affetti da PKU ponendo a confronto i valori di creatinina e cistatina C sierica per identificare eventuali bias.

### **METODI**

115 pazienti affetti da PKU sono stati arruolati nel presente studio (età media 27 [18-45], 65 maschi). Sono stati dosati i valori di creatinina e cistatina C sierica. **RISULTATI** Sia i valori di Cr che cC sono risultati nella norma (Cr media =  $0,72 \pm 0,14$  mg/dl, vn 0,52 – 1,25; cC = 0,7 mg/L, vn 0,56 – 0,99 mg/L). Non sono state osservate differenze statisticamente significative per età o sesso.

### **DISCUSSIONE/CONCLUSIONI**

In relazione al tipo di alimentazione che i pazienti affetti da PKU devono sostenere, è possibile ipotizzare effetti ancora non noti sul lungo termine. La funzione renale di questi pazienti potrebbe ad oggi non essere adeguatamente valutata, poiché stimata sul solo dosaggio della Cr e non anche eventualmente sulla cC, parametro non influenzato dagli intakes proteici. Questo studio suggerisce che i valori di Cr e cC risultano sostanzialmente sovrapponibili in termini di valutazione della funzione renale. Contrariamente a quanto raccomandato per altre patologie, si può quindi ipotizzare che il dosaggio di cC non risulti ad oggi indicato per i pazienti affetti da PKU. Ulteriori studi permetteranno di avvalorare questi risultati.

---

## **ID: 19 - Profilo di espressione di miRNA in modelli cellulari di osteoblasti Gaucher: ruolo del miR-488-3p nella patogenesi delle alterazioni ossee della malattia**

Eleonora Pavan<sup>1</sup>, Stefania Zampieri<sup>1</sup>, Dania Ferino<sup>2</sup>, Matteo Turetta<sup>3</sup>, Paolo Peruzzo<sup>1</sup>, Maximiliano Emanuel Ormazabal<sup>4</sup>, Maurizio Scarpa<sup>1</sup>, Jessica Biasizzo<sup>2</sup>, Andrea Dardis<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di coordinamento regionale per le Malattie rare, Azienda Sanitaria Universitaria del Friuli Centrale, Udine, Italia, <sup>2</sup> Istituto di clinica patologica, dipartimento di Medicina di Laboratorio, Azienda Sanitaria Universitaria del Friuli Centrale, Udine, Italia, <sup>3</sup> Immunologia e biomarcatori tumorali, Centro di Riferimento Oncologico di Aviano (CRO) IRCCS, Aviano (PN), Italia, <sup>4</sup> IIFP, Universidad Nacional de La Plata, CONICET, Facultad de Ciencias Exactas, La Plata, Argentina

---

### **Introduzione**

La malattia di Gaucher (GD) è una patologia causata da mutazioni bialleliche del gene *GBA1* che portano ad un deficit dell'enzima  $\beta$ -glucosidasi acida (GBA) e al conseguente accumulo di glucosilceramide e altri glicosfingolipidi nei lisosomi. Anche se la sintomatologia è variabile e riguarda diversi distretti, oltre il 90% dei pazienti GD riporta sintomi ossei. La base molecolare di tali sintomi non è chiara, ma è stato suggerito il ruolo dei microRNA (miRNA) nel processo patogenetico.

### **Scopo**

Studiare il ruolo dei miRNA nella patologia ossea nel GD.

### **Metodi**

La tecnologia CRISPR/Cas9 è stata utilizzata per modellare degli osteoblasti GD, di cui è stata studiata la funzionalità con le colorazioni Alizarin e Sirius Red e la qRT-PCR. L'inibitore della GBA CBE è stato utilizzato per modellare osteoblasti GD partendo da colture primarie. NGS e qRT-PCR sono stati impiegati per misurare l'espressione dei miRNA.

### **Risultati**

Al fine di studiare il ruolo dei miRNA nella malattia ossea, abbiamo sviluppato un modello di osteoblasti GD sfruttando la tecnologia CRISPR/Cas9 per spegnere il gene *GBA1* nella linea di osteosarcoma SaOS. Gli osteoblasti ottenuti (SaOS GBA KO), mostravano un'assenza di espressione di GBA, un massiccio accumulo di substrato e una ridotta capacità di depositare matrice extracellulare, similmente a quanto osservato negli osteoblasti ottenuti da pazienti GD. Abbiamo poi confrontato il profilo di espressione dei miRNA delle SaOS GBA KO con quello delle SaOS wt, analizzando oltre 700 miRNA. Tra i 15 miRNA differenzialmente espressi nelle cellule KO vs wt, abbiamo selezionato il miRNA miR-488-3p per ulteriori studi in quanto aumentato di 14 volte nelle SaOS GBA KO. Per confermare tale osservazione, abbiamo analizzato l'espressione del miR-488-3p in colture di osteoblasti primari trattati con un inibitore della GBA, notando anche in questo caso un aumento della sua espressione. Infine, con l'obiettivo di individuare il suo possibile effetto sulla funzionalità cellulare, abbiamo trattato le SaOS wt con il miR-488-3p, osservando una riduzione di espressione di due geni fondamentali per la formazione della matrice extracellulare (fosfatasi alcalina e collagene di tipo I) probabilmente a causa di una minor espressione di un loro fattore di trascrizione (RUNX2).

**Conclusioni** Grazie allo sviluppo di un nuovo modello di osteoblasti GD abbiamo identificato il miR-488-3p come possibile fattore chiave nella patogenesi dei sintomi ossei nel GD.

---

## **ID: 35 - Nuovi chaperoni farmacologici per il trattamento della malattia di Gaucher attivabili da fattori endogeni ed esogeni**

**Francesca Clemente**<sup>1</sup>, Maria Giulia Davighi<sup>1</sup>, Camilla Matassini<sup>1</sup>, Silvia Falliano<sup>2</sup>, Martina Cacciarini<sup>1</sup>, Andrea Goti<sup>1</sup>, Francesca Cardona<sup>1</sup>, Amelia Morrone<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Chimica “Ugo Schiff” DICUS, Università di Firenze, Via della Lastruccia 3-13, 50019 Sesto Fiorentino, Italia., <sup>2</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dip. di Neuroscienze, AOU Meyer - IRCCS, Firenze, Italia.

---

### **INTRODUZIONE/BACKGROUND**

La malattia di Gaucher (GD) è il disturbo da carenza enzimatica più comune tra le malattie genetiche da accumulo lisosomiale. La GD è causata da mutazioni nel gene *GBA* che codifica per l'enzima lisosomiale  $\beta$ -glucocerebrosidasi (GCase). Una terapia innovativa per il trattamento della GD è quella a base di chaperoni farmacologici (PC). I PC sono composti a basso peso molecolare, in grado di superare la barriera ematoencefalica, che si comportano come inibitori reversibili dell'enzima. Quando vengono utilizzati in quantità sub-inibitorie (con conseguenti minimi effetti collaterali) possono correggere il ripiegamento e/o stabilizzare l'attività catalitica. I migliori PC sono glicomimetici azotati poliossidrilati quali le triidrossipiperidine.

### **METODI**

Tutti i nuovi composti sono stati ottenuti con approcci sintetici efficienti a partire da uno zucchero a basso costo (D-mannosio). La frazione sensibile alla luce impiegata in questo studio è l'azobenzene, mentre sono stati investigati diversi gruppi sensibili al pH (e.g. ortoestere, acetali, nitroni). Le modifiche strutturali indotte dai cambiamenti di pH o dalla luce sono stati valutati mediante spettroscopia NMR. I composti di nuova sintesi sono stati valutati come inibitori della GCase. Gli inibitori più promettenti (valori di  $IC_{50}$  nel range micromolare) sono stati valutati come PC su fibroblasti derivati da pazienti GD.

### **RISULTATI**

Sono stati indentificati nuovi composti sensibili al pH e alla luce in grado di incrementare l'attività della GCase mutata nei fibroblasti derivati da pazienti GD. In particolare sono stati registrati aumenti fino a 2 volte dell'attività della GCase mutata su linee cellulari portanti la mutazione L444P/L444P, la più refrattaria a rispondere alla terapia chaperonica.

### **DISCUSSIONE**

Lo scopo di questa ricerca si basa sulla sintesi e valutazione preclinica di una nuova collezione di triidrossipiperidine contenenti una frazione sensibile al pH o alla luce come potenziali PC per il trattamento della GD. Questi composti sono potenzialmente in grado di colpire la disfunzione enzimatica modulando l'affinità per GCase all'interno dei lisosomi grazie al frammento sensibile al pH o alla luce, al fine di massimizzare l'attività chaperonica rispetto al comportamento inibitorio.

### **Ringraziamenti**

Fondazione Telethon ETS and Associazione Italiana Gaucher (GSA22P001); Fondazione CARIPT Giovani@RicercaScientifica 2021 (IDANEUROPARK); MUR e NGEU (MNESYS-PE0000006).

---

## **ID: 42 - LSDs ad insorgenza tardiva nella diagnosi differenziale delle malattie neurodegenerative**

**Federica Feo**<sup>1</sup>, Anna Caciotti<sup>1</sup>, Luciana Tramacere<sup>2</sup>, Silvia Ramat<sup>3</sup>, Rodolfo Tonin<sup>1</sup>, Silvia Falliano<sup>1</sup>, Alessandra Govoni<sup>3</sup>, Antonella Paoli<sup>1</sup>, Francesca Marin<sup>1</sup>, Davide Mei<sup>4</sup>, Elena Parrini<sup>4</sup>, Renzo Guerrini<sup>5</sup>, Amelia Morrone<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> USL Toscana Centro, Unità di Neurologia, Ospedale San Giovanni di Dio, Firenze, <sup>3</sup> Unità Parkinson, Neurologia 1, AOU Careggi, Firenze, <sup>4</sup> Neurogenetica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>5</sup> Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze

---

### **Introduzione**

Le malattie da accumulo lisosomiale (LSD) sono patologie monogeniche rare e molto probabilmente sottostimate. La diagnosi, soprattutto nelle forme giovanili/adulte, può avvenire in ritardo o può mancare poiché i sintomi clinici possono sovrapporsi alla sintomatologia di molte malattie neurodegenerative comuni (NDD), come malattia di Parkinson, Alzheimer o atassie di varia eziologia. Sempre più studi di associazione genetica mostrano una stretta correlazione tra rare varianti nei geni associati alle LSD e la suscettibilità allo sviluppo delle più comuni NDD. Le varianti del gene della galattocerebrosidasi (GALC), ad esempio, sono state identificate come un fattore di rischio per le NDD, inclusa la sclerosi multipla. È anche ben nota la correlazione tra mutazioni nel gene GBA e lo sviluppo del morbo di Parkinson anche nei portatori di malattia di Gaucher. In questo studio riportiamo l'analisi genetica in pazienti neurologici adulti non diagnosticati con sintomi di NDD che si sovrappongono a quelli delle LSD ad esordio tardivo.

### **Metodi**

75 pazienti arruolati nello studio sono stati analizzati mediante sequenziamento massivo (NGS) di uno specifico pannello di 64 geni causativi di LSD. Sono stati eseguiti dosaggi enzimatici e studi funzionali per caratterizzare le varianti geniche identificate.

### **Risultati**

Nei 75 pazienti analizzati sono stati identificati 5 portatori di mutazioni GBA note e 4 portatori di mutazioni note nel gene GALC.

### **Discussione/ Conclusioni**

Nei pazienti con NDD analizzati abbiamo identificato un'alta percentuale di portatori eterozigoti di mutazioni note coinvolte nelle LSD. Tali dati suggeriscono che le alterazioni in eterozigosi nei geni associati alle LSD possono costituire un fattore di rischio per lo sviluppo di NDD comuni. Grant: questo studio è finanziato da Bando Regione Toscana 2018 (Progetto 'Lysolate') e da AMMeC Onlus.

---



## **ID: 49 - Diagnosi differenziale rapida per le iperammoniemie congenite neonatali basata sull'NGS targeted-resequencing: vantaggi per la terapia e la gestione del paziente in un caso di deficit di CA-VA**

Lorenzo Ferri<sup>1</sup>, Elena Procopio<sup>2</sup>, Michele Sacchini<sup>2</sup>, Giusi Scaturro<sup>2</sup>, Silvia Funghini<sup>3</sup>, Davide Mei<sup>4</sup>, Claudia Bianchini<sup>4</sup>, Silvia Falliano<sup>1</sup>, Catia Cavicchi<sup>1</sup>, Francesca Marin<sup>1</sup>, Giancarlo la Marca<sup>3</sup>, Renzo Guerrini<sup>1</sup>, Amelia Morrone<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>3</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Biochimica e Farmacologia, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>4</sup> Laboratorio di Tecnologie Molecolari e Bioinformatica, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze

---

### **Introduzione**

Liperammoniemia è un'emergenza clinica che richiede un trattamento immediato e mirato. La diagnosi può essere impegnativa dato che l'eziologia delliperammoniemia è varia (congenita o acquisita), ma una diagnosi corretta è importante per la terapia e la gestione del paziente, specie nelle manifestazioni neonatali.

### **Caso clinico**

Neonata con grave tachipnea, letargia, ipoglicemia, iperlattatemia, iperammoniemia e chetonuria trasferita presso il nostro ospedale a 6 giorni di vita. Screening neonatale esteso normale. Esami metabolici eseguiti in urgenza non conclusivi per porre diagnosi di specifica aciduria organica o difetto del ciclo dell'urea. L'avvio tempestivo del trattamento di emergenza per liperammoniemia ha portato alla rapida normalizzazione dell'ammonio plasmatico. Il quadro clinico comunque suggestivo di malattia metabolica indirizzava verso un sospetto di deficit di anidrasi carbonica VA (CA-VA) o di piruvato carbossilasi.

### **Metodi**

Targeted-resequencing NGS degli esoni e dei siti di splicing di 20 geni correlati a iperammoniemia mediante Illumina Nextera DNA Prep with Enrichment kit and 150bp Paired-End sequencing e piattaforma NextSeq (Illumina).

### **Risultati**

Abbiamo eseguito un sequenziamento NGS prioritario sul DNA del trio familiare. Il nostro metodo consente anche di rilevare eventuali delezioni/inserzioni esoniche estese. L'analisi eseguita ha identificato l'eterozigosi composta per due varianti patogenetiche del gene CA5A, causative del deficit autosomico recessivo di CA-VA. La variante materna era una delezione estesa che comprende l'intero esone 1 di CA5A. La variante paterna era la sinonima nota c.555G>A p.(Lys185Lys) che altera il processo di splicing dell'mRNA.

### **Discussione**

Nei casi di iperammoniemia in cui la valutazione biochimica metabolica non è suggestiva di uno specifico errore congenito del metabolismo, INGS può rappresentare l'unica alternativa per realizzare una diagnosi differenziale. Nel caso qui riportato, il sequenziamento NGS rapido di un pannello di 20 geni e la conseguente conferma diagnostica di deficit di CA-VA hanno permesso di ridurre il carico terapeutico dietetico e farmacologico mantenendo solo la somministrazione di acido carginico. L'allattamento al seno è stato reintrodotta a 18 giorni di vita (11 giorni dopo il ricovero presso il nostro ospedale) con un netto miglioramento della qualità di vita del neonato.

---

**ID: 52 - Effetti terapeutici di L-imminozuccheri nella Sindrome di Sanfilippo B** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Mariangela Ciampa<sup>1</sup>, Melania Scarcella<sup>1</sup>, Anna Esposito<sup>2</sup>, Gianluca Scerra<sup>1</sup>, Massimo D Agostino<sup>1</sup>, Annalisa Guaragna<sup>2</sup>, Luigi Michele Pavone<sup>1</sup>, Valeria De Pasquale<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Università di Napoli Federico II, Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Napoli, Italia, <sup>2</sup> Università di Napoli Federico II, Dipartimento di Ingegneria Chimica, dei Materiali e della Produzione Industriale, Napoli, Italia, <sup>3</sup> Università di Napoli Federico II, Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Napoli, Italia

---

## Introduzione

La sindrome di Sanfilippo è una malattia da accumulo lisosomiale che si suddivide in quattro sottotipi (A, B, C e D), tutti causati dalla mancanza o dalla ridotta attività di enzimi coinvolti nel catabolismo dell'eparano solfato (HS). In particolare, la sindrome di Sanfilippo B è determinata dal deficit dell'enzima N-acetil- $\alpha$ -glucosaminidase (NAGLU). Il conseguente accumulo di HS nei lisosomi e in altri compartimenti cellulari provoca sintomi clinici che interessano principalmente il sistema nervoso. Ad oggi, le terapie disponibili non sono curative per la malattia di Sanfilippo e pertanto numerose ricerche sono rivolte all'identificazione di nuovi approcci terapeutici.

## Metodi

La variazione dei livelli di HS e dei difetti lisosomiali è stata esaminata in seguito al trattamento con L-imminozuccheri in diversi modelli cellulari, quali cloni SK-NBE NAGLU-/- e fibroblasti di pazienti MPS IIIB mediante immunofluorescenza. I meccanismi d'azione degli L-imminozuccheri selezionati sono stati determinati mediante metodiche di western blotting e determinazione dell'attività enzimatica con metodiche fluorimetriche.

## Risultati

Gli L-imminozuccheri sono in grado di aumentare i livelli dell'enzima N-acetil- $\alpha$ -glucosaminidase e di indurre la sua corretta traslocazione verso il compartimento lisosomiale in fibroblasti di pazienti con conseguente correzione dei difetti lisosomiali e riduzione dell'accumulo di HS. Gli L-imminozuccheri identificati determinano la downregolazione dei livelli proteici delle glicosiltransferasi EXT1 e EXT2 suggerendo un meccanismo d'azione che determina anche la riduzione della sintesi del substrato.

## Discussione

Questi risultati evidenziano il potenziale farmacologico di glicomimetici della stereoisomeria L per il trattamento della sindrome di Sanfilippo, aprendo la strada allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici.

---

## **ID: 61 - Nuovo metodo per l'analisi dei metaboliti periferici delle ammine biogene: applicazione ai pazienti affetti da fenilchetonuria**

Silvia Santagata<sup>1</sup>, Emanuele Di Carlo<sup>2</sup>, Annamaria Gigliello<sup>2</sup>, Teresa Giovanniello<sup>1</sup>, Filippo Manti<sup>3</sup>, Francesca Nardecchia<sup>3</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>3</sup>, Antonio Angeloni<sup>2</sup>, Claudia Carducci<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UOC Patologia Clinica, AOU Policlinico Umberto I, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Roma Sapienza, <sup>3</sup> Dipartimento di Neuroscienze, Università di Roma Sapienza

---

### **Introduzione**

Alti livelli di fenilalanina (Phe) influenzano la sintesi dei neurotrasmettitori monoaminici nel cervello dei pazienti fenilchetonurici (PKU). La ricerca di marcatori periferici di disfunzione del metabolismo delle ammine biogeniche, che riflettano lomeostasi di questi neurotrasmettitori a livello del SNC, rimane un obiettivo di ricerca con potenziali implicazioni cliniche. Lo scopo di questo studio è lo sviluppo di un metodo in spettrometria di massa tandem (MS/MS) per l'analisi di 5-idrossitriptofano (5HTP), serotonina (5HT) e 3-O-metildopa (3OMD), nel sangue (B), nel plasma (P) e nel plasma ricco di piastrine (PRP), e dell'acido 5-idrossi-idolacetico (5HIAA) nel plasma. Il metodo è stato applicato all'analisi dei campioni di pazienti affetti da PKU.

### **Metodi**

I composti target sono stati analizzati mediante UPLC-ESI-MS/MS. Sono state ottimizzate le condizioni per la preparazione del campione, la separazione cromatografica e i parametri strumentali dello spettrometro di massa. Il metodo è stato applicato all'analisi dei campioni di 72 pazienti con PKU (di età compresa tra 14 e 52 anni) e 60 controlli (di età compresa tra 18 e 70 anni).

### **Risultati**

Il metodo sviluppato consente l'analisi accurata e precisa dei composti target. Tutti i marcatori sono risultati significativamente più bassi nei pazienti PKU rispetto ai controlli, con le differenze più sostanziali riscontrate nel plasma per 5-HTP ( $6,01 \pm 3,84$  vs  $15,20 \pm 7,54$  nmol/L;  $p << 0,0001$ ), 5-HIAA ( $46,70 \pm 17,32$  vs  $135,27 \pm 31,96$  nmol/L;  $p << 0,0001$ ) e 3-OMD ( $54,83 \pm 15,89$  vs  $104,60 \pm 24,57$  nmol/L;  $p << 0,0001$ ). L'analisi della relazione tra i livelli di Phe nel sangue e il metabolismo periferico delle ammine biogeniche nei pazienti con PKU ha dimostrato una correlazione negativa tra i valori di 5-HIAA e 3-OMD e i livelli di Phe nel sangue (5-HIAA e Phe,  $R^2=0,3702$ ;  $p << 0,0001$ ; 3-OMD e Phe,  $R^2= 0,17$ ;  $p < 0,001$ ).

### **Conclusioni**

Il metodo sviluppato offre un valido strumento per lo studio degli effetti periferici del deficit del metabolismo dei neurotrasmettitori. In particolare, questo lavoro conferma l'influenza negativa della Phe sulla sintesi di ammine biogeniche periferiche nei pazienti affetti da PKU. Questo lavoro pone le basi per uno studio sistematico sulla rilevanza clinica dell'effetto Phe sul metabolismo dei neurotrasmettitori periferici.

---

## **ID: 66 - Identificazione di una nuova variante di splicing nel gene *HADHB* causativa del deficit di proteina trifunzionale mitocondriale**

Alessia Mauri<sup>1</sup>, Luisella Alberti<sup>2</sup>, Clarissa Berardo<sup>1</sup>, Davide Biganzoli<sup>2</sup>, Maria Iascone<sup>3</sup>, Simona Lucchi<sup>2</sup>, Erika Benedetti<sup>2</sup>, Stephana Carelli<sup>2</sup>, Roberta Pretese<sup>4</sup>, Serena Gasperini<sup>4</sup>, Cristina Cereda<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia, <sup>2</sup> Centro di Genomica Funzionale e Malattie Rare, Ospedale dei Bambini Buzzi, Milano, Italia, <sup>3</sup> Laboratorio di Genetica Medica, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Italia, <sup>4</sup> UOS Malattie Metaboliche, Dipartimento di Pediatria, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, Italia

---

Il deficit di proteina trifunzionale mitocondriale (MTP) (MTPD2; #620300) è una malattia metabolica dell'ossidazione degli acidi grassi causata da mutazioni bialleliche nel gene *HADHB* (2p23.3). Questo gene codifica l'enzima 3-cheto-acil CoA tiolasi (LCKAT), parte del complesso enzimatico MTP e coinvolto nelle ultime tre fasi del metabolismo degli acidi grassi a catena lunga. In soggetti con deficit enzimatico, gli acidi grassi a catena lunga non possono essere ossidati per l'approvvigionamento energetico, accumulandosi di conseguenza nella cellula e causando effetti tossici sul muscolo cardiaco e scheletrico e sul fegato. Qui, descriviamo tre casi: i) due gemelli con esordio di cardiomiopatia in utero e scompenso metabolico neonatale sino all'exitus avvenuto nelle prime settimane di vita per un neonato e a 18 mesi per l'altro; ii) un terzo neonato affetto da scompenso cardiaco e metabolico, ritardo psicomotorio, ipotonia e frequenti episodi di rabdomiolisi acuta, exitus a 24 mesi. L'analisi biochimica mediante spettrometria di massa tandem (MS/MS) delle acilcarnitine nei DBS raccolti alla nascita ha mostrato un aumento di diverse idrossi-acilcarnitine a catena lunga (C16-OH, C16:1-OH, C18-OH C18:1-OH), accompagnato da una diminuzione della carnitina libera (C0). Il sequenziamento dell'esoma, di probandi e genitori, ha permesso di identificare una variante di splicing c.812-2A>G in omozigosi nel gene *HADHB* nei tre neonati delle due famiglie, ereditata dai genitori eterozigoti. La mutazione, mai descritta in letteratura, coinvolge il sito accettore di splicing dell'introne 9, portando probabilmente allo skipping dell'esone 10. Questa ipotesi è stata predetta da analisi *in silico* sul trascritto alternativo, in cui viene mostrato come la variante c.812-2A>G determina la perdita del sito di splicing al 3 nell'introne 9 e il conseguente salto dell'esone 10, portando così alla giunzione esone 9-11. La dinamica molecolare di LCKAT, eseguita con AlphaFold2 e visualizzata con il software PyMOL, ha permesso di osservare differenze strutturali e funzionali tra le due isoforme (canonica e mutata). Quest'ultima potrebbe interferire con la stabilità dell'intero complesso MTP, influenzandone l'attività enzimatica definita da studi *in vitro* della via di  $\beta$ -ossidazione. In conclusione, la nuova variante di splicing identificata indurrebbe il salto dell'esone 10, portando all'espressione di un'isoforma alternativa *HADHB* causativa del MTPD2 nei tre neonati.

---

## **ID: 67 - Generazione di Progenitori Neuronal umani derivati da iPSC per lo studio della Malattia di Gaucher/Parkinson**

**Rodolfo Tonin**<sup>1</sup>, Federica Feo<sup>1</sup>, Marina Rinaldi<sup>1</sup>, Silvia Falliano<sup>1</sup>, Francesca Clemente<sup>2</sup>, Francesca Cardona<sup>2</sup>, Silvia Ramat<sup>3</sup>, Martino Calamai<sup>4</sup>, Daniele Bani<sup>5</sup>, Renzo Guerrini<sup>6</sup>, Amelia Morrone<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dip. di Neuroscienze, AOU Meyer - IRCCS, Firenze, Italia, <sup>2</sup> Dip di Chimica “Ugo Schiff”, (DICUS), Univ Studi Firenze, Italia, <sup>3</sup> Parkinson Unit, AOU Careggi, Firenze, Italia, <sup>4</sup> LENS, Univ Firenze, CNR-INO, <sup>5</sup> Dip. Medicina Sperimentale e Clinica, UNIFI, <sup>6</sup> Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze

---

### **Introduzione**

Il gene *GBA* codifica l'enzima lisosomiale  $\beta$ -glucocerebrosidasi (GCCase) la cui riduzione o assenza è responsabile della malattia di Gaucher. Varianti patogenetiche nel gene *GBA* rappresentano il principale fattore di rischio genetico per lo sviluppo della malattia di Parkinson (MP). Una netta correlazione tra le differenti varianti nel gene e la gravità del quadro clinico della MP non è stata ancora del tutto chiarita. Una ridotta attività dell'enzima GCCase nei pazienti con MP, portatori e non di varianti nel gene *GBA*.

### **Metodi**

Coltura primaria di fibroblasti di pazienti affetti da Gaucher di Tipo I, III e II e di due pazienti Parkinson portatori delle varianti p.(Asn370Ser) e p.(Leu444Pro) del gene *GBA*, riprogrammazione in Cellule Staminali Pluripotenti Indotte (iPSCs) e differenziamento in Progenitori Neuronal (GBA-NPc) di tre pazienti affetti da Gaucher di tipo I, III e II.

### **Risultati**

I GBA-NPc hanno riprodotto, in vitro, il fenotipo biochimico e molecolare della malattia di Gaucher. È stata valutata la riduzione di attività della GCCase e conseguente accumulo della glucosilceramide a livello neuronale ed il suo ruolo critico nella patogenesi della malattia. La valutazione e la comparazione degli effetti fisiopatologici nei GBA-NPc e nei fibroblasti di pazienti Parkinson portatori di mutazione *GBA* è stata effettuata mediante confronto con due linee di controlli sani. Inoltre, l'efficacia di chaperoni farmacologici è stata valutata sull'attività enzimatica della GCCase nei GBA-NPc, sulle linee di controlli sani e sui fibroblasti di pazienti Parkinson con mutazioni *GBA* e attraverso l'analisi di biomarcatori specifici.

### **Discussione**

I GBA-NPc sono un prezioso modello cellulare di Malattia di Gaucher/Parkinson e risultano essere essenziali per gli studi di correlazione genotipo-fenotipo specialmente nella correlazione tra Gaucher e Parkinson. I GBA-NPc offrono un contributo fondamentale per lo sviluppo, lo screening e la validazione di nuovi farmaci per la cura o il trattamento della malattia di Gaucher/Parkinson.

*Ringraziamenti e grants:* AMMeC ONLUS; Bando Regione Toscana 2018 (Project 'Lysolate'), Fondazione CARIPT Giovani@RicercaScientifica 2021 (project 'iDANEURO PARK'), MUR and NextGenerationEU (project 'MNESYS').

---

## **ID: 84 - L'impatto del trapianto di fegato sul profilo metabolico nell'acidemia propionica: studi in vivo ed ex vivo**

**ELISA SACCHETTI**<sup>1</sup>, Giulio Catesini<sup>1</sup>, Samira Safarikia<sup>2</sup>, Andrea Cappolli<sup>4</sup>, Andrea Pietrobattista<sup>5</sup>, Barbara Barbara Siri<sup>1</sup>, Anna Sidorina<sup>1</sup>, Gionata Spagnoletti<sup>2</sup>, Diego Martinelli<sup>1</sup>, Marco Spada<sup>2</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Divisione di Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Italia, <sup>2</sup> Divisione Trapianti Addominali e Unità di Chirurgia Epatobilio-Pancreatica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Italia, <sup>3</sup> Laboratorio di Biochimica Clinica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Italia, <sup>4</sup> Divisione di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Italia, <sup>5</sup> Unità di Epatogastroenterologia, Nutrizione, Endoscopia Digestiva e Trapianto di Fegato, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Italia

---

### **Introduzione**

La propionica acidemia (PA) è caratterizzata da scompensi metabolici, deficit neurocognitivi, visivi e cardiomiopatia. Poiché la terapia medica standard (dieta a basso contenuto proteico, carnitina) spesso risulta non efficace nella prevenzione del rischio di scompenso metabolico e nello sviluppo di complicanze a lungo termine, il trapianto di fegato TF viene oggi considerata come opzione terapeutica alternativa. In questo lavoro abbiamo valutato l'impatto del TF sul profilo metabolico targeted in pazienti con PA.

### **Metodo**

Per l'analisi metabolica sono stati dosati nel plasma e nel liquor (CSF) acido metilcitrico (MCA), 3-idrossipropionico (3OHP), propionil-glicina (PG), aminoacidi, acilcarnitine, FGF21 e GDF15. I biomarcatori sono stati valutati pre- (21 pz) e post-TF (11 pz). L'analisi metabolica è stata inoltre effettuata in un sistema ex vivo con perfusione normotermica prolungata di due fegati PA espianati.

### **Risultati**

Le maggiori variazioni post-TF dei biomarcatori plasmatici hanno riguardato PG (-96%), FGF21 (-83%), 3OHP (-75%) e glicina (-65%), con un'impatto meno pronunciato (range di riduzione 45-54%) per MCA, rapporto C3/C2 e C3/C16, alanina, lisina e C3-carnitina (-20%). Nel CSF, la PG è risultata ridotta dell'86%, l'MCA del 54%, mentre il 3OHP mostrava riduzione variabili fra i pazienti. Lo studio sul modello epatico mantenuto ex-vivo in normotermia ha mostrato i seguenti rapporti nelle concentrazioni dei vari biomarcatori: C3/PG/3OHP/MCA = 51/30/15/4, con concentrazione crescenti di PG e glicina durante il tempo di perfusione.

### **Discussione**

Lo studio ha dimostrato il differente impatto del TF sui vari biomarcatori malattia-correlati nella PA, con maggiori variazioni nel plasma e nel CSF di PG e glicina. Il modello ex vivo ha dimostrato il ruolo chiave svolto dal fegato nei meccanismi di trans-esterificazione, attraverso la coniugazione dei derivati del propionato con la carnitina (C3) e la glicina (PG), con un minore contributo sul metabolismo del 3OHP e soprattutto del MCA. La riduzione post-TF di FGF21, un biomacatore plasmatico caratteristico di disfunzione mitocondriale nelle organico acidurie, ha mostrato un andamento parallelo alla PG. Cambiamenti meno rilevanti, con differenze tra i vari compartimenti (plasma/CSF/modello ex vivo) hanno riguardato gli altri biomarcatori. L'utilizzo di questo approccio ha evidenziato inoltre la differente compartimentalizzazione inter-organo del metabolismo del propionato.

---

**ID: 85 - Utilizzo di un metodo innovativo in LC-MS/MS per il dosaggio semiquantitativo di frammenti specifici di glicosaminoglicani per la diagnosi delle mucopolisaccaridosi: risultati preliminari** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Lucia Padella<sup>1</sup>, Lucia Zampini<sup>1</sup>, Chiara Monachesi<sup>1</sup>, Rosanna Cordiali<sup>2</sup>, Lucia Santoro<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio Malattie Metaboliche - SOD Clinica Pediatrica Presidio Salesi - Az.Ospedaliero Universitaria delle Marche, <sup>2</sup> SOD Clinica Pediatrica Presidio Salesi - Az.Ospedaliero Universitaria delle Marche

---

## Introduzione/background

Le Mucopolisaccaridosi (MPS) rappresentano un gruppo di patologie da accumulo lisosomiale causate dal deficit di enzimi che catalizzano la degradazione dei glicosaminoglicani (GAG), caratterizzate da un'anomala escrezione urinaria degli stessi e da un danno multiorgano progressivo con prognosi spesso severa. L'eterogeneità delle forme cliniche di MPS, diverse per epoca d'insorgenza, entità, progressione dei sintomi, compromissione dei vari organi ed apparati, può determinare il ritardo della diagnosi e compromettere l'efficacia di una eventuale terapia. Tutte le evidenze scientifiche confermano l'importanza di un precoce approccio terapeutico prima che si siano verificati danni irreversibili. La disponibilità di un metodo specifico e sensibile in grado di identificare tutti i tipi e sottotipi di MPS nella stessa analisi, rappresenta un importante traguardo nella tempestività della diagnosi e dell'inizio del trattamento terapeutico.

## Metodi

E' stato applicato il metodo in LC-MS/MS specifico per le MPS descritto da Saville (Genet Med 2019), per l'identificazione di frammenti a basso peso molecolare di GAG nelle urine, senza la preliminare digestione enzimatica. Tali oligosaccaridi, dopo derivatizzazione con 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP) e separazione cromatografica, vengono identificati in MS/MS, utilizzando la modalità MRM per 10 frammenti specifici. Nell'ultimo anno sono stati analizzati 50 campioni provenienti da pazienti MPS già noti e 150 campioni di urine non MPS (con DMB ed elettroforesi negativi).

## Risultati

Livelli aumentati di frammenti specifici hanno consentito la corretta identificazione di 11 MPS I, 5 MPS II, 6 MPS III A, 6 MPS III B, 1 MPS III C, 1 MPS III D, 11 MPS IV A, 2 MPS IV B, 7 MPS VI. Tutti i campioni non MPS utilizzati come controlli, hanno mostrato livelli di oligosaccaridi GAG-derivati non quantificabili o comunque significativamente più bassi rispetto ai corrispondenti frammenti dei campioni MPS.

## Discussione/conclusioni

Nell'ottica di ottimizzare il percorso diagnostico delle MPS, il metodo applicato rappresenta un notevole passo avanti, sia in termini di tempistica che di precisione, con la possibilità di utilizzare un unico test per 10 diversi tipi di MPS con un singolo campione di urina. In futuro sarà necessario ampliare il numero dei campioni urinari non MPS, per poter stabilire dei valori normali di riferimento, nonché aumentare la numerosità dei campioni delle diverse MPS

---

## **ID: 88 - Applicazione del “FLEX Comprehensive Epilepsy Panel Plus” per lo screening delle Malattie Mitocondriali: studio preliminare**

**Annamaria Sapuppo<sup>1</sup>**, Concetta Meli<sup>1</sup>, Luisa La Spina<sup>1</sup>, Alessia Arena<sup>1</sup>, Martino Ruggieri<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di Riferimento Regionale per le Malattie Metaboliche Ereditarie dell'Adulto e del Bambino, A.O.U. "G.Rodolico", Università di Catania

---

### **Introduzione**

Le malattie mitocondriali sono patologie multisistemiche complesse, causate da varianti patogenetiche in >350 geni differenti. Il numero di diagnosi è in continuo aumento, ma l'ampio spettro fenotipico e la mancanza di marcatori biochimici specifici rendono la diagnosi spesso difficoltosa, con possibile ricorso ad esami invasivi, come la biopsia muscolare, talvolta di difficile interpretazione. Metodiche più rapide ed innovative potrebbero risultare utili nell'accelerare il percorso diagnostico in questi pazienti.

### **Materiali e metodi**

Lo studio si è svolto nell'ambito del progetto di screening per il deficit di decarbossilasi degli Aminoacidi Aromatici (*PTC Therapeutics*®; Maggio 2022-Maggio 2023) tramite pannello NGS “*FLEX Comprehensive Epilepsy Panel Plus*” (refertazione media 28 giorni) su tampone salivare di pazienti afferenti c/o l'U.O. Clinica Pediatrica dell'Università di Catania, con almeno 1 dei seguenti criteri:

- 1) Problemi oculomotori
- 2) Disturbi disautonomici
- 3) Alterato metabolismo glucidico (ipoglicemie ripetute)
- 4) Coinvolgimento dei gangli della base e/o del tronco encefalico, leucoencefalopatia/atrofia cerebellare
- 5) Insufficienza epatica acido valproico correlata
- 6) Epilessia farmacoresistente e/o stato di male
- 7) Mioclono come principale tipo di crisi epilettica
- 8) Sordità neurosensoriale/atrofia ottica/retinite pigmentosa
- 9) Infarti cerebrali
- 10) Aumento ingiustificato del lattato nel sangue/liquor

### **Risultati**

30 pazienti (16 femmine; 7 di età <1anno) sono stati arruolati. 5 sono risultati portatori di varianti a carico di geni mitocondriali: 1 *BSC1L* (sindrome GRACILE); 1 *IBA57* (Disfunzione Mitocondriale Multipla tipo 3); 1 *POLG* (Sindrome di Alpers); 1 eteroplasmia *MT-TK* (Sindrome di Leigh); 1 eteroplasmia *MT-ND4* (Neuropatia Ottica di Leber). Altre diagnosi sono state identificate: 1 Sindrome di Rett (*CDKL5*), 1 Encefalopatia Epilettica (*SCN2A*); 1 mosaicismo *GRIN2D*; 1 Iperprolinemia (*PRODH*). Nei casi di eteroplasmia e sindrome GRACILE, è stata eseguita biopsia muscolare per ulteriori indagini funzionali. Nei casi di mitocondriopatie, terapia specifica è stata tempestivamente iniziata.

### **Conclusioni**

I risultati preliminari dello studio hanno mostrato che uno screening genetico mirato può supportare la diagnosi di malattia mitocondriale, consentendo il più rapido ricorso ad una terapia specifica, ove disponibile. Ulteriori dati saranno necessari per supportare quanto evidenziato finora.

---



## **ID: 94 - PKU-SMART-Sensor: un sistema Point-of-Care integrato per il self-monitoring della fenilalanina su sangue, in pazienti affetti da fenilchetonuria**

**MariaAnna Messina**<sup>1</sup>, Luisa La Spina<sup>1</sup>, Ludovica Maugeri<sup>3</sup>, Concetta Meli<sup>1</sup>, Salvatore Petralia<sup>3</sup>, Riccardo Puccio<sup>4</sup>, Martino Ruggieri<sup>2</sup>, Guido Spoto<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio Screening Neonatale, Clinica Pediatrica, AOU Policlinico “G. Rodolico – San Marco” Via Santa Sofia 78, 95123 CT,

<sup>2</sup> Clinica pediatrica - Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania, Viale Andrea Doria 6,

95123 CT, <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze del Farmaco e della Salute, Università degli Studi di Catania, Viale Andrea Doria 6, 95123

CT, <sup>4</sup> InfoBiotech srl, Via del Bersagliere, 45, 90143 PA

---

### **Introduzione /background**

Nei pazienti fenilchetonurici (PKU), il costante monitoraggio della concentrazione ematica di fenilalanina risulta di fondamentale importanza al fine di mantenere i valori sotto controllo ed evitare i danni neurologici cui possono incorrere. Attualmente i pazienti PKU possono monitorare i propri valori di fenilalanina eseguendo il test DBS, analizzato presso i centri di riferimento, con tempi di risposta abbastanza lunghi. In questo contesto è stato sviluppato un sistema point-of-care per la misurazione enzimatica dei livelli di fenilalanina nei campioni di sangue, in grado di restituire il dato in real-time, sia al paziente che al clinico.

### **Metodi**

Valutando diverse osservabili fisiche, sono stati investigati differenti metodi analitici: ottici, capacitivi, elettrochimici. In particolare si è riusciti ad ottimizzare un metodo ottico integrabile su piattaforma, costituita da un biosensore a basso costo (miniaturizzato e monouso) e da un lettore per processi termici e lettura ottica, collegabile a uno smartphone/tablet per il controllo remoto e l'acquisizione dei dati. Il biosensore integra in un'unica fase tutti i processi richiesti per il monitoraggio della fenilalanina 1) preparazione del campione, 2) riconoscimento enzimatico della fenilalanina utilizzando la fenilalanina deidrogenasi NADdipendente, 3) trasduzione colorimetrica basata sulla formazione *in situ* di nanostrutture doro plasmoniche.

### **Risultati**

Il sistema, che ha raggiunto un livello di maturità tecnologica TRL7, è stato testato su campioni reali, dimostrando buone prestazioni in termini di range dinamico (da 0 a 1000  $\mu\text{M}$ ), limite di rilevabilità (40  $\mu\text{M}$ ), specificità rispetto ad altri amminoacidi (>90%) e buona riproducibilità (CV ~ 4%)

### **Discussione / conclusioni**

La facilità d'uso, il basso tempo di risposta e l'analisi a basso costo aprono la strada alla futura commercializzazione del sistema, al fine di migliorare la qualità della vita dei pazienti PKU, monitorando in tempo reale l'efficacia della terapia dietetica.

---

## **ID: 105 - Valutazione su cellule intestinali umane Caco-2 dello stato ossidante e infiammatorio indotto dai sostituti proteici nella dieta di pazienti PKU: confronto tra miscele standard, a lento rilascio e GMP**

**Mirko Gambino**<sup>1</sup>, Martina Tosi<sup>2</sup>, Laura Fiori<sup>1</sup>, Carmen Lammi<sup>3</sup>, Alessandra Bosetti<sup>1</sup>, Luisella Alberti<sup>4</sup>, Cristina Cereda<sup>4</sup>, Chiara Montanari<sup>5</sup>, Gianvincenzo Zuccotti<sup>5</sup>, Elvira Verduci<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Milano, Milano, <sup>3</sup> Dipartimento di scienze farmaceutiche, Università degli Studi di Milano, Milano, <sup>4</sup> Laboratorio di genomica funzionale e malattie rare, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, <sup>5</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano

---

### **INTRODUZIONE**

Il trattamento dietetico della fenilchetonuria (PKU) prevede la somministrazione quotidiana di miscele di aminoacidi liberi (L-AA) che presentano una cinetica di assorbimento intestinale differente rispetto alle proteine naturali. I sostituti proteici alternativi, come formule aminoacidiche a lento rilascio e glicomacropetide (GMP), hanno invece caratteristiche più simili alle proteine naturali. L'obiettivo di tale lavoro è di valutare lo stato ossidativo e infiammatorio di tali sostituti su cellule intestinali umane Caco-2, confrontandoli con gli L-AA liberi.

### **METODI**

In una prima fase sono stati confrontati L-AA liberi e miscele a lento rilascio; in una seconda fase L-AA liberi, GMP e miscela 1:1 di GMPL-AA liberi. Lattività antiossidante è stata valutata mediante saggio con 2,2-difenil-1-picrilidrazile (DPPH) e saggio ferro-riducente (FRAP), gli effetti sulla vitalità cellulare tramite test con 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro (MTT). In cellule intestinali umane Caco-2 è stata valutata la capacità di modulare specie reattive all'ossigeno (ROS), perossidazione lipidica (test malonildialdeide), ossido nitrico (NO) dopo stimolo con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Inoltre, dopo induzione di stress infiammatorio con lipopolisaccaridi (LPS), è stata valutata la produzione di citochine pro-infiammatorie (IL-1beta, IL-6, IFN-gamma e TNF-alfa) e antinfiammatorie (IL-10).

### **RISULTATI**

L-AA a lento rilascio, GMP e mix 1:1 GMPL-AA liberi hanno ridotto significativamente il radicale DPPH, al contrario degli L-AA liberi. Tutti i campioni hanno mostrato attività ferro-riducente al test FRAP. Al test MTT tali formulazioni evidenziano un profilo di sicurezza migliore e, al contrario degli L-AA liberi, riducono significativamente la produzione di ROS intracellulare, modulano la perossidazione lipidica, ripristinano i livelli fisiologici di NO dopo induzione con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Inoltre, riducono le citochine pro-infiammatorie indotte da LPS.

### **CONCLUSIONE**

Gli L-AA liberi sembrano peggiorare significativamente lo stato ossidativo e infiammatorio su cellule dell'intestino umano Caco-2; tale stato viene ripristinato quando le cellule vengono pretrattate con L-AA a lento rilascio, GMP o miscela 1:1 di GMPL-AA liberi. Tali risultati forniscono importanti novità precliniche per una scelta delle miscele più consapevole nei pazienti affetti da PKU, al fine di prevenire lo sviluppo di patologie non trasmissibili, notoriamente correlate a stress ossidativo-infiammatorio.

---

## **ID: 111 - Modelli di malattia di Gaucher neuronopatica rivelano un difetto di crescita associato all'iperattivazione del pathway di Hippo**

**Daria Messelodi**<sup>1</sup>, Annalisa Astolfi<sup>1</sup>, Silvia Strocchi<sup>2</sup>, Daniela Grifoni<sup>3</sup>, Andrea Pession<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Bologna, <sup>2</sup> Laboratorio di Ricerca Traslazionale, USL-IRCCS di Reggio Emilia, <sup>3</sup> Dipartimento di Medicina clinica, Sanità pubblica, Scienze della vita e dell'ambiente, Università dell'Aquila, <sup>4</sup> Unità di Pediatria, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna

---

### **Background**

La malattia di Gaucher, una delle più comuni malattie da accumulo lisosomiale, è causata da mutazioni nel gene *GBA1* e caratterizzata da un ampio spettro di manifestazioni fenotipiche che, nelle forme più severe, può includere un grave coinvolgimento neuronale. I pazienti affetti dalla forma neuronopatica mostrano infatti un elevato livello di disfunzionalità cerebrale accompagnato da un netto aumento della neuroinfiammazione, le cui basi molecolari sono ad oggi ancora poco chiare.

### **Metodi**

Utilizzando una combinazione di modelli di malattia, il primo basato su *Drosophila Melanogaster* dGBA1b-KO e il secondo su iPSC derivate da pazienti affetti da malattia di Gaucher differenziate in precursori neuronali e neuroni maturi, abbiamo studiato i meccanismi alla base della neurodegenerazione.

### **Risultati**

Nel modello *Drosophila* dGBA1b-KO abbiamo dimostrato come a livello cerebrale e in diversi altri tessuti si verifici un'alterazione dei meccanismi di crescita con un aumento del tasso di morte cellulare e una riduzione della proliferazione. Questi fenotipi sono risultati associati alla *down*-regolazione di diversi *target* trascrizionali del *pathway* di Hippo, principalmente coinvolto nei meccanismi di controllo della crescita di cellule e tessuti. Le cellule neuronali differenziate a partire da iPSC derivate da pazienti affetti da malattia di Gaucher (di tipo 1 e 3), mostrano un analogo difetto di crescita accompagnato da una diminuzione dei livelli di espressione di CTGF e CYR61, a valle del *pathway* di Hippo, e un aumento dei livelli citoplasmatici di YAP, principale fattore trascrizionale della via di segnalazione. È inoltre interessante notare che il *knock-down* di Hippo nei moscerini dGBA1b-KO vada a compensare il difetto proliferativo, ripristinando in parte anche i livelli di espressione dei *target* di Hippo.

### **Discussione**

L'inibizione del *pathway* di Hippo rappresenta dunque un nuovo promettente approccio per il trattamento della malattia di Gaucher di tipo neuronopatico.

---

**ID: 119 - Nuovo metodo in LC-MS/MS per la determinazione simultanea di colestano, 7-chetocolesterolo e colestano-triolo per la diagnosi precoce e il monitoraggio terapeutico della xantomatosi cerebrotendinea** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Sara Boenzi<sup>1</sup>, Elisa Sacchetti<sup>1</sup>, Giorgia Olivieri<sup>1</sup>, Roberta Taurisano<sup>1</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Roma

---

## Introduzione

La xantomatosi cerebrotendinea (CTX) è una rara malattia neurometabolica degenerativa, causata da mutazioni nel gene CYP27A1 che codifica per la sterolo 27-idrossilasi, essenziale per la sintesi degli acidi biliari e il cui deficit provoca l'accumulo di colestano (Chol), lo specifico biomarcatore per la diagnosi. I sintomi comprendono segni neurologici progressivi (atassia, ritardo mentale/psicosi), colestasi neonatale, xantomi tendinei, cataratta e cardiopatia ischemica. Il trattamento precoce con acidi biliari migliora radicalmente il decorso clinico della CTX, ma il sospetto diagnostico è spesso tardivo, guidata dalla comparsa degli xantomi nella prima età adulta. Nella CTX risultano elevati anche il 7-chetocolesterolo (7-KC) e il colestano-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triolo (Triolo). Abbiamo sviluppato e validato clinicamente, per la diagnosi e il monitoraggio terapeutico, un nuovo metodo multiplex in LC-MS/MS per la quantificazione simultanea nel plasma di Chol, 7-KC e Triolo

## Metodi

Triolo, 7-KC e Chol sono stati analizzati dopo estrazione in fase liquida attraverso derivatizzazione ad esteri del dimetilamminobutirrato, mediante LC-MS/MS eseguita su uno spettrometro SCIEX4000-QTRAP, in modalità ioni positivi

## Risultati/discussione

Il metodo è stato validato per dimostrare la specificità, la linearità, il recupero, il limite minimo di quantificazione, l'accuratezza e la precisione per i tre analiti in differenti intervalli di concentrazione, variabili da 0.5 a 200  $\mu$ mol/L per il Chol e da 0.5 a 200 ng/ml per 7-KC e Triol. I CV intra e inter-day sono risultati <15% per tutti gli analiti. Dall'analisi ROC, l'area sotto la curva è 0.998 per il Chol, 0.995 per il 7-KC e 1000 per il Triol, indicandone un ottimale valore diagnostico. La validazione clinica è stata effettuata su una paziente che presentava un fenotipo sospetto per CTX (atassia, deficit cognitivo e cataratta), confermato dall'aumento di tutti e tre i biomarcatori: Chol 21.6  $\mu$ M (vn 0.95-5.94), 7-KC 1220 ng/ml (vn 6.2 -40.4), Triolo 2270 ng/ml (vn 1.2-23.7). In trattamento con acidi biliari, parallelamente ad un marcato miglioramento della sintomatologia si è osservata la progressiva riduzione, fino a normalizzazione dopo incremento della terapia, delle concentrazioni plasmatiche dei tre biomarcatori. In sintesi, questo metodo multiplex fornisce uno strumento diagnostico semplice, rapido e non invasivo per la diagnosi biochimica precoce e per il monitoraggio della terapia della CTX.

---

## **ID: 131 - Nuovi Chaperones farmacologici selettivi della $\alpha$ -glucosidasi acida per il trattamento della malattia di Pompe**

**Nadia Minopoli**<sup>1</sup>, Antonietta Tarallo<sup>1</sup>, Carla Damiano<sup>1</sup>, Anaïs Vieira Da Cruz<sup>2</sup>, Valentine Perraudin<sup>2</sup>, Roberta Iacono<sup>3</sup>, Véronique Roig-Zamboni<sup>4</sup>, Andrea Bossio<sup>2</sup>, Salia Tangara<sup>2</sup>, Alice Kanazawa<sup>2</sup>, Daniel Lahav<sup>5</sup>, Jean-Bernard Behr<sup>6</sup>, Herman S. Overkleeft<sup>5</sup>, Marco Moracci<sup>3</sup>, Gerlind Sulzenbacher<sup>4</sup>, Giancarlo Parenti<sup>1</sup>, Sandrine Py<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Telethon Institute of Genetics & Medicine, Pozzuoli, Italy, <sup>2</sup> University Grenoble Alpes, CNRS, DCM, F-38058 Grenoble, France, <sup>3</sup> Department of Biology, University of Naples "Federico II", Complesso Universitario di Monte S. Angelo, Naples, Italy, <sup>4</sup> Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Aix-Marseille University, AFMB, Marseille, France, <sup>5</sup> Department of Medical Biochemistry, Leiden Institute of Chemistry, Leiden University, Leiden 2333 CC, The Netherlands, <sup>6</sup> Univ. Reims Champagne-Ardenne, ICMR, CNRS UMR 7312, FR Condorcet CNRS 3417, 51687 Reims Cedex 2, France

---

### **Background**

La malattia di Pompe è una malattia metabolica ereditaria dovuta alla carenza dell'enzima  $\alpha$ -glucosidasi (GAA). Finora lo standard terapeutico è stato la terapia enzimatica sostitutiva (ERT) con la somministrazione di  $\alpha$ -glucosidasi alfa ricombinante (rhGAA). Di recente sono stati introdotti enzimi ricombinanti di seconda generazione con migliorato targeting muscolare e la combinazione della ERT con uno chaperone farmacologico, basata sull'effetto stabilizzante di questa molecola sull'enzima ricombinante. Abbiamo valutato l'efficacia una nuova classe di chaperones capaci di interagire con la rhGAA sia nel sito catalitico, ma anche in siti secondari. Uno in particolare ha dimostrato di essere un buon candidato per migliorarne l'attività enzimatica in vitro, in cellule di pazienti con malattia di Pompe e in topi KO trattati in combinazione con ERT.

### **Metodi**

È stato testato l'effetto del composto (COMP1) sull'efficacia dell'enzima ricombinante rhGAA, in linee di fibroblasti di pazienti con malattia di Pompe. La combinazione di COMP1 e rhGAA è stata testata inoltre in vivo, per valutarne l'efficacia nel correggere i livelli tissutali di GAA in topi KO della Malattia di Pompe. I topi sono stati trattati con infusioni di rhGAA 40 mg/kg in combinazione con COMP1 alla concentrazione di 5 mg/kg e sacrificati 48 ore dopo l'iniezione di ERT. L'attività GAA è stata misurata in fegato, cuore, diaframma, gastrocnemio e quadricipite.

### **Risultati**

Nei fibroblasti di pazienti Pompe miglioramenti dell'attività enzimatica sono stati osservati in combinazione con la ERT, a concentrazioni di COMP1 di 5, 10 e 20  $\mu$ M. I dati sono confermati da analisi di western blot che mostra nelle cellule trattate con la combinazione di rhGAA e COMP1 una migliorata maturazione dell'enzima nelle isoforme mature/attive di 70-76 kDa. Anche il trafficking lisosomiale dell'enzima ricombinante appare migliorato in presenza di COMP1. Negli esperimenti in vivo la combinazione di COMP1 e rhGAA si traduce in migliori livelli di correzione della attività GAA rispetto al trattamento con sola rhGAA in diversi tessuti con significatività statistica in diaframma e quadricipite.

### **Conclusioni**

Il composto studiato rappresenta un potenziale chaperone farmacologico per la GAA, come alternativa al farmaco già impiegato nella terapia della malattia di Pompe

---

## **ID: 133 - DIAGNOSI MOLECOLARE DI MALATTIA MITOCONDRIALE: VALIDAZIONE ED IMPLEMENTAZIONE DI UNA METODICA DI NEXT GENERATION SEQUENCING PER L'IDENTIFICAZIONE DI ALTERAZIONI DEL GENOMA MITOCONDRIALE E NUCLEARE.**

**Fabiana Uomo**<sup>1</sup>, Ferdinando Barretta<sup>2</sup>, Filomena Caldora<sup>1</sup>, Rossella Mocerino<sup>1</sup>, Chiara De Falco<sup>1</sup>, Daniela Adamo<sup>3</sup>, Francesco Testa<sup>4</sup>, Francesca Simonelli<sup>4</sup>, Olga Scudiero<sup>2</sup>, Nadia Tinto<sup>2</sup>, Giulia Frisso<sup>2</sup>, Cristina Mazzaccara<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli studi di Napoli Federico II, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli studi di Napoli Federico II; Ceinge Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore, Napoli, <sup>3</sup> Dipartimento di Neuroscienze e Scienze Riproduttive ed Odontostomatologiche, Università degli studi di Napoli Federico II, <sup>4</sup> Dipartimento multidisciplinare di specialità medico-chirurgiche e odontoiatriche, università della Campania Luigi Vanvitelli

---

### **INTRODUZIONE**

Le malattie mitocondriali (MDs) (prevalenza 5-12/100.000) sono un gruppo di rari disturbi genetici, con insorgenza variabile, dall'età infantile a quella adulta, caratterizzati da difetti della fosforilazione ossidativa dovuti sia ad alterazioni del DNA mitocondriale (mtDNA) che del genoma nucleare (nDNA). Sono patologie difficili da diagnosticare, spesso multi-sistemiche ma anche tessuto-specifiche che interessano, preferenzialmente, i tessuti ad alta richiesta energetica e quindi principalmente caratterizzate da difetti neurologici, oftalmologici, cardiologici, del sistema endocrino e uditivo. A causa del duplice controllo genetico sul "fenotipo mitocondriale" e dei numerosi geni nucleari coinvolti, la diagnosi genetica delle MDs è molto complessa e per molti pazienti manca spesso una diagnosi molecolare.

### **MATERIALI E METODI**

Lo scopo del nostro studio è stato quello di validare ed implementare un protocollo di Next Generation Sequencing (NGS) per l'analisi contemporanea dell'intero mtDNA ed un pannello di circa 260 geni nucleari associati a MDs, inclusi in un esoma clinico. Gli esperimenti di validazione del MITOchondrial-NUCLEAR (MITO-NUCLEAR) sono stati eseguiti utilizzando otto campioni di DNA, precedentemente analizzati mediante sequenziamento Sanger dell'mtDNA o di geni nucleari, isolati da differenti tessuti (sangue, tampone buccale, tessuto fresco, tessuto da vetrino e tessuto in paraffina) in due diversi rapporti di diluizione delle sonde mitocondriali:nucleari blendate (1:900 e 1:300).

### **RISULTATI**

I dati di NGS hanno confermato le variazioni precedentemente identificate ed hanno mostrato che, con l'ottimale diluizione 1:300, il 100% del mtDNA era coperto almeno 3000X e il 93,84% delle regioni nucleari era coperto almeno 100X.

### **CONCLUSIONI**

Il nostro pannello MITO-NUCLEAR permette di indagare contemporaneamente entrambi i genomi e può essere applicato per la diagnosi genetica delle MDs. Successivamente alla fase di validazione, abbiamo, infatti, applicato la nuova strategia analitica in una bambina affetta da una grave atrofia ottica ad esordio precoce che suggeriva una patologia mitocondriale. L'analisi mediante MITO-NUCLEAR ha evidenziato la presenza della mutazione c.2873\_2876del, p.(Val958GlyfsTer3;CD002708;rs80356530) nel gene *OPA1* (OMIM 605290) permettendo di giungere ad una diagnosi molecolare ed iniziare una terapia appropriata utilizzando un nuovo approccio farmacologico per migliorare la produzione di energia mitocondriale.

---

## **ID: 136 - Approccio multi-omico per la ricerca di nuovi biomarcatori per la malattia di Pompe.**

**Antonietta Tarallo**<sup>1</sup>, Carla Damiano<sup>2</sup>, Anna Valanzano<sup>2</sup>, Nadia Minopoli<sup>1</sup>, Maria Rosaria Tuzzi<sup>2</sup>, Simona Fecarotta<sup>2</sup>, Olimpia Musumeci<sup>3</sup>, Antonio Toscano<sup>3</sup>, Flavia Tubili<sup>4</sup>, Sabrina Ravaglia<sup>5</sup>, Lucia Ruggiero<sup>6</sup>, Lucio Santoro<sup>6</sup>, Andrea Dardis<sup>7</sup>, Marianna Caterino<sup>8</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>8</sup>, Davide Cacchiarelli<sup>1</sup>, Annamaria Carissimo<sup>9</sup>, Giancarlo Parenti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (NA), <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Translazionali, Università Federico II, Napoli, <sup>3</sup> Dipartimento di Neuroscienze, Università di Messina, <sup>4</sup> Unità di Malattie Metaboliche, Ospedale Meyer, Firenze, <sup>5</sup> Fondazione Istituto Neurologico Nazionale C. Mondino IRCCS, Pavia, <sup>6</sup> Dipartimento di Neuroscienze, Università Federico II, Napoli, <sup>7</sup> Azienda Ospedaliera Universitaria "Santa Maria della Misericordia", Udine, <sup>8</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università Federico II, Napoli, <sup>9</sup> Istituto per le Applicazioni del Calcolo "Mauro Picone", Napoli

---

### **Introduzione /background**

La valutazione delle condizioni del paziente e il monitoraggio dell'efficacia della Terapia Enzimatica Sostitutiva (ERT), sono questioni critiche nella gestione della Malattia di Pompe (MP), una severa miopatia metabolica causata dal deficit dell'enzima lisosomiale alfa glucosidasi acida. Scopo dello studio è identificare un profilo di biomarcatori, analizzabili nel plasma in modo rapido e non invasivo, che siano rappresentativi della fisiopatologia della malattia.

### **Metodi**

Sono stati analizzati 30 campioni di plasma di pazienti affetti da MP. Su ogni singolo campione abbiamo analizzato parallelamente quattro omiche: mirnoma, proteoma, lipidoma e metaboloma. A seconda del profilo da analizzare sono state utilizzate diverse metodiche, specificamente Next Generation Sequencing e Spettrometria di massa MRM. Analisi bioinformatiche multi-omiche integrate sono state utilizzate per interpolare i dati provenienti dalle diverse analisi e massimizzare le informazioni comuni, estraendo i marcatori più significativi e più rappresentativi dei diversi pathways alterati nella MP.

### **Risultati**

L'analisi multi-omica integrata ha portato all'identificazione di gruppi di biomarcatori con livelli differenziali in pazienti con MP rispetto a controlli sani. Nello specifico abbiamo trovato livelli anomali di: 10 miRNA (9 up, 1 down), 20 proteine (9 up, 11 down), 20 lipidi (1 up, 19 down) e 5 metaboliti con livelli bassi. Abbiamo dimostrato in un precedente lavoro che miR-133a oltre ad essere up-regolato, riesce a stratificare i due fenotipi della malattia e si abbassa in seguito a ERT e risulta ancora quello più affidabile. In aggiunta, alcune proteine ed in particolare un enzima risultano alterate nel plasma. Tale marcatore partecipa attivamente a processi innescati da stress ossidativo e danno mitocondriale e rispecchia ciò che avviene in alcuni dei tessuti maggiormente bersagliati dalla malattia, quali gastrocnemio e quadricipite, come muscoli scheletrici.

### **Discussione / conclusioni**

L'identificazione di biomarcatori misurabili in un fluido biologico consentirebbe lo sviluppo della "biopsia liquida" per la MP. Quest'approccio, oltre ad essere un ausilio clinico importante per monitorare la progressione della malattia, risposta alle terapie, potrebbe portare all'identificazione di nuovi targets terapeutici. Questo modello può essere esteso ad altre malattie da accumulo lisosomiale.

---

## **ID: 138 - Deficit di aminoacilasi 1 in bimba di 8 mesi con ipertransaminemia.**

**Simonetta Simonetti**<sup>1</sup>, Tania Lorè<sup>1</sup>, Silvia Russo<sup>1</sup>, Roberta Cardinali<sup>1</sup>, Donatella De Giovanni<sup>2</sup>, Albina Tummulo<sup>2</sup>, Rita Fischetto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Patologia Clinica e Screening Neonatale Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico Giovanni XXIII Bari, <sup>2</sup> Malattie metaboliche e genetica medica Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico Giovanni XXIII Bari

---

### **INTRODUZIONE/BACKGROUND**

Il deficit di aminoacilasi 1 (ACY1D) è un raro errore congenito del metabolismo caratterizzato da un' aumentata escrezione urinaria di aminoacidi N-acetilati. L' ACY1D è causato da una mutazione omozigote nel gene ACY1 con consistente variabilità fenotipica tra i pazienti. Si manifesta prevalentemente con sintomi neurologici quali ritardo psicomotorio, convulsioni, ipotonia.

### **METODI/PAZIENTI**

Abbiamo valutato un bimba di 8 mesi di 2880 g, 37 settimane di età gestazionale, screening neonatale esteso nella norma, genitori non consanguinei, familiarità negativa. A 8 mesi il paziente giunge in pronto soccorso per un episodio critico convulsivo di lunga durata in apiressia in corso di severa ipoglicemia ed acidosi metabolica. Viene eseguita TC d'urgenza che non evidenzia alterazioni densitometriche dei tessuti nervosi encefalici. La RM dell'encefalo non evidenzia alterazioni del segnale dei tessuti encefalici. La valutazione neurologica non ha rilevato segni di neuropatia e tappe neuromotorie nei range per età. I test ematochimici di routine hanno rivelato una ipertransaminasemia (AST 1522 U/l, ALT 1153 U/L, GGT 279 U/l) e un aumento della concentrazione di bilirubina totale e diretta. In base al quadro biochimico e alla sintomatologia clinica è stata eseguita l'analisi degli acidi organici urinari in Gascromatografia-Spettrometria di massa (GC-MS).

### **RISULTATI**

L'analisi degli acidi organici urinari ha rilevato una significativa escrezione di derivati N-acetilati di alanina, metionina, acido glutamico, glicina, leucina, valina e isoleucina. L'acido N-acetilaspatico, presente nel campione urinario rientrava nei limiti di riferimento. Il monitoraggio ha confermato l' aumentata escrezione urinaria di N-acetil aminoacidi.

### **DISCUSSIONE**

L' ACY1D è una patologia rara. La presenza di aminoacidi N-acetilati urinari rilevati in GC-MS rappresenta un profilo biochimico caratteristico e ha permesso la diagnosi di deficit di ACY1 in presenza di sintomi clinici non caratteristici. L'analisi genetica in corso definirà l'iter diagnostico conclusivo.

---



## **ID: 141 - Iperammoniemia neonatale e 3-metilglutaconico aciduria: deficit di NAGS mascherato da malattia mitocondriale**

Catia Cavicchi<sup>1</sup>, Elena Procopio<sup>2</sup>, Francesca Pochiero<sup>2</sup>, Michele Sacchini<sup>2</sup>, Silvia Funghini<sup>3</sup>, Silvia Falliano<sup>1</sup>, Francesca Marin<sup>1</sup>, Marina Rinaldi<sup>1</sup>, Lorenzo Ferri<sup>1</sup>, Davide Mei<sup>4</sup>, Claudia Bianchini<sup>4</sup>, Sabrina Malvagia<sup>3</sup>, Giancarlo la Marca<sup>3</sup>, Renzo Guerrini<sup>1</sup>, Amelia Morrone<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>3</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Biochimica e Farmacologia, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>4</sup> Laboratorio di Tecnologie Molecolari e Bioinformatiche, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze

---

### **Introduzione**

L'iperammoniemia è una delle principali cause di morbilità e mortalità nei neonati affetti da errori congeniti del metabolismo e richiede pertanto un trattamento tempestivo e aggressivo. La diagnosi differenziale aiuta a ottimizzare la terapia, ma può rivelarsi complessa, come nel caso qui presentato.

### **Caso clinico**

Secondogenita di genitori marocchini consanguinei che presentava in 3° giornata di vita distress respiratorio e ipoalimentazione con successiva iporeattività. Per discoagulopatia e grave iperammoniemia (1129 µmol/l) veniva trasferita d'urgenza presso l'AOU Meyer con tempestivo inizio della terapia detossificante (sodio benzoato, arginina, glicerolo fenilbutirrato e acido carginico). Dopo 3h per mancata risposta (ammonio 2261 µmol/l) iniziava emodiafiltrazione. Ammonio normalizzato in 16h. Allo screening neonatale si rilevava ipocitrullinemia, confermata poi con aminoacidogramma plasmatico. Nell'insieme, le indagini metaboliche suggerivano un difetto prossimale del ciclo dell'urea non associato a orotico aciduria con disfunzione mitocondriale (significativa escrezione di 3-metilglutaconato, fumarato e lattato). In 7° giornata di vita, nel sospetto di enterocolite necrotizzante, si sospendeva la terapia enterale (acido carginico e glicerolo fenilbutirrato), ma si osservava un nuovo picco ammoniémico. Per ottimizzare la terapia era importante un inquadramento diagnostico preciso.

### **Metodi**

Targeted-resequencing NGS di 20 geni correlati a iperammoniemia mediante Illumina Nextera DNA Prep with Enrichment kit and 150bp Paired-End sequencing e piattaforma NextSeq (Illumina); sequenziamento Sanger.

### **Risultati**

Il sequenziamento NGS sul DNA del trio familiare non ha identificato varianti patogenetiche, escludendo anche eventuali delezioni estese, ma una piccola regione del gene NAGS (60 bp) non era coperta. Il sequenziamento Sanger di tale regione ha identificato in omozigosi la nuova variante c.114\_120dup p.(Arg41Glyfs\*257), risultata ereditata da entrambi i genitori. Questo ha portato alla diagnosi di deficit di N-acetilglutammato sintasi (NAGSD) in ~3 settimane.

### **Discussione**

NAGSD e i difetti del ciclo dell'urea in generale devono essere considerati in pazienti con iperammoniemia e 3-metilglutaconico aciduria. Nel nostro caso, la diagnosi rapida dello specifico difetto genetico ha consentito di limitare la terapia al solo acido carginico (terapia di elezione per NAGSD) con ottimo controllo metabolico. Si ringrazia AMMeC onlus

---

## **ID: 145 - Malattia di Pompe: alterazioni secondarie e bersagli terapeutici complementari.**

Antonietta Tarallo<sup>1</sup>, Carla Damiano<sup>2</sup>, Nadia Minopoli<sup>1</sup>, Anna Valanzano<sup>2</sup>, Maria Rosaria Tuzzi<sup>2</sup>, Elena Polishcuk<sup>1</sup>, Roman Polishchuk<sup>1</sup>, Marta Molinari<sup>1</sup>, Alessia Indrieri<sup>1</sup>, Giancarlo Parenti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli (NA), <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Translazionali, Università Federico II, Napoli

---

### **Introduzione /background**

La disregolazione secondaria di molteplici pathways e funzioni cellulari (alterazioni di autofagia, signaling del calcio, attivazione dell'infiammazione, disfunzione mitocondriale, stress ossidativo) è stata osservata in diverse malattie da accumulo lisosomiale (LSD). La malattia di Pompe (MP), dovuta al deficit di alfa-glucosidasi acida, è un esempio di LSD in cui si verificano sostanziali anomalie secondarie come conseguenza del difetto primario e influenzano la cascata patogenetica della malattia.

L'obiettivo dello studio è caratterizzare il coinvolgimento mitocondriale, lo stress ossidativo e raccogliere informazioni aggiuntive sulla disregolazione secondaria di pathways rilevanti nei diversi organi/tessuti nella MP.

### **Metodi**

Abbiamo caratterizzato il coinvolgimento mitocondriale mediante microscopia elettronica (morfologia, numero dei mitocondri), qRT-PCR e Western blot (per marcatori di biogenesi mitocondriale); saggi biochimici di stress ossidativo; analisi di immunofluorescenza (flusso mitofagico). Abbiamo inoltre effettuato RNA-seq per valutare trascrittoma e pathways specifici nei principali tessuti bersaglio dalla malattia (cuore, diaframma, e muscolo scheletrico). Gli esperimenti sono stati condotti in fibroblasti di pazienti e/o sul modello di topo MP a tempi diversi, (corrispondenti a diversi stadi di progressione della malattia, se è necessario accorciare si può togliere).

### **Risultati**

Abbiamo riscontrato alterazioni di morfologia e il numero di mitocondri, dei livelli di componenti dei complessi OXPHOS, dei livelli di marcatori della biogenesi mitocondriale (quantità di DNA mitocondriale), della via mitofagica, dei livelli di ROS, perossidazione dei lipidi e GSH. Inoltre, abbiamo osservato alterazioni nei profili di espressione genica e in marcatori di diversi pathways cellulari.

### **Discussione / conclusioni**

I nostri risultati indicano che al difetto metabolico nella MP si accompagnano anomalie mitocondriali. Le alterazioni osservate possono essere valutate come potenziali bersagli terapeutici complementari.

---

## **ID: 17 - L'aderenza dietetica nel paziente PKU favorisce migliori parametri di BMI e quadro lipidico.**

Valentina Rovelli<sup>1</sup>, Juri Zuvadelli<sup>1</sup>, Vittoria Ercoli<sup>1</sup>, Alice Re Dionigi<sup>1</sup>, Francesca Gervasio<sup>1</sup>, Raed Selmi<sup>1</sup>, Graziella Cefalo<sup>1</sup>, Giuseppe Banderali<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Clinica Pediatrica ASST Santi Paolo e Carlo, PO San Paolo, Università degli Studi di Milano

---

### **Introduzione**

Il rischio di sovrappeso/obesità per i pazienti affetti da fenilchetonuria (PKU) è argomento ampiamente dibattuto nel panorama scientifico, recente e non. Nonostante ciò, non risulta ancora del tutto chiaro se l'intervento dietetico necessario per patologia predisponga ad un maggior rischio effettivo in tal senso, né se vi siano differenze in base all'aderenza. Obiettivo del presente lavoro è stato indagare una popolazione di pazienti adulti affetti da PKU con scarso controllo metabolico confrontandoli con pazienti complianti.

### **Metodi**

Abbiamo arruolato 46 pazienti (età  $33.7 \pm 10.8$  anni, 24 F), affetti da forma classica di PKU (valori di Phe pre-treatment  $>1200$  umol/L, diagnosi allo screening), di cui 23 in dietoterapia con scarsa aderenza (gruppo NA) matchati per età e sesso con 23 con buona aderenza (gruppo A). Sono stati valutati dati biochimici, dietetici, parametri antropometrici e di composizione corporea.

### **Risultati**

L'aderenza dietetica è stata confermata dai valori di Phe, risultati in media inferiori nel gruppo A rispetto al gruppo NA, come atteso ( $428 \pm 111$  umol/L vs  $879 \pm 181$  umol/L). Altresì, la quota di sostituto proteico assunta era pari a 98% nei pazienti A vs 73% negli NA rispetto al prescritto. Il BMI è risultato inferiore nel gruppo A vs NA ( $22.6$  Kg/m<sup>2</sup> vs  $24.3$  kg/Kg/m<sup>2</sup>), con un BMI  $>25$  Kg/m<sup>2</sup> nel 26% dei casi del gruppo A (n=6/23) vs il 47% (n=11/23) dei casi del gruppo NA. I valori di Phe correlano positivamente sia con il BMI che con la massa grassa (%). I valori di colesterolo HDL risultano significativamente inferiori (p=0.04) nel gruppo NA rispetto A ( $48.6 \pm 12$  vs  $57.4 \pm 12.7$  mg/dl), con inoltre correlazione inversa tra Phe e HDL e diretta tra Phe e LDL. Non sono emerse differenze significative per Kcal/die o macronutrienti tra gruppi, anche se la quota proteica di proteine naturali è risultata maggiore nel gruppo NA. L'apporto di fibre risulta sovrapponibile tra gruppi, pur con consumo di verdura fresca pari a 325g/die nel gruppo A vs 228g/die nel gruppo NA (p=0.05)

### **Conclusioni**

I risultati emersi dal presente studio suggeriscono che l'aderenza dietetica del paziente affetto da PKU rappresenta fattore protettivo non solo in termini di outcome metabolici (Phe) ma anche e soprattutto in termini di BMI e altri parametri. Altresì risulta possibile ipotizzare come il discontrollo metabolico potrebbe incrementare il rischio di sviluppare comorbidità.

---

## **ID: 22 - EFFICACIA DI BASSE DOSI DI ARIPIPRAZOLO NEL DISTURBO DEL COMPORTAMENTO IN PAZIENTI CON MUCOPOLISACCARIDOSI DI TIPO III CON FENOTIPO AUTISTICO ASSOCIATO**

**Marianna Alagia**<sup>1</sup>, Maria Pia Riccio<sup>2</sup>, Carmela Bravaccio<sup>1</sup>, Maria De Risi<sup>3</sup>, Elvira De Leonibus<sup>3</sup>, Giancarlo Parenti<sup>4</sup>, Simona Fecarotta<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli, <sup>2</sup> Dipartimento Materno-Infantile, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli, <sup>3</sup> Telethon Institute of Genetics and Medicine, TIGEM, Napoli; Institute of Biochemistry and Cell Biology (IBBC), CNR, Roma, <sup>4</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli; Telethon Institute of Genetics and Medicine, TIGEM, Napoli

---

### **RAZIONALE DELLO STUDIO**

Le MPSIII sono un gruppo di malattie da accumulo lisosomiale, la cui sintomatologia include progressiva neurodegenerazione e disturbo del comportamento con sintomatologia autistica associata (Autistic like Behaviours, ALBs). Il trattamento di ALBs nelle MPSIII rappresenta un bisogno assistenziale irrisolto poiché l'uso dei neurolettici è associato a risposte paradosse. Nel modello animale di MPSIIIA è stata dimostrata una iperdopaminergia nigro-striatale alla base di ALBs, con miglioramento dei sintomi in seguito a specifica modulazione del pathway dopaminergico. Tra i neurolettici in commercio, aripiprazolo modula le vie dopaminergiche agendo da agonista parziale o antagonista dopaminergico in dipendenza della dose utilizzata e dell'espressione recettoriale.

### **OBIETTIVI DELLO STUDIO**

Dimostrare l'efficacia terapeutica di basse dosi di aripiprazolo su ALBs nelle MPSIII.

### **MATERIALI E METODI**

Miglioramento di ALBs in pazienti MPSIII con stadio lieve e moderato [endpoint primario: riduzione degli score alla Aberrant Behavior Checklist (ABC) per esplorare i comportamenti disfunzionali; endpoint secondari: riduzione degli score alla scala di reattività sociale (SRS-2); Parental Stress Index (PSI) e Clinical Global Impression (CGI) per esplorare la comunicazione sociale, lo stress parentale ed il miglioramento globale]. 4. **RISULTATI** Due pazienti (P1, 17 anni, MPS IIIC e P2, 7 anni, MPS IIIA) in stadio moderato ed ALBs severi sono stati trattati con basse dosi di aripiprazolo (0.01-0.05 mg/kg/die), rispettivamente per 12 e 6 mesi, avendo selezionato il range ottimale di dosi dopo una transitoria risposta paradossa in P1. In entrambi si osservava il miglioramento del comportamento disfunzionale (riduzione di ABC score in P1 da T0= 85 a T12=15 ed in P2 da T0= 61 a T6= 55), in associazione al miglioramento degli altri indici (in P1 SRS score da T0 > 92 a T12=78; CGI score: T1=10; T12=5; in P2 PSI score da T0= 97 a T6 =74).

### **CONCLUSIONE**

I nostri dati clinici confermano i risultati preclinici e suggeriscono l'efficacia di aripiprazolo a basse dosi su ALBs nelle MPSIII. La definizione di una dose molto bassa in questa specifica popolazione di pazienti appare critica per l'efficacia e tollerabilità, essendo dipendente dallo sbilanciamento recettoriale dopaminergico e dalla farmacodinamica di aripiprazolo. E' in programma uno studio italiano per confermare i risultati ottenuti con la dose definita su una più ampia casistica.

---

## **ID: 28 - Febbre e rabdomiolisi in età pediatrica: non sempre miosite**

Niccolò Campagna<sup>1</sup>, Chiara Ticci<sup>2</sup>, Lorenzo Ferri<sup>3</sup>, Amelia Morrone<sup>3</sup>, Michele Sacchini<sup>2</sup>, Elena Procopio<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Scienze della Salute, <sup>2</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>3</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze

---

### **Introduzione**

La rabdomiolisi in corso di episodi infettivi è un riscontro frequente in età pediatrica e talvolta è la spia di un disordine metabolico ereditario. Lipina 1 (gene *LPINI*) è una fosfatasi coinvolta nella biosintesi dei triacilgliceroli. Il difetto di lipina 1 causa mioglobinuria acuta ricorrente, una rara patologia a trasmissione autosomica recessiva che si manifesta con episodi ricorrenti di rabdomiolisi in corso di febbre, digiuno prolungato o esercizio fisico. Il trattamento consiste nell'incrementare l'apporto glucidico per prevenire il catabolismo.

### **Presentazione del caso**

Il paziente è giunto alla nostra attenzione all'età di 2 anni con storia di rabdomiolisi ricorrente in corso di virusi (due episodi nei 3 mesi precedenti la visita), con aumento di creatinfosfochinasi (CK) fino a 190.000 UI/L e completa normalizzazione dei valori nei periodi intercritici. Le acilcarnitine plasmatiche e gli acidi organici urinari in fase subacuta non avevano mostrato alterazioni significative. La valutazione cardiologica e l'ecografia dell'addome erano risultate nella norma. La biopsia muscolare eseguita in fase subacuta mostrava aspetti degenerativi e infiammatori di possibile genesi secondaria. Il sequenziamento NGS di un pannello di geni correlati a rabdomiolisi riscontrava eterozigosi composta per la variante nonsense c.992T>A p.(Leu331\*) paterna e la variante di splicing c.17781G>A materna nel gene *LPINI*. È stata quindi posta diagnosi di deficit di lipina 1. Dal punto di vista terapeutico, è stata data indicazione ad evitare digiuno prolungato ed esercizio fisico intensivo e ad incrementare l'apporto glucidico in corso di eventi infettivi intercorrenti. Durante un ricovero presso altra sede per episodio febbrile, il paziente è deceduto all'età di 2 anni e 10 mesi per verosimile evento aritmico in corso di rabdomiolisi massiva.

### **Conclusioni**

Sebbene le cause metaboliche di iperCKemia in corso di febbre siano meno frequenti rispetto alle miositi infettive, riconoscerle e diagnosticarle è fondamentale in quanto malattie potenzialmente severe, ma trattabili. In caso di sospetto clinico di malattia metabolica, l'analisi molecolare differenziale dei geni causativi di rabdomiolisi mediante approccio NGS può permettere la diagnosi anche in assenza di spie biochimiche specifiche.

---

**ID: 29 - Epilessia piridossino-dipendente, diagnosi prenatale e trattamento in utero con Vitamina B6**  
(L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Silvia barzaghi<sup>1</sup>, Viola crescitelli<sup>1</sup>, Roberta Pretese<sup>1</sup>, Martha Faruguna<sup>2</sup>, Veronica Ferro<sup>3</sup>, Gaia Kullmann<sup>4</sup>, Serena Gasperini<sup>5</sup>

<sup>1</sup> 1Malattie Metaboliche Rare, Clinica Pediatrica, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, Italia, <sup>2</sup> 2Scuola di specializzazione in Pediatria, Università degli studi di Milano Bicocca, Italia, <sup>3</sup> 3Neuropsichiatria Infantile, ASST Sette Laghi, Varese, Italia, <sup>4</sup> 4Neuropsichiatria Infantile, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, Italia, <sup>5</sup> 5Responsabile Malattie Metaboliche Rare, Clinica Pediatrica, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, Italia

---

## Background

L'epilessia piridossino-dipendente (PDE) è caratterizzata da convulsioni refrattarie ai farmaci antiepilettici convenzionali e responsive alla somministrazione di vitamina B6. Descriviamo il caso di due sorelle affette da PDE, figlie di primi cugini di origine Egiziana.

### Caso 1

Primogenita nata a 371 settimane di età gestazionale da taglio cesareo urgente per IUGR e dilatazione atriale destra. A due ore di vita sviluppo di insufficienza respiratoria, ipertensione polmonare, spasmi in flessione e mioclonie ai quattro arti associate ad automatismi orali. Agli esami ematochimici presenza di acidosi metabolica con iperlattacidemia con iperammoniemia (246 mcg/dl). Avviato trattamento per il controllo delle crisi con diazepam, fenitoina e fenobarbitale. A 10 giorni di vita riscontro di ipotonia, scarsa motilità spontanea e suzione ipovalida. Al tracciato EEG evidente rallentamento marcato in corrispondenza delle regioni anteriori. Scalata sino a sospensione la terapia antiepilettica; al 24° giorno di vita regressione della sintomatologia riportata. In 32° giornata di vita riscontro di tremori grossolani, ipertono, deviazione destra del capo e dello sguardo associati a clonie. All'EEG evidenza di crisi subentranti non responsive a fenobarbitale. Avviato trattamento con piridossina (300 mg/die) con successivo controllo delle crisi. Eseguito whole exome sequencing che ha dimostrato la presenza di variante patogenetica in omozigosi (p.Glu427Gln) nel gene ALDH7A1, ereditata dai genitori. La bambina ha proseguito la terapia impostata presentando tuttavia ritardo dello sviluppo psicomotorio e persistenza delle crisi in corso di intercorrenze.

### Caso 2

Sorella secondogenita, nata a termine. Eseguita diagnosi prenatale di difetto del metabolismo della piridossina determinato dalla nota mutazione a carico del gene ALDH7A1. Impostata supplementazione con piridossina per la madre in gravidanza (50 mg/die dal secondo trimestre) e successivamente proseguita in età neonatale (100 mg/die dalla nascita). L'obiettività neurologica ed il tracciato EEG della neonata si sono mostrati nella norma. La bambina ha un normale sviluppo psicomotorio con regolare acquisizione delle tappe del neurosviluppo a 22 mesi di vita e non ha mai presentato crisi.

## Conclusioni

In base alla nostra esperienza è possibile supporre che nella PDE geneticamente determinata e diagnosticata in epoca prenatale, il trattamento precoce possa prevenire lo sviluppo di encefalopatia epilettica.

---

## **ID: 32 - Diagnosis and management of Familial Chylomicronemia Syndrome in a newborn girl**

Antonina Giammanco<sup>1</sup>, Davide Noto<sup>1</sup>, Teresa Maria Grazia Fasciana<sup>1</sup>, A. Scalzo<sup>1</sup>, Chiara Scrimali<sup>1</sup>, G. Savarino<sup>1</sup>, Federica Brucato<sup>1</sup>, Vincenzo Insinga<sup>1</sup>, Rossella Spina<sup>1</sup>, C. Bonacasa<sup>1</sup>, Maurizio Carta<sup>1</sup>, Angelo Baldassare Cefalù<sup>1</sup>, Mario Giuffrè<sup>1</sup>, Maurizio Averna<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, dEccellenza "G.DAlessandro" - Università degli Studi di Palermo

---

### **Introduction**

Familial chylomicronaemia syndrome (FCS) is a rare, severe, monogenic, recessive disorder caused by loss-of-function mutations in both alleles of one or more of the genes that control the intravascular lipolytic cascade of triglyceride (TG)-rich lipoproteins. FCS is characterized by severe hypertriglyceridemia (TGs >10 mmol/L - 886 mg/dL) due to the accumulation of chylomicrons during fasting. FCS patients also develop eruptive xanthomas, lipemia retinalis, recurrent abdominal pain, acute and/or recurrent pancreatitis, hepatosplenomegaly and memory loss. The standard of care of FCS is based on a strict dietary regimen with <10% of energy from fat and supplementation with medium-chain TGs. Long-term adherence to this diet is poor.

### **Material and methods**

Here we describe a female neonate, born at term of uneventful pregnancy from healthy non-consanguineous parents. At 6th day of life a capillary blood micro-sample showed lactescent serum. TG levels were 3632 mg/dl and the clinical suspicion of FCS was made. A Next Generation Sequencing (NGS) custom panel was used to analyze candidate genes involved in the pathways of triglyceride synthesis and metabolism. Implementation of a nutritional management plan was started.

### **Results and conclusions**

NGS analysis allowed to identify a previously described homozygous pathogenic mutation in LPL gene (c.829G>A p.Asp277Asn). Genetic molecular cascade screening allowed to identify the mutation in heterozygosity in both parents. Milk formula supplemented with medium chain triglycerides (MCT) oil, vitamins and oligoelements ensured an adequate intake of nutrients and TGs were stably < 500 mg/dl over the weeks. At 6 months complementary feeding was introduced with a specific low-fat diet. Feeding has been well tolerated and TG levels have been as low as 339 mg/dl. In conclusion, early diagnosis and nutritional management of FCS in newborn are crucial to guarantee adequate growth and neuro-psycho-motor development and prevention severe complication.

---

**ID: 33 - UNCOMMON PRESENTATION OF CHOLESTERYL ESTER STORAGE DISEASE (CESD): DESCRIPTION OF A CASE AND GENETIC CHARACTERIZATION BY NEXT GENERATION SEQUENCING** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

ANTONINA GIAMMANCO<sup>1</sup>, Davide Noto<sup>1</sup>, Marina Caserta<sup>2</sup>, Cinzia Castana<sup>2</sup>, Chiara Scrimali<sup>1</sup>, Federica Brucato<sup>1</sup>, Rossella Spina<sup>1</sup>, Carlo Barbagallo<sup>1</sup>, Angelo Baldassare Cefalù<sup>1</sup>, Maria Piccione<sup>3</sup>, Maurizio Aversa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" (PROMISE), Università degli Studi di Palermo, Italy, <sup>2</sup> Pediatric Clinic, ARNAS Civico Di Cristina Benfratelli, Palermo, Italy, <sup>3</sup> Regional Reference Center for the Control and Treatment of Down Syndrome and Other Chromosomal and Genetic Diseases, Medical Genetics University of Palermo, Villa Sofia/Cervello-United Hospitals, 90100 Palermo, Italy

---

## Introduction

The LIPA gene located on chromosome 10 encodes the lysosomal acidic lipase (LAL), an enzyme which hydrolyzes cholesterol esters (CE) and triglycerides (TG). Cholesteryl Ester Storage Disease (CESD) is a rare recessive disease caused by mutations in LIPA gene which result in residual LAL activity. Complete LAL deficiency is associated with a more severe form of disease known as Wolman's disease. Hyperlipidemia and liver steatosis are common clinical features of CESD.

## Materials and methods

The proband, a 2 years old child, was evaluated for microcephaly. Routine laboratory data showed total high cholesterol levels (243 mg/dL) and triglycerides (272 mg/dL). Next generation sequencing was carried out on an Ion GeneStudio S5 Plus System using the Ion 540 Chip. We designed a custom panel to analyze 50 candidate genes related to LDL, HDL and triglycerides metabolism.

## Results and conclusions

No pathogenic mutations were identified in the major candidate genes for familial hypercholesterolemia and hypertriglyceridemia. However, the proband was found to be carrier of two mutations in LIPA gene (c.883C>T -p.His295Tyr- and c.929G>A - p.Trp310Ter). This result prompted to the assay of LAL activity by Dried Blood Spot Analysis. LAL activity was < 5% of the normal range. The His295Tyr variant is an already known pathogenic missense mutation associated with CESD, while the Trp310Ter variant has been previously identified in homozygosity in two newborns of Sicilian origin with Wolmans disease. The family cascade screening revealed the presence of His295Tyr mutation in the proband's father and the Trp310Ter in the proband's mother. We report a case of CESD with uncommon clinical presentation features compound heterozygous for two mutations in LIPA gene.

---



## **ID: 34 - Management of a patient with delayed diagnosis of homozygous familial hypercholesterolaemia**

ANTONINA GIAMMANCO<sup>1</sup>, Davide Noto<sup>1</sup>, Angelo Baldassare Cefalù<sup>1</sup>, Chiara Scrimali<sup>1</sup>, Federica Brucato<sup>1</sup>, Teresa Maria Grazia Fasciana<sup>1</sup>, Marina Lanza<sup>1</sup>, Roberto Scicali<sup>2</sup>, Salvatore Piro<sup>2</sup>, Antonino Di Pino<sup>2</sup>, Francesco Purrello<sup>2</sup>, Maurizio Averna<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza "G. D'Alessandro" (PROMISE), Università degli Studi di Palermo, Italy, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania, Italy

---

### **Background**

Homozygous familial hypercholesterolaemia (HoFH) is a rare, life-threatening genetic disorder characterized by extremely high low-density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) levels and severe and accelerated atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD). We describe the clinical management and molecular characterization of a subject with severe hypercholesterolemia.

### **Methods**

The proband is a 50-year-old man with family history of early cardiovascular disease and hypercholesterolemia (both parents and his two children). Severe hypercholesterolemia (LDL-C 450 mg/dL) was first documented when he was 32 and treatment with statin was begun. When he was 47, over a routine cardiologic workup a coronary angiography revealed diffuse stenotic coronary disease and he underwent to BACG procedure. The LDL-C levels were 230 mg/dl while treated with high-intensity statin at the maximum tolerated dose in combination with ezetimibe. Genetic analysis of FH candidate genes was carried out by NGS. Additional hypolipidemic therapeutic options were considered for the management of this patients.

### **Results**

The genetic analysis revealed that the patient was compound heterozygous of two already known pathogenic mutations of the LDLR gene classified as receptor-defective (c.1118G>A – p.Gly373Asp - and c.1195G>A – p.Ala399Thr). Cascade screening was performed and four family members were found to be heterozygous carriers. Before the genetic data were available, the patient was treated with alirocumab 150 mg every other week on top of standard care. Once the genetic diagnosis of HoFH was made alirocumab was switched to evolocumab 420 mg once a month. Although an effective reduction of LDL-C levels, the lipid goal was not reached and therefore we decided to potentiate hypolipidemic treatment by adding a low dose of lomitapide (5 mg/daily) which was well tolerated and very effective (LDL-C 42 mg/dL).

### **Conclusions**

In this HoFH case, the combination of evolocumab with low-dose lomitapide was an effective and well-tolerated add-on therapeutic option in HoFH carriers of defective mutations of the LDL-R gene.

---

## **ID: 44 - Efficacia, sicurezza e protocollo di gestione degli eventi avversi in corso di terapia con Pegvaliase per la fenilchetonuria: esperienza monocentrica dei primi 22 mesi di trattamento**

Iris Scala<sup>1</sup>, Giulia Esposito<sup>2</sup>, Nicola Serao<sup>2</sup>, Bruna Guida<sup>2</sup>, Valeria Maffettone<sup>3</sup>, Maria Grazia Fisco<sup>4</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>5</sup>, Giancarlo Parenti<sup>3</sup>, Pietro Strisciuglio<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento Materno Infantile, AOU Federico II, Napoli, <sup>2</sup> Fisiologia, Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, AOU Federico II Napoli, <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, AOU Federico II, Napoli, <sup>4</sup> CEINGE Biotecnologie avanzate-Franco Salvatore, Napoli, <sup>5</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, AOU Federico II, Napoli

---

### **Introduzione**

Dal 2021, Pegvaliase è disponibile in Italia per la PKU. I dati sull'efficacia e gli eventi avversi (AE) derivano da studi clinici pre-commercializzazione mentre pochi dati sono disponibili sull'utilizzo a lungo termine di Pegvaliase in termini di efficacia, AE e loro gestione.

### **Metodi**

9 pazienti (pz) con PKU (6M/2F, età 24-44) (Phe 768-1772  $\mu\text{mol/L}$ ) hanno iniziato Pegvaliase (FU min 2-max 22 mesi). E' stato monitorato: Phe, Tyr a cadenza mensile poi quindicinale/settimanale; emocromo, vit. B9 e B12, Alb, profilo lipidico, Crea, C3 C4 del complemento, es. urine ogni 3 mesi, test neuropsicologici ogni 6 mesi (d2-R, EDI-3, PGWBI), Matrici di Raven ogni anno.

### **Risultati**

7/9 pz (78%) hanno raggiunto il target terapeutico (Phe <600  $\mu\text{mol/L}$ ) in un periodo da 13 a 86 sett. di trattamento (M $\pm$ SD: 40 $\pm$ 26): 4/7 ad una dose di 40 mg/die, 2/7 a 20 mg/die, 1/7 a 10 mg/die. 3/7 (43%) hanno raggiunto livelli fisiologici di Phe. IpoPhe è stata osservata in 3/7 pz a dieta libera nei quali è stata ridotta la dose di farmaco (20 mg a giorni alterni in 2 pz e 10 mg a giorni alterni nel 3° pz) pur mantenendo valori fisiologici di Phe. All'inizio del trattamento, 7/9 pz erano a dieta libera, 1/9 a dieta ipoproteica ed 1/9 a dieta sapropterina. Nel follow-up 8/9 pz hanno raggiunto una dieta normoproteica. Il totale di AE è stato 40 (min 0-Max 15 per pz), nessuno severo. Dei 3 pz con ipoPhe, uno ha presentato effluvium, mentre i restanti 2 non hanno presentato sintomi. Gli indici biochimici non hanno mostrato modifiche ad eccezione di una riduzione significativa di C3 e C4. Per la minimizzazione e la gestione degli AE, il protocollo di premedicazione è stato modificato con successo in 3 pz; il protocollo di induzione e titolazione è stato modificato in 5 pz. Eritemi e artralgie sono risultati gli AE più comuni, gestiti efficacemente con prednisone a basso dosaggio per brevi cicli. Il profilo neuropsicologico ha mostrato un miglioramento della velocità e della concentrazione in 4/7 pz. La QoL è migliorata nei pz a dieta precedentemente ristretta.

### **Conclusioni**

Pegvaliase è efficace per ridurre i livelli di Phe fino a valori fisiologici, ma può essere necessario un tempo fino a 21 mesi. Nel FU, è possibile ridurre la dose di pegvaliase fino al 75%. La valutazione neuropsicologica può fornire altri parametri di efficacia. Gli AE possono essere gestiti con protocolli personalizzati e migliorano prontamente con cortisonici. L'ipoPhe può causare effluvium.

---

## **ID: 57 - Ectopia lentis in bambino con deficit congenito di cobalamina C**

**Agnese De Giorgi**<sup>1</sup>, Francesca Nardecchia<sup>1</sup>, Teresa Giovanniello<sup>2</sup>, Manuela Tolve<sup>2</sup>, Silvia Santagata<sup>2</sup>, Antonietta Moramarco<sup>3</sup>, Antonio Angeloni<sup>2</sup>, Claudia Carducci<sup>2</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma, Italia, <sup>3</sup> Dipartimento di Organi di Senso, Sapienza Università di Roma, Italia

---

### **Introduzione/Background**

Il deficit congenito di cobalamina C (cblC), è il più comune disturbo intracellulare del metabolismo della vitamina B12, caratterizzato da acidemia metilmalonica e iperomocisteinemia.

### **Metodi**

Riportiamo il caso di un bambino di 4 anni al quale è stata diagnosticata una forma lieve di deficit di cblC, in seguito a screening neonatale [su DBS: C3 4,9 µmol/L (n.v. <4,38), acido metilmalonico (MMA) 5,81 µmol/L (n.v. <2), omocisteina (Hcy) 18,8 µmol/L (n.v. 3,3-8,3); vitamina B12: 681 pg/ml (n.v. 169-800); conferma molecolare: NM\_015506.3(MMACHC): c.347T>C (p.Leu116Pro) e NM\_015506.3(MMACHC): c.440G>C (p.Gly147Ala)]. Il bambino ha prontamente avviato il trattamento con idrossicobalamina per via orale (dose iniziale di 3 mg/settimana aumentato negli anni fino a 1 mg/die) mantenendo livelli di Hcy nel sangue al di sotto di 15 µmol/L e di MMA urinario nel range di normalità (<23 mmol/mol di creatinina). Al follow-up clinico, il suo sviluppo neurologico è sempre apparso nella norma, ad eccezione di uno strabismo convergente dell'occhio sinistro evidenziato dai 15 mesi. Una valutazione oftalmologica all'età di 4 anni ha rilevato una sublussazione temporale e bilaterale del cristallino che ha richiesto intervento di lensectomia.

### **Risultati**

Le manifestazioni oculari associate finora al deficit di CblC includono nistagmo, strabismo, maculopatia, degenerazione retinica e atrofia ottica. La patogenesi di queste alterazioni, che colpiscono principalmente i pazienti con fenotipo ad esordio precoce e severo, non è nota e non sembra correlata ai biomarcatori diagnostici della malattia. Ectopia lentis è una condizione rara in età pediatrica e riportata più comunemente nella sindrome di Marfan e nel deficit di cistationina beta-sintasi (CBS), un disordine metabolico che condivide, con il deficit di cblC, l'iperomocisteinemia. Nel deficit di CBS, la dislocazione del cristallino sembrerebbe dovuta ai cambiamenti degenerativi nelle fibre zonulari risultanti dalla carenza di cistina e dall'omocisteinilazione della fibrillina-1, che conducono ad una perdita della struttura nativa e al ripiegamento errato delle proteine.

### **Discussione/conclusioni**

I livelli costantemente bassi di Hcy del nostro paziente lasciano inspiegata la patogenesi di questo disturbo. Questo è il primo paziente segnalato con un deficit di cblC affetto da ectopia lentis, espandendo il fenotipo oculare associato a questa condizione.

---

## **ID: 58 - Crampi muscolari, iperCKemia e fenomeno “second wind”: la malattia di McArdle**

**Martha Caterina Faraguna**<sup>1</sup>, Roberta Pretese<sup>2</sup>, Viola Crescitelli<sup>2</sup>, Silvia Barzaghi<sup>2</sup>, Serena Gasperini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Scuola di specializzazione di Pediatria, Università degli Studi Milano Bicocca, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza

---

### **Presentazione del caso**

Giunge presso il nostro Ambulatorio una ragazza di 12 anni per iperCKemia. Negli ultimi sei mesi erano stati riscontrati in due occasioni valori elevati di citolisi ed un episodio di rabdomiolisi (CPK 16480U/L, AST 160U/L, ALT 52U/L, mioglobina 2108ng/mL). I valori di ammonio, emogas venoso, elettroliti, funzionalità epatorenale risultavano nella norma. I valori di CK basale sono risultati incrementati nei controlli successivi (500-700 U/L). La ragazza, durante la prima visita, riferiva scarsa tolleranza allo sforzo fisico, con comparsa di crampi muscolari e dispnea. Non evidenziabili episodi correlabili ad ipoglicemia. L'obiettività risultava nei limiti e non erano evidenti segni di miopatia; il test del cammino era nei limiti. L'ecografia addome, l'analisi degli acidi organici urinari, delle acilcarnitine e degli amminoacidi plasmatici non evidenziavano alterazioni significative. Risultavano nella norma il pannello genetico per difetti della beta ossidazione, l'attività enzimatica alfa-glucosidasi su cartoncino e l'analisi del gene GAA, mentre si riscontrava una eterozigosi composta (c.582delG/c.1965G>C) del gene PYGM. Si poneva pertanto diagnosi di malattia di McArdle. È stata iniziata dieta iperlipidica ed ipoglucidica.

### **Discussione**

La malattia di McArdle (GSD V) è dovuta ad un difetto dell'enzima fosforilasi muscolare. Viene tipicamente diagnosticata in età adulta con un ritardo mediano di 30 anni. Si caratterizza per intolleranza all'esercizio fisico, affaticamento muscolare, ed episodi di crampi muscolari che possono esitare in rabdomiolisi. Segno tipico di tale patologia è il fenomeno “second wind”, ovvero la ripresa di energie dopo assunzione di glucosio a circa 10 minuti dall'avvio di sforzo fisico. In età adulta tale patologia è associata a disturbi del sonno, depressione ed obesità. Non vi sono terapie specifiche, nonostante alcuni tentativi dietetici e farmacologici. Il paziente deve imparare a sfruttare il fenomeno “second wind” in modo da migliorare la tolleranza all'attività fisica e ridurre il danno muscolare. Va inoltre evitato l'esercizio fisico statico e ad alta intensità.

### **Conclusioni**

La malattia di McArdle è una patologia rara e spesso non diagnosticata in età pediatrica che deve entrare in diagnosi differenziale dell'iperCKemia. Una diagnosi precoce permette all'individuo ad imparare a riconoscere e gestire i propri sintomi e prevenire episodi di rabdomiolisi in attesa di nuove evidenze terapeutiche.

---

## **ID: 63 - “Arsa-cel” (terapia genica con cellule staminali ematopoietiche autologhe) preserva lo sviluppo cognitivo e motorio nella leucodistrofia metacromatica ad esordio precoce con follow-up fino a 11 anni**

Valeria Calbi<sup>1</sup>, Francesca Fumagalli<sup>1</sup>, Fabiola De Mattia<sup>1</sup>, Alberto Zamboni<sup>3</sup>, Vera Gallo<sup>1</sup>, Salvatore Recupero<sup>2</sup>, Cristina Baldoli<sup>5</sup>, Elena Fratini<sup>2</sup>, Francesca Ciotti<sup>2</sup>, Maddalena Fraschini<sup>2</sup>, Marina Sarzana<sup>2</sup>, Stefano Scarparo<sup>2</sup>, Andrea Calabria<sup>1</sup>, Eugenio Montini<sup>1</sup>, Sara Locatelli<sup>1</sup>, Marcella Facchini<sup>1</sup>, Alessandra Clerici<sup>1</sup>, Francesco Morena<sup>6</sup>, Sabata Martino<sup>6</sup>, Angelica Claros<sup>7</sup>, Arpeat Kaviya<sup>7</sup>, Sean Moro<sup>8</sup>, Andrew Shenker<sup>9</sup>, Jean Brooks<sup>7</sup>, Alan Richardson<sup>7</sup>, Alessandro Aiuti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica (SR-TIGET), IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, <sup>2</sup> Unità di Immunoematologia Pediatrica e Programma BMT, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, <sup>3</sup> Unità di Neurologia e Neurofisiologia, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, <sup>4</sup> Università Vita-Salute San Raffaele, Milano, Italia., <sup>5</sup> Unità di Neuroradiologia, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, <sup>6</sup> Dipartimento di Chimica, Biologia e Biotecnologie, Università degli Studi di Perugia, Perugia, Italia, <sup>7</sup> Orchard Therapeutics (Europe) Limited, Londra, Regno Unito, <sup>8</sup> Orchard Therapeutics (North America) Limited, Boston, MA, USA, <sup>9</sup> Consulente clinico, Pennington, NJ, USA

---

### **Background**

La leucodistrofia metacromatica (MLD) è una rara malattia lisosomiale dovuta al deficit di arilsulfatasi A (ARSA), che causa un progressivo declino motorio e cognitivo e morte precoce.

### **Metodo**

Presentiamo i risultati a lungo termine di 39 pazienti con MLD ad esordio precoce (19 con forma tardo infantile [LI], 20 con forma giovanile precoce [EJ]) trattati con terapia genica con cellule staminali ematopoietiche (atidarsagene autotemcel, "arsa-cel"). Arsa-cel è costituito da cellule CD34 autologhe trasdotte ex vivo con un vettore lentivirale che codifica per il gene ARSA umano. Dopo il condizionamento mieloablativo con busulfano, arsa-cel è stato somministrato per via endovenosa. Gli esiti clinici sono stati confrontati con una coorte di di storia naturale composta da 43 soggetti con MLD ad esordio precoce non trattati (NHx).

### **Risultati**

Il follow-up mediano è stato di 6,76 anni (range 0,64-12,19). Tutti i pazienti hanno raggiunto l'attecchimento stabile delle cellule corrette geneticamente e il ripristino dell'attività dell'ARSA a livelli fisiologici o sovralfisiologici nel sangue periferico e nel liquido cerebrospinale. Il rischio di sviluppare una grave disabilità motoria o morte è stato significativamente ridotto nei sottogruppi di pazienti pre-sintomatici (PS)-LI ( $p < 0,001$ ), PS-EJ ( $p = 0,042$ ) e sintomatici precoci (ES, in grado di camminare in modo indipendente e senza declino cognitivo)-EJ ( $p < 0,001$ ) rispetto al gruppo di NHx. Rispetto alla NHx, il trattamento con arsa-cel ha portato a miglioramenti sostanziali delle funzioni sia motorie che cognitive, in particolare tra i pazienti trattati prima dell'insorgenza dei sintomi. Oltre il 95% (25/26) dei pazienti trattati in fase presintomatica (PS) ha mantenuto la capacità di camminare all'ultimo follow-up e ha presentato uno sviluppo cognitivo normale o quasi normale. Tre pazienti sono deceduti (2 ES-EJ per progressione della malattia, 1 PS-EJ per ictus cerebrale); nessun decesso è stato correlato al trattamento con arsa-cel. Non ci sono stati eventi avversi gravi correlati al trattamento con arsa-cel, nessun tumore maligno e nessuna evidenza di espansione clonale anormale.

### **Conclusione**

Con un follow-up fino a 12 anni, arsa-cel mostra un profilo di sicurezza favorevole e un'efficacia sostenuta nel tempo, prevenendo un grave deterioramento motorio e cognitivo e rallentando la progressione della malattia nei pazienti con MLD ad esordio precoce.

---

## **ID: 65 - I NUOVI DATI DI INCIDENZA DELLE MALATTIE METABOLICHE EREDITARIE DERIVATI DA SCREENING NEONATALE IN ITALIA EVIDENZIANO L'ELEVATO IMPATTO EPIDEMIOLOGICO FUTURO PER LA MEDICINA DELL'ADULTO**

Annalisa Sechi<sup>1</sup>, Carlo Dionisi Vici<sup>5</sup>, Alberto Burlina<sup>4</sup>, Giancarlo La Marca<sup>3</sup>, **Francesca Carubbi<sup>2</sup>**, Benedetta Garuti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UO Malattie metaboliche rare AOU Udine a nome del Gruppo SIMMESN Malattie Metaboliche Ereditarie dell'adulto, <sup>2</sup> UO Medicina metabolica AOU Modena Università di Modena e Reggio Emilia, a nome del Gruppo SIMMESN Malattie Metaboliche Ereditarie dell'adulto, <sup>3</sup> UOS Screening Neonatale, Biochimica Clinica e Farmacologia, AOU Meyer Firenze, Università di Firenze, <sup>4</sup> UO Malattie metaboliche ereditarie, Dpt Materno-infantile, Centro di Screening neonatale, AOU Padova, <sup>5</sup> UO Malattie del metabolismo, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma

---

### **Introduzione**

I dati di incidenza delle M. Metaboliche Ereditarie (MME) derivati da screening neonatali (SN) evidenziano una numerosità di pazienti (pz) con MME superiore a quanto atteso da letteratura. L'aspettativa di vita di molti pz MME è aumentata grazie ad efficaci trattamenti atti a prevenire/limitare i danni conseguenti al difetto metabolico, se precocemente iniziati. I Pediatri devono spesso gestire pz MME in età adulta per carenza di medici dell'adulto (MdA) interessati e/o competenti.

### **Scopo**

Valutare l'impatto epidemiologico quantitativo dei dati SN sulla numerosità di pz MME che raggiungeranno l'età adulta tra 15 anni, per fornire alle parti interessate elementi oggettivi di valutazione dell'impatto dei pz con MME su SSN e MdA.

### **Metodi**

Si confrontano i dati di frequenza di 30 MME derivati da dati SN 2021 in Italia, con quelli di frequenza e sopravvivenza della letteratura. Si calcola la numerosità di pz affetti da ciascuna MME identificati via SN, moltiplicata per il numero di nascite annue atteso nei prossimi anni (400000 annui), addizionata dei nuovi casi anno dopo anno, per definire il totale e le quote di ulteriori pz MME attesi in transizione a MdA nel 2037.

### **Risultati**

I dati SN di incidenza delle singole MME ne evidenziano l'alta frequenza, la sottostima in letteratura e la numerosità di pz trattabili e con elevata attesa di sopravvivenza, proiettata al 2037. Eclatante il dato del deficit di biotinidasi: 1:4369, letteratura 1:60000, nuovi casi (nc) 91, nuovi casi ulteriori (cu) 549 al 2037, che esemplifica la sottostima di MME con sopravvivenza normale, se precocemente trattate. Altri esempi: Galattosemia 1:15554, da letteratura 1:40000, nc 26, cu 161 al 2037. Aminoacidemie 1:3089, letteratura 1:10000, nc 129, cu 778 al 2037. Pompe 1:12897, letteratura LOPD 1:69000, nc 32, cu 271 al 2037. Fabry 1:8897, letteratura 1:40000, nc 45, cu 271 al 2037. MSUD 1:134897, letteratura 1:185000, nc 2.9, cu 18 al 2037. MCAD 1:22482, letteratura 1:27000, nc 18, cu 109 al 2037.

### **Conclusioni**

Le MME hanno alta frequenza e terapie disponibili, ma sono sotto-diagnosticate. I dati SN ne confermano l'elevato impatto futuro su MdA e SSN. Occorre incrementare conoscenza e consapevolezza delle MME tra i MdA, per consentire l'efficace transizione dei pz ai MdA e un adeguato percorso di cura per tutta la durata di vita del pz. Occorre garantire /prevedere risorse per la gestione e la cura di MME e implementare centri di medicina metabolica dell'adulto.

---

**ID: 68 - Caratteristiche basali di una popolazione Real-World affetta da Alfa-mannosidosi: informazioni dal registro SPARKLE.** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Nicole Muschol<sup>1</sup>, Nathalie Guffon<sup>2</sup>, **Andrea Ballabeni**<sup>3</sup>, Line Borgwardt<sup>4</sup>, Allan Lund<sup>4</sup>, Mercedes Gil-Campos<sup>6</sup>, Francesca Donà<sup>3</sup>, Julia Hennermann<sup>7</sup>

<sup>1</sup> International Center for Lysosomal Disorders, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany, <sup>2</sup> Reference Centre for Inherited Metabolic Diseases, CERLYMM, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France, <sup>3</sup> Chiesi Farmaceutici S.p.A., Parma, Italy, <sup>4</sup> Centre for Inherited Metabolic Diseases, Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark and Department of Clinical Medicine, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark, <sup>5</sup> Center for Genomic Medicine, Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark, <sup>6</sup> Reina Sofia University Hospital, IMIBIC, University of Cordoba, CIBEROBN, Córdoba, Spain, <sup>7</sup> Villa Metabolica, University Medical Center Mainz, Mainz, Germany, <sup>8</sup> European Reference Network for Hereditary Metabolic Disorders

---

## Introduzione

L'Alfa-mannosidosi (AM) è una malattia ultra-rara causata da deficit della alfa-mannosidasi lisosomiale, con prevalenza stimata di 1/500.000. Manifestazioni cliniche varie: infezioni ricorrenti, deficit uditivi, dismorfismi facciali, compromissione cognitiva, disturbi del linguaggio, anomalie scheletriche, compromissione della funzione motoria, atassia e sintomi psichiatrici. La rarità e l'eterogeneità della malattia sono causa di ritardo della diagnosi e del trattamento. Velmanase alfa (VA) è un enzima ricombinante umano di alfa-mannosidasi somministrato per via endovenosa, una terapia di sostituzione enzimatica autorizzata per il trattamento dell'AM in Europa. Lo studio ha valutato le caratteristiche basali, la genetica e l'attività enzimatica dei pazienti (pz) arruolati nel registro SPARKLE (EUPAS29038).

## Metodi

SPARKLE, avviato a dicembre 2019, seguirà fino a 100 pz con AM con o senza trattamento con VA per un massimo di 15 anni. Viene riportata un'analisi descrittiva delle caratteristiche al basale di tutti i pz attualmente arruolati. A settembre 2022, 59 pz con età media  $\pm$  deviazione standard (DS) di  $21,9 \pm 12,2$  (mediana 20,0 [3,0-51,0]) anni sono stati arruolati in 23 centri europei.

## Risultati

L'età media  $\pm$  DS dalla prima manifestazione dell'AM all'età della diagnosi erano rispettivamente di  $1,9 \pm 3,3$  (mediana 1,0 [0-15]) e  $8,4 \pm 10,5$  (mediana 4,0 [0-50]) anni: un ritardo medio di 6,5 anni nella diagnosi. Le informazioni genetiche erano disponibili per 46 pz (78,0%): 22 pz con varianti omozigoti, 20 pz con varianti composte eterozigoti e 4 pz con una sola variante patogena riportata. La variante più frequente era c.2248C>T (30,5% dei pz; eterozigoti n=10; omozigoti n=5; sconosciuti n=3). Dei 22 pz con dati sull'attività relativa dell'alfa-mannosidasi, 20 avevano un'attività relativa dell'alfa-mannosidasi inferiore al 5%, 1 un'attività relativa del 8,1% e 1 un'attività residua del 11,3%. Presentazioni cliniche più comuni: deficit cognitivi e uditivi, caratteristiche facciali dismorfiche.

## Conclusioni

Un intervallo di 6,5 anni dalla prima manifestazione dell'AM alla diagnosi indica la necessità di sensibilizzazione sui segni e sintomi della patologia. L'analisi genetica è coerente con la variante più frequentemente riportata (c.2248C>T) in letteratura. SPARKLE potrà fornire approfondimenti sulla storia naturale e progressione dell'AM, nonché sulla sicurezza ed efficacia a lungo termine del VA.

---

## **ID: 69 - Effetti a breve e medio termine della sospensione della terapia con Olipudasi alfa in un bambino affetto da deficit di sfingomielinasi acida neuroviscerale cronica**

Chiara Montanari<sup>1</sup>, Veronica Maria Tagi<sup>2</sup>, Mirko Gambino<sup>2</sup>, Elvira Verduci<sup>3</sup>, Gianvincenzo Zuccotti<sup>1</sup>, Laura Fiori<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, <sup>3</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Milano, Milano

---

### **Introduzione**

Il deficit di sfingomielinasi acida (ASMD) è un disordine metabolico caratterizzato dal progressivo accumulo di sfingomielina. La forma cronica neuroviscerale si presenta con epatosplenomegalia, disfunzione epatica, interstiziopatia polmonare, piastrinopenia, difetti della coagulazione, displipidemia, osteopenia e con scarso accrescimento e pubertà ritardata in età pediatrica. Il coinvolgimento del sistema nervoso centrale è di grado variabile. Olipudasi alfa (Sanofi) è attualmente l'unica terapia disponibile per il trattamento delle manifestazioni non neurologiche dell'ASMD. L'efficacia del farmaco, soprattutto sulla patologia viscerale e sul quadro biochimico, è ormai ampiamente dimostrata. Non esistono tuttavia evidenze sulla rapidità del peggioramento del quadro multiorgano rispetto ad una eventuale sospensione temporanea del farmaco necessaria, per esempio, in caso di reazioni avverse severe alla terapia enzimatica sostitutiva (ERT).

### **Case report**

Riportiamo il caso di un bambino affetto da ASMD neuroviscerale cronica che ha presentato uno shock anafilattico all'età di 31 mesi, durante infusione alla dose di 3 mg/kg con necessità di sospensione della ERT. Dopo l'avvio della terapia, a 22 mesi (T0), era stato documentato un rapido miglioramento delle condizioni cliniche generali, dell'accrescimento staturico-ponderale, del volume epatico e splenico e del quadro radiologico polmonare, oltre ad una netta riduzione dei valori dei biomarkers, liso-sfingomielina (Lyso-SPM) e chitotriosidasi. Dopo 4 mesi dalla sospensione della ERT i valori di Lyso-SPM sono progressivamente aumentati fino a raggiungere un valore pari a quello al T0. Parallelamente il volume epatico e il volume splenico sono nuovamente aumentati raggiungendo dimensioni superiori a quelle al T0.

### **Discussione e conclusioni**

Gli effetti della sospensione della terapia con olipudasi alfa sono ad oggi poco conosciuti, data la recente introduzione del farmaco nel trattamento della ASMD. Il caso riportato documenta, dopo la sospensione della ERT, il rapido peggioramento del quadro clinico e dei markers di malattia in un tempo estremamente breve. I nostri dati confermano l'importanza della regolare somministrazione della ERT ma soprattutto documentano la necessità di un suo rapido ripristino in caso di necessità di sospensione, vista la rapidità della ripresa del quadro di malattia.

---



**ID: 72 - Profili clinici Real-Word di pazienti con Alfa-mannosidosi: valutazioni al basale dal registro SPARKLE** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Nicole Muschol<sup>1</sup>, Nathalie Guffon<sup>2</sup>, Andrea Ballabeni<sup>3</sup>, Line Borgwardt<sup>4</sup>, Allan Lund<sup>4</sup>, Mercedes Gil-Campos<sup>5</sup>, Francesca Donà<sup>3</sup>, Julia Hennermann<sup>6</sup>

<sup>1</sup> International Center for Lysosomal Disorders, University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany, <sup>2</sup> Reference Centre for Inherited Metabolic Diseases, CERLYMM, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France, <sup>3</sup> Chiesi Farmaceutici S.p.A., Parma, Italy, <sup>4</sup> Centre for Inherited Metabolic Diseases, Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark and Department of Clinical Medicine, Faculty of Health and Medical Sciences, University of Copenhagen, Copenhagen, Denmark, <sup>5</sup> Reina Sofia University Hospital, IMIBIC, University of Cordoba, CIBEROBN, Córdoba, Spain, <sup>6</sup> Villa Metabolica, University Medical Center Mainz, Mainz, Germany, <sup>7</sup> Center for Genomic Medicine, Copenhagen University Hospital, Rigshospitalet, Copenhagen, Denmark, <sup>8</sup> European Reference Network for Hereditary Metabolic Disorders

---

## Introduzione

L'Alfa-mannosidosi (AM) è una malattia sistemica, ultra-rara. La manifestazione clinica è eterogenea, con segni e sintomi comuni tra cui anomalie scheletriche, dismorfismi facciali, compromissione dell'udito, infezioni ricorrenti, disturbi del linguaggio, diminuzione della funzionalità motoria, atassia, sintomi psichiatrici e disabilità intellettiva. Velmanase alfa (VA) è autorizzato per il trattamento dell'AM in Europa. La variabilità della manifestazione clinica dell'AM porta spesso ad una diagnosi errata o a sostanziali ritardi nella diagnosi. Per meglio informare sul riconoscimento della patologia, questo studio mira a comprendere i profili clinici Real-word di pazienti con AM nel registro SPARKLE (EUPAS29038), il quale comprende pazienti trattati e non trattati con VA per un massimo di 15 anni.

## Metodi

Al basale, 11 sintomi/sistemi corporei sono stati valutati come normali o anormali sulla base dei criteri soggettivi del medico curante.

## Risultati

Di 50 pazienti con dati disponibili da 23 Centri europei, i 3 sintomi clinici/sistemi corporei più frequentemente compromessi sono stati: lo stato mentale; il distretto testa-collo; l'aspetto generale, con punteggi anormali rispettivamente del 89.4%, 72.3% e 63.3% dei pazienti. Queste osservazioni risultano coerenti con la frequenza dei sintomi dell'AM riportati dal National Institutes for Health Genetic and Rare Diseases Information Center. I 3 sistemi corporei meno comunemente colpiti sono stati gli organi addominali (14,3%), il cuore (13,0%) e i polmoni (6,5%).

## Conclusioni

In questa analisi delle valutazioni cliniche al basale dal registro SPARKLE, i pazienti con AM hanno dimostrato avere molteplici sintomi clinici/sistemi corporei impattati. Mentre le anomalie dello stato mentale, del distretto testa-collo e dell'aspetto generale sono frequentemente riportate nell'AM, le anomalie cardiache e polmonari, non sono così comunemente associate alla patologia, ma possono far sorgere il sospetto. Una valutazione olistica dei sintomi clinici/sistemi corporei colpiti in un paziente con AM può aiutare nella diagnosi precoce, nella migliore identificazione delle manifestazioni cliniche trattabili e in una gestione terapeutica personalizzata.

---

## **ID: 74 - Aspetti cognitivi e comportamentali negli errori congeniti del metabolismo: possibile influenza del microbiota-gut-brain axis e ruolo del triptofano**

Chiara Montanari<sup>1</sup>, Sara Parolisi<sup>2</sup>, Elisa Borghi<sup>3</sup>, Chiara Cazzorla<sup>4</sup>, Juri Zuvadelli<sup>5</sup>, Martina Tosi<sup>6</sup>, Rita Barone<sup>7</sup>, Giulia Bensi<sup>8</sup>, Cristina Bonfanti<sup>9</sup>, Carlo Dionisi Vici<sup>10</sup>, Giacomo Biasucci<sup>8</sup>, Alberto Burlina<sup>4</sup>, Maria Teresa Carbone<sup>2</sup>, Elvira Verduci<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, <sup>2</sup> U.O.S.D. Malattie Metaboliche, A.O.R.N. Santobono Pausilipon, Napoli, <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Milano, <sup>4</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche Ereditarie, DIDAS servizi di diagnostica integrata, Azienda Ospedale di Padova, Padova, <sup>5</sup> Clinica Pediatrica, ASST Santi Paolo e Carlo, PO San Paolo, Università degli Studi di Milano, <sup>6</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli studi di Milano, Milano, <sup>7</sup> Unità di Neuropsichiatria Infantile, AOU Policlinico "G.Rodolico-San Marco", Dipartimento di Med. Clin. - Università di Catania, Catania, <sup>8</sup> U.O.C. di Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, <sup>9</sup> Unità di Malattie Metaboliche, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, <sup>10</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche, Ospedale pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma

---

### **Introduzione**

Intestino e cervello comunicano e si modulano bidirezionalmente attraverso neurotrasmettitori e metaboliti neuroattivi. Negli errori congeniti del metabolismo (IEMs) la sfera cognitiva e psichiatrico/comportamentale è spesso interessata, nonostante un trattamento precoce (hidden disabilities). L'intervento dietetico, terapia di molti IEMs, può influenzare la composizione del microbiota intestinale e nella Fenilchetonuria (PKU) è stata osservata una disbiosi in senso pro-infiammatorio. Questa revisione vuole esplorare il possibile link tra dieta, microbiota intestinale e sistema nervoso centrale negli IEMs, con focus sulla via metabolica del Triptofano (Trp).

### **Metodi**

E' stata condotta una revisione narrativa della letteratura (2012-2022), attraverso la ricerca di parole chiave nel database PubMed/Medline. Il numero iniziale di documenti era di 2487, 43 sono stati selezionati per titolo, abstract e congruenza dei contenuti.

### **Risultati**

Il Trp, aminoacido essenziale, viene metabolizzato attraverso due vie, in equilibrio tra loro: di sintesi, con produzione di serotonina, e di degradazione, con produzione di chinurenina (KIN) (90%), triptamina e indolo (questi ultimi prevalentemente dalla metabolizzazione da parte del microbiota intestinale). Un'eccessiva attivazione della via di degradazione, da parte di stress (cortisolo) e metaboliti batterici pro-infiammatori (lipopolisaccaride) porta a uno sbilanciamento nella produzione di KIN e dei suoi metaboliti neuroeccitatori (acido chinolinico, QUIN; indolo e derivati) con effetti neurotossici e neuroinfiammatori. Il microbiota intestinale può quindi modulare la biodisponibilità del Trp. Una disbiosi intestinale, infatti, influenza negativamente il metabolismo del Trp, oltre che portare a una minore produzione di Short Chain Fatty Acids, ad effetto neuroprotettivo. In pazienti PKU che assumevano miscele aminoacidiche standard è stata riscontrata una maggior produzione di KIN, QUIN e indoli rispetto a pazienti in trattamento con glicomacropetide.

### **Conclusioni**

Una maggiore produzione di KIN, QUIN e indoli in grado di aumentare lo stress ossidativo e l'apoptosi cellulare, e la nota disbiosi osservata nei pazienti PKU, può far supporre un possibile nesso tra alterato metabolismo del Trp e microbiota gut-brain axis negli IEMs. Ulteriori studi sono necessari al fine di proporre strategie dietetiche innovative e migliorare la qualità di vita e la salute cognitivo-comportamentale di questi pazienti

---

**ID: 75 - Sicurezza ed efficacia a lungo termine della Pegunigalsidasi Alfa (PA) somministrata ogni 4 settimane nella malattia di Fabry (MF): risultati ad interim a 2 anni dallo studio BRIGHT51** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**John Bernat**<sup>1</sup>, Myrl Holida<sup>1</sup>, Nicola Longo<sup>2</sup>, Ozlem Goker-Alpan<sup>3</sup>, Eric Wallace<sup>4</sup>, Patrick Deegan<sup>5</sup>, Camilla Tøndel<sup>6</sup>, François Eyskens<sup>7</sup>, Ulla Feldt-Rasmussen<sup>8</sup>, Derralyne Hughes<sup>9</sup>, Antonio Pisani<sup>10</sup>, Ales Linhart<sup>11</sup>, Rossana Rocco<sup>12</sup>, Einat Brill Almon<sup>13</sup>, Sari Alon<sup>13</sup>, Raul Chertkoff<sup>13</sup>, David G. Warnock<sup>4</sup>, Stephen Waldek<sup>14</sup>, William R. Wilcox<sup>15</sup>

<sup>1</sup> University of Iowa Hospitals and Clinics, Iowa City, IA, USA, <sup>2</sup> University of Utah, Salt Lake City, UT, USA, <sup>3</sup> Lysosomal & Rare Disorders Research & Treatment Center, Fairfax, VA, USA, <sup>4</sup> University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL, USA, <sup>5</sup> Lysosomal Disorders Unit, Cambridge University, Cambridge, UK, <sup>6</sup> Haukeland University Hospital, Bergen, Norway, <sup>7</sup> Antwerp University Hospital UZA, Edegem, Belgium, <sup>8</sup> Copenhagen University Hospital, Copenhagen, Denmark, <sup>9</sup> LSDU, Royal Free London NHS Foundation Trust, and University College London, London, UK, <sup>10</sup> Department of Public Health, University Federico II of Naples, Naples, Italy, <sup>11</sup> General University Hospital in Prague, Prague, CHE, <sup>12</sup> Chiesi Farmaceutici S.p.A., Parma, Italy, <sup>13</sup> Department of Product Development, Protalix Biotherapeutics, Carmiel, Israel, <sup>14</sup> University of Sunderland, Sunderland, UK, <sup>15</sup> Emory University School of Medicine, Atlanta, GA, USA

---

## Introduzione

La MF è causata dal deficit di alfa-galattosidasi-A ( $\alpha$ -GAL-A) che porta all'accumulo di globotriaosilceramide (Gb3) e del suo metabolita lyso-Gb3 con conseguente compromissione della funzione degli organi. Le terapie enzimatiche sostitutive (ERT) attuali richiedono infusioni ogni 2 settimane. La PA è un enzima  $\alpha$ -GAL-A PEGilato con un'emivita aumentata rispetto alle ERT attuali, consentendo potenzialmente la flessibilità di dosaggio (1,0 mg/kg ogni 2 settimane o 2,0 mg/kg ogni 4 settimane).

## Metodi

BRIGHT51 (PB-102-F51, NCT03614234), è uno studio di estensione in corso, di fase 3 in aperto che valuta la sicurezza e l'efficacia fino a 4 anni di 2,0 mg/kg di PA ogni 4 settimane negli adulti con MF. I pazienti erano eleggibili se avevano completato lo studio BRIGHT, uno studio clinico di 1 anno per valutare il cambio di terapia per i pazienti che in precedenza avevano ricevuto agalsidasi alfa o agalsidasi beta ogni 2 settimane. Per questa analisi ad interim, la sicurezza e l'efficacia sono riportate dal basale nello studio BRIGHT fino a  $\geq 2$  anni di trattamento.

## Risultati

29 adulti (23 maschi e 6 femmine) sono stati arruolati nel BRIGHT51, con un'esposizione media a PA di 38,3 (25,3–44,8) mesi-persona. L'analisi dei dati genetici ha rivelato che c.679C>T (n=4) era la più comune delle 24 varianti patogene di GLA. 27/29 pazienti (93,1%) hanno riportato 339 eventi avversi emergenti dal trattamento (TEAE); 11/29 pazienti (37,9%) hanno riportato 46 TEAE correlati a PA, nessuno dei quali era grave. 6 pazienti su 29 (20,7%, maschi) hanno manifestato un totale di 38 reazioni lievi/moderate correlate all'infusione. 9 pazienti avevano anticorpi anti-farmaco (ADA) al basale; nessun ADA si è sviluppato de novo in seguito al passaggio a PA per  $\geq 2$  anni. Alla settimana 108, la variazione media (SE) rispetto al basale di eGFR era -5,10 (1,96) mL/min/1,73 m<sup>2</sup>; nel complesso, la pendenza media (SE) delle GFR era di -2,77 (0,54) mL/min/1,73 m<sup>2</sup>/anno (maschi: -3,03 [0,61] mL/min/1,73 m<sup>2</sup>/anno; femmine: 1,74 [1,21] mL/min/1,73 m<sup>2</sup>/anno). La lyso-Gb3 plasmatica media (SE) è rimasta stabile fino alla settimana 108 (basale: 19,36 [3,35] nmol/L; settimana 108: 22,98 [3,72] nmol/L).

## Conclusioni

I pazienti trattati con PA 2,0 mg/kg ogni 4 settimane non hanno mostrato nuovi problemi di sicurezza durante  $\geq 2$  anni di trattamento. Sono necessarie ulteriori analisi per valutare la sicurezza e l'efficacia a lungo termine della somministrazione ogni 4 settimane negli adulti con MF.

---

**ID: 76 - Confronto testa-testa tra Pegunigalsidasi Alfa (PA) vs. Agalsidasi Beta (AB) nella malattia di Fabry: risultati a 2 anni dello studio di fase III, randomizzato, in doppio cieco BALANCE** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**John Bernat**<sup>1</sup>, Eric L. Wallace<sup>2</sup>, Ozlem Goker-Alpan<sup>3</sup>, William R. Wilcox<sup>4</sup>, Myrl Holida<sup>1</sup>, Nicola Longo<sup>5</sup>, Derralyn Hughes<sup>6</sup>, Pilar Giraldo<sup>7</sup>, Maria Judit Molnar<sup>8</sup>, Damara Ortiz<sup>9</sup>, Robert J. Hopkin<sup>10</sup>, Camilla Tøndel<sup>11</sup>, Ales Linhart<sup>12</sup>, Patrick Deegan<sup>13</sup>, Ana Jovanovic<sup>14</sup>, Michael Muriello<sup>15</sup>, Bruce A. Barshop<sup>16</sup>, Virginia Kimonis<sup>28</sup>, Bojan Vujkovic<sup>17</sup>, Albina Nowak<sup>18</sup>, Tarekegn G. Hiwot<sup>19</sup>, Antonio Pisani<sup>20</sup>, Dominique P. Germain<sup>21</sup>, Ilkka Kantola<sup>22</sup>, Jasmine Knoll<sup>23</sup>, Ankit Mehta<sup>24</sup>, Stephen Waldek<sup>25</sup>, Einat Almon<sup>26</sup>, Sari Alon<sup>26</sup>, Raul Chertkoff<sup>26</sup>, Rossana Rocco<sup>27</sup>, David G. Warnock<sup>2</sup>

<sup>1</sup> University of Iowa Hospitals and Clinics, Iowa City, IA, USA, <sup>2</sup> The University of Alabama at Birmingham, Birmingham, AL, USA, <sup>3</sup> Lysosomal and Rare Disorders Research and Treatment Center, Inc., Fairfax, VA, USA, <sup>4</sup> Department of Human Genetics, Emory University, Atlanta, GA, USA, <sup>5</sup> University of Utah, Center for Clinical Translational Sciences, Salt Lake City, UT, USA, <sup>6</sup> Lysosomal Storage Disorders Unit, Royal Free London NHS Foundation Trust and University College London, London, UK, <sup>7</sup> Quironsalud Hospital, Zaragoza, Spain, <sup>8</sup> Institute of Genomic Medicine and Rare Disorders, Semmelweis University, Budapest, HUN, <sup>9</sup> UPMC Children's Hospital of Pittsburgh, Pittsburgh, PA, USA, <sup>10</sup> Cincinnati Children's Hospital Medical Center, Cincinnati, OH, USA, <sup>11</sup> Haukeland University Hospital, Renal Research Group, Bergen, NOR, <sup>12</sup> Vseobecna fakultni nemocnice v Praze, Praha, CZE, <sup>13</sup> Addenbrooke's Hospital, Cambridge University Hospitals, Cambridge, UK, <sup>14</sup> Mark Holland Metabolic Unit, Northern Care Alliance NHS Foundation Trust, Greater Manchester, UK, <sup>15</sup> Department of Pediatrics – Genetics Curative Network Building, Milwaukee, WI, USA, <sup>16</sup> University of California San Diego, La Jolla, CA, USA, <sup>17</sup> Slovenj Gradec General Hospital, Slovenj Gradec, SI, <sup>18</sup> University Hospital of Psychiatry Zürich, Department of internal medicine, CHE, <sup>19</sup> Queen Elizabeth Hospital Birmingham, Edgbaston, Birmingham West Midlands, UK, <sup>20</sup> Azienda Ospedaliera Universitaria "Federico II", Dipartimento di sanità Pubblica, Napoli, ITA, <sup>21</sup> University of Versailles, Division of Medical Genetics, Garches, FRA, <sup>22</sup> Department of Medicine, Turku University Hospital, Turku, FIN, <sup>23</sup> Phoenix Children's Hospital, Phoenix, AZ, USA, <sup>24</sup> Baylor University Medical Center, Dallas, TX, USA, <sup>25</sup> University of Sunderland, Sunderland, UK, <sup>26</sup> Protalix Biotherapeutics, Carmiel, ISL, <sup>27</sup> Chiesi Farmaceutici S.p.A., Parma, ITA, <sup>28</sup> University of California, Irvine institute for Clinical and Translational Science, CA, USA

---

## Introduzione

Pegunigalsidasi alfa (PA) è una nuova terapia enzimatica sostitutiva (ERT) per la malattia di Fabry (MF), costituita da  $\alpha$ -GalA PEGilata, progettata per offrire potenziali vantaggi in termini di tollerabilità rispetto alle attuali ERTs.

## Metodi

Lo studio BALANCE (NCT02795676) ha valutato la non inferiorità di PA rispetto ad AB in adulti con MF trattati con AB per almeno 1 anno e con una eGFR slope pari o più negativa di  $-2 \text{ mL/min/1.73m}^2/\text{anno}$ . I pazienti sono stati randomizzati 2:1 a ricevere 1 mg/kg di PA o rimanere in terapia con AB ogni 2 settimane per 2 anni. L'analisi di efficacia primaria ha valutato la non inferiorità in base alla differenza mediana tra i gruppi della eGFR slope. 77 pazienti hanno ricevuto PA (n=52) o AB (n=25).

## Risultati

Al basale l'età media (range) era di 44 (18-60) anni e il 61% (n=47) dei pazienti erano maschi. Delle 58 varianti patogeniche del gene GLA osservate, c.679C>T (n=6) e c.680G>A (n=6) erano le più comuni. Al basale il valore mediano delleGFR era di  $74,51 \text{ mL/min/1,73m}^2$  e il valore mediano (range) della eGFR slope era di  $-7,25 (-30,5-6,3) \text{ mL/min/1,73m}^2/\text{anno}$ . A 2 anni la differenza nella mediana delleGFR slope tra i gruppi era di  $-0,36 \text{ mL/min/1,73m}^2/\text{anno}$ , con il limite inferiore dell'intervallo di confidenza (IC) che soddisfaceva il margine di non inferiorità predefinito (95%IC:  $-2,44-1,73$ ). A 2 anni, gli endpoints secondari (indice di massa ventricolare sinistra, uso di premedicazione, Brief Pain Inventory Score e livelli di LysoGb3) indicavano stabilità e/o erano simili tra i gruppi. L'analisi di sicurezza ha mostrato reazioni correlate all'infusione (IRRs): il 21,2% dei pazienti che ricevevano PA ha riportato 13 IRRs (0,5 eventi/100 infusioni), mentre il 24% dei pazienti che ricevevano AB ha riportato 51 IRRs (4 eventi/100 infusioni). Gli eventi avversi correlati al trattamento (TEAEs) sono stati osservati nel 40% dei trattati con PA (42,85

eventi/100 anni-esposizione) e nel 44% dei pazienti con AB (152,91 eventi/100 anni-esposizione). Dei pazienti con anticorpi antifarmaco (ADA) positivi al basale, quelli con anticorpi neutralizzanti è diminuita dal 94% (n=17/18) al 64% (n=7/11) nei pazienti passati a PA e aumentata dall'88% (n=7/8) al 100% (n=6/6) nei pazienti trattati con AB dopo 2 anni. Nessun decesso riportato.

## **Conclusioni**

PA ha mostrato un'efficacia non inferiore ad AB in base all'eGFR slope a 2 anni nonché un profilo di tollerabilità e immunogenicità favorevole, con tassi inferiori di TEAEs.

---

## **ID: 80 - L'Intolleranza Ereditaria al Fruttosio nell'età adulta: follow-up di patologia a decorso cronico con misdiagnosi da malattia intestinale a disturbi della condotta alimentare**

**Maria Letizia Urban**<sup>1</sup>, Edoardo Biancalana<sup>1</sup>, Cinizia Pistolesi<sup>2</sup>, Francesca Pochiero<sup>3</sup>, Giulia Bruni<sup>4</sup>, Michele Sacchini<sup>3</sup>, Elena Procopio<sup>3</sup>, Amelia Morrone<sup>5</sup>, Silvia Funghini<sup>6</sup>, Anna Caciotti<sup>7</sup>, Lorenzo Ferri<sup>7</sup>, Giacomo Emmi<sup>1</sup>, Domenico Prisco<sup>1</sup>, Maria Alice Donati<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università di Firenze, Italia; SOD Medicina Interna Interdisciplinare, AOU Careggi, Firenze, Italia, <sup>2</sup> Linea di Produzione Dietetica e Nutrizione, AOU Careggi, Firenze, <sup>3</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, IRCCS Meyer, Firenze, <sup>4</sup> UP Dietetica, IRCCS Meyer, Firenze, <sup>5</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, IRCCS Meyer, Firenze; Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino, Università di Firenze, <sup>6</sup> Laboratorio Diagnostica delle Malattie del Sistema Nervoso e del Metabolismo, IRCCS Meyer, Firenze, <sup>7</sup> Laboratorio di Biologia Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, IRCCS Meyer, Firenze

---

### **Background**

L'intolleranza ereditaria al fruttosio (IEF) è una malattia ereditaria causata da deficit dell'enzima aldolasi B. L'incidenza, è pari a circa 1/20.000 nati vivi. Nei soggetti affetti l'assunzione di fruttosio può causare alterazioni metaboliche tra cui ipoglicemia, epatopatia e acidosi metabolica. Le manifestazioni cliniche compaiono solitamente allo svezzamento e talvolta l'esordio è acuto. Nonostante l'esordio in età pediatrica molti pazienti rimangono non diagnosticati fino all'età adulta.

### **Metodi**

È stata condotta un'analisi retrospettiva di una coorte di pazienti adulti con IEF, afferenti all'ambulatorio delle Malattie Metaboliche dell'Adulto, nell'ambito del progetto di transizione tra IRCCS Meyer e AOUC Careggi a Firenze. Per ciascun paziente sono stati raccolti dati demografici, clinici, laboratoristici e antropometrici.

**Risultati** Sono stati analizzati 12 pazienti (8 donne) con un follow-up mediano di 8 [6;13] anni. La mutazione riscontrata più comunemente è stata la *p.A150P* presente in 6 pazienti. Due pazienti presentavano la delezione degli esoni 2-7. In 11 casi la diagnosi è stata posta in età adulta (età mediana 37 [16; 42] anni). L'aspetto clinico più comune è stato il rifiuto per cibi dolci e frutta già dall'età pediatrica. Sintomi gastrointestinali e ipoglicemie sintomatiche sono le manifestazioni cliniche più frequenti (presenti in 8 e 5 pazienti rispettivamente). Alla diagnosi 3 pazienti presentavano epatomegalia. In 5 casi sono state inizialmente poste altre diagnosi, tra cui disturbi della condotta alimentare, epilessia, patologie croniche intestinali e disturbi del metabolismo glucidico. All'ultima valutazione i pazienti presentavano un BMI medio di  $21.2 \pm 1.5$  Kg/m<sup>2</sup>; 4 pazienti presentavano epatomegalia; enzimi epatici, creatinina e glicemia erano per tutti entro il range di normalità.

### **Conclusioni**

L'IEF è una patologia rara e spesso misconosciuta nella medicina dell'adulto. Una corretta raccolta clinico-anamnestica consente di porre il sospetto diagnostico da confermare mediante analisi genetica del gene *ALDOB*. L'avversione verso frutta e cibi dolci, che la maggior parte dei pazienti manifesta, porta ad auto-restrizioni dietetiche. Molti pazienti non sviluppano complicanze ma è comune il riscontro di epatomegalia e steatosi epatica. La presenza della delezione comune degli esoni 2-7 in due pazienti evidenzia l'importanza delle nuove tecniche di sequenziamento per la diagnosi di questa patologia.

---

## **ID: 82 - Morfometria ventricolare cerebrale in pazienti affetti da porfiria epatica acuta: case series**

**Annamaria Sapuppo**<sup>1</sup>, Christian Messina<sup>2</sup>, Giulia Donzuso<sup>2</sup>, Clara Grazia Chisari<sup>2</sup>, Concetta Meli<sup>1</sup>, Martino Ruggieri<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di Riferimento Regionale per le Malattie Metaboliche Ereditarie dell'Adulto e del Bambino, A.O.U. "G.Rodolico", Università di Catania, <sup>2</sup> Dipartimento "GF Ingrassia", Sezione di Neuroscienze, Università di Catania

---

### **Introduzione**

Le porfirie epatiche acute (AHP) sono malattie metaboliche ereditarie dovute a deficit enzimatici nel metabolismo delle eme e caratterizzate da attacchi neuroviscerali acuti, associati o meno a lesioni cutanee. In letteratura è inoltre riportato un possibile coinvolgimento del sistema nervoso centrale, caratterizzato da atrofia cerebrale diffusa, dovuta a danno ipossico-ischemico ricorrente, con conseguente mineralizzazione distrofica, necrosi laminare, alterazioni encefalo-malaciche, cui possono anche associarsi dilatazione dei ventricoli e degli spazi subaracnoidei.

### **Materiali e Metodi**

Sono state arruolate pazienti con diagnosi di AHP, geneticamente confermata, afferenti all'A.O.U. Policlinico dell'Università di Catania tra luglio 2022 ed aprile 2023. Ciascuna paziente è stata sottoposta a valutazione clinica e risonanza magnetica (RM) cerebrale strutturale, con valutazione delle misure ventricolari e del volume cerebrale mediante indice di Evan (EI), rapporto parieto-occipitale (POR) e rapporto temporale (TR). LEI è il rapporto tra la massima ampiezza dei corni frontali ed il massimo diametro interno del cranio allo stesso livello; il POR è il rapporto tra la massima ampiezza dei corni occipitali e la massima ampiezza del tavolato cranico parietale allo stesso livello; il TR è il rapporto della massima ampiezza dei corni temporali e la massima ampiezza del tavolato cranico allo stesso livello.

### **Risultati**

5 pazienti con AHP sono state incluse nello studio (100% femmine, età media  $34.2 \pm 9.0$ , durata di malattia  $12.6 \pm 2.1$  anni, 100% lamentava cefalea e parestesie alle mani e ai piedi). La misurazione lineare delle strutture ventricolari ha mostrato: media EI  $0.23 \pm 0.01$ , media POR  $0.4166 \pm 0.018$ , media TR  $0.03 \pm 0.01$ .

### **Discussione**

Questo è il primo studio che valuta la misurazione dei ventricoli laterali attraverso la morfometria cerebrale in pazienti con AHP; nella nostra casistica non sono state rilevate alterazioni significative. In letteratura è stata riportata la presenza di atrofia corticale cerebrale in AHP, soprattutto dei lobi frontali, ed ampliamento degli spazi subaracnoidei e dei ventricoli. Possiamo ipotizzare che questi risultati siano dovuti all'adozione di EI, POR e TR applicati alla RM cerebrale, che rende l'analisi più accurata. Inoltre, la giovane età delle pazienti potrebbe giustificare l'effettiva mancanza di atrofia cerebrale. Ulteriori studi e campioni più ampi di pazienti saranno necessari per confermare queste ipotesi.

---

**ID: 83 - ADRENOLEUCODISTROFIA: L'IMPORTANZA DELLA DIAGNOSI PRECOCE** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Marianna Alagia**<sup>1</sup>, Gaetano Terrone<sup>1</sup>, Donatella Capalbo<sup>2</sup>, Paola Lorello<sup>1</sup>, Chiara Paoletta<sup>3</sup>, Giancarlo Parenti<sup>4</sup>, Simona Fecarotta<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli, <sup>2</sup> Dipartimento Materno-Infantile, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli, <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche Avanzate, Università Federico II, Napoli, <sup>4</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli; Telethon Institute of Genetics and Medicine, TIGEM, Napoli;

---

## INTRODUZIONE

Ladrenoleucodistrofia X-linked (X-ALD) è una patologia perossisomiale causata da varianti patogenetiche nel gene ABCD1, che sono associate a fenotipi caratterizzati da coinvolgimento del SN centrale e periferico (adrenoleucodistrofia cerebrale e adrenomielloneuropatia) e insufficienza surrenalica primaria. Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche in fase pre o pauci-sintomatica è l'unica terapia disponibile per la cura della X-ALD, ma è richiesta una diagnosi precoce per consentire l'arresto della neurodegenerazione. Uno screening neonatale è stato proposto come progetto pilota in alcuni Paesi esteri e Regioni italiane.

## PRESENTAZIONE DEL CASO

Paziente di 12 anni con storia di disabilità intellettiva e disturbo del comportamento giunto alla nostra attenzione per inquadramento in merito a peggioramento cognitivo e comportamentale e sospetti episodi critici. All'esame obiettivo si evidenziava: impaccio motorio, strabismo divergente alternante, eloquio impacciato ed iperpigmentazione cutanea. La RMN encefalo mostrava quadro leucodistrofico prevalente sulle regioni parieto-occipitali e si evidenziavano crisi di assenza nel contesto di un'epilessia generalizzata ed insufficienza surrenalica primaria; per tale motivo iniziava terapia con lamotrigina e idrocortisone. Sulla base della clinica, veniva posta diagnosi di ALD cerebrale, confermata dal dosaggio dei VLCFA e dall'analisi genetica (ABCD1 c.1978C>T). E' stata valutata la possibilità di trapianto di cellule staminali, esclusa per lo stadio avanzato della patologia (score clinico >1 e score neuroradiologico di Loes di 14). Una terapia di supporto con antiossidanti (N-acetilcisteina) e un programma nutrizionale specifico con Olio di Lorenzo e DHA sono stati intrapresi.

## CONCLUSIONI

La storia del nostro paziente sottolinea l'importanza di una diagnosi precoce per l'accesso a terapie salvavita che possono arrestare o modificare il decorso della patologia. Per velocizzare l'iter diagnostico si propone esecuzione di RMN encefalo e dosaggio dei VLCFA in tutti i pazienti con peggioramento progressivo del profilo cognitivo e/o comportamentale. Una diagnosi presintomatica sarebbe preferibile e permetterebbe alla maggior parte dei pazienti di essere candidabili al trapianto o a terapie sperimentali emergenti. In tal senso è necessario discutere la fattibilità e sostenibilità dello screening neonatale esteso per questa patologia su tutto il territorio nazionale.

---



## **ID: 89 - Quando l'occhio "vuole la sua parte": un caso di cataratta polare e distrofia retinica precoce in una paziente con variante in omozigosi del gene POLG**

**Annamaria Sapuppo**<sup>1</sup>, Concetta Meli<sup>1</sup>, Luisa La Spina<sup>1</sup>, Pierluigi Smilari<sup>2</sup>, Piero Pavone<sup>2</sup>, Filippo Greco<sup>2</sup>, Tiziana Timpanaro<sup>2</sup>, Riccardo Iacobacci<sup>1</sup>, Martino Ruggieri<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di Riferimento Regionale per le Malattie Metaboliche Ereditarie dell'Adulto e del Bambino, A.O.U. "G.Rodolico", Università di Catania, <sup>2</sup> U.O. Clinica Pediatrica, A.O.U. "G.Rodolico", Università di Catania

---

### **Introduzione**

Varianti nel gene nucleare POLG rappresentano una delle cause più frequenti di malattie mitocondriali, con ampio spettro fenotipico. L'interessamento oculare precoce è riportato in letteratura come molto raro.

### **Metodi**

Questi dati fanno parte dello studio preliminare per lo screening del Deficit di Decarbossilasi degli Aminoacidi Aromatici(*PTC Therapeutics*®), svoltosi c/o l'U.O. "Clinica Pediatrica" dell'Università di Catania (Maggio 2022-Maggio 2023), tramite l'impiego del pannello NGS "*FLEX Comprehensive Epilepsy Panel Plus*".

### **Risultati**

Femmina, 5anni, genitori non consanguinei, buon adattamento alla nascita. Ritardo dello sviluppo psicomotorio (deambulazione a 24mesi). A 2anni diagnosi di nistagmo bilaterale, cataratta polare anteriore e distrofia retinica, con aumentato tempo di conduzione ai potenziali evocati visivi. Trasferita c/o la nostra U.O. per stato di male epilettico, trattato con midazolam in infusione continua; con aggiunta di acido valproico e levetiracetam per scarsa risposta. Alla rachicentesi **iperprotidorrachia** (7580mg/L), con esame culturale infettivologico ed autoimmunità negativi. L'EEG era compatibile con stato di male; **idrocefalo triventricolare e lesioni focali peri-ventricolari della sostanza bianca** si riscontravano alla risonanza magnetica encefalo, con aumento sia in numero che in dimensione ai successivi controlli. Gli esami ematochimici mostravano **ipertransaminasemia** (GOT 77U/L, GPT 82U/L) e **colestasi** (GGT 148U/L). La paziente presentava sopore, esotropia occhio destro, ptosi palpebrale bilaterale, ipotonia generalizzata, deficit stenico diffuso, riflessi assenti, discheratosi diffusa, con aumento del lattato all'emogas capillare (7.4mmol/L). Nella norma acidi organici urinari, amminoacidi, acilcarnitine, elettrofocusing delle sialotransferrine, enzimi lisosomiali e MPS urinari. All'ecografia addome: iperecogenicità epatica con ecostruttura disomogenea; alla spettroscopia: notevole riduzione del picco di NAA con inversione del rapporto NAA/Cr e marcato doppietto invertito del lattato. Nel sospetto di mitocondriopatia con pattern dismielinizzante progressivo, la paziente ha eseguito test genetico nell'ambito dello studio sopracitato, con riscontro di variante *c.2391G>T(p.Met797Ile)* in omozigosi del gene *POLG*. Iniziava trattamento con Carnitina, Tiamina e Ubidecarenone; si sospendeva acido valproico.

### **Conclusione**

Questo caso conferma che l'interessamento oculare precoce può essere spia di mitocondriopatia POLG-associata.

---

## **ID: 92 - Diagnosi di Alfa-mannosidosi: screening con dosaggio degli oligosaccaridi urinari in una popolazione di soggetti di età pediatrica con ipoacusia**

Melissa Bellini<sup>1</sup>, Sara Ghiselli<sup>2</sup>, Carlotta Granata<sup>1</sup>, Domenico Cuda<sup>2</sup>, Giacomo Biasucci<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 1.U.O. di Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, <sup>2</sup> 2.U.O. Otorinolaringoiatria, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza

---

### **Introduzione**

Lalfa-mannosidosi è una malattia ultra-rara da accumulo lisosomiale. Si tratta di una patologia a trasmissione autosomica recessiva, dovuta a mutazione del gene MAN2B1. Questo difetto genetico provoca una carenza dell'enzima alfa-mannosidasi acida lisosomiale, con un accumulo di oligosaccaridi nelle cellule. Le manifestazioni sono variabili: immunodeficienza (infezioni ricorrenti), anomalie scheletriche, dismorfismi facciali, ipoacusia e deficit graduale delle funzioni cognitive e del linguaggio. I disturbi motori correlati comprendono debolezza muscolare, anomalie osteo-articolari, atassia. La diagnosi si effettua con la misurazione dell'attività dell'alfa-mannosidasi acida e può essere confermata dai test genetici. È indicativo l'aumento della secrezione urinaria di oligosaccaridi ricchi in mannosio. Le opzioni terapeutiche comprendono la terapia enzimatica sostitutiva che si è dimostrata efficace nel ridurre le infezioni batteriche, l'uso di antibiotici e la riabilitazione dell'impaccio motorio.

### **Metodi**

Sulla base della espressività clinica variabile della patologia, della non conoscenza della sua reale incidenza, della disponibilità di una terapia enzimatica sostitutiva che può migliorare alcuni aspetti clinici della patologia, abbiamo deciso di indagare per alfa-mannosidosi un gruppo di pazienti afferenti alle U.U.O.O. di Pediatria e Neonatologia e Otorinolaringoiatria dell'Ospedale Guglielmo da Saliceto di Piacenza, che avessero come caratteristica clinica comune l'ipoacusia. I soggetti selezionati sono stati sottoposti a raccolta di urina su carta bibula per dosaggio degli oligosaccaridi.

### **Risultati**

Dal mese di Dicembre 2022 al mese di Maggio 2023 sono stati testati 6 bambini di età compresa tra 1 e 5 anni, che presentavano come caratteristica comune ipoacusia. Tre bambini risultavano affetti da ipoacusia trasmissiva e tre da ipoacusia neurosensoriale. Inoltre quattro pazienti manifestavano altre caratteristiche cliniche tipiche dell'alfa-mannosidosi, come infezioni ricorrenti, ritardo del linguaggio e ritardo di crescita. Il dosaggio degli oligosaccaridi su spot di urine ha mostrato un tracciato nei limiti di norma in tutti i pazienti sottoposti a screening selettivo.

### **Conclusioni**

Il progetto da noi proposto vuole essere un modello di screening in bambini affetti da ipoacusia ad eziologia sconosciuta che si attua con un test diagnostico facilmente eseguibile e che riguarda una patologia con un'ampia espressività fenotipica.

---

## **ID: 93 - Studio di vulnerabilità e resilienza alla Phe in soggetti giovani-adulti con ETPKU**

**Filippo Manti**<sup>1</sup>, Francesca Nardecchia<sup>1</sup>, Sabrina De Leo<sup>2</sup>, Claudia Carducci<sup>3</sup>, Cristina Romani<sup>4</sup>, Liana Palermo<sup>5</sup>, Antonio Angeloni<sup>3</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Neuroscienze Umane, Università di Roma "La Sapienza", Roma, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Clinica, Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico Umberto I, Roma, <sup>3</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Roma "La Sapienza", Roma, <sup>4</sup> School of Life and Health Sciences, Aston University, Birmingham, UK, <sup>5</sup> Dipartimento di Medicina e Scienze Chirurgiche, Università Magna Graecia di Catanzaro, Catanzaro

---

### **Introduzione/Background**

E' oggetto di discussione quale possa essere il target terapeutico (valori ematici della Phe) in grado di garantire un funzionamento cognitivo sovrapponibile a quello dei soggetti sani nei pazienti adulti con ETPKU. Gli studi interventistici sinora effettuati sono pochi e di incerto esito. Obiettivi dello studio: 1) valutazione dell'outcome neurocognitivo in adulti con ETPKU in risposta ad una marcata e persistente riduzione dei livelli ematici di Phe; 2) studio della variabilità della risposta quale misura della vulnerabilità individuale alla Phe.

### **Metodi**

E' stato condotto uno studio prospettico/interventistico in 7 donne ETPKU (31±1.57 anni) sottoposte alla drastica riduzione dei valori di Phe compatibile con la programmazione della gravidanza. Queste pazienti sono state sottoposte a un'ampia valutazione neurocognitiva, basale (T0), a 3 (T1) e a 6 mesi dopo (T2) il raggiungimento del target terapeutico previsto (Phe<240µmol/L) e comunque prima dell'inizio della gravidanza. Sono state esaminate le seguenti abilità: attenzione sostenuta(AS, tempi di reazione); coordinazione visuo-motoria(CVS), pianificazione, flessibilità cognitiva(FC), working memory, memoria a breve termine(MBT). Sette soggetti di controllo, comparabili per età, sesso e livello di istruzione sono stati reclutati per il confronto con le condizioni basali e finali delle pazienti.

### **Risultati**

Dopo 3 e 6 mesi dal raggiungimento del target terapeutico tutte le pazienti hanno mostrato un crescente incremento degli score relativi alle funzioni testate(AS:T0=526.14±78.37 vs T2=375.86±59.08 secondi;CVS:T0=83.86±25.93 vs T2=55.71±7.94 sec; FC:T0=51.43±9.57 vs T2=61.71±5.50; MBT: T0=3.60±0.95 vs T2=5.84±0.52), incluso un significativo incremento del QI (da 11 a 21 punti). Infine, pur essendo equiparabile il miglioramento complessivo in tutti i soggetti (in media del 37% nelle funzioni esplorate), analizzando i diversi profili cognitivi si sono identificate aree soggettive di particolare vulnerabilità alla Phe.

### **Discussione/conclusioni**

I nostri risultati evidenziano che a)è possibile un significativo ulteriore miglioramento delle abilità cognitive in età adulta in soggetti PKU dal funzionamento cognitivo normale; b)data l'attuale mancanza di marcatori prognostici, in un'ottica di medicina di precisione, gli adulti con ETPKU andrebbero testati a diversi livelli di controllo metabolico prima di escludere che le loro prestazioni e la qualità di vita non possano migliorare

---

## **ID: 95 - Anomalie precoci della colecisti nella leucodistrofia metacromatica: case report di due fratelli con variante early juvenile di malattia**

Salvatore Recupero<sup>1</sup>, Marta Pezzuto<sup>1</sup>, Vera Gallo<sup>1</sup>, Elena Sophia Fratini<sup>1</sup>, Alessia Ippolito<sup>1</sup>, Angelo Quattrini<sup>2</sup>, Margherita Levi<sup>1</sup>, Mara Sangalli<sup>1</sup>, Thomas Kepak<sup>3</sup>, Vojtech Dotlacil<sup>4</sup>, Cecilia Marinova<sup>5</sup>, Klara Brozova<sup>6</sup>, Valeria Calbi<sup>1</sup>, Francesca Fumagalli<sup>1</sup>, Alessandro Aiuti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> San Raffaele Telethon Institute for Gene Therapy (SR-TIGET), Ospedale San Raffaele, Milano, Italia, <sup>2</sup> Experimental neuropathology Unit, Institute of Experimental Neurology (INSPE), Division of Neuroscience, Ospedale San Raffaele, Milano, Italia, <sup>3</sup> International Clinical Research Center (FNUSA-ICRC), Brno, Repubblica Ceca, <sup>4</sup> Department of Paediatric Surgery, Second Faculty of Medicine, Charles University and Motol University Hospital, Praga, Repubblica Ceca, <sup>5</sup> Medasol s.r.o., Praga, Repubblica Ceca, <sup>6</sup> Department of Pediatric Neurology, Thomayer Hospital, Praga, Repubblica Ceca

---

### **INTRODUZIONE**

La leucodistrofia metacromatica (MLD) è una malattia autosomica recessiva, causata dal deficit enzimatico lisosomiale arisulfatasi A (ARSA), deputato al metabolismo dei sulfatidi, il cui accumulo determina alterazioni del sistema nervoso centrale e periferico, ma anche manifestazioni extra-neurologiche. In particolare l'interessamento della colecisti varia da inspessimento parietale a formazioni polipoidi a rischio di evoluzione carcinomatosa.

### **METODI**

I Pz.1 e 2 sono fratelli affetti da MLD. Il Pz.1, fratello maggiore, dai 4 aa manifesta problematiche motorie (frequenti cadute, progressiva intrarotazione del piede sinistro) e da 6 aa difficoltà scolastiche. A 9 aa l'EMG mostra polineuropatia sensori-motoria e le analisi genetiche portano alla diagnosi di MLD [mutazione c.1283C>T (p.Pro428Leu) in omozigosi del gene ARSA], variante giovanile precoce (esordio 30 mesi-7 anni); è in fase precoce di malattia, con mantenuta deambulazione autonoma (GMFC-0) e normali abilità cognitive (QI 101), soddisfacendo i criteri di eleggibilità per terapia genica (GT) con atidarsagene autotemcel. Agli accertamenti di screening si identifica polipo bilobato e vascolarizzato (17\*14 mm) sul fondo colecistico. Nella sorella minore (pz.2) a 6 aa si identifica accidentalmente un polipo della colecisti. In seguito, a causa della storia familiare, le analisi genetiche confermano anche in lei la diagnosi di MLD in fase presintomatica (GMFC-0, QI normale) per cui risulta eleggibile a GT.

### **RISULTATI**

Le alterazioni colecistiche non hanno causato sintomatologia specifica ma, in previsione della GT, in entrambi si effettua colecistectomia laparoscopica. L'analisi microscopica mostra mucosa diffusamente iperplastica con tratti di metaplasia intestinale; colorazioni specifiche della colecisti del pz.2 confermano l'accumulo dei sulfatidi.

### **CONCLUSIONI**

Nei casi descritti si è giunti alla diagnosi di MLD a causa della sintomatologia neurologica (pz.1) e della storia familiare (pz.2); tuttavia l'entità delle lesioni colecistiche supporta l'idea che l'accumulo extra-neurologico possa manifestarsi in anticipo rispetto alla sintomatologia neurologica. Questo dato cruciale suggerisce la necessità di effettuare lo screening per MLD in tutti i bambini con anomalie colecistiche per individuare pazienti ancora neurologicamente asintomatici che potrebbero beneficiare di un trattamento tempestivo con GT, al fine di prevenire l'evoluzione gravemente disabilitante della patologia.

---

**ID: 97 - Caratterizzazione del quadro epilettico in deficit della glicosilazione da mutazione di COG2.**

Margherita Maria Rossi<sup>1</sup>, Anita Argentieri<sup>1</sup>, Mattia Zorn<sup>1</sup>, Maria Rosaria Curcio<sup>1</sup>, Salvatore Grosso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> O.U.C Pediatria, Azienda Ospedaliera Universitaria Senese, Siena

---

I disordini congeniti della glicosilazione (CDG) sono malattie metaboliche ereditarie causate da mutazioni di geni implicati nei processi di glicosilazione di proteine e lipidi. Poiché la glicosilazione è un processo cellulare ubiquitario, i CDG risultano essere malattie multisistemiche, con possibile interessamento neurologico. Il complesso conservato oligomerico del Golgi (COG) regola il trasporto retrogrado intra golgi, pertanto mutazioni delle subunità di tale complesso determinano CDG. Qui illustriamo il caso clinico di N. affetta da mutazione di COG2, che presenta severo coinvolgimento neurologico e manifestazioni epilettiche. N., 11 anni, giungeva alla nostra attenzione a 4 anni per crisi focali secondarie, microcefalia, ritardo neuromotorio e del linguaggio. Le crisi, insorte all'età di 10 mesi, si caratterizzavano per incontabilità, ipertono generalizzato, flessione del capo e delle mani accompagnati da scialorrea; tali episodi avevano una durata di circa 30 secondi e si risolvevano spontaneamente. L'EEG mostrava attività parossistica sulle regioni anteriori di destra e minima attività sulle regioni frontali di sinistra. Non sostanziate alterazioni strutturali alla RM encefalo. È stata ottenuta una buona risposta terapeutica a seguito dell'introduzione di Acido Valproico. L'indagine genetica EXOMA ha evidenziato una variante in eterozigosi di COG2 (C.1532 c->g; 2110 g->a). Il complesso conservato oligomerico del Golgi (COG) è un complesso di vescicole con otto subunità che controlla diversi aspetti dell'omeostasi cellulare attraverso l'organizzazione del traffico retrogrado all'interno del golgi. Mutazioni di COG si associano a difetti severi della N- e della O- glicosilazione. La mutazione di COG2 causante CDG è stata per la prima volta descritta nel 2015 associata ad un quadro di microcefalia, crisi toniche, ritardo di crescita, disfunzione epatica, ipocupremia e atrofia cerebrale. Nelle COG CDG vi può essere un coinvolgimento del SNC, dato il ruolo delle glicoproteine nel rilascio dei neurotrasmettitori, nell'adesione recettoriale e nello sviluppo encefalico. Studi di associazione fenotipo-genotipo di mutazioni COG possono essere utili per caratterizzare in maniera sistematica il quadro neuropatologia ed epilettologico delle diverse mutazioni.

---

## **ID: 99 - Sindrome MEDNIK-like: caratterizzazione delle alterazioni nel metabolismo del rame e risposta alla terapia con zinco**

Serena Schillaci<sup>1</sup>, Francesca De Nictolis<sup>1</sup>, Andrea Diociaiuti<sup>2</sup>, Elena Polishchuk<sup>3</sup>, Evelina Maines<sup>4</sup>, Serena Gasperini<sup>5</sup>, Teresa Rizza<sup>6</sup>, Elisa Pisaneschi<sup>7</sup>, Rosalba Carrozzo<sup>6</sup>, Maya El Hachem<sup>2</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>1</sup>, Roman Polishchuk<sup>3</sup>, Antonio Novelli<sup>7</sup>, Diego Martinelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC di Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, <sup>2</sup> UOC di Dermatologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, <sup>3</sup> Telethon Institute of Genetics and Medicine, Napoli, <sup>4</sup> Azienda Provinciale per i Servizi Sanitari, Trento, <sup>5</sup> Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Italy, <sup>6</sup> BIOLOGIA CELLULARE E DIAGNOSTICA MALATTIE MITOCONDRIALI, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, <sup>7</sup> LABORATORIO DI GENETICA MEDICA, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma

---

### **Background**

La sindrome MEDNIK (acronimo per ritardo mentale, enteropatia, sordità, neuropatia, ittiosi, cheratodermia) è dovuta a varianti patogeniche del gene AP1S1 che codifica per la subunità  $\sigma$ 1A del complesso adaptor protein-1 (AP-1). LAP-1 svolge un ruolo cruciale nel traffico intracellulare delle proteine transmembrana, comprese le ATPasi ATP7A e ATP7B che trasportano il rame. Il difetto di AP1S1 causa anomalie del metabolismo del rame, combinando segni clinici e biochimici caratteristici delle malattie MENKES e WILSON e determinando un aumento dei VLCFA plasmatici. Recentemente sono state identificate varianti patologiche nel gene AP1B1 che codifica per la subunità  $\beta$  di AP-1. Tali varianti sono state associate alla sindrome KIDAR (acronimo per cheratite-ittiosi-sordità), il cui fenotipo si sovrappone a quello della MEDNIK. Diversamente da quest'ultima, i pazienti con mutazione di AP1B1 finora descritti mostravano anomalie del rame nel sangue (bassi livelli di cupremia e ceruloplasminemia) ma nessuna evidenza di accumulo di rame nel fegato.

### **Metodi**

Descriviamo 4 ulteriori pazienti con difetto di AP1B1, con l'obiettivo di caratterizzare le anomalie del metabolismo del rame attraverso valutazioni cliniche, test biochimici, studi funzionali su fibroblasti e su cellule epatiche, dati istologici e analisi ultrastrutturali su biopsia epatica.

### **Risultati**

Tutti i pazienti presentavano ipocupremia e ipoceruloplasminemia, aumento dell'escrezione urinaria di rame e, inaspettatamente, anche accumulo di rame nel fegato, dato finora non riportato. Listologia epatica ha documentato lieve fibrosi e alterazioni di tipo infiammatorio. È stata avviata terapia con zinco acetato con miglioramento del sovraccarico di rame nei due pazienti trattati per un anno. Studi ultrastrutturali hanno documentato anomalie mitocondriali, in particolare irregolarità delle creste, migliorate dopo terapia con zinco. Gli studi sui fibroblasti mutati hanno mostrato un'alterazione del traffico intracellulare di ATP7A. Il silenziamento e il knockout di AP1B1 nelle cellule epatiche hanno determinato disregolazione del traffico di ATP7B, una minore resistenza alla tossicità da accumulo di rame e alterazioni mitocondriali.

### **Conclusioni**

Abbiamo chiarito la patogenesi del difetto di AP1B1 e caratterizzato la disregolazione del traffico intracellulare delle due ATPasi deputate al trasporto di rame, confermando l'efficacia dell'acetato di zinco nella modulazione del sovraccarico di rame

---

## **ID: 104 - Il DNA citosolico-mitocondriale libero innesca nei pazienti con Sindrome di Kearns-Sayre una potente risposta Interferone tipo I contrastata dal micofenolato mofetile**

**Diego Martinelli**<sup>1</sup>, Michela Di Nottia<sup>2</sup>, Ivan Caiello<sup>3</sup>, Gianmarco Moneta<sup>3</sup>, Barbara Siri<sup>1</sup>, Teresa Rizza<sup>2</sup>, Alessandra Torracò<sup>2</sup>, Antonella Insalaco<sup>3</sup>, Enrico Bertini<sup>4</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>1</sup>, Fabrizio De Benedetti<sup>3</sup>, Rosalba Carrozzo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UOC di Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, <sup>2</sup> UOS di BIOLOGIA CELLULARE E DIAGNOSTICA MALATTIE MITOCONDRIALI, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, <sup>3</sup> UOC di REUMATOLOGIA, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, <sup>4</sup> UdR Malattie Neuromuscolari, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma

---

### **Background**

I difetti nella replicazione del DNA mitocondriale (mtDNA) causano un sottogruppo di Malattie Mitocondriali, caratterizzato da delezioni/deplezioni del mtDNA. Le singole delezioni su larga scala del DNA mitocondriale (SLSMD) sono tra i disturbi del mtDNA più frequenti, ma la loro storia naturale rimane poco conosciuta e attualmente non sono disponibili terapie modificanti la malattia. Uno dei fenotipi clinici delle SLSMD è la sindrome di Kearns-Sayre (KSS). Partendo da somiglianze cliniche nei nostri pazienti KSS con interferonopatie di tipo I, abbiamo studiato in vivo e in vitro il loro stato infiammatorio, concentrandoci sulla risposta correlata all'interferone (IFN).

### **Pazienti e metodi**

18 KSS, età 3-24 anni sono stati sottoposti a RM cerebrale e spinale, esami neurofisiologici, scale funzionali (scale Newcastle Pediatric/Adult Mitochondrial Disease) e test di QOL, studio della firma Interferonica e quantificazione dei livelli di chemochine indotte da Interferone (IFN) tipo I nel sangue. Abbiamo inoltre studiato nei fibroblasti l'espressione dei geni stimolati dall'IFN (ISGs) e l'asse cGAS-STING.

### **Risultati**

Abbiamo evidenziato in vivo e in vitro l'attivazione di una risposta autoinfiammatoria, correlata alla espressione dei ISGs e alla deregolazione della via cGAS-STING, guidata dall'errata localizzazione citoplasmatica del mtDNA. Dopo studio nei fibroblasti dell'efficacia del micofenolato mofetile (MMF) nel ridurre l'espressione degli ISGs, abbiamo avviato un trial di 18 mesi con MMF in 7 pazienti. Il trattamento con MMF ha revertito in tutti i il decorso della malattia e ha migliorato gli endpoint rilevanti per la malattia: a) test neurofisiologici multimodali; b) scale funzionali specifiche; c) QOL. Oltre a questi parametri clinici, la RMN ha mostrato la stabilizzazione delle anomalie correlate alla malattia all'imaging convenzionale e un miglioramento significativo al DTI, una sequenza più sensibile per rilevare l'infiammazione. Il trattamento con MMF ha migliorato inoltre tutti i biomarcatori dello stato infiammatorio nel plasma e nel liquido cerebrospinale.

### **Conclusioni**

Abbiamo identificato un nuovo meccanismo patogenetico nella KSS, suscettibile di trattamento con miglioramento della risposta clinica. L'identificazione di biomarcatori correlati all'asse cGAS-STING/IFN può accelerare lo sviluppo di nuovi approcci terapeutici specifici.

---

## **ID: 106 - Efficacia della terapia con N-carbamil glutammato in un paziente portatore di una variante nel dominio allosterico della proteina**

Vincenza Gragnaniello<sup>1</sup>, Daniela Guerardi<sup>1</sup>, Andrea Puma<sup>1</sup>, Christian Loro<sup>1</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Johannes Haberle<sup>2</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Division of Inherited Metabolic Diseases, University Hospital of Padua, Italy, <sup>2</sup> Division of Metabolism and Children's Research Center, University Children's Hospital Zurich, Zurich, Switzerland

---

### **Introduzione**

Il deficit di carbamilfosfato sintetasi 1 (CPS1) è uno dei più gravi difetti del ciclo dell'urea. La terapia si basa su scavenger dell'azoto, riduzione dell'intake proteico e supplementazione con L-arginina e/o L-citrullina. È stato inoltre ipotizzato che l'N-carbamilglutammato (NCG), un analogo sintetico dell'N-acetil-L-glutammato, possa potenziare l'attività residua di CPS1 nei deficit parziali. Noi descriviamo un paziente con deficit di CPS1 ad esordio neonatale, portatore di 2 nuove varianti del gene CPS1, trattato in modo efficace con NCG.

### **Paziente**

Il paziente ha presentato in seconda giornata di vita grave iperammoniemia (664  $\mu\text{mol/L}$ ). Gli esami di laboratorio mostravano glutammina elevata (1279  $\mu\text{mol/L}$ ), bassi livelli di citrullina (3  $\mu\text{mol/L}$ ) e normale acido orotico urinario (2.3  $\mu\text{mol/mmol creatinina}$ ). Il paziente è stato trattato con emodiafiltrazione continua, sodio benzoato ev (250 mg/kg/die), L-arginina ev (250 mg/kg/die), and sodio fenilbutirrato ev (250 mg/kg/die) fino a normalizzazione dei livelli di ammonio (96  $\mu\text{mol/L}$ ). In seguito, è stata iniziata terapia orale con citrullina (200 mg/kg/die) e glicerolo fenilbutirrato (12 mg/m<sup>2</sup>/die). I livelli di ammonio sono rimasti nella norma (50-96  $\mu\text{mol/L}$ ), ma la glutammina è aumentata da 359 a 1519  $\mu\text{mol/L}$ . L'analisi genetica ha mostrato 2 nuove varianti nel gene CPS1 gene-c.2447A>G p.(Gln816Arg) e CPS1-c.4489T>C p.(Tyr1497His).

### **Risultati**

In base alle caratteristiche cliniche, biochimiche e molecolari, in 15ima giornata di vita è stata avviata terapia con NCG 100 mg/kg/die. Tale terapia ha permesso di controllare efficacemente i livelli di ammonio (22-86  $\mu\text{mol/L}$ ), riducendo il dosaggio del glicerolo fenilbutirrato (4.4 mg/m<sup>2</sup>/die) e aumentando l'intake proteico (1.75 mg/kg/die), senza ulteriori scompensi metabolici fino all'età attuale di 11 mesi (ammonio 23  $\mu\text{mol/L}$ , glutammina 662  $\mu\text{mol/L}$ ).

### **Conclusione**

La variante p.(Tyr1497His) è localizzata nel dominio allosterico C-terminale della proteina CPS1 ed è implicata nel legame all'N-acetil-L-glutammato. Questa variante potrebbe essere responsabile della risposta all'NCG. Descriviamo il terzo paziente con difetto di CPS1 ad esordio neonatale ad essere trattato con NCG con buoni risultati. I nostri dati dimostrano che la risposta all'NCG può essere predetta in base alla struttura della proteina. In particolare, ipotizziamo che varianti che coinvolgono il dominio C-terminale possano essere responsive al trattamento con NCG.

---



## **ID: 108 - Terapia infusionale con galsulfase: aderenza e sicurezza in setting domiciliare e ospedaliero**

Francesca Brambillasca<sup>1</sup>, Concetta Meli<sup>2</sup>, Serena Gasperini<sup>3</sup>, Giuseppina Lanzafame<sup>2</sup>, Annamaria Sapuppo<sup>2</sup>, Flavio Bertoglio<sup>4</sup>, Martino Ruggieri<sup>2</sup>, Letterio Dizione<sup>1</sup>, Martina Fontanelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Healthcare Network Partners Italy, Bologna, Italia, <sup>2</sup> Centro di Riferimento Regionale per le Malattie Metaboliche Ereditarie dell'Adulto e del Bambino, A.O.U. Policlinico "G.Rodolico-S.Marco", Catania, Italia, <sup>3</sup> UOS malattie metaboliche ereditarie, Dipartimento di pediatria, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, Italia, <sup>4</sup> Associazione Italiana Mucopolisaccaridosi e Malattie Affini, Senago, Italia

---

### **Introduzione**

Galsulfase è un farmaco a somministrazione endovenosa utilizzato per la terapia enzimatica sostitutiva (ERT) a lungo termine in pazienti con mucopolisaccaridosi tipo VI. L'infusione del farmaco è settimanale e da scheda tecnica deve essere effettuata in una struttura clinica; tuttavia, altre forme di mucopolisaccaridosi vengono da tempo trattate con ERT a domicilio. Il presente studio è stato condotto per valutare aderenza alla schedula terapeutica e sicurezza del trattamento con galsulfase a domicilio rispetto a quello ospedaliero.

### **Metodi**

Studio descrittivo retrospettivo. Durante l'emergenza COVID-19 in seguito alla determinazione AIFA 341/2020 del 30/03/2020 è stato avviato un Patient Support Program (PSP) per le infusioni domiciliari di galsulfase, effettuate da personale sanitario opportunamente formato. Lo scadere dello stato emergenziale ha determinato l'interruzione del programma, con conseguente ritorno alla somministrazione dell'ERT in regime ospedaliero. Sono stati raccolti dati sul numero di infusioni effettuate e numero tipologia di eventi avversi (EA) partendo dal periodo di somministrazione domiciliare e comprendendo anche il periodo di somministrazione ospedaliera successiva alla sospensione del PSP (fine raccolta dati 30/05/2023).

### **Risultati**

Il PSP è stato avviato per 5 pazienti (4 femmine, età media 18.4 anni, range 8–29) a partire dal 11/6/2020. Tutti i pazienti hanno dovuto interrompere il PSP al termine del periodo emergenziale in data 1/4/2022. Un paziente ha poi ripreso il PSP dopo 4 mesi e l'ha mantenuto fino a maggio 2023.

Nel periodo di osservazione, la durata mediana della terapia è stata di 80 (26–101) e 60 (17–61) settimane, rispettivamente in setting domiciliare e ospedaliero. In regime domiciliare, l'intervallo medio fra due infusioni è stato di 7.31 giorni; l'aderenza media alla schedula terapeutica è risultata pari al 96% (14 somministrazioni mancate), a fronte dell'86% registrato in setting ospedaliero (42 somministrazioni mancate). Il numero mediano di EA/settimana è stato di 0.03 (0.01–0.09) e 0.14 (0.00–0.31), rispettivamente per il periodo di infusione domiciliare e ospedaliera. Dei 14 EA registrati durante il PSP, nessuno è stato considerato correlato dal farmaco.

### **Conclusioni**

Nell'ambito di un PSP, l'infusione domiciliare di Galsulfase, tramite personale formato, risulta sicura in termini di safety e associata a valori di aderenza alla schedula terapeutica.

---

## **ID: 109 - Deficit di ATP sintasi mitocondriale e difetti secondari del ciclo dell'urea**

Barbara Siri<sup>1</sup>, Cristiano Rizzo<sup>1</sup>, Giorgia Olivieri<sup>1</sup>, Sara Cairolì<sup>1</sup>, Diego Martinelli<sup>1</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia

---

### **Introduzione**

Il deficit isolato di ATP sintasi è una rara patologia mitocondriale caratterizzata da una disfunzione della fosforilazione ossidativa e da un ampio spettro fenotipico con encefalopatia, acidosi lattica, cardiomiopatia ipertrofica e in certi casi 3-metilglutaconico aciduria. Tra i difetti di ATP sintasi, pazienti con encefalocardiomiopatia da TMEM70 e sindrome di Leigh da difetto di MT-ATP6 hanno presentato episodi di iperammoniemia, associati a bassi valori di citrullina nel difetto di ATPase6 ed elevati valori di glutammina in TMEM70. Il meccanismo patogenico ipotizzato sinora è un deficit di ATP, composto primario per l'attivazione dell'enzima Carbamil-Fosfato Sintetasi (CPS1) con deficit secondario di CPS1.

### **Metodi**

Nella nostra coorte, 8 pazienti con ATPase6 e 6 con TMEM70 con fenotipo caratterizzato da encefalopatia ad esordio precoce, acidosi lattica ed episodi di iperammoniemia, sono stati studiati tramite l'analisi del profilo amminoacidico e il test da carico all'allopurinolo per delineare il meccanismo patogenico alla base del difetto dell'ureagenesi.

### **Risultati**

Un paziente con ATPase6 e 2 con TMEM70 hanno presentato episodi di iperammoniemia (max 184-643  $\mu\text{mol/L}$ , n.v.  $<50$ ), con necessità di trattamento dialitico. Tra i pazienti con ATPase6, 7 hanno mostrato valori di citrullina bassi (4  $\mu\text{mol/L}$ ; n.v. 10-35), di cui 4 identificati allo screening neonatale (SNE) e 2 aciduria orotica dopo test all'allopurinolo. Nei pazienti con TMEM70, i livelli di glutammina sono risultati elevati, mentre i valori di citrullina nel range di normalità (23  $\mu\text{mol/L}$ ) e 2 pazienti hanno evidenziato aciduria orotica dopo il test da carico.

### **Conclusioni**

Lo studio conferma la presenza di alterazioni dell'ureagenesi nei difetti di ATP sintasi con aciduria orotica come da difetto secondario di OTC, seppur in presenza di profili amminoacidici diversi. Tale dato è inoltre supportato da un link diretto tra le tre proteine OTC, MT-ATP6 e TMEM70, evidenziato dall'analisi bioinformatica con STRING. Inoltre, la positività allo SNE per valori di citrullina bassi nel difetto di ATPase6, evidenzia la necessità di includere questa condizione nel pannello dello SNE.

---

## **ID: 110 - I Difetti di Aminoacyl-tRNA sintasi: una nuova causa di pseudostruzione intestinale pediatrica**

**Barbara Siri**<sup>1</sup>, Francesca De Nictolis<sup>1</sup>, Renato Tambucci<sup>2</sup>, Teresa Capriati<sup>3</sup>, Antonella Diamanti<sup>3</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>1</sup>, Diego Martinelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia, <sup>2</sup> Endoscopia e Chirurgia Digestiva, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia, <sup>3</sup> Epatologia, Gastroenterologia e Nutrizione, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia

---

### **Introduzione**

I difetti mitocondriali di amminoacil-tRNA-sintetasi rappresentano un gruppo eterogeneo di malattie con coinvolgimento neurologico ed epatico, cardiomiopatia e miopatia. Nonostante la componente gastrointestinale sia comune nelle malattie mitocondriali (MM) con forme lievi sino a forme più severe, tra cui la pseudostruzione intestinale, tale interessamento non è stato sinora riportato nei difetti di amminoacil-tRNA-sintetasi. Tra le cause di sindromi da pseudostruzione intestinale cronica pediatriche (Pediatric Intestinal Pseudo-Obstruction, PIPO), le MM sono state classificate come una delle forme primarie, in particolare la sindrome MNGIE, MELAS/MERFF e il difetto di *POLG1*.

### **Metodi**

Nella nostra coorte di 13 pazienti con difetto di amminoacil-tRNA-sintetasi 5 i (1 VARS2, 1 WARS2, 1 RARS2 and 2 NARS2) mostravano sintomi gastrointestinali ricorrenti compatibile con PIPO e ritardo di crescita. Pertanto in questo studio abbiamo caratterizzato il fenotipo clinico gastrointestinale tramite studi funzionali e risposta alla terapia farmacologica.

### **Risultati**

L'esordio dei sintomi gastrointestinali si è manifestato tra 1-5 anni di età con ritardo di crescita staturponderale, vomito biliare, reflusso gastro-esofageo (RGE), disfagia, stipsi e diarrea. L'RX addome diretto ha identificato la presenza di un'importante dilatazione dello stomaco con livelli idro-aerei. Lo studio del transito gastrointestinale ha mostrato un rallentamento gastrico con RGE da moderato a severo. Nel corso della malattia, tutti i pazienti, hanno sviluppato un'intolleranza orale completa con necessità di una gastrostomia endoscopica percutanea. In 3 pazienti per la presenza di gastroparesi è stata posizionata una digiunostomia con successiva necessità di una nutrizione parenterale totale. Dal punto di vista terapeutico tutti i pazienti hanno iniziato terapia con inibitori di pompa protonica, lassativi o clisma, mentre nei pazienti 1 e 4 è stato eseguito un trattamento farmacologico con procinetici con un effetto transitorio sulla sintomatologia clinica.

### **Discussione**

La presentazione clinica, gli esami funzionali e la risposta ai farmaci procinetici soddisfano i criteri per classificare tale sintomatologia come pseudostruzione intestinale pediatrica (ESGPHAN-2018). Pertanto questo studio espande lo spettro fenotipo nei difetti di Aminoacyl-tRNA sintasi includendoli tra le cause primarie mitocondriali di pseudostruzione intestinale pediatrica.

---

## **ID: 115 - Episodio stroke-like in un paziente affetto da deficit di PDH: un caso clinico raro**

Francesco Tagliaferri<sup>1</sup>, Francesca Furlan<sup>1</sup>, Simona Salera<sup>1</sup>, Robertino Dilena<sup>2</sup>, Ettore Pastorino<sup>3</sup>, Francesca Menni<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fondazione IRCCS Ca Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Clinica De Marchi, Centro di riferimento regionale per lo Screening neonatale esteso, Milano, Italy, <sup>2</sup> Fondazione IRCCS Ca Granda Ospedale Maggiore Policlinico, SC Neurofisiopatologia, Milano, Italy, <sup>3</sup> Università degli Studi di Milano, Milano, Italy

---

### **Introduzione/Background**

Il deficit di piruvato deidrogenasi (PDH) è una malattia metabolica mitocondriale rara, caratterizzata da disfunzione del complesso multienzimatico coinvolto nella decarbossilazione del piruvato.

### **Metodi**

Presentiamo il caso di un paziente affetto da deficit di PDH, diagnosticato tramite esoma in età neonatale per iperlatticidemia, ipostenia, ipotonia e iporeflessia. Rilevata variante patogenetica in eterozigosi del gene PDHA1. In terapia con ubidecarenone, tiamina e bicarbonati, avviata dieta chetogena dal 2° mese di vita. All'età di 14 mesi valutato in ambulatorio, quadro stabile, non sintomi clinici emergenti. Al pomeriggio al domicilio riferita ipostenia dell'arto superiore destro, per cui veniva condotto in DEA con riscontro di emiparesi destra.

### **Risultati**

Eseguite TAC e angio TAC negative. Avviata terapia con arginina nel sospetto di episodio stroke-like. Eseguita RMN cerebrale positiva per lesione stroke-like per caratteristiche in prima ipotesi di natura metabolica in sede cortico-sottocorticale insulare e striato-lenticolare sinistra, spettroscopia negativa. Comparsa di clonie all'emisoma destro in assenza di anomalie EEG, impostata terapia profilattica con levetiracetam. Agli esami ematochimici rialzo della PCR e positività all'aspirato nasofaringeo per Rhinovirus e Parainfluenzale 3. Per escludere sospetto di altre cause di ictus, eseguiti screening ematologico e cardiologico negativi. Graduale miglioramento dell'emiparesi, con recupero funzionale quasi completo dell'arto superiore, minima asimmetria all'arto inferiore. Al controllo a 10 giorni miglioramento del quadro RMN con risoluzione delle alterazioni stroke-like insulari e cortico-sottocorticali fronto-parietali a sinistra a cui si associava evoluzione in esiti della componente lesionale pallidale.

### **Discussione/Conclusioni**

Riportiamo un episodio stroke-like in un paziente con deficit di PDH. Benchè inusuale e scarsamente riportato in letteratura (3 pazienti descritti), è importante considerare la possibilità di questi eventi tipici di altre forme come la MELAS anche in pazienti con deficit PDH, per mettere in atto tempestiva terapia neuroprotettiva. Riteniamo utile raccogliere una casistica di pazienti PDH con medesima sintomatologia per valutare eventuali analogie e identificare approcci terapeutici più mirati a prevenire o mitigare tali eventi.

---

## **ID: 117 - Trapianto di fegato precoce nella Glicogenosi tipo Ia: nuove prospettive terapeutiche**

**Francesco Porta**<sup>1</sup>, Giulia Gay<sup>1</sup>, Damiano Mala<sup>1</sup>, Beatrice Bracci<sup>1</sup>, Sara Giorda<sup>1</sup>, Veronica Pagliardini<sup>1</sup>, Silvia Catalano<sup>3</sup>, Pier Luigi Calvo<sup>2</sup>, Michele Pinon<sup>2</sup>, Renato Romagnoli<sup>3</sup>, Marco Spada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SC Pediatria, Malattie metaboliche, AOU Città della Salute e della Scienza, Università di Torino, <sup>2</sup> Gastroenterologia Pediatrica, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, <sup>3</sup> Centro Trapianti di Fegato, AOU Città della Salute e della Scienza, Università di Torino

---

### **Background**

La glicogenosi tipo Ia (GSD Ia) è un difetto ereditario del metabolismo del glicogeno causato da difetto di glucosio-6-fosfatasi, enzima cardine sia della glicogenolisi che della gluconeogenesi. Le manifestazioni di malattia includono ipoglicemia, iperlattacidemia, dislipidemia, epatomegalia (con evoluzione fibro-cirrotica, adenomatosi epatica e rischio di insorgenza di epatocarcinoma) e insufficienza renale. La prevenzione dell'ipoglicemia è basata sulla terapia dietetica (pasti frazionati ogni tre ore e alimentazione enterale notturna). Tale approccio, tuttavia, 1) rimane gravato rischio di scompenso metabolico acuto e 2) non consente la prevenzione del ritardo crescita e delle complicanze epatiche e renali. Attualmente, il trapianto di fegato (OLT) nella GSD Ia è indicato come seconda linea di trattamento (i.e. in caso di complicanze, generalmente in età tardiva). Descriviamo la nostra esperienza di trapianto di fegato con indicazione standard e precoce nella GSD Ia.

### **Materiali e metodi**

Nel periodo 2004-2023, 4 pazienti con GSD Ia seguiti presso la Clinica Pediatrica e il Centro Trapianto di Fegato dell'Università di Torino sono stati sottoposti a OLT. Il follow-up post-OLT è stato di 6,7 anni (8 mesi-18 anni).

### **Risultati**

3 pazienti sono stati sottoposti a OLT in epoca precoce (22-48 mesi). Tutti presentavano epatomegalia severa, scarso accrescimento, ipoglicemie e dislipidemia. Nonostante la giovane età all'OLT, l'analisi istologica dei fegati nativi evidenziava importanti rimaneggiamenti cito-architetturali. Attualmente, i 3 pazienti presentano ottime condizioni generali, normali parametri auxologici e biochimici (con correzione della dislipidemia e dell'iperuricemia) e assenza di episodi di scompenso metabolico a dieta libera. Un quarto paziente è stato sottoposto a OLT a 22 anni per adenomatosi multipla come da indicazione standard.

### **Conclusioni**

L'OLT precoce rappresenta un approccio innovativo e efficace nella GSD Ia, consentendo la liberalizzazione della dieta, la normalizzazione dei parametri biochimici e auxologici e la prevenzione del rischio neoplastico caratterizzante la storia naturale della malattia.

---

## **ID: 120 - Whole Exome Sequencing in ambito pediatrico a alta complessità**

**Ludovica Cipolla**<sup>1</sup>, Elisa Biamino<sup>1</sup>, Veronica Pagliardini Pagliardini<sup>1</sup>, Nicoletta Chiesa<sup>1</sup>, Damiano Mala<sup>1</sup>, Beatrice Bracci<sup>1</sup>, Francesco Porta<sup>1</sup>, Marco Spada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SC Pediatria, Malattie Metaboliche, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Università di Torino

---

### **Introduzione**

Le malattie genetiche complesse rare presentano fenotipi proteiformi spesso in assenza di marker biochimici rilevabili, rappresentano una moderna sfida clinico-diagnostica in pediatria. Una diagnosi precisa, tuttavia, è fondamentale per guidare la terapia. L'introduzione del Next Generation Sequencing, come il Whole Exome Sequencing (WES), ha rivoluzionato la diagnostica delle malattie genetiche, permettendo una analisi molecolare allargata anche in assenza di un sospetto diagnostico specifico. L'obiettivo di questo lavoro risiede nell'individuazione di criteri clinici che, ottimizzando l'efficacia diagnostica del WES, ne indichino l'effettuazione precoce al fine di ottimizzare i tempi di diagnosi e cura.

### **Metodi**

In un periodo di 5 anni (2018-23), sono stati analizzati con WES 94 pazienti con fenotipo pediatrico complesso (73 a esordio nel primo anno di vita). In 10 casi veniva riferita consanguineità parentale. I fenotipi clinici includevano ritardo neuropsicomotorio (RNPM) sindromico, encefalopatia epilettogena, regressione neuromotoria, disturbi del tono muscolare e miopia. In tutti i pazienti, gli accertamenti genetici di primo livello e le indagini metaboliche erano risultate negative. In 86 casi era disponibile neuroimaging. Le varianti riscontrate al WES sono state rapportate al fenotipo e, ove possibile, è stata condotta analisi di segregazione parentale.

### **Risultati**

Il WES ha risolto l'eziologia molecolare in 58/94 pazienti (61,7%), evidenziando una anomalia "metabolica" in 19 casi. Il valore predittivo (VPP) del WES è stato 90% nel caso di consanguineità parentale, 67,1% nei pazienti con alterazione del neuroimaging, 66,6% nei pazienti con regressione neuromotoria e 65,7% nei pazienti a esordio nel primo anno di vita. Grazie alla diagnosi, 2 pazienti hanno potuto accedere ad trial clinici sperimentali.

### **Conclusioni**

Il WES si conferma essere uno strumento efficace per risolvere casi clinici complessi.

---

## **ID: 122 - Gestione del coma neonatale nei difetti ereditari del catabolismo amminoacidico: outcome clinico e biologico**

**Francesco Porta**<sup>1</sup>, Carlotta Saracco<sup>1</sup>, Damiano Mala<sup>1</sup>, Veronica Pagliardini<sup>1</sup>, Beatrice Bracci<sup>1</sup>, Licia Peruzzi<sup>2</sup>, Marco Spada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SC Pediatria, Malattie metaboliche, AOU Città della Salute e della Scienza, Università di Torino, <sup>2</sup> Nefrologia Pediatrica, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino

---

Gestione del coma neonatale nei difetti ereditari del catabolismo amminoacidico: outcome clinico e biologico.

### **Background**

I difetti del ciclo dell'urea (UCD), l'acidemia metilmalonica (MMA) e la leucinosi (MSUD) sono malattie ereditarie del metabolismo che causano severe emergenze neonatali, come conseguenza patologica del catabolismo neonatale fisiologico. Diagnosi precoce e corretta gestione terapeutica sono fondamentali per l'outcome clinico. In questo studio è stata valutata l'efficacia della dialisi (RRT) nel coma metabolico neonatale.

### **Metodi**

Sono stati analizzati retrospettivamente i dati di 18 neonati (4 OTC, 5 CPS, 1 ASL, 4 MMA, 4 MSUD) con necessità di gestione dialitico-emergenziale per coma neonatale. In particolare, sono stati considerati i tempi di diagnosi e inizio dialisi, l'outcome biochimico-metabolico (6, 8 e 12 ore di dialisi), la sopravvivenza a 28 giorni dal coma e l'outcome clinico globale.

### **Risultati**

La sopravvivenza è stata del 66.7% (100% per MMA e MSUD e 50% per UCD). I neonati con iperammonemia hanno richiesto RRT più precocemente rispetto ai pazienti con MSUD (UCD: 8123 h e MMA: 8710 h vs MSUD: 267123 h). Dopo 12 ore di RRT, la riduzione dei metaboliti specifici in UCD, MMA, MSUD è stata rispettivamente del 6353%, 5327% e 916%. I pazienti con UCD sopravvissuti e deceduti non presentavano differenze significative di peso, età e ammonio all'esordio e a inizio dialisi. L'unica variabile correlata alla sopravvivenza era la clearance dell'ammonio a 8 h di dialisi (>90% in tutti i sopravvissuti; p=0.035). Tutti i pazienti sopravvissuti sono stati sottoposti a trapianto di fegato precoce con buon outcome clinico globale.

### **Discussione**

La RRT è molto efficace nella gestione del coma metabolico neonatale UCD, MMA e MSUD. La clearance dell'ammonio a 8 h di dialisi rappresenta un parametro predittivo affidabile sulla mortalità nei difetti di UCD.

---

## **ID: 125 - Uno studio di lipidomica e metabolomica sierica in pazienti con Glicogenosi Ib**

**Francesca Pirozzi**<sup>1</sup>, Marianna Caterino<sup>1</sup>, Pietro Strisciuglio<sup>2</sup>, Carmen Rosano<sup>2</sup>, Daniela Melis<sup>3</sup>, Terry G J Derks<sup>4</sup>, Maaïke H Oosterveer<sup>5</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>1</sup>, Giancarlo Parenti<sup>2</sup>, Alessandro Rossi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli studi di Napoli Federico II, Napoli, Italy, <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Sezione di Pediatria, Università degli studi di Napoli Federico II, Napoli, Italy, <sup>3</sup> Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria "Scuola Medica Salernitana", Sezione di Pediatria, Università di Salerno, Baronissi, Italy, <sup>4</sup> Department of Metabolic Diseases, Beatrix Childrens Hospital, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands, <sup>5</sup> Department of Pediatrics, Center for Liver Digestive and Metabolic Diseases, University of Groningen, University Medical Center Groningen, Groningen, the Netherlands

---

### **INTRODUZIONE/BACKGROUND**

La Glicogenosi Ib (GSDIb) è un disordine raro ed ereditario del metabolismo dei carboidrati caratterizzato da accumulo di glicogeno e grassi a livello del fegato e dei reni. Rappresenta circa il 20% di tutti i casi di Glicogenosi I con cui, in parte, condivide il fenotipo clinico. La neutropenia e le ricorrenti infezioni, associate ad aumentata apoptosi da accumulo della molecola di più recente identificazione 1,5-anidroglicitolo (1,5-AG), insieme alla malattia infiammatoria cronica intestinale costituiscono tra i principali segni clinici di carattere discriminante i pazienti GSDIb dai pazienti con Glicogenosi Ia (GSDIa). Obiettivo del seguente studio è stato caratterizzare il profilo lipidomico e metabolomico sierico di pazienti GSDIb.

### **METODI**

Analisi di lipidomica e metabolomica targeted sono state condotte mediante LC-MS/MS su campioni di siero di 5 pazienti GSDIb (2 M, 3 F, età media 21 anni, range 12-28 anni) e 6 controlli sani (2 M, 4 F, età media 24,3 anni, range 10-46 anni). 550 lipidi, di cui acilcarnitine (AC, n=40), acidi grassi (FA, n=12), esteri del colesterolo (CE, n=22), acidi biliari (BA, n=14), diacilgliceroli (DAG, n=44), trigliceridi (TG, n=242), lisofosfatidilcoline (LPC, n=14), fosfatidilcoline (PCaa, PCae, n=76), sfingomieline (SM, n=15), ceramidi (Cer, HexCer, dihydroCer, n=70) e 80 metaboliti sono stati identificati e quantizzati. Analisi di correlazione con parametri biochimici e indicatori del regime dietetico personalizzato adottato sono state eseguite.

### **RISULTATI**

Le analisi di lipidomica sierica rivelano nei pazienti GSDIb concentrazioni elevate di TG ( $p<0,01$ ) e Cer ( $p<0,05$ ) e ridotte concentrazioni di FA ( $p<0,05$ ) rispetto ai controlli sani. Le analisi di metabolomica sierica dimostrano nei pazienti GSDIb un aumento di importanti metaboliti quali glutammato ( $p<0,01$ ) e OH-GlutAcid ( $p<0,05$ ), lattato ( $p<0,01$ ), succinato, alanina, leucina, isoleucina ( $p<0,05$ ) e ridotte concentrazioni di metionina e anserina ( $p<0,01$ ).

### **DISCUSSIONE/CONCLUSIONI**

I dati ottenuti costituiscono un utile strumento per la caratterizzazione del profilo lipidico e metabolico sierico GSDIb specifici. I nostri risultati possono aiutare a meglio definire e monitorare i possibili effetti a lungo termine di agenti terapeutici oggi disponibili nel trattamento della GSDIb.

---



## **ID: 135 - LA DISFUNZIONE GONADICA COME SPETTRO FENOTIPICO DELLA GALATTOSEMIA: ESPERIENZA DI UN CENTRO REGIONALE DI SCREENING NEONATALE**

(L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Elisabetta Di Blasi**<sup>1</sup>, Valentina Assirelli<sup>2</sup>, Giulia Montanari<sup>1</sup>, Valeria Di Natale<sup>2</sup>, Rita Ortolano<sup>2</sup>, Egidio Candela<sup>2</sup>, Andrea Pession<sup>2</sup>, Alessandra Cassio<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università di Bologna, Bologna, <sup>2</sup> Centro di riferimento regionale per lo Screening Neonatale, IRCCS-Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, UO Pediatria Pession

---

### **INTRODUZIONE**

La galattosemia è una malattia metabolica ereditaria da difettosa conversione del galattosio (Gal) in glucosio, identificata da screening neonatale esteso (SNE). Nelle femmine con forma classica (GC) da mutazione *GALT*, ai sintomi tipici di patologia può associarsi insufficienza ovarica primitiva (POI), indipendente dal controllo metabolico; nei maschi aumentato rischio di ritardo puberale. Riportiamo i dati relativi allo sviluppo puberale nei pazienti (pz) con galattosemia identificati da SNE nella Regione Emilia-Romagna dal 1992 al 2022.

### **METODI**

I pz sono stati identificati per Gal su spot > 10 ng/dl con valutazione di attività enzimatica e conferma genetica. La POI è stata definita per ipergonadotropinemia (FSH >25 mUI/ml) con estradiolo e ormone antimulleriano indosabili. Nei maschi il ritardo puberale è stato definito dal mancato incremento del volume testicolare >4 ml oltre i 14 anni.

### **RISULTATI**

Abbiamo valutato 31 pz, di cui 21 affetti da GC: 12 M e 9 F. Tra le femmine, con età media 12.6±10 aa, 3/9 (33%) hanno sviluppato POI: 1 con menarca a 13 aa e amenorrea secondaria a 15 aa, sottoposta a criopreservazione ovarica a 22 aa; 2 pz con amenorrea primaria. 1/9 ha presentato pubertà precoce centrale (PPC) con menarca dopo circa 1 aa dalla sospensione del GnRH-analogo e successivi cicli regolari. Le rimanenti 4 pz (età media 5.28±1.6 aa) mostrano sviluppo e livelli ormonali prepuberi. Comparando i livelli di gonadotropine, abbiamo riscontrato alletà di 2.25±0.5 aa, livelli di FSH >10 mUI/L in 2 pz (media 16.35±3.46 mUI/ml); di queste, 1 ha sviluppato POI con amenorrea primaria, l'altra è ancora prepubere. Tutte le pz presentavano ottimo controllo metabolico (valori medi Gal 2.75±1.19 mg/dl). In tutti i pz maschi, con età media 8.76±5.1 aa, abbiamo riscontrato un quadro clinico e ormonale fisiologicamente prepubere. Tra le altre forme di galattosemia, abbiamo identificato 4 *GALE*, 2 *GALK* e 2 *GALM*. Nessuna ha presentato POI, 1 maschio *GALK* ha presentato PPC.

### **CONCLUSIONI**

La disfunzione ovarica è caratteristica esclusiva delle GC con spettro variabile da isolata ipergonadotropinemia prepuberale fino a quadri conclamati di POI. I livelli di FSH prepuberali potrebbero costituire un marker predittivo, mentre si conferma non esservi correlazione con un peggior controllo metabolico.

---

## **ID: 139 - Perdita transitoria bilaterale della vista in corso di scompenso metabolico acuto in un paziente con Metilmalonico Aciduria.**

Federico Baronio<sup>1</sup>, Egidio Candela<sup>1</sup>, Giulia Montanari<sup>2</sup>, Rita Ortolano<sup>1</sup>, Valeria Di Natale<sup>1</sup>, Valentina Assirelli<sup>1</sup>, Michele Zagariello<sup>2</sup>, Francesca Righetti<sup>1</sup>, Giacomo Biasucci<sup>3</sup>, Alessandra Cassio<sup>1</sup>, Andrea Pession<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di riferimento regionale per lo screening neonatale, IRCCS AOU di Bologna, UO Pediatria Pession, <sup>2</sup> Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università di Bologna, <sup>3</sup> UO Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Parma

---

### **Background**

La Metilmalonico Aciduria (MMA) è una patologia rara caratterizzata da un'alterazione congenita del metabolismo intermedio che solitamente si manifesta precocemente nella vita con uno scompenso metabolico acuto (AMD). La patologia è spesso associata a complicanze multi-sistemiche ad esordio tardivo, tra cui neuropatie ed atrofie ottiche.

### **Metodi**

Descrizione del caso clinico di un paziente affetto da MMA\_Mut0.

### **Risultati**

Un maschio di 9 anni (con MMA\_Mut0) è stato ricoverato in ospedale per vomito e contestuale disidratazione. Agli esami ematici si evidenziava una grave acidosi lattica con elevata escrezione urinaria di acido metilmalonico (MMA 1251 mM/mcU) in assenza di iperammoniemia. Nel paziente è stato sospeso l'apporto proteico e aumentato il supporto glucidico associato alla somministrazione di boli di bicarbonato. Nonostante, a causa dell'aggravarsi dell'acidosi metabolica, il bambino è stato ricoverato in terapia intensiva pediatrica e ha necessitato di emofiltrazione veno-venosa continua (CVVH). L'acidosi lattica è gradualmente migliorata fino a risolversi nell'arco di 24 ore. In corso di AMD, il paziente ha sviluppato rapidamente una perdita di vista bilaterale, associata a fotofobia e ad una midriasi fissa non responsiva allo stimolo luminoso e che persisteva nonostante la normalizzazione dell'emogas analisi. All'esame clinico oftalmologico i potenziali evocati visivi sono risultati negativi. La risonanza magnetica ha confermato un assottigliamento dei tratti posteriori dei nervi ottici già rilevato in precedenza nel paziente. A causa della persistenza della perdita della vista, il paziente ha iniziato il trattamento con coenzima Q10 (10 mg/kg/die) combinato con vitamina E (10 mg/kg/die). Il paziente ha riacquisito gradualmente la sua acuità visiva entro 4 settimane.

### **Discussione/Conclusioni**

La improvvisa perdita di vista nel nostro paziente è stata probabilmente indotta da un effetto combinato di neurotossicità e stress ossidativo. Dal nostro punto di vista nel nostro paziente un'eccessiva somministrazione di glucosio per via endovenosa ha comportato un aggravamento dell'acidosi lattica. Di conseguenza la risoluzione dell'acidemia lattica mediante CVVH è stato il fattore chiave per salvare i pazienti, sebbene la compromissione della vista abbia necessitato un periodo più lungo per risolversi.

---

## **ID: 142 - IMPIEGO DEL LYSO-GB1 PER IL MONITORAGGIO TERAPEUTICO E CLINICO DI UNA ETEROGENEA POPOLAZIONE DI PAZIENTI CON MALATTIA DI GAUCHER TIPO I**

Veronica Pagliardini<sup>1</sup>, Francesco Porta<sup>1</sup>, Marco Spada<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SC Pediatria Città della Salute e della Scienza di Torino, presidio ospedaliero Regina Margherita

---

### **INTRODUZIONE**

La malattia di Gaucher (GD) è una patologia da accumulo lisosomiale determinata dal deficit dell'enzima  $\beta$ -glucocerebrosidasi con conseguente accumulo di sfingolipidi non metabolizzati (glucosilceramide), soprattutto a livello di fegato, milza e midollo osseo. L'accumulo degli sfingolipidi determina una serie pleiotropica di sintomi, tra cui epatosplenomegalia, pancitopenia, complicanze ossee quali dolore e crisi, necrosi avascolari e fratture patologiche. Vengono identificate tre varianti di GD, distinte in base all'assenza (GD 1) o alla presenza del coinvolgimento del sistema nervoso centrale (GD 2 e GD 3). L'intervento precoce con terapia enzimatica sostitutiva (ERT) o terapia di riduzione del substrato (SRT), hanno radicalmente modificato la storia naturale, la qualità e l'aspettativa di vita dei pazienti. La glucosilsfingosina (liso-Gb1), una forma deacilata della glucosilceramide, si è dimostrata essere un biomarcatore altamente sensibile e specifico per la diagnosi e il monitoraggio di pazienti con GD, tuttavia sono limitati in letteratura i dati sulle variazioni temporali di tale marcatore nei pazienti con scarsa compliance terapeutica e la correlazione con le variazioni cliniche.

### **METODI**

È stato valutato l'andamento temporale dei livelli plasmatici di lyso-Gb1, misurato mediante MS-MS, in una coorte di pazienti GD 1 composta da 7 adulti e 2 pediatriche, di cui 5 pazienti in ERT e 4 in SRT.

### **RISULTATI**

Il lyso-Gb1 si è dimostrato un buon marcatore per valutare la compliance e la risposta alla terapia in tutte le popolazioni studiate. Le variazioni delle concentrazioni plasmatiche nei pazienti che non hanno una buona compliance alla terapia, qualunque essa sia, avvengono rapidamente nel tempo (dell'ordine di settimane), permettendo quindi di effettuare modifiche terapeutiche e intervenire tempestivamente sulle eventuali complicanze, prima che queste possano determinare variazioni oggettivamente misurabili mediante esami ematochimici o strumentali. Nei pazienti che assumono regolarmente la terapia i valori rimangono stabili nel tempo, con l'impressione di una tendenza a una ulteriore riduzione nei pazienti trattati con SRT e con valori inferiori misurati rispetto a quelli trattati con ERT.

### **CONCLUSIONE**

L'impiego del Lyso-Gb1 per il monitoraggio periodico dei pazienti GD è fondamentale per una corretta e completa valutazione clinica oggettiva, pertanto raccomandiamo vivamente di includerlo nel follow-up di routine di tutti i pazienti.

---

## **ID: 150 - Cambiamenti nell'assistenza al paziente affetto da malattia lisosomiale in era COVID-19 e post COVID-19.**

Paola Piovani<sup>1</sup>, Annalisa Sechi<sup>1</sup>, Martina Bon<sup>1</sup>, Maurizio Scarpa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di Coordinamento Regionale Malattie Rare Friuli Venezia Giulia - Udine - Azienda Sanitaria Universitaria Friuli Centrale

---

### **Background**

La pandemia da Covid 19 ha avuto conseguenze sull'assistenza sanitaria a livello mondiale. I pazienti affetti da malattia da accumulo lisosomiale sono considerati fragili perché hanno un coinvolgimento multiorgano e necessitano di numerosi accessi ospedalieri sia per visite che per terapie. La pandemia da Covid-19 ha portato a modifiche all'assistenza di questi pazienti, in termini di possibile passaggio a terapia enzimatica sostitutiva (TES) domiciliare ed utilizzo della telemedicina. Scopo di questo lavoro è stato valutare l'entità di questi cambiamenti nel Centro di Coordinamento Regionale Malattie Rare (CRMR) di Udine e l'impatto sul paziente.

### **Materiali e metodi**

È stato somministrato un questionario per valutare quanti pazienti hanno usufruito e stanno tuttora usufruendo della TES domiciliare, delle televisite mediche e psicologiche ed il loro gradimento.

### **Risultati**

102 pazienti affetti da malattie lisosomiali seguiti presso il CRMR sono stati inclusi. 71 pazienti erano in ERT pre-COVID, di cui 55 in ospedale, 16 a domicilio. Ulteriori 15 pazienti sono passati da TES ospedaliera a terapia domiciliare durante gli anni di pandemia (2020-2021-2022). 2 pazienti hanno ripreso successivamente a fare le infusioni in ospedale. Nessun evento avverso segnalato a domicilio. 53 pazienti hanno usufruito del servizio di televisita medica o psicologica. I pazienti hanno mostrato gradimento nei confronti di queste nuove modalità di assistenza.

### **Conclusioni**

La pandemia da COVID-19 ha portato ad una modifica della gestione del paziente affetto da malattia lisosomiale con aumento del numero di pazienti infusi a domicilio e l'implementazione della telemedicina. Questi cambiamenti hanno portato una migliore qualità di vita per il paziente e verranno pertanto mantenuti in post-pandemia.

---

## **ID: 153 - UN RARO CASO DI RITARDO DEL NEUROSVILUPPO E RABDOMIOLISI RICORRENTI DA MUTAZIONI DEL GENE TRAPPC2L**

Niccolò Campagna<sup>1</sup>, Michele Sacchini<sup>2</sup>, Annalisa Vetro<sup>3</sup>, Francesca Pochiero<sup>2</sup>, Elena Procopio<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Università degli Studi di Firenze, Dipartimento di Scienze della Salute, <sup>2</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>3</sup> Laboratorio di Neurogenetica, Dipartimento di Neuroscienze, AOU Meyer IRCCS, Firenze

---

### **INTRODUZIONE**

Varianti patogenetiche del gene *TRAPPC2L*, che codifica per una proteina coinvolta nel traffico cellulare, sono responsabili di encefalopatia progressiva precoce con rabdomiolisi ricorrente. Descriviamo il caso di un paziente con encefalopatia epilettica, microcefalia, ritardo del neurosviluppo e rabdomiolisi in corso di episodi febbrili, eterozigote composto per varianti del gene *TRAPPC2L*.

### **PRESENTAZIONE DEL CASO**

Il paziente si è presentato nei primi mesi di vita con microcefalia e ritardo nel neurosviluppo. La risonanza magnetica (RM) encefalo ha mostrato ritardata mielinizzazione e assottigliamento del corpo calloso. A 10 mesi, ha avuto un primo episodio convulsivo alcuni giorni dopo un evento febbrile. A 18 mesi, sempre in corso di infezione, ha sviluppato encefalopatia acuta e rabdomiolisi, con successivo deterioramento clinico. Dalla RM di controllo è emersa atrofia cerebrale. Le indagini metaboliche, comprensive di acilcarnitine plasmatiche, aminoacidogramma plasmatico e liquorale, acidi grassi a catena molto lunga (VLCFA), lattato liquorale, ed acidi organici urinari, sono risultate prive di alterazioni significative.

Il sequenziamento esomico ha mostrato eterozigosi composta per due varianti del gene *TRAPPC2L*: la variante patogenetica nota c.109G>T p.(Asp37Tyr) e la nuova variante, troncante, c.274C>T p.(Arg92\*). Nel corso del follow-up, il grave ritardo del neurosviluppo ha mostrato modesti miglioramenti. In occasione di un ulteriore episodio febbrile, il paziente ha sviluppato una rabdomiolisi massiva con aumento di creatinfosfochinasi fino a 57700 U/L, con successivo ritorno ai valori basali (circa 10 volte superiori alla norma) dopo infusione endovenosa di soluzione glucosata.

### **DISCUSSIONE**

I nostri dati confermano le caratteristiche genetiche e fenotipiche della malattia correlato a mutazioni di *TRAPPC2L*. L'associazione di encefalopatia e rabdomiolisi in corso di episodi febbrili è descritta in poche situazioni, tra cui alcuni difetti del metabolismo energetico: in questo peculiare scenario, la presenza di varianti del gene *TRAPPC2L* dovrebbe essere tenuta in considerazione.

---

## **ID: 154 - Ipofosfatasia: un caso pediatrico trattato con asfotase alfa**

Eleonora Orlandini<sup>1</sup>, Federica Tamburrino<sup>2</sup>, Concetta Schiavariello<sup>2</sup>, Annamaria Perri<sup>2</sup>, Emanuela Scarano<sup>2</sup>, Andrea Pession<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Scuola di Specializzazione in Pediatria, Alma Mater Università di Bologna, <sup>2</sup> SS-UO Malattie Rare Congenito-Malformative Pediatriche, UO Pediatria, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, <sup>3</sup> UO Pediatria, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna

---

### **Introduzione**

L'ipofosfatasia (HPP) è una patologia metabolica caratterizzata da ipomineralizzazione di ossa e denti; essa è causata da mutazioni nel gene ALPL, che codifica per la fosfatasi alcalina (ALP) non tessuto-specifica. Vi è un ampio spettro di gravità clinica, da forme letali ad esordio perinatale a fenotipi ad esordio in età adulta con solo coinvolgimento dentario. Marker biochimico è una bassa attività della ALP sierica, i cui range di riferimento variano per età.

### **Metodi**

Descriviamo un caso pediatrico di HPP trattato con terapia enzimatica sostitutiva.

### **Risultati**

Il paziente è giunto al nostro Centro all'età di 5 anni per dismorfismi e ritardo dello sviluppo psicomotorio. Anamnesi familiare negativa; secondogenito, nato a termine da parto eutocico, con parametri accrescitivi e adattamento neonatale regolari. Deambulazione autonoma a 20 mesi con impaccio motorio; prime parole a 2 anni con ipotonia periorale, disartria, disfagia e scialorrea. Eseguiti RM encefalo e array-CGH, nella norma. All'età di 4 anni comparsa di episodi critici focali per cui è stata posta diagnosi di epilessia focale idiopatica ed è stata intrapresa terapia con levetiracetam, con scarso beneficio. Alla valutazione dismorfologica riscontro di facies amimica, ipotonia periorale e assenza di 4 denti decidui caduti prematuramente; displasia dello smalto, iperlassità legamentosa, ginocchia valghe, piedi piatti pronati. Effettuato prelievo con fosfatasi alcalina (ALP): 81 U/L (v.n.150-315), PEA: 58 mmol/m. (v.n.4-10), Vitamina B6: 580 nmol/L (v.n.29.5-99). Nel sospetto di HPP è stato avviato sequenziamento del gene ALPL, che ha evidenziato la presenza di variante missenso in eterozigosi c.1172G>A, patogenetica. Ecografia renale, fundus oculi, Rx scheletro sono risultati normali. All'età di 6 anni, in considerazione della sintomatologia, seppur in assenza di coinvolgimento scheletrico, è stata avviata terapia con asfotase alfa, proseguita per 3 anni. Dall'inizio della terapia si sono ridotti gli episodi critici (scomparsi a 7 anni), con miglioramento dell'ipotonia e dell'ipostenia muscolare, dell'impaccio motorio, del linguaggio e della disfagia. Come effetto collaterale alla terapia segnalate lesioni eritematose nelle sedi di iniezione ad evoluzione lipodistrofica.

### **Conclusioni**

Una diagnosi precoce di HPP è importante, poiché la terapia con asfotase alfa può essere efficace anche su sintomi extrascheletrici ed evitare limitazioni funzionali in età adulta.

---

## **ID: 157 - CASO CLINICO: AUMENTO DI ACIDO 3-METILGLUTACONICO NELLE URINE IN UNA PAZIENTE CON DIAGNOSI DI PFIC5**

**Maria Chiara Fioroni**<sup>1</sup>, Lucia Santoro<sup>1</sup>, Rosanna Cordiali<sup>1</sup>, Simona Gatti<sup>1</sup>, Tiziana Galeazzi<sup>2</sup>, Salima Ricci<sup>1</sup>, Emanuele Nicastro<sup>3</sup>, Angelo Di Giorgio<sup>3</sup>

<sup>1</sup> SOD Clinica Pediatrica Presidio Salesi - Az.Ospedaliero Universitaria delle Marche, <sup>2</sup> Laboratorio Malattie Metaboliche - Laboratorio Malattie Metaboliche - SOD Clinica Pediatrica Presidio Salesi - Az.Ospedaliero Universitaria delle Marche, <sup>3</sup> USSD Epatologia, Gastroenterologia e Trapianti Pediatrici. Ospedale Papa Giovanni XXIII Bergamo

---

### **INTRODUZIONE**

L'aumento dell'acido 3-metilglutaconico urinario tipico delle metilglutaconiche acidurie puo' riscontrarsi anche in altre patologie (glicogenosi 1b e IX, deficit di carbamil fosfato sintetasi 1, Iperplasia surrenalica congenita). Descriviamo un caso clinico di aumento di acido 3-metilglutaconico in una paziente con PFIC5, una rara forma di colestasi intraepatica familiare autosomica recessiva legata a mutazione del gene NR1H4.

### **MATERIALI E METODI**

Una bambina di origini albanesi di 10 mesi con sviluppo psicomotorio adeguato, è stata ricoverata c/o il nostro Centro per cellulite soprafasciale parasternale sinistra successiva a trauma. Agli accertamenti laboratoristici emergeva ipertransaminasemia (AST 108 U/l, ALT 160 U/l), lieve iperbilirubinemia indiretta (1,5 mg/dl), GGT e ALP nei limiti. All'esame obiettivo e all'ecografia addome riscontro di epatomegalia (eco-struttura diffusamente disomogenea e splenomegalia (13 cm). Dopo esclusione di cause infettive ed immunologiche, sono stati effettuati accertamenti metabolici tutti nella norma eccetto aumentata escrezione di acido 3-metilglutarico e 3-metilglutaconico agli organici urinari. Tutte le forme primarie di 3-metilglutaconico aciduria sono state escluse clinicamente e, dove possibile, con indagini genetiche (analisi del gene TMEM70 negativa per mutazioni). Vista la persistenza del quadro venivano eseguiti approfondimenti diagnostici c/o centro di riferimento e alla luce del quadro (citolisi con aumento degli acidi biliari e normalità delle GGT) esecuzione di indagine WES per epatopatie con riscontro di mutazione in omozigosi del gene NR1H4. La biopsia epatica mostrava quadro di cirrosi focale incompleta di tipo biliare.

### **RISULTATI**

Alla luce del referto genetico veniva posta diagnosi di PFIC5. avviata terapia con UDCA, vitamine liposolubili e successivamente con Odevixibat. Attualmente la paziente (6 anni) ha un buon compenso della patologia epatica, non prurito, non segni di ipertensione portale.

### **CONCLUSIONI/DISCUSSIONE**

Il caso è certamente peculiare per l'occasionalità dei riscontri iniziali di epatosplenomegalia, per l'età di esordio al di fuori dell'epoca neonatale, per l'aspetto biochimico di colestasi mostrata solo con l'aumento degli acidi biliari e per il decorso (attualmente buono). L'aumento dell'acido metil-glutaconico che inizialmente ha orientato verso una forma di organico aciduria, non è stato descritto in letteratura in altri casi di PFIC.

---

**ID: 77 - Comportamento alimentare e neofobia in pazienti con Fenilchetonuria (PKU)** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Stefania Ferraro<sup>1</sup>, Simona Sestito<sup>1</sup>, Maria Teresa Moricca<sup>1</sup>, Valeria Porciatti<sup>1</sup>, Daniela Concolino<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Pediatria Specialistica e Malattie Rare, Università degli Studi "Magna Graecia" di Catanzaro

---

## Introduzione

La dieta a contenuto controllato di Fenilalanina (Phe) con assunzione di alimenti speciali privi di Phe e un limitato numero di alimenti naturali a basso contenuto di Phe, rappresenta la principale strategia terapeutica nei pazienti (pz) affetti da PKU. Riportiamo i dati relativi al comportamento alimentare nei pz con PKU in terapia dietetica e la loro propensione ad assumere cibi nuovi rispetto ad individui sani.

## Metodi

Pz con PKU di età compresa tra 5 e 64 anni sono stati reclutati ed appaiati ad un gruppo controllo per sesso ed età. Per tutti sono stati valutati i parametri auxologici, e nei pz PKU il valore medio di Phe plasmatica e l'apporto dietetico di Phe/die al momento dell'arruolamento. Ad entrambi i gruppi è stato somministrato il questionario The Italian Child Food Neophobia Scale (ICFNS) con risultati suddivisi in valori alti (>25), medi (>18<24) o bassi (<17) di neofobia. I pz PKU sono stati suddivisi in 4 classi di età (5-12 aa, 13-25, 26-40 e > 40) ed i valori di neofobia correlati al BMI.

## Risultati

Sono stati arruolati 19 pz con PKU (età media  $34,5 \pm 29,5$ ) e 19 pz controllo (età media  $32 \pm 27$ ). Il valore medio di Phe plasmatico nei pz era di  $759 \pm 429$   $\mu\text{mol/L}$ , mentre il livello medio di Phe assunto con la dieta era di  $490,61 \pm 248,57$  mg/die. 11/19 pz PKU (57,8 %) presentavano un ICFNC alto contro 4/19 (21%) del gruppo controllo. In particolare nei pz PKU, 3/3 pz della fascia 5-12 aa e 4/8 pz della fascia 13-25 aa, presentavano alti valori di neofobia con BMI normale, mentre 4/5 pz della fascia 26-40 aa erano neofobici con BMI nella norma; infine 1/3 pz di età >40 aa presentava ICFNC alto, e 3/3pz erano in sovrappeso. I risultati ottenuti mostrano un punteggio ICFNS globalmente più alto (57,89%) nei pz PKU, rispetto ai controlli (21,05%). Nel campione PKU 1 su 19 presentava bassi livelli di neofobia, nel campione controllo 7 su 19 presentano bassi livelli di neofobia. Nessuna correlazione è stata riscontrata tra punteggio ICFNS, valori plasmatici di Phe e quantità di Phe/die dietetica.

## Conclusioni

La neofobia alimentare è frequente nei pazienti con PKU e la più alta incidenza si riscontra nelle fasce di età più giovani, probabilmente dovuta ad una maggior attenzione della famiglia alla dieta. Questo spiega anche i valori più bassi di BMI nei pazienti più giovani rispetto ai pazienti più grandi che presentano medi livelli di neofobia e valori di BMI indicativi di sovrappeso.

---



## **ID: 91 - Deficit di DNAJC12. Un nuovo disturbo metabolico del neurosviluppo: caratterizzazione clinica ed outcome**

**Filippo Manti**<sup>1</sup>, Giacomina Ricciardi<sup>1</sup>, Cristiana Artiola<sup>2</sup>, Manuela Tolve<sup>2</sup>, Claudia Carducci<sup>2</sup>, Maria Teresa Carbone<sup>3</sup>, Davide Mei<sup>4</sup>, Francesco Porta<sup>5</sup>, Alberto Burlina<sup>6</sup>, Renzo Guerrini<sup>4</sup>, Francesco Pisani<sup>1</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Neuroscienze Umane, Università di Roma "La Sapienza", Roma, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Roma "La Sapienza", Roma, <sup>3</sup> Unità di Malattie rare metaboliche, AORN Santobono-Pausilipon, Napoli, <sup>4</sup> Unità di Neurologia Pediatrica, Neurogenetica, Neurobiologia, Ospedale Pediatrico Meyer, Università di Firenze, Firenze, <sup>5</sup> Dipartimento di Pediatria, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Università di Torino, Torino, <sup>6</sup> Dipartimento di Malattie metaboliche ereditarie, Direttore del programma regionale screening neonatale allargato per malattie metaboliche ereditarie, Azienda Ospedaliera di Padova, Università di Padova, Padova

---

### **Introduzione/Background**

DNAJC12 codifica per una proteina della famiglia delle DNAJ/HSP40s (heat shock proteins 40), co-chaperone delle HSP70s e regola folding, degradazione e traslocazione di diverse idrossilasi. Il deficit di DNAJC12 è una malattia ultrarara caratterizzata dal difetto delle 3 idrossilasi degli aminoacidi aromatici (PAH, TH, TRH). Obiettivi dello studio: riportiamo la caratterizzazione clinica e metabolica di 8 pazienti con deficit di DNAJC12 (da 5 famiglie) che contribuiscono all'ampliamento dello spettro fenotipico della malattia.

### **Metodi**

E' stato condotto uno studio collaborativo longitudinale e prospettico (che ha coinvolto 5 centri italiani) focalizzato sulla caratterizzazione del quadro neurologico, del profilo neuroevolutivo, psichiatrico e neuropsicologico (mediante test standardizzati) di 8 pazienti (2M/6F, range di età: 5.8-61 anni) con deficit di DNAJC12. Sono stati ottenuti i seguenti biomarkers: acido omovanillico (HVA) e 5-idrossiindolacetico (5-HIAA) liquorali; Phe e prolattina ematica.

### **Risultati**

Esordio: 5 pazienti hanno presentato un disturbo del neurosviluppo [ritardo globale di sviluppo/DI moderata/severa (n=3), disturbo dello spettro dell'autismo (n=1), ritardo motorio (n=1)], 2 pazienti parkinsonismo giovanile non degenerativo L-dopa responsivo. Un paziente è stato diagnosticato in fase pre-sintomatica tramite screening neonatale. Outcome: distonia appendicolare (n=1); atassia (n=1), parkinsonismo-distonia (n=3). Il paziente diagnosticato tramite screening presenta all'età di 5.8 anni un disturbo del linguaggio. Disturbi psichiatrici severi sono presenti in 5 soggetti [disturbi d'ansia e psicosi in (n=2)]. I livelli di Phe alla diagnosi erano  $348 \pm 127 \mu\text{mol/L}$  (range 204-529; v.r. 60-120  $\mu\text{mol/L}$ ), associati a ridotti livelli liquorali di HVA e 5-HIAA, e ad un rapporto HVA/5-HIAA aumentato (n=4); i livelli di prolattina erano lievemente aumentati in 5 su 7 pazienti. Il DATscan indicava una ridotta captazione del marcatore in 2/2 pazienti esaminati.

### **Discussione/conclusioni**

il deficit di DNAJC12 si presenta precocemente con un disturbo del neurosviluppo su base metabolica che tende a progredire in età adulta verso un quadro neurologico deficitario di diversa gravità in funzione del ritardo del trattamento e della marcata variabilità fenotipica, anche intrafamiliarmente. In attesa di ulteriori marcatori di outcome, i livelli liquorali di HVA e 5-HIAA possono avere un ruolo predittivo e di indirizzo sulla terapia.

---

## **ID: 100 - IL TRAPIANTO EPATICO IN UNA COORTE DI PAZIENTI CON ACIDEMIA PROPIONICA: OUTCOME NEUROPSICOLOGICO**

**Benedetta Greco**<sup>1</sup>, Stefania Caviglia<sup>2</sup>, Diego Martinelli<sup>1</sup>, Daniela Liccardo<sup>3</sup>, Francesca De Nictolis<sup>1</sup>, Andrea Pietrobattista<sup>3</sup>, Roberta Taurisano<sup>1</sup>, Gionata Spagnoletti<sup>4</sup>, Marco Spada<sup>4</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche, OPBG IRCCS, Roma, Italy, <sup>2</sup> U.O.S. Psicologia Clinica, OPBG IRCCS, Roma, Italy, <sup>3</sup> U.O.C. Epatogastroenterologia e Nutrizione, OPBG IRCCS, Roma, Italy, <sup>4</sup> U.O.C. Chirurgia Epato-bilio-pancreatica e dei trapianti di fegato e rene, OPBG IRCCS, Roma, Italy

---

### **Background**

Il trapianto epatico (TE) è un'opzione terapeutica sempre più utilizzata nell'acidemia propionica (PA). Tuttavia, i dati relativi all'outcome neuropsicologico di questi pazienti sono limitati. Scopo della ricerca è approfondire tale aspetto in uno studio monocentrico di pz PA sottoposti a TE nella prima infanzia.

### **Metodi**

Sono stati arruolati 5/11 pazienti PA sottoposti a TE, con età al TE <4 anni e funzione uditiva normale. L'assessment neuropsicologico, pre e post-TE, ha previsto una valutazione strutturata del profilo di sviluppo (scala Griffiths), adattivo (Vineland II), emotivo-comportamentale (CBCL) e della qualità di vita [MetabQoL (malattia-specifico); PedsQL (tool generico)].

### **Risultati**

4/5 pz (età mdn al TE: 2.6 aa) che al pre-TE presentavano un ritardo di sviluppo (3 moderato, 1 severo) con deficit adattivo (2 lieve, 1 moderato, 1 severo), hanno mostrato un peggioramento al post-TE del quoziente di sviluppo (QS, mdn 53 vs 25) e adattivo (QA, mdn 52.5 vs 39), con evidenti problematiche emotivo-comportamentali nelle aree del ritiro sociale (4/4), problemi di attenzione (3/4), disturbi d'ansia (3/4) e disturbi pervasivi dello sviluppo (4/4). Un approfondimento specifico ha identificato la presenza di disturbo dello spettro autistico (ASD), con significativa correlazione tra gravità del ASD e entità del deficit di sviluppo ( $r=-0.860$ ,  $p=0.031$ ) e adattivo ( $r=-0.811$ ,  $p=0.04$ ). Solo in uno dei 5 pz (età al TE: 8 m) si è osservato un esito positivo al post-TE, con un miglioramento del QS da borderline a normale (75 vs 102) e un QA stabilmente nella norma (91 vs 90). La valutazione della qualità di vita mediante MetabQoL, lo strumento malattia-specifico, ha evidenziato un netto miglioramento in 5/5 pz (mdn 37.5 vs 67.5) mentre il PedsQL rilevava un peggioramento al post-TE nei 4 pz con outcome neuropsicologico sfavorevole, con caduta specifica nell'area sociale (mdn 87.5 vs 30), a differenza di quanto osservato nell'unico pz con profilo neuropsicologico in miglioramento (41 vs 95).

### **Discussione**

A differenza di quanto osservato nei pz MMA trapiantati nei primi anni di vita (Martinelli et al., 2023), l'impatto del TE sul profilo neuropsicologico appare meno efficace nella PA. Il frequente riscontro di ASD, un rilevante fattore di rischio per lo sviluppo di outcomes neuropsicologici deficitari, suggerisce l'utilizzo di specifici protocolli di screening per l'identificazione in età precoce e il tempestivo inizio di trattamenti riabilitativi.

---

## **ID: 101 - PROFILO NEUROPSICOLOGICO E NEUROPSICHIATRICO IN UNA COORTE DI PAZIENTI CON DELEZIONI SINGOLE DEL DNA MITOCONDRIALE**

**Benedetta Greco**<sup>1</sup>, Barbara Siri<sup>1</sup>, Stefania Caviglia<sup>2</sup>, Melissa Grasso<sup>4</sup>, Daria Diodato<sup>5</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>1</sup>, Stefano Vicari<sup>3</sup>, Francesco Demaria<sup>3</sup>, Diego Martinelli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche, OPBG IRCCS, Roma, Italy, <sup>2</sup> U.O.S. Psicologia Clinica, OPBG IRCCS, Roma, Italy, <sup>3</sup> U.O.C. Neuropsichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza, OPBG IRCCS, Roma, Italy, <sup>4</sup> U.O.C. Neurochirurgia e Neurologia, OPBG IRCCS, Roma, Italy, <sup>5</sup> U.O.S. Malattie Muscolari e Neurodegenerative, OPBG IRCCS, Roma, Italy

---

### **Background**

Le malattie da delezione singola del DNA mitocondriale (SLSMDs) comprendono un ampio spettro fenotipico con coinvolgimento multisistemico. In questa tipologia di pazienti soltanto raramente è stato valutato il profilo neurocognitivo e la presenza di sintomatologia neuropsichiatrica.

### **Metodi**

12 pz con SLSMDs [2 Sindrome di Pearson (PS), 10 Sindrome di Kearns Sayre (KSS); età mdn: 17.5; range 6.6-43.2 anni)] sono stati valutati con assessment neurocognitivo (WISC/WAIS; ABAS-II) e neuropsichiatrico (K-SADS-PL; CY-BOCS) strutturato. Ulteriore area di indagine è stata la qualità di vita percepita (PedsQL), self e proxy-report.

### **Risultati**

Nella nostra coorte, 2 pz hanno mostrato un profilo cognitivo nella norma, 3 un funzionamento borderline, 5 una disabilità cognitiva (2 lieve, 2 moderata, 1 severa). 2 pz (1 PS, 1 KSS) sono risultati non valutabili compatibilmente alla severità del quadro clinico. È stata riscontrata una differenza significativa ( $p=0.007$ ) tra domini neurocognitivi, con maggiore compromissione della velocità di elaborazione (mdn=54.5) rispetto ad abilità verbali (mdn=88), ragionamento visuo-percettivo (mdn=79) e memoria di lavoro (mdn=79). È emersa una correlazione significativa tra età dei pz e velocità di elaborazione ( $r=0.829$ ,  $p=0.003$ ). Il profilo adattivo è risultato nella norma in 3 pz, borderline in 4 e deficitario in 5 (3 lieve, 1 moderato, 1 grave), con una caduta specifica nelle abilità di vita quotidiana (mdn=69.5). La valutazione neuropsichiatrica ha evidenziato la presenza di disturbo ossessivo-compulsivo in 5 pazienti (3 lieve, 2 severo), con rituali di lavaggio delle mani e comportamenti compulsivi di ordine e simmetria. La QoL percepita appare complessivamente deficitaria sia dal punto di vista dei pz (mdn=52) che dei loro genitori (mdn=48). In particolare, il funzionamento fisico appare l'area significativamente più compromessa rispetto a quella emotiva [(pz 31 vs 60,  $p=0.022$ ); (gg 28 vs 65,  $p=0.002$ )] e sociale [(pz 31 vs 70,  $p=0.004$ ); (gg 28 vs 60,  $p=0.027$ )].

### **Discussione**

Lo studio mostra un ampio range di funzionamento neurocognitivo con deficit più marcati, comuni a tutti i pz, nelle abilità pratico-quotidiane e nella velocità di elaborazione. In 5/12 pz è stata evidenziata la presenza di un disturbo ossessivo-compulsivo. Sia i pz che i loro genitori riportano una QoL compromessa, con una caduta specifica nel dominio fisico ed un migliore funzionamento in quello sociale.

---

## **ID: 123 - Proposta di una batteria di test neuropsicologici per la valutazione cognitiva di pazienti adulti affetti da PKU trattati con Terapia Enzimatica Sostitutiva (Pegvaliase).**

Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Jessica Carretta<sup>2</sup>, Alessandro Burlina<sup>2</sup>, Daniela Guerardi<sup>1</sup>, Vincenza Gragnaniello<sup>1</sup>, Christian Loro<sup>1</sup>, Anna Commone<sup>1</sup>, Elena Porcu<sup>1</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche Ereditarie, DIDAS Servizi di Diagnostica Integrata, Azienda Ospedale Padova, <sup>2</sup> UOC di Neurologia, Presidio di rete di Bassano del Grappa (VI), AULSS7 Pedemontana

---

### **Introduzione/background**

Recentemente si è resa disponibile per i pazienti affetti da Fenilchetonuria classica (PKU) la terapia enzimatica sostitutiva (ERT) con pegvaliase. Pegvaliase agisce convertendo la Fenilalanina in acido trans-cinnamico e ammoniaca attraverso l'enzima fenilalanina ammoniaca liasi (PAL). Tale terapia permette in molti casi la normalizzazione dei valori di Phe (< 360  $\mu\text{mol/L}$ ) in pazienti con dieta libera. Recenti studi hanno analizzato in pazienti adulti affetti da PKU trattati con pegvaliase, la presenza di una correlazione tra la riduzione dei valori di fenilalanina e il miglioramento della sintomatologia inattentiva. Inoltre, la letteratura riporta che i pazienti trattati con pegvaliase, hanno mostrato significativi miglioramenti nel funzionamento della working memory, nel controllo inibitorio e nella flessibilità cognitiva. Sulla base di tali evidenze abbiamo individuato una batteria di test neuropsicologici dedicati alla valutazione cognitiva di pazienti in trattamento con ERT.

### **Metodi**

6 pazienti adulti (range età 20-38) affetti da PKU in terapia con pegvaliase, sono stati valutati mediante assessment strutturato per la valutazione di specifici domini cognitivi. Si presentano i domini cognitivi e gli strumenti dedicati. Per lo screening cognitivo globale: M.o.C.A, per l'attenzione visiva: Matrici attente, Trail making Test A/B, per l'attenzione uditiva: PASAT. Per la memoria a breve termine: Digit Span Backward/Forward, Test di Corsi. Per la memoria a lungo termine: Test di memoria verbale 15 parole di Rey. Per le funzioni esecutive: test di Stroop, Fluenza fonemica, Symbol digit test, Torre di Londra, Hayling Sentence Completion Test. Per la cognizione sociale Ekman 60 faces Test.

### **Risultati**

Alla valutazione basale, nonostante un quoziente intellettivo nella media, 5 pazienti su 6 riportavano punteggi deficitari o ai limiti inferiori della norma nelle funzioni esecutive ed in particolare, nei processi di pianificazione e inibizione, nonché un rallentamento nella velocità di elaborazione. 1 paziente presentava disabilità intellettiva di grado moderato (QI < 40).

### **Discussione/conclusioni**

Una batteria di test neuropsicologici sensibili e specifici risulta importante per rilevare anche minimi deficit della sfera cognitiva. Tali strumenti sono ancor più utili per oggettivare eventuali miglioramenti correlati alla terapia farmacologica con pegvaliase.

---

**ID: 30 - STUDIO DELLA TERAPIA DIETETICA E DELLA COMPOSIZIONE CORPOREA DI PAZIENTI AFFETTI DA LEUCINOSI** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Roberta Pretese**<sup>1</sup>, Cristina Bonfanti<sup>2</sup>, Silvia Barzagli<sup>3</sup>, Viola Crescitelli<sup>3</sup>, Anna Fornari<sup>3</sup>, Martha Faraguna<sup>5</sup>, Serena Gasperini<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Dietista, malattie metaboliche rare clinica pediatrica, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, 20900 Monza, <sup>2</sup> Biologa nutrizionista, clinica pediatrica, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, 20900 Monza, <sup>3</sup> Pediatra, malattie metaboliche rare clinica pediatrica, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, 20900 Monza, <sup>4</sup> Pediatra Responsabile, malattie metaboliche rare clinica pediatrica, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, 20900 Monza, <sup>5</sup> Scuola di specializzazione in Pediatria, Università degli studi di Milano Bicocca, Italia

---

## Introduzione

La terapia per la leucinosi (MSUD) è attualmente di tipo dietetico e prevede un apporto strettamente limitato di leucina da alimenti di origine naturale a cui si associa un'integrazione di miscele amminoacidiche prive di amminoacidi ramificati che soddisfano il fabbisogno proteico giornaliero.

## Metodi

L'obiettivo dello studio è quello di analizzare l'impatto della dieta ipoproteica di natura semisintetica sulla composizione corporea di 13 soggetti affetti da MSUD (n°11 forma classica, n°2 forma intermedia). Descriveremo di seguito solo i pazienti con forma classica. La dieta è stata valutata con il diario alimentare di due giorni, la composizione corporea (FMI, LBMI e BMD) è stata analizzata tramite DEXA; è stato inoltre indagato il livello di attività fisica attraverso questionari validati. I dati ottenuti inerenti la composizione corporea sono stati parametrati ai range di riferimento NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey).

## Risultati

La composizione bromatologica della dieta è in linea con i LARN 2014; le proteine di sintesi coprono l'80.6% delle proteine totali per i bambini ed il 85.6% per gli adulti. La DEXA è stata eseguita per tutti i pazienti pediatrici, mentre per gli adulti sono stati indagati nel 71% (n°5/7) dei casi. Fat mass index (FMI) è risultata nella norma per gli adulti, ed il 50% (n°2/4) dei bambini  $\geq$  75th percentile. Lean body mass index (LBMI) è risultata nella norma per gli adulti, ed il 25% (n°1/4) dei bambini risulta patologico. Il 40% degli adulti (n°2/5) ed il 50% dei bambini (n°2/4) presenta iniziale osteopenia ed il 60% degli adulti (n°3/5) ed il 25% dei bambini (n°1/4) osteopenia grave. Tutti gli adulti riferiscono un basso livello di attività fisica, mentre i bambini un livello moderato.

## Conclusioni

Sebbene una buona aderenza alle indicazioni dietetico-terapeutiche sia indispensabile per un buon compenso metabolico e una crescita fisiologica, la dieta restrittiva e di natura semisintetica può compromettere i processi di mineralizzazione ossea. E' essenziale quindi monitorare la salute dell'osso di questi pazienti.

---

## **ID: 36 - Stato nutrizionale e fattori di rischio cardiovascolare (FRCV) in una coorte di pazienti adulti affetti da Malattie Metaboliche Ereditarie (MME)**

**Greta Redi**<sup>2</sup>, Giorgia Gugelmo<sup>1</sup>, Ilaria Fasan<sup>1</sup>, Livia Lenzini<sup>2</sup>, Francesco Francini-Pesenti<sup>1</sup>, Angelo Avogaro<sup>3</sup>, Paolo Spinella<sup>1</sup>, Nicola Vitturi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UOC Dietetica e Nutrizione Clinica, Dipartimento di Medicina, Azienda Ospedale Università Padova, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina, Azienda Ospedale Università Padova, <sup>3</sup> UOC Malattie del Metabolismo, Dipartimento di Medicina, Azienda Ospedale Università Padova

---

### **INTRODUZIONE**

Molti pazienti affetti da MME devono seguire per tutta la vita uno specifico trattamento dietetico. La presenza di FRCV non è stata studiata diffusamente in molte patologie. L'obiettivo dello studio è indagare i principali FRCV di interesse nutrizionale in soggetti adulti con MME.

### **METODI**

Sono stati valutati i pazienti afferenti all'ambulatorio multidisciplinare dedicato alle MME dell'adulto presso l'Azienda Ospedale Università di Padova. Sono stati retrospettivamente esaminati: parametri anamnestici, clinico-biumorali e antropometrici, composizione corporea, Advanced Glication End products (AGEs) e intake nutrizionale. Inoltre, sono stati somministrati dei questionari per valutare l'aderenza alla Dieta Mediterranea (DM) (PREDIMED) e il livello di attività fisica e di sedentarietà (Global Physical Activity Questionnaire, GPAQ).

### **RISULTATI**

Sono stati valutati 54 soggetti, con età media  $35 \pm 14,6$  anni, 56% maschi, 44% femmine. 19% fumatori. Le MME studiate sono così distribuite: 38,9% lisosomiali, 29,6% metabolismo proteico, 25,9% metabolismo glucidico, 5,6% metabolismo lipidico. Il 29,6% della coorte è iperteso. Il 6,3% dei pazienti è ipertrigliceridemico; inoltre, il 6,4% e l'8,9% dei pazienti ha rispettivamente ipercolesterolemia totale e C-LDL. Il 31,5% dei pazienti è sovrappeso, il 9,26% presenta obesità di 1° grado. Il 27,4% del campione ha una circonferenza vita oltre i limiti di riferimento. Dal punto di vista alimentare, nel 45,7% del campione è stato calcolato un apporto di grassi saturi  $>10\%$  delle calorie totali, nel 20% l'apporto di zuccheri semplici risulta  $>15\%$ . Il 26,5% ha mostrato uno scarso livello di aderenza alla DM. Il 44,9% dei soggetti è risultato non aderente alle raccomandazioni dell'OMS sull'attività fisica per la salute. Il 63% dei pazienti riferisce familiarità per cardiopatia ischemica, il 39% per ictus, l'80% per ipertensione.

### **DISCUSSIONE/CONCLUSIONI**

La prevalenza di sovrappeso e obesità è di poco inferiore rispetto ai dati ISTAT 2022 (35% sovrappeso, 11,4% obesità). Emerge una scarsa aderenza alla DM e uno stile di vita prevalentemente sedentario. La prevalenza dei fumatori risulta in linea con i dati ISTAT 2022 (19,6%  $> 14$  anni). Per valutare il rischio cardiovascolare in tale coorte di pazienti saranno necessari ulteriori studi epidemiologici.

---

## **ID: 50 - Gestione dietetica della fenilchetonuria (PKU) in Italia: cosa è cambiato dopo le Linee Guida europee**

Silvia Maria Bernabei<sup>13</sup>, Giulia Bruni<sup>2</sup>, Rossella Carella<sup>3</sup>, Alessandra Cipriani<sup>2</sup>, Silvia Coacci<sup>4</sup>, Sabrina De Leo<sup>5</sup>, Alice Dianin<sup>4</sup>, Vittoria Ercoli<sup>6</sup>, Stefania Ferraro<sup>7</sup>, Christian Loro<sup>8</sup>, Chiara Pancaldi<sup>9</sup>, Sara Parolisi<sup>10</sup>, Giulia Paterno<sup>3</sup>, Lidia Pontillo<sup>11</sup>, Angela Ira Pozzoli<sup>12</sup>, Alice Re Dionigi<sup>6</sup>, Maria Giulia Regazzi<sup>9</sup>, Alice Rossi<sup>9</sup>, Andrea Bordugo<sup>4</sup>, Sabrina Paci<sup>6</sup>, **Sara Giorda**<sup>1</sup>, Juri Zuvadelli<sup>6</sup>

<sup>1</sup> S.C. Pediatria, Malattie Metaboliche Ereditarie, A.O.U. Città della Salute e Della Scienza di Torino, <sup>2</sup> UP Dietetica AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>3</sup> U.O Malattie Metaboliche, ospedale pediatrico Giovanni XXIII di Bari, <sup>4</sup> Centro Regionale per lo screening la diagnosi e la terapia delle Malattie Metaboliche Ereditarie Unità Operativa Semplice di Malattie Metaboliche Ereditarie Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, <sup>5</sup> Sapienza Università di Roma, Roma, Italy, <sup>6</sup> Clinica Pediatrica, ASST Santi Paolo e Carlo, PO San Paolo, Università degli Studi di Milano, <sup>7</sup> U.O. Ped Spec, Univ Magna Graecia, Catanzaro, <sup>8</sup> Mal Metaboliche Ereditarie, Univ Padova, Padova, <sup>9</sup> SSD Nutrizione Clinica e Metabolismo, IRCCS AOU di Bologna, Policlinico SantOrsola, <sup>10</sup> UOSD Malattie Metaboliche, AORN Santobono Pausilipon, Napoli, <sup>11</sup> U.O Centro Nutrizionale, ospedale pediatrico Giannina Gaslini, Genova, <sup>12</sup> U.O. Pediatria e neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, <sup>13</sup> UO Mal Metab, Osp Ped Bambino Gesù IRCCS, Roma

---

### **INTRODUZIONE**

La dieta a ridotto apporto di fenilalanina (Phe) rappresenta il trattamento cardine della PKU, consentendo il controllo della Phe ematica altrimenti responsabile di danno neurologico irreversibile. In Europa nonostante la pubblicazione nel 2017 delle “Linee Guida Europee”(LG), la gestione dietetica rimane eterogenea.

### **METODI**

Come gruppo di lavoro SIMMESN di Dietetica e Nutrizione abbiamo condotto una survey sulla gestione dietetica della PKU in Italia nell’anno della pubblicazione delle LG(2017, T0)e dopo 5 anni(anno 2023, T1)al fine di valutare le variazioni. La survey di 22 quesiti è stata somministrata ai dietisti metabolici italiani. Ambiti indagati: tempistiche di inizio terapia, concentrazione di Phe ideali, fabbisogno proteico, gestione Phe dietetica, utilizzo di sostituti proteici.

### **RISULTATI**

Abbiamo raccolto il parere di dietisti afferenti a 10 centri(T0),13 centri(T1). La survey ha evidenziato come al T1 il 61% dei dietisti ha modificato la propria pratica in funzione della pubblicazione delle LG. In particolare, non veniva conteggiata la Phe degli alimenti a contenuto <75mg/100g, semplificando l’approccio dietetico. Le LG suggeriscono di avviare il trattamento dietetico entro 10 giorni di vita del neonato PKU: tale indicazione è risultata possibile nel 70% dei centri al T0 e nell’85% al T1. Il valore target per tutte le età è risultato in linea con le indicazioni delle LG(a T0 e T1), mentre il range raccomandato in gravidanza(120-360umol/l)è conforme alla pratica nel 20% dei centri a T0 e 54% a T1. Circa la stima del fabbisogno proteico, il 40% dei Centri al T0 e il 23% al T1 utilizzava indicazioni congrue per la popolazione generale; la restante parte riferiva apporti maggiorati del 20-40%. Dal T0 al T1, l’impiego del Glicomacropptide è passato dal 90% al 100%: emerge un incremento di utilizzo nelle forme severe(da 78% a 100%)ed una riduzione in gravidanza (da 70% a 60%). L’utilizzo di formulazioni con LNAA è risultato incrementato (da 50% al 61%).

### **CONCLUSIONI**

Questo studio evidenzia come la pubblicazione delle LG abbia modificato l’approccio dietoterapeutico alla PKU in Italia, favorendo il continuo confronto intra-societario tendendo a uniformare gli interventi. Tale confronto, all’interno della rete SIMMESN, potrà portare a compimento il lavoro di armonizzazione anche circa tematiche non completamente definite in LG. Riteniamo inoltre che con pratiche condivise, sarà più facile comparare gli outcomes in studi futuri.

---

## **ID: 81 - I sostituti proteici per la PKU nel primo anno di vita disponibili in Italia sono tutti uguali**

Elvira Verduci<sup>1</sup>, Martina Tosi<sup>1</sup>, Chiara Montanari<sup>2</sup>, Mirko Gambino<sup>3</sup>, Francesca Eletti<sup>3</sup>, Margherita Di Costanzo<sup>4</sup>, Alessandra Bosetti<sup>3</sup>, Alberto Rivalta<sup>3</sup>, Giacomo Biasucci<sup>5</sup>, Laura Fiori<sup>3</sup>, Gianvincenzo Zuccotti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, <sup>3</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, <sup>4</sup> U.O.C. di Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, <sup>5</sup> U.O.C. di Pediatria e Neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università degli Studi di Parma, Parma

---

### **INTRODUZIONE**

La dieta rappresenta il pilastro della terapia per i pazienti con fenilchetonuria (PKU). Per i lattanti nei primi 6 mesi di vita le linee guida indicano il latte materno (fenilalanina 46mg/100mL) oppure le formule per lattanti quali fonti alimentari, insieme a sostituti proteici senza fenilalanina (Phe-free). Il lavoro si pone l'obiettivo di confrontare le differenze in termini di componenti nutrizionali e funzionali dei sostituti proteici, nutrizionalmente completi e Phe-free, adatti quale fonte alimentare per soddisfare le esigenze nutrizionali dei lattanti con PKU nel primo semestre di vita.

### **METODI**

L'analisi ha incluso sette sostituti proteici per PKU disponibili in Italia. I valori di composizione nutrizionale sono stati confrontati tra loro per 100ml e per 100kcal di prodotto. Una seconda analisi ha confrontato tali valori con quelli riportati nella normativa di riferimento (Regolamento Delegato (UE) 2016/127 e Regolamento Delegato (UE) 2016/128).

### **RISULTATI**

Confrontando i sette sostituti proteici, si osserva un contenuto energetico che varia da 62 a 76kcal/100ml di prodotto, valore superiore all'apporto massimo di 70kcal/100ml riportato dalla normativa. Il contenuto di proteine equivalenti varia da 1,25g a 2,02g/100ml e da 1,87g a 2,94g/100kcal mentre quello di carboidrati da 6,43g a 8,1g/100ml, con un contenuto massimo di carboidrati solubili pari a 5,36g/100ml. Solo due prodotti contengono galatto-oligosaccaridi (GOS) e frutto-oligosaccaridi (FOS), rispettando il tenore massimo di 0,8g/100ml riportato nella normativa, ma non il rapporto GOS:FOS di 9:1. Il contenuto di grassi totali varia da un minimo di 2,99g a un massimo di 4,2g/100ml e da 4,71g a 5,52g/100kcal in linea con i valori della normativa. Tutti i prodotti contengono l'acido docosaesaenoico (DHA) (20mg-30mg/100kcal) e solo una anche l'acido eicosapentaenoico (EPA), con un tenore minore rispetto a quello di DHA, come da normativa. L'acido arachidonico è presente in sei dei sette prodotti. Il contenuto di ferro (1,05-1,7mg/100kcal) e in calcio (74,95-98,98mg/100kcal) rispetta la normativa.

### **CONCLUSIONE**

Dall'analisi emerge eterogeneità tra i sostituti proteici adatti ai lattanti con PKU in termini di componenti nutrizionali e funzionali, ai quali si dovrebbe prestare maggiore attenzione per garantire non solo il controllo metabolico della patologia, ma anche un apporto di nutrienti che sia simile a quello raccomandato dal regolamento europeo per i lattanti sani.

---



## **ID: 90 - La dieta chetogenica nel setting della terapia intensiva neonatale: case report**

Rosa Carella<sup>1</sup>, Gabriele Damato<sup>2</sup>, Donatella De Giovanni<sup>1</sup>, Giulia Paterno<sup>1</sup>, Simonetta Simonetti<sup>4</sup>, Mattia Gentile<sup>3</sup>, Albina Tummolo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche e Genetiche, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, BARI, <sup>2</sup> UOC Neonatologia e Terapia Intensiva Neonatale, Ospedale Di Venere, BARI, <sup>3</sup> UOC Genetica Medica Ospedale Di Venere, BARI, <sup>4</sup> UOSD Patologia Clinica e Screening Neonatale, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, BARI

---

### **Background**

La prevalenza dei nati pretermine sul totale dei neonati è in continuo aumento, così come la possibilità che anche questo gruppo di neonati sia affetta da disturbo metabolico congenito. Le sindromi da deplezione del DNA mitocondriale (mtDNA) sono un gruppo geneticamente e clinicamente eterogeneo di malattie autosomiche recessive caratterizzate da una grave riduzione del contenuto di mtDNA che porta a una ridotta produzione di energia da parte della cellula. Tipicamente i sintomi insorgono dai primi giorni di vita all'età infantile e al momento non ci sono possibilità terapeutiche valide.

### **Case report**

Riportiamo il caso di un neonato pretermine di 31,3 settimane con peso di 1,4 kg, nato per iniziale travaglio di parto, dopo gravidanza monitorata per marcato polidramnios. Alla nascita, trasferito in terapia intensiva neonatale per insufficienza respiratoria, presentava dismorfismi, facies vecchieggiante, cute ridondante ed iperlassa, ipotrofia muscolare diffusa. Acidosi lattica ad anion gap aumentato, con screening neonatale esteso negativo. Agli acidi organici, presenza di lattico aciduria e chetonuria. Nel sospetto di malattia mitocondriale avviata dieta chetogenica in 5° giornata con 120 kcal/kg/die, proteine 2.9, lipidi 8.6, carboidrati 6.8 g/kg/die, rapporto chetogenico 2:1- Tali apporti sono stati somministrati per via parenterale ed enterale continua mediante gavage in associazione a sostituzione vitaminica. A partire da 3 giorni dall'inizio di tale trattamento, si sono evidenziati: sensibile riduzione dei livelli di lattato, miglioramento dell'equilibrio acido-base e del trend accrescitivo, con stabile dinamica cardiaca. A seguito di riscontro all'analisi esomica di mutazione del FBXL4 in omozigosi (c.1648\_1649delGA), che configura sindrome della deplezione del DNA mitocondriale di tipo 13, a è stata introdotta terapia con acetilcarnitina. Quadro clinico, biochimico e strumentale stabile nel corso dei primi 4 mesi di vita.

### **Conclusioni**

La dieta chetogenica intrapresa tempestivamente ha consentito un rapido miglioramento dei parametri biochimici e del quadro clinico di questo neonato pretermine. Nel sospetto di malattia mitocondriale questo tipo di approccio dietetico rappresenta una possibilità terapeutica efficace anche nel setting della terapia intensiva neonatale.

---

## **ID: 102 - La gestione dietetica dei difetti di ossidazione degli acidi grassi: quali biomarcatori per personalizzare il trattamento nella nuova era dello screening neonatale esteso**

Alice Dianin<sup>1</sup>, Silvia Coacci<sup>1</sup>, Giulia Rodella<sup>2</sup>, Guido Zago<sup>5</sup>, Sarah Mirsada Carcereri<sup>2</sup>, Margherita Lucia De Bernardi<sup>5</sup>, Irene Monge<sup>7</sup>, Irene Cunial<sup>7</sup>, Leonardo Salviati<sup>3</sup>, Andrea Pasini<sup>4</sup>, Monica Vincenzi<sup>4</sup>, Florina Ion Popa<sup>4</sup>, Natascia Campostrini<sup>4</sup>, Francesca Teofoli<sup>4</sup>, Marta Camilot<sup>4</sup>, Giuliana Da Prato<sup>6</sup>, Elena Sani<sup>6</sup>, Maddalena Trombetta<sup>6</sup>, Giorgio Piacentini<sup>2</sup>, Andrea Bordugo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unità di Malattie Metaboliche Ereditarie, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, <sup>2</sup> UOC di Pediatria C, Dipartimento Materno Infantile, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, <sup>3</sup> Unità di Genetica Clinica, Dipartimento Materno Infantile, Università Di Padova, <sup>4</sup> Centro Regionale per lo Screening Neonatale, Dipartimento Di Pediatria, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, <sup>5</sup> Dipartimento Di Scienze Chirurgiche, Dentistiche, Ginecologia e Pediatria, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona, <sup>6</sup> UOC di Endocrinologia, Diabetologia e Malattie del Metabolismo, Dipartimento di Medicina, Università degli Studi di Verona, <sup>7</sup> Associazione Italiana Sostegno Malattie Metaboliche Ereditarie (AISMME) APS

---

### **Background**

I difetti mitocondriali di ossidazione degli acidi grassi (FAODs) sono malattie eterogenee del trasporto/ossidazione di acidi grassi. Lo screening neonatale (SNE) mira a prevenire mortalità e complicanze. Il trattamento è dietetico (limitazione digiuno, regimi emergenza, dieta ipolipidica in LcFAODs). Le raccomandazioni indicano il digiuno massimo per età ma senza metodi condivisi per valutare la tolleranza.

### **Metodi**

33 pazienti (pz) FAODs (11 MCADD, 6 VLCADD, 1 LCHADD/TFP, 5 CPT2D, 10 MADD) diagnosticati tramite SNE o clinicamente, seguiti per 9 anni dal nostro Centro. Dati raccolti: crescita, dieta, digiuno, regime emergenza, complicanze, esami, acilcarnitine plasmatiche (AC), acidi organici urinari (AOU), attività enzimatica.

### **Risultati**

134 regimi di emergenza (51% pz SNE MCADD), 54% gestiti a domicilio, 19% osservazioni preventive in PS, 27% ricoveri. Tutti i pz mostrano in benessere AC aumentate rispetto ai valori normali. 22/33 pz (11 SNE, 10 No-SNE) hanno avuto alterazioni transitorie (ipoglicemia, acidosi metabolica in MCADD, MADD; iperCK in CPT2D, VLCADD, MADD; ALT/AST elevate in CPT2D, MCADD, VLCADD, MADD). Complicanze in pz No-SNE (miopatia/rabdomiolisi) ma stabili clinicamente. 1 pz SNE prematuro LCHADD/TFP deceduto. Crescita normale; sovrappeso in 2 pz SNE MCADD e 3 pz No-SNE MADD adulti. Dieta ipolipidica prescritta a 13/33 pz (39%) (2 VLCADD, 5 MADD, 5 CPT2D, 1 LCHADD/TFP), 5 con buona aderenza (LCT 8-15% kcal), 4 supplementano olio MCT. I restanti in dieta equilibrata (LCT > 20% kcal). Digiuno medio notturno: 3 h (0-1 mesi); 4,1 h (1-6 mesi); 5,7 h (7-12 mesi); 7,4 h (1-3 anni); 9,7 h (4-7 anni). 14/33 pz assumono 1 g/kg amido di mais crudo prima di dormire. Tolleranza al digiuno e restrizione lipidica valutati con incrementi di un'ora rispetto all'abituale considerando clinica ed esami con priorità decisionale: CK, AC, AOU, glicemia per LcFAODs; AST, ALT, AC, glicemia per MCADD.

### **Conclusioni**

Lo SNE ha permesso di prevenire complicanze nella maggior parte dei pz FAODs e la crescita è normale. L'85% dei pz segue una dieta equilibrata con apporti lipidici variabili. Il regime di emergenza è efficace; limitazione del digiuno notturno solo nei bambini. Nonostante l'aumento delle AC il digiuno è stato incrementato senza complicanze maggiori. La nostra esperienza mette in evidenza la scarsa utilità clinica delle AC nel follow up. Studi multicentrici osservazionali necessari per analisi dieta e outcome dei pz per ridurre lo overtreatment.

---

## **ID: 127 - Gestione dietetica nell'intolleranza ereditaria al fruttosio (IEF) in dodici centri metabolici italiani: pratiche attuali e nuove sfide**

**Giulia Bruni**<sup>1</sup>, Alessandra Cipriani<sup>1</sup>, Silvia Maria Bernabei<sup>6</sup>, Rosa Carella<sup>4</sup>, Silvia Coacci<sup>3</sup>, Alice Dianin<sup>3</sup>, Vittoria Ercoli<sup>2</sup>, Ilaria Fasan<sup>7</sup>, Sara Giorda<sup>9</sup>, Giorgia Gugelmo<sup>7</sup>, Christian Loro<sup>7</sup>, Chiara Pancaldi<sup>5</sup>, Giulia Paterno<sup>4</sup>, Angela Ira Pozzoli<sup>8</sup>, Roberta Pretese<sup>10</sup>, Simona Salera<sup>11</sup>, Alice Re Dionigi<sup>2</sup>, Maria Giulia Regazzi<sup>5</sup>, Alice Rossi<sup>5</sup>, Andrea Bordugo<sup>3</sup>, Sabrina Paci<sup>2</sup>, Juri Zuvadelli<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UP Dietetica AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> Clinica Pediatrica, ASST Santi Paolo e Carlo, PO San Paolo, Università degli Studi di Milano, <sup>3</sup> Centro Regionale per lo screening la diagnosi e la terapia delle Malattie Metaboliche Ereditarie Unità Operativa Semplice di Malattie Metaboliche Ereditarie Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona, <sup>4</sup> U.O Malattie Metaboliche, ospedale pediatrico Giovanni XXIII di Bari, <sup>5</sup> SSD Nutrizione Clinica e Metabolismo, IRCCS AOU di Bologna, Policlinico Sant'Orsola, <sup>6</sup> UO Mal Metab, Osp Ped Bambino Gesù IRCCS, Roma, <sup>7</sup> UOC Dietetica e Nutrizione clinica, Azienda Ospedale Università di Padova, <sup>8</sup> U.O. Pediatria e neonatologia, Ospedale Guglielmo da Saliceto, Piacenza, <sup>9</sup> S.C. Pediatria, Malattie Metaboliche Ereditarie, A.O.U. Città della Salute e Della Scienza di Torino, <sup>10</sup> Malattie metaboliche, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, <sup>11</sup> fondazione RCCS Ca' Granda ospedale maggiore Policlinico Milano

---

### **Introduzione**

L'IEF è un malattia metabolica ereditaria (MME) causata dal deficit di fruttosio-1,6-bisfosfato aldolasi. Il trattamento dell'IEF consiste in una dieta a ridotto contenuto di fruttosio, saccarosio e sorbitolo (FSS) che deve essere seguita per tutta la vita, integrata con vitamina C e folati. Potenziali fonti di FSS potrebbero essere alcuni polioli o di/oligosaccaridi. L'esclusione assoluta di FSS non è un obiettivo raggiungibile poiché tracce sono presenti in molti alimenti, inoltre determinerebbe la totale esclusione di alimenti di origine vegetale, alla base della dieta mediterranea. Ci sono scarse evidenze circa l'apporto massimo di FSS da ritenersi sicuro e sulla possibilità di individuare una tolleranza individuale. Inoltre il contenuto Fruttosio in alcuni alimenti non è noto, con conseguenti pratiche dietetiche diverse tra i centri MME in Italia.

### **Metodi**

L'indagine è stata condotta dal Gruppo di Lavoro Dietetica e Nutrizione della SIMMESN. Un questionario è stato sottoposto a dietisti e nutrizionisti metabolici italiani con esperienza nel trattamento pazienti affetti da IEF, indagando il trattamento dietetico, in particolare l'assunzione di alimenti di origine vegetale e polioli.

### **Risultati**

Sono stati raccolti dati da 12 centri MME italiani. 1/12 (8%) segue solo pazienti adulti, 1/12 (8%) pediatrici, la restante parte segue pazienti dall'età pediatrica all'età adulta. Tutti i centri forniscono ai pazienti con IEF specifiche indicazioni dietetiche scritte. 3/12 (25%) da indicazione ad escludere completamente dalla dieta le verdure. 9/12 (85%) centri consentono il consumo di alcune verdure, ma non è stata riscontrata uniformità nel contenuto limite di fruttosio massimo tollerabile su 100g. 7/9 (78%) pongono come limite un contenuto di fruttosio <1g/100g; 6/9 (67%) indicano porzioni specifiche di questi ortaggi che possono essere consumate giornalmente. 5/12 (42%) centri danno indicazione ad esclusione di alimenti con aromi naturali. Tutti i centri escludono sorbitolo e mannitolo, mentre le raccomandazioni differiscono sull'inclusione di maltitolo, xilitolo, eritritolo, lattitolo, sucralosio, isomalto, sciroppo di solo glucosio, mannosio, maltodestrine, stevia, E150d, maltosio.

### **Conclusioni**

Le pratiche dietetiche IEF sono molto diverse tra i dietisti italiani. Sono necessari ulteriori studi prospettici sull'assunzione sicura di FSS, al fine di essere allineati con l'indicazione di alimenti a base vegetale e singoli polioli

---

## **ID: 140 - Utilizzo della telemedicina nella follow-up dietetico dei pazienti con malattie metaboliche: risultato di una survey monocentrica**

Simona Salera<sup>1</sup>, Francesco Tagliaferri<sup>1</sup>, Francesca Menni<sup>1</sup>, Francesca Furlan<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Fondazione IRCCS Ca Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Clinica De Marchi, Centro di riferimento regionale per lo Screening neonatale esteso, Milano, Italy

---

### **Introduzione/Background**

La dieta per alcune malattie metaboliche ereditarie (MME) rappresenta una terapia e pertanto richiede una attenta aderenza da parte del paziente o del caregiver per mantenere un buon compenso. Essenziale un corretto addestramento alla gestione (equivalenti, scelta alimenti,...). Vista la necessita di frequenti colloqui e lontananza fisica, è in uso presso il nostro centro dal 2022 la telemedicina (TLM), già applicato in altre malattie croniche, come mezzo per i colloqui dietetici nei pazienti in follow-up. Lo studio si propone di valutare l'utilizzo di questo strumento nella pratica clinica delle MME, attraverso l'opinione degli utilizzatori.

### **Metodi**

Una survey online è stata inviata alle famiglie che hanno effettuato valutazioni dietetiche in telemedicina. Le domande riguardavano le difficoltà percepite nella gestione della dieta, esperienza con la telemedicina, vantaggi e svantaggi.

### **Risultati**

Sono state raccolte 20 risposte da pazienti italiani (80%) e non (20%). Il 70% dei rispondenti aveva livello di istruzione superiore alla licenza media. Il 30% dei pazienti avevano meno di 2 anni, il 35% tra 3 -10 anni, il 35% più di 11 anni. Condizione di base: 20% difetto metabolismo dei carboidrati, 45% delle proteine, 35% dei lipidi. Il 35% impiega più di due ore per raggiungere il centro di riferimento. Il 45% ha usufruito della telemedicina da 2 a 4 volte; il 55% 1 volta. Il 25% riferisce di non avere difficoltà nella gestione della dieta, mentre il 75% riferisce varie difficoltà (es lettura etichette, dieta fuori casa, calcolo quantità alimenti). Riguardo ai vantaggi, il 95% segnala risparmio di tempo per gli spostamenti, il 55% migliore flessibilità di orario, il 45% possibilità di valutazioni frequenti, il 15% possibilità di far visualizzare gli alimenti. Nel 25% delle interviste sono stati segnalati problemi di collegamento. Il 70% degli intervistati predilige più frequenti colloqui in telemedicina e saltuari in presenza.

### **Discussione/Conclusioni**

Da questo studio emerge che la telemedicina nella gestione della dieta è un valido strumento con vantaggi in accessibilità, risparmio di tempo e miglioramento della continuità dell'assistenza. È importante stabilire un equilibrio tra telemedicina e valutazioni in presenza per ottimizzare la cura. Il follow-up clinico permetterà di valutare l'impatto sull'equilibrio metabolico/miglioramento dei parametri dei pazienti.

---

## **ID: 144 - Profilo clinico e omico in pazienti con sindrome di Cohen (mutazione VPS13B): prove di efficacia della supplementazione orale di galattosio.**

Rita Barone<sup>1</sup>, Martina Randazzo<sup>1</sup>, Jessica Galli<sup>2</sup>, Angelo Palmigiano<sup>3</sup>, Lara Cirmiagliaro<sup>1</sup>, Fabio Pettinato<sup>1</sup>, Domenico Garozzo<sup>3</sup>, Elisa Fazzi<sup>2</sup>, Renata Rizzo<sup>1</sup>, Luisa Sturiale<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Neuropsichiatria Infantile – Dip Medicina Clinica e Sperimentale – Università di Catania, <sup>2</sup> Neuropsichiatria Infantile – Dip Scienze Cliniche e Sperimentali – Università di Brescia, <sup>3</sup> IPCB-CNR-Catania

---

### **Introduzione/background**

La sindrome di Cohen (Cohen syndrome, CS) è una malattia autosomica recessiva causata da mutazioni in *VPS13B* associate a difetto dell'omonima proteina transmembrana, alterazioni del trafficking intracellulare e deficit della glicosilazione proteica. E' caratterizzata da compromissione neurologica (microcefalia, disabilità intellettiva e assenza di linguaggio, alterazioni comportamentali), visiva (retinopatia, edema maculare) e manifestazioni multisistemiche (dismorfismi, difetto di crescita, alterazioni scheletriche, endocrinopatia, neutropenia). Lo studio riporta i risultati della caratterizzazione clinica e glicomica di tre pazienti con CS (mutazione VPS13B) e l'effetto in vivo ed in vitro della terapia orale con galattosio in un paziente durante un follow-up di 9 mesi

### **Metodi**

E' stato condotto un protocollo basato sulla valutazione clinica e analisi standardizzata del fenotipo comportamentale, analisi glicomica del siero mediante spettrometria di massa (MS) MALDI e cromatografia HILIC con interfaccia Electrospray (ESI)-MS, valutazione dell'espressione delle glicoproteine ICAM, prima e dopo supplementazione orale di galattosio al dosaggio di 1 gr /Kg/die.

Risultati: I pazienti (2M1F, età 11-19 anni) presentano microcefalia, dismorfismi facciali, retinopatia, edema maculare, disabilità intellettiva e alterazioni comportamentali con segni di autismo, neutropenia ricorrente, possibile deficit di IGF1. L'analisi glicomica del siero ha evidenziato un profilo caratteristico con aumento di glicoforime ipogalattosilate e iposialilate. Il monitoraggio dell'efficacia della supplementazione di galattosio ha evidenziato una riduzione di comportamenti problematici (riduzione score scale SPM, SCQ e RRB) e normalizzazione della neutropenia, e IGF1 serico. Si otteneva inoltre la progressiva normalizzazione del profilo glicomico già dopo 3 mesi di terapia. L'espressione basale di ICAM nei fibroblasti era ridotta (3%; v.n.>60%) e aumentava significativamente (x10) dopo incubazione con galattosio (2-5 mM). Dopo 9 mesi di terapia si osservava stabilizzazione dei risultati clinici e di laboratorio in assenza di effetti collaterali.

### **Conclusioni**

I dati dello studio supportano l'identificazione di una nuova terapia dietetica sicura che appare promettente nel definire una reversibilità in vitro ed in vivo di parametri clinici e di laboratorio della sindrome di Cohen.

---

## **ID: 152 - Accrescimento a lungo termine in bambini con PKU rispetto a coetanei sani: differenze e analogie**

Giulia Paterno<sup>1</sup>, Rosa Carella<sup>1</sup>, Pasquale Carone<sup>1</sup>, Giada Maria Anna Ruvo<sup>1</sup>, Fabrizio Furioso<sup>1</sup>, Donatella De Giovanni<sup>1</sup>, Tummolo Albina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Malattie Metaboliche Genetiche Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII Bari

---

### **Background**

La gestione della fenilchetonuria è caratterizzata, nella maggioranza dei casi, da una severa restrizione nell'assunzione di proteine e questo potrebbe determinare deficit nutrizionali e nell'accrescimento. L'approccio dietetico alla PKU è cambiato nel corso degli anni, ma la maggior parte degli studi sulla crescita a lungo termine di questi pazienti sono antecedenti agli anni 2000 e i risultati contrastanti. Il nostro studio riporta il trend accrescitivo fino ai giorni nostri, di pazienti affetti da PKU e di coetanei sani.

### **Materiali e metodi**

Abbiamo condotto uno studio retrospettivo caso-controllo di 34 bambini con PKU e 40 controlli sani. I soggetti sono stati reclutati per valutare la loro crescita, dalla nascita ai 12 anni di età (0m, 6m, 12m, 3y, 6y, 9y, 12y). I parametri di crescita sono stati comparati tra i due gruppi e correlati con il BMI materno e paterno.

### **Risultati**

Abbiamo rilevato un normale trend accrescitivo nei bambini con PKU rispetto al gruppo controllo. I percentili di crescita a differenti età erano nel range di normalità, con differenze significative solo nel rapporto peso/lunghezza a 12 mesi tra i due gruppi ( $p: 0,002$ ), con valori più alti nel gruppo PKU. Una correlazione significativa è stata trovata tra lo Zscore del rapporto peso/lunghezza o del BMI con il BMI materno a partire dai 3 anni di età e nelle successive epoche in studio, solo nel gruppo controllo.

### **Conclusioni**

A differenza dei precedenti studi, non abbiamo trovato una compromissione di accrescimento dopo la nascita nei pazienti con PKU rispetto al gruppo controllo. La crescita tende a essere più alta dopo i primi 12 mesi di vita nei bambini con PKU, ma non correla con il BMI materno come nel gruppo controllo. Altri fattori possono influenzare il trend di crescita in questo gruppo di pazienti.

---

**ID: 155 - "Neuroprotezione e miglioramento dellefficacia delle terapie dietetiche chetogeniche nelle malattie neurometaboliche e metaboliche pediatriche rare e farmacoresistenti"**

**Barbara Hugonin Rao<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Azienda USL Toscana Centro , <sup>2</sup> Boston Childrens Hospital-Metabolism Program and Neurometabolic Program

---

## **INTRODUZIONE/BACKGROUND**

Le diete chetogeniche rappresentano una possibilità terapeutica per alcune malattie neurometaboliche pediatriche rare, con la presenza o meno di convulsioni, di miopatie metaboliche ed altre patologie da errori congeniti del metabolismo (ad esempio la malattia da accumulo di glicogeno di tipo V o malattia di McArdle, iperglicinemia non chetotica -NHK, la Sindrome da Glut-1). Le terapie dietetiche chetogeniche stanno mostrando una capacità neuroprotettiva nei pazienti con alcune malattie metaboliche e neurometaboliche rare, anche di età inferiore ai due anni, riducendo i sintomi progressivamente invalidanti, nonostante la farmacoresistenza o l'assenza di terapie farmacologiche efficaci.

## **METODI**

Le malattie rare neurometaboliche infantili, hanno diversi aspetti in comune: dall'età di esordio dall'infanzia alla prima adolescenza, sintomi progressivi, forme da lievi-moderate a molto severe, spasmi, miopatie, convulsioni, riduzione della qualità della vita. La ricerca ha seguito un gruppo di 10 pazienti pediatriche, 2 sotto i due anni di età, 8 tra i 3 e i 10 anni, con diverse forme di disordini neurometabolici e metabolici rari, e in condizioni neurocritiche al momento della diagnosi e nell'arco dei 4 mesi successivi alla diagnosi definitiva. L'utilizzo del test PedsQL4.0 con il coinvolgimento della famiglia, si è rivelato uno strumento utile, prima e dopo i trattamenti dietetici. Sono stati principalmente seguiti tre tipi di protocolli: dieta Atkins modificata (MAD), trattamento a basso indice glicemico (LGIT), e la dieta con acidi grassi a media catena (MCT). Il percorso oltre al monitoraggio ospedaliero e domiciliare, si è avvalso di follow-up 2 volte al mese nel corso di 2 anni.

## **RISULTATI**

Nel corso di due anni il miglioramento si è evidenziato nel controllo delle crisi convulsive resistenti ai farmaci, la neuroprotezione a breve e medio termine, controllo dei livelli di CK e del lattato, della qualità del movimento e della massa muscolo-scheletrica e del ritardo cognitivo. In tutti i casi seguiti è stato possibile il ricovero al di fuori dell'area critica intensiva. Gli effetti collaterali minimi dimostrano che un protocollo strettamente personalizzato previene gli eventi avversi e rischi di comorbilità.

## **CONCLUSIONI**

Terapie chetogeniche sempre più mirate possono migliorare la prognosi delle malattie neurometaboliche e metaboliche rare. È essenziale continuare con il follow-up a lungo termine per migliorarne efficacia e sicurezza.

---