

**ID: 18 - La voce dei clinici in 1200 minuti: buone pratiche e criticità nella comunicazione di positività allo screening neonatale**

**Marco Bani**<sup>1</sup>, Chiara Cazzorla<sup>2</sup>, Giulia Bensi<sup>6</sup>, Benedetta Greco<sup>7</sup>, Giuseppina Lanzafame<sup>4</sup>, Bianconi Sara<sup>3</sup>, Gaiga Giacomo<sup>2</sup>, Pasquale Capuozzo<sup>5</sup>, Maria Valvassori<sup>8</sup>, Selenia Russo<sup>1</sup>, Maria Grazia Strepparava<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Milano - Bicocca, <sup>2</sup> UOC Malattie Metaboliche Ereditarie, Centro Regionale Screening Neonatale Metabolico Allargato, Azienda Ospedale Padova, <sup>3</sup> UOC Psicologia Ospedaliera, Azienda Ospedale-Università Padova, <sup>4</sup> U.O.S. di Screening Neonatale Esteso e Malattie Metaboliche, U.O.C. Clinica Pediatrica, Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico “G. Rodolico-San Marco”, Catania, <sup>5</sup> U.O.S.D. Centro di Psicologia, I.R.C.C.S. Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy, <sup>6</sup> UONPIA e UOC Pediatria e Neonatologia, Ospedale “Guglielmo da Saliceto”, Piacenza, <sup>7</sup> Unità di Psicologia, Ospedale Bambin Gesù, IRCCS, Roma, Italy, <sup>8</sup> SS Malattie Metaboliche Ereditarie, IRCCS S. Gerardo, Monza

**Introduzione:** Lo screening neonatale esteso per le patologie metaboliche rappresenta un caposaldo della prevenzione e trattamento delle patologie rare ma comporta un impatto emotivo rilevante per le famiglie sia in caso di falsi positivi che di positività confermate. La comunicazione della positività allo screening richiede competenze comunicative e relazionali ampie e flessibili che consentano di accogliere i bisogni delle famiglie, rassicurarle e accompagnarle nel percorso diagnostico e terapeutico. Tuttavia non esistono raccomandazioni o linee guida per la conduzione dei colloqui di richiamo.

**Metodi:** Questo studio qualitativo vuole descrivere – attraverso interviste semi strutturate ai medici che lavorano nei centri di malattie metaboliche italiani – l’esperienza comunicativa nei casi di positività allo screening neonatale esteso con un focus particolare sulle conoscenze e le competenze utilizzate dai professionisti sanitari che svolgono i colloqui, i loro bisogni formativi e gli aspetti di criticità. Sono state svolte 23 interviste a clinici di 19 centri clinici che sono state trascritte e analizzate sulla base della framework analysis identificando, con un processo ricorsivo di analisi qualitativa, le tematiche emergenti dai trascritti fino ad identificare le tematiche sovraordinate (Gale et al., 2013).

**Risultati:** L’analisi dei trascritti ha evidenziato che il percorso di comunicazione del richiamo allo screening neonatale presenta elementi comuni e differenze. In ogni centro è prevista una prima telefonata di richiamo seguita da una visita ambulatoriale, con una comunicazione graduale modulata in base alle esigenze familiari, mediante spiegazioni semplici e metafore per chiarire concetti complessi, e con la centralità dell’alleanza e della fiducia. Esistono tuttavia differenze nell’organizzazione della telefonata, nella gestione del setting, nel coinvolgimento di familiari e nelle strategie di follow-up. Le criticità ricorrenti riguardano il fatto che la formazione avviene prevalentemente per osservazione e per tentativi ed errori, la difficoltà di comunicare risultati incerti e lo scarso supporto psicologico strutturato. **Conclusioni:** Questo lavoro costituisce la base per la costruzione di raccomandazioni utili ai clinici per lo svolgimento dei colloqui di richiamo secondo modalità omogenee e per definire alcune aree critiche per lo sviluppo di iniziative di formazione e confronto tra i clinici.

**ID: 22 - Screening per la malattia di Fabry: non solo per neonati**

**Alessandra Verde**<sup>1</sup>, Vincenza Gragnaniello<sup>2</sup>, Albina Tummolo<sup>3</sup>, Veronica Pagliardini<sup>4</sup>, Francesca Furlan<sup>5</sup>, Francesca Menni<sup>5</sup>, Francesco Tagliaferri<sup>5</sup>, Paolo Colomba<sup>6</sup>, Irene Giacalone<sup>6</sup>, Elena Porcù<sup>2</sup>, Simonetta Simonetti<sup>3</sup>, Mattia Gentile<sup>3</sup>, Giovanni Duro<sup>6</sup>, Raffaele Badolato<sup>1</sup>, Marco Spada<sup>4</sup>, Alberto Burlina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Università degli Studi di Brescia, Brescia, <sup>2</sup> Divisione di Malattie Metaboliche Ereditarie, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova, Padova, <sup>3</sup> Dipartimento di Malattie Metaboliche, Genetica Clinica e Diabetologia, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, Azienda Ospedaliero-Universitaria Consortziale, Bari, <sup>4</sup> Dipartimento di Pediatria, Università di Torino, Torino, <sup>5</sup> Fondazione IRCCS Ca’ Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano, <sup>6</sup> IRIB-CNR, Palermo

**Introduzione.**La donazione di gameti è una scelta riproduttiva sempre più diffusa tra le coppie infertili,rendendo necessario lo screening genetico dei donatori per prevenire malattie mendeliane.Riportiamo cinque casi(4 maschi e 1 femmina)di diverse regioni italiane,diagnosticati con la malattia di Fabry (FD) dopo fecondazione eterologa.Metodi.I pazienti 1 e 2 sono stati identificati allo Screening Neonatale Estesio(SNE).I pazienti 3 e 4 sono stati diagnosticati grazie al paziente 1,essendo nati in una regione priva di SNE per la FD.La paziente 5,femmina,è stata diagnosticata a seguito del paziente 1,dal momento che il suo SNE basato sull'attività enzimatica è risultato negativo.Nei pazienti 1,4 e 5,l'attività dell'alfa-galattosidasi A( $\alpha$ -GAL A)è stata misurata con spettrometria di massa tandem(MS/MS),nei pazienti 2 e 3 con saggio fluorimetrico.Il dosaggio del LysoGb3 è stato effettuato tramite MS/MS.Il sequenziamento Sanger è stato usato come test genetico.Casi.Paziente 1,maschio di 12 mesi: $\alpha$ -GAL A su goccia di sangue essiccato(DBS)0,89  $\mu$ mol/L/h(vn >2,3) e 1,9  $\mu$ mol/mg/h(vn >4,4)nei leucociti/LysoGb3 0,6 nmol/L(vn<0,43).Paziente 2,maschio di 5 mesi: $\alpha$ -GAL A su DBS 0,74  $\mu$ mol/L/h(vn >3,45)e zero nei leucociti/LysoGb3 3,31 nmol/L(vn<2,3).Paziente 3,maschio di 11 mesi: $\alpha$ -GAL A su DBS 1,3 nmol/mL/h(vn>3) e zero nei leucociti/LysoGb3 3,05 nmol/L(vn<2,3).Paziente 4,maschio di 2 mesi: $\alpha$ -GAL A 1,3  $\mu$ mol/L/h(vn>2,8)/LysoGb3 2 ng/mL(vn<3,5).Paziente 5,femmina di 6 mesi: $\alpha$ -GAL A e LysoGb3 nella norma.Tutti i pazienti presentavano la variante c.-8\_20del nel gene *GLA*,non rilevata allo screening esomico della donatrice di ovociti.Discussione.La variante c.-8\_20del non è stata precedentemente descritta.E'una delezione che si estende da 8 nucleotidi a monte fino a 20 nucleotidi a valle del primo sito ATG e che probabilmente impedisce il corretto processo di traduzione,poiché viene a mancare il primo codone di inizio.L'accumulo di LysoGb3 suggerisce un fenotipo a insorgenza tardiva.Conclusione.La valutazione esomica della donatrice di ovociti, limitata alle varianti già note come patogeniche o probabilmente patogeniche, non ha permesso l'identificazione di questa nuova variante nel gene *GLA*,che descriviamo per la prima volta.Ciò evidenzia la necessità di implementare lo screening genetico nei programmi di donazione dei gameti.La variante potrebbe compromettere la produzione proteica,mentre i dati biochimici suggeriscono un possibile fenotipo a insorgenza tardiva,ma sono necessari ulteriori indagini per confermarlo.Inoltre, questo studio sottolinea l'importanza dello screening neonatale per FD, a supporto della sua inclusione nei programmi di screening nazionali.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 31 - Ruolo dell’adenosina nella prematurità: risposta cellulare allo stress respiratorio in VLBW**

**Simonetta Simonetti**<sup>1</sup>, Michele Manganelli<sup>1</sup>, Silvia Russo<sup>1</sup>, Paola Cantalice<sup>1</sup>, Roberta Cardinali<sup>1</sup>, Tania Lorè<sup>1</sup>, Donatella Capodiferro<sup>2</sup>, Marina Natale<sup>3</sup>, Lucrezia de Cosmo<sup>4</sup>, Francesco La Torre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Azienda Ospedaliero Universitaria Consorziale Policlinico di Bari - Giovanni XXIII, 70124, Bari, Italia, <sup>2</sup> Università degli studi di Bari Aldo Moro, 70121 Bari, Italia, <sup>3</sup> ASL Bari – Presidio Ospedaliero di Venere, 70131, Bari, Italia, <sup>4</sup> ASL Taranto – Presidio Ospedaliero Centrale SS. Annunziata, 74100, Taranto, Italia

**Introduzione:** La transizione dalla vita intra- a quella extrauterina rappresenta una profonda sfida per i neonati con peso molto basso alla nascita (VLBW), a causa della loro immaturità sistemica e dell’alta suscettibilità a sindromi da distress respiratorio (RDS). L’adenosina (ADO), nucleoside coinvolto in molteplici processi fisiologici e patologici, agisce come molecola-segnaletto e marcatore di stress ossidativo. In questo studio retrospettivo longitudinale abbiamo misurato i livelli di ADO in VLBW con l’obiettivo di approfondire la fisiopatologia della prematurità e valutarne il potenziale come biomarcatore del RDS. **Metodi:** I Dried Blood Spot (DBS) sono stati raccolti da neonati VLBW (n=100), basso peso alla nascita - LBW (n=12) e peso nella norma - NW (n=14) a diversi time-point postnatali (T1: giorno 3, T2: giorno 15, T3: giorno 30, T4: giorno 45). I livelli di ADO sono stati analizzati in spettrometria di massa tandem (FIA-MS/MS). In un sottogruppo di 25 neonati VLBW, è stata eseguita l’emogasanalisi mediante prelievo capillare (CBG). Le analisi statistiche sono state condotte avvalendosi del Kruskal-Wallis’ test e della correlazione di Spearman, considerando significativo un valore di p<0.05. Lo studio ha ricevuto l’approvazione del comitato etico ed è stato condotto previo consenso informato. **Risultati:** Nel gruppo VLBW, i livelli di ADO aumentano in modo significativo e progressivo tra T1 e T4 (p<0.0001), risultando significativamente più elevati rispetto ai gruppi LBW e NW (p<0.0001), dove al contrario restano stabili (T1-T4). A T1 e T2 è stata osservata una correlazione negativa significativa tra peso alla nascita e ADO (p<0.0001) in VLBW. L’analisi CBG ha mostrato inoltre una pO<sub>2</sub> media significativamente diminuita da T1 a T2 (p=0.002) e una pCO<sub>2</sub> media significativamente aumentata da T1 a T2 (p=0.01). Mentre, i livelli medi di HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> sono aumentati significativamente e progressivamente tra T1 e T3 (p=0.0002). I livelli di ADO hanno mostrato una correlazione negativa con la pO<sub>2</sub> nei primi giorni postnatali (T1; R=-0.331, p=0.1), senza correlazione diretta tra ADO e pCO<sub>2</sub> o HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. **Conclusioni:** I nostri risultati suggeriscono che l’ipercapnia, da immaturità sistemica, inibisce l’adenosina chinasi, contribuendo all’aumento di ADO extracellulare. Agendo tramite i recettori A2B, l’ADO potrebbe partecipare attivamente alla RDS, rappresentando un biomarcatore critico nei neonati VLBW con implicazioni per future strategie diagnostiche e terapeutiche.

**ID: 49 - Eterogeneità allelica e variabilità fenotipica nel deficit di biotinidasi: approccio multidisciplinare in uno studio di coorte** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Simonetta Simonetti<sup>1</sup>**, Michele Manganelli<sup>1</sup>, Silvia Russo<sup>1</sup>, Paola Cantalice<sup>1</sup>, Roberta Cardinali<sup>1</sup>, Tania Lorè<sup>1</sup>, Donatella de Giovanni<sup>1</sup>, Albina Tummo<sup>1</sup>, Francesco La Torre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Azienda Ospedaliero Universitaria Consorziale Policlinico di Bari - Giovanni XXIII, 70124, Bari, Italia

**Introduzione:** Il deficit di biotinidasi (BTD) è una malattia metabolica ad ereditarietà autosomica recessiva, caratterizzata dall’incapacità dell’organismo di riciclare efficacemente la biotina. Questo compromette l’attività delle carbossilasi, enzimi essenziali nel metabolismo di grassi, carboidrati e proteine, causando manifestazioni neurologiche e cutanee. Le caratteristiche cliniche possono essere prevenute somministrando biotina. Sebbene la diagnosi si basi sulla valutazione dell’attività enzimatica, la relazione tra mutazioni nel gene BTD e fenotipo clinico non è sempre lineare. In questo studio retrospettivo su 25 pazienti con deficit di BTD, abbiamo analizzato la variabilità genotipo-fenotipo per dimostrare come un approccio multidisciplinare, che combini valutazioni genetiche e funzionali, sia essenziale per comprendere l’impatto delle variazioni genetiche sulla diversità fenotipica. **Metodi:** Le mutazioni nel gene BTD sono state identificate mediante Whole Exome Sequencing (WES). L’attività enzimatica residua è stata determinata con dosaggio in immunofluorescenza a tempo risolto in fase solida (cut-off <20% pari a 65 U/dl per deficit clinicamente significativo). **Risultati:** Abbiamo osservato una marcata variabilità nell’attività enzimatica residua correlata a specifiche combinazioni alleliche nel cluster di mutazioni dell’esone 4. La mutazione p.Gln456His (c.1368A>C), critica per la capacità di legare la biotina, ha mostrato un’attività residua del 5.5% (16 U/dl) in omozigosi. Anche in eterozigosi composta con p.Asp444His, p.Gln456His riduce l’attività residua al 15.8% (48.3 U/dl), confermando il suo ruolo di driver nella severità biochimica. Mutazioni frameshift (c.98\_104delGCGGCTGinsTCC) in eterozigosi composta con p.Asp444His (c.1330G>C) alterano precocemente il frame di lettura della proteina, risultando in un deficit enzimatico profondo con un’attività residua del 11.2% (34.3 U/dl). Inoltre, individui portatori di altre combinazioni di mutazioni missenso eterogenee (in assenza di p.Gln456His) hanno mostrato un’attività enzimatica residua media del 13.8% (42.2 U/dl), evidenziando l’ampia gamma di impatti funzionali delle diverse varianti. **Conclusioni:** I nostri risultati evidenziano che l’estrema eterogeneità allelica influenza profondamente l’attività enzimatica residua, rendendo indispensabile integrare la caratterizzazione genetica completa (WES) con la valutazione diretta della funzione enzimatica per una comprensione accurata del fenotipo.

**ID: 56 - Studio dei meccanismi patogenetici nella malattia di Fabry diagnosticata allo screening neonatale**

**Vincenza Gragnaniello<sup>1</sup>**, Alessandro Burlina<sup>2</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Daniela Guerardi<sup>1</sup>, Andrea Puma<sup>1</sup>, Christian Loro<sup>1</sup>, Leonardo Salviati<sup>3</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unità Operativa Complessa Malattie Metaboliche Ereditarie, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università di Padova, <sup>2</sup> Unità Operativa Complessa Neurologia, Ospedale San Bassiano, Bassano del Grappa, <sup>3</sup> Unità Operativa Complessa Genetica Clinica, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università di Padova

**Introduzione:** la malattia di Fabry (FD) è una malattia lisosomiale causata da un difetto dell’ $\alpha$ -galattosidase A, che porta all’accumulo di globotriaosilceramide e globotriaosilsfingosina (lysoGb3). Nonostante le manifestazioni cliniche siano ampiamente documentate, si sa ancora poco sulle modifiche cellulari precoci. Scopo del nostro studio è indagare i marcatori infiammatori, stress cellulare e autofagia nei pazienti pediatrici presintomatici identificati attraverso lo screening neonatale. **Metodi:** Abbiamo analizzato 20 pazienti maschi con FD (età media 4 anni, DS 2,23, range 0,10-7,61). I livelli plasmatici di citochine (IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL6) sono stati misurati mediante ELISA. I marcatori di stress cellulare (p-p38) e di autofagia (LC3-II, Beclin, Atg3, Atg5, Atg7, Atg12, Atg16L) sono stati analizzati mediante Western blot nelle cellule mononucleari del sangue periferico di sei pazienti e due controlli. **Risultati:** Tutti i pazienti erano asintomatici, ma avevano livelli di LysoGb3 superiori al cutoff (media 2  $\mu$ mol/L, SD 3,57, range 0,46-16,50, VN < 0,43). I livelli medi di TNF $\alpha$  erano 11,35 ng/L (SD 4,23, range 4-22,2, VN <8,1), patologici in 13/20 pazienti. I valori medi di IL1 $\beta$  erano di 9,72 ng/L (SD 5,34, range 5-19,8, VN<5), patologici in 17 pazienti. Vi è una correlazione tra i valori di plasma di Lyso-Gb3 e quelli di TNF $\alpha$  (p<0.05) e tra i valori di plasma di Lyso-Gb3 e quelli di IL1 $\beta$  (p<0.05). I pazienti mostravano un’attivazione della P-p38 aumentata in media di 1,31 volte nei pazienti rispetto ai controlli. I marcatori di autofagia hanno mostrato riduzioni significative. I livelli di LC3-II, marcatore della fusione autofagosoma-lisosoma,

hanno mostrato una riduzione media del 53% (SD 54%) rispetto ai controlli. Anche i marcatori a monte del flusso autofagico hanno mostrato riduzioni. Beclin è diminuito del 70% (SD 14%), Atg3 del 72% (SD 19%), Atg5 del 50% (SD 22%), Atg7 del 43% (SD 27%), Atg12 del 66% (SD 24%) e Atg16L del 67% (SD 13%). Conclusioni: Questo studio dimostra, per la prima volta, la presenza di infiammazione, stress cellulare e inibizione dell'autofagia nei pazienti con FD senza manifestazioni cliniche identificati allo screening neonatale. Questi risultati forniscono nuove conoscenze sulla patogenesi precoce della FD e suggeriscono potenziali biomarcatori per il monitoraggio della malattia in fase presintomatica. La valutazione del valore prognostico e le loro implicazioni per interventi terapeutici precoci andranno

TOPIC: 1 - Screening neonatale

ID: 66 - Falsi negativi allo screening neonatale esteso: 10 anni di attività

Elena Porcù<sup>1</sup>, Alessia Zacchettin<sup>1</sup>, Alice Saracini<sup>1</sup>, Michela Bertan<sup>1</sup>, Elisa Lusiani<sup>1</sup>, Tiziana Gomiero<sup>1</sup>, Chiara Edini<sup>1</sup>, Vincenza Gragnaniello<sup>1</sup>, Andrea Puma<sup>1</sup>, Daniela Guerardi<sup>1</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Christian Loro<sup>1</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

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

**INTRODUZIONE/BACKGROUND.** Lo screening neonatale è uno strumento essenziale per l'identificazione precoce di numerose malattie metaboliche. Alcune rappresentano una sfida poiché la carenza di biomarcatori sensibili e stabili nel tempo può portare a mancate diagnosi.

**METODI.** L'analisi è stata effettuata su spot di sangue raccolto a 48/72 ore di vita, mediante spettrometria di massa tandem, con kit Neobase2 (Revvity) e strumenti TQD (Waters) e QSight 210/225MD (Revvity).

**RISULTATI.** Dal 2015 ad oggi è stato eseguito lo screening neonatale su 291640 neonati del Veneto Orientale e del Friuli Venezia Giulia. Sono stati ritrovati 3 falsi negativi: un Difetto di Carnitina Palmitoil transferasi II (CPT2, incidenza 1:97213), non rilevato a causa della mancata inclusione del rapporto (C16C18:1)/C2 nel pannello dei marcatori di malattia, pari a 0,64umol/L e integrato successivamente con cut-off di 0,50; un Deficit di Acil-CoA deidrogenasi a catena molto lunga (VLCADD, incidenza 1:58328), risultato positivo al primo campione con C14:1=4,0umol/L (vn<0,4) e acilcarnitine alterate da C12 a C16 ma completamente normalizzato dopo un mese e mezzo; un caso di Acidemia glutarica di tipo I (GA1, incidenza 1:72910) "low excretor" che non presentava marcatori biochimici alterati nel periodo neonatale (C5DC=0,19umol/L, vn<0,31).

**DISCUSSIONE/CONCLUSIONI.** Le cause di falsa negatività possono essere molteplici. Nel nostro contesto l'inesperienza e l'assenza di biomarcatori efficaci hanno causato la mancata identificazione di 3 neonati patologici dandoci l'opportunità di comprendere le sfide dell'identificazione di tali patologie. Il ritrovamento della CPT2 ha portato all'integrazione del rapporto nel pannello dei marcatori di malattia. Il caso di VLCADD ha modificato il nostro approccio, dando priorità ai dati biochimici dei primi giorni di vita e all'analisi genetica. Il neonato con GA1 ha stimolato il medico a prestare maggiore attenzione ai dati clinici e neuroradiologici rispetto ai dati biochimici. È fondamentale ricordare che lo screening dei difetti della beta-ossidazione degli acidi grassi e della forma "low excretor" della GA1 può non essere infallibile. Ciò evidenzia l'importanza di identificare nuovi biomarcatori e di gestire con estrema cautela un risultato negativo dello screening in quei neonati che presentano una clinica sospetta.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

ID: 89 - Malattia di Pompe, malattia di Fabry e mucopolisaccaridosi di tipo I: oltre 10 anni di screening neonatale in Toscana

Daniela Ombrone<sup>1</sup>, Sabrina Malvagia<sup>1</sup>, Lorenzo Ferri<sup>2</sup>, Rodolfo Tonin<sup>2</sup>, Marta Daniotti<sup>3</sup>, Emanuela Scolamiero<sup>1</sup>, Giulia Forni<sup>1</sup>, Silvia Funghini<sup>1</sup>, Massimo Mura<sup>1</sup>, Marina Rinaldi<sup>2</sup>, Silvia Falliano<sup>2</sup>, Elena Procopio<sup>3</sup>, Amelia Morrone<sup>4</sup>, Giancarlo la Marca<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Newborn Screening, Clinical Biochemistry and Clinical Pharmacy Laboratory, Meyer Children's Hospital IRCCS, 50134 Florence, Italy., <sup>2</sup> Laboratory of Molecular Genetics of Neurometabolic Diseases, Neuroscience and Human Genetics Department, Meyer Children's Hospital IRCCS, 50134 Florence, Italy., <sup>3</sup> Metabolic and Muscular Unit, Meyer Children's Hospital IRCCS, 50134 Florence, Italy., <sup>4</sup> Department of Neuroscience, Psychology, Drug Research and Child Health (NEUROFARBA), University of Florence, 50134 Florence, Italy., <sup>5</sup> Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences "Mario Serio", University of Florence, 50134 Florence, Italy.

**Background:** La disponibilità di nuovi trattamenti e il miglioramento delle strategie di screening hanno reso alcune malattie da accumulo lisosomiale eleggibili per lo screening neonatale. Nel 2014 in Toscana e Umbria è stato avviato un progetto pilota triennale per lo screening neonatale di malattia di Pompe (PD), malattia di Fabry (FD) e mucopolisaccaridosi di tipo I (MPS I). Sulla base dei risultati ottenuti, dal 2018 la Toscana ha introdotto per legge lo screening neonatale di queste patologie, come parte del proprio programma regionale di screening neonatale. **Metodi:** Questo studio analizza i dati raccolti tra novembre 2014 e dicembre 2024. L'attività degli enzimi lisosomiali  $\alpha$ -glucosidasi acida (GAA, Pompe),  $\alpha$ -galattosidasi A (GAL-A, Fabry) e  $\alpha$ -L-iduronidasi acida (IDUA, MPS I) è stata dosata su DBS, con variazioni metodologiche nel tempo. Nei casi con ridotta attività enzimatica confermata al richiamo, sono seguite valutazione clinica e analisi molecolare. **Risultati:** 220.303 neonati sono stati sottoposti a screening. Tra i 384 campioni risultati positivi, 155 sono stati confermati con test enzimatico su leucociti (43 GAA, 68 GAL-A, 44 IDUA). L'analisi genetico-molecolare ha identificato 44 veri positivi: 18 con PD (un caso con forma infantile), 26 con FD (4 casi con forma classica) e nessun caso confermato di MPS I. Dal 2022, per i positivi allo screening IDUA è stato introdotto un second-tier test basato sul dosaggio di dermatan- e eparan-solfato su DBS, che ha significativamente ridotto il numero dei falsi positivi legati a pseudodeficit. L'incidenza stimata è risultata pari a 1:12.000 per PD e 1:8.500 per FD (1:55.000 per la forma classica). L'analisi genetica estesa alle famiglie ha permesso l'identificazione di pazienti Fabry e di portatori. **Conclusione:** Il nostro studio conferma la fattibilità ed efficacia dello screening neonatale per PD, FD e MPS I. L'indagine familiare, successiva alla diagnosi neonatale, permette di identificare pazienti presintomatici o non ancora diagnosticati, e migliorare la correlazione genotipo-fenotipo, in particolare in presenza di varianti nuove o di significato incerto.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 94 - Screening neonatale dei difetti di beta ossidazione degli acidi grassi: sei anni di esperienza nella regione Campania (2019-2024).**

**Roberta Fedele**<sup>1</sup>, Ferdinando Barretta<sup>1</sup>, Lucia Albano<sup>1</sup>, Daniela Crisci<sup>1</sup>, Giovanna Gallo<sup>1</sup>, Fabiana Uomo<sup>1</sup>, Rosa Redenta De Simone<sup>1</sup>, Vittoria Allegretti<sup>1</sup>, Fabiana Vallone<sup>1</sup>, Francesca Auriemma<sup>1</sup>, Silvia Di Tommaso<sup>1</sup>, Mariavittoria Esposito<sup>1</sup>, Mariagrazia Fisco<sup>1</sup>, Rossella Perfetto<sup>1</sup>, Sacchettini Rosa<sup>1</sup>, Mariarca Pontillo<sup>1</sup>, Simona Fecarotta<sup>2</sup>, Alessandro Rossi<sup>2</sup>, Marianna Alagia<sup>2</sup>, Giancarlo Parenti<sup>2</sup>, Giulia Frisso<sup>3</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>3</sup>

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

**Introduzione /background.** I disturbi della  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi (FAOD,) costituiscono un gruppo eterogeneo di malattie metaboliche ereditarie, causate da difetti della  $\beta$ -ossidazione mitocondriale degli acidi grassi o da alterazioni nel loro trasporto a livello mitocondriale. Ad oggi, sono stati descritti oltre 15 tipi distinti di FAOD, tra cui il più comune è il deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena media (MCADD). Le manifestazioni cliniche sono altamente variabili e possono includere cardiomiopatia, disfunzione epatica e ipoglicemia ipochetotica. I FAOD presentano una modalità di trasmissione autosomica recessiva e sono associati ad una significativa morbilità e mortalità. Tuttavia, la diagnosi precoce, resa possibile dallo screening neonatale (NBS)e l'avvio tempestivo del trattamento hanno determinato un importante miglioramento della qualità e dell'aspettativa di vita dei pazienti affetti. Il presente studio si propone di valutare l'incidenza e la prevalenza dei disturbi della  $\beta$  -ossidazione nella popolazione della regione Campania. **Metodi.** Dal 2019 al 2024 sono stati sottoposti a Screening Neonatale 256.000 neonati. I campioni di DBS, prelevati a 42/72 ore di vita, sono stati analizzati mediante spettrometria di massa tandem (FIA-MS/MS) presso il Laboratorio di Screening Neonatale, CEINGE-Biotecnologie avanzate Franco Salvatore. I casi risultati positivi all'analisi di primo livello sono stati presi in carico dal Centro Clinico di riferimento Regionale e confermati mediante analisi biochimiche e genetiche. **Risultati .**Su un totale di 256.000 neonati sottoposti a screening neonatale esteso (SNE), sono stati confermati 43 casi con diagnosi accertata di deficit di  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi, corrispondenti ad un'incidenza di 1:5953 nati. **Discussione / conclusioni.** L'incidenza dei neonati affetti da difetti della  $\beta$ -ossidazione nella regione Campania è pari a 1 ogni 5953 nati; un dato che risulta coerente con le stime nazionali. Tra le forme diagnosticate, il deficit di MCAD costituisce la percentuale più alta dei casi, confermandosi come la patologia più frequente tra le malattie metaboliche legate a un'alterata ossidazione degli acidi grassi.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 111 - Identificazione e caratterizzazione di nuove varianti genetiche in un neonato affetto da una rara forma di deficit di GALE: descrizione di un caso clinico** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Aurora Navicella**<sup>3</sup>, Rossella Ferrante<sup>1</sup>, Daniela Semeraro<sup>1</sup>, Sara Verrocchio<sup>1</sup>, Marianna Ranaudo<sup>2</sup>, Federico Anaclerio<sup>2</sup>, Susanna Di Valerio<sup>4</sup>, Silvia Di Michele<sup>4</sup>, Claudia Rossi<sup>3</sup>, Ines Bucci<sup>5</sup>, Valentina Gatta<sup>2</sup>, Liborio Stuppia<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Center for Advanced Studies and Technology (CAST), “G. D’Annunzio” University of Chieti-Pescara, Chieti, Italy, <sup>2</sup> Department of Neuroscience, Imaging and Clinical Sciences, University “G. D’Annunzio” of Chieti-Pescara, Chieti, Italy, <sup>3</sup> Department of Innovative Technologies in Medicine & Dentistry, University “G. D’Annunzio” of Chieti-Pescara, Chieti, Italy, <sup>4</sup> Department of Pediatrics, "Spirito Santo" Hospital, Pescara, Italy, <sup>5</sup> Department of Medicine and Aging Science, University "G. d’Annunzio" of Chieti-Pescara, Chieti, Italy

**Introduzione:** La galattosemia è una rara malattia metabolica ereditaria causata dal difetto di uno degli enzimi coinvolti nel metabolismo del galattosio. Il conseguente accumulo di metaboliti tossici può causare danni multisistemici. Sebbene la morbilità e la mortalità associate alla galattosemia possano essere in gran parte prevenute mediante una dieta priva di galattosio, alcune complicanze a lungo termine possono persistere nonostante l’intervento dietetico precoce. La galattosemia di tipo III, associata al deficit dell’enzima uridina difosfato-galattosio 4’-epimerasi (GALE), rappresenta una variante molto più rara. A seconda del grado di deficit enzimatico e della sua distribuzione tissutale, può manifestarsi in forma periferica, intermedia o generalizzata, quest’ultima con fenotipo clinico più severo. La galattosemia può essere diagnosticata alla nascita, anche in assenza di sintomi, grazie allo screening neonatale. Riportiamo il caso di un neonato identificato tramite screening neonatale per sospetta Galattosemia non-di tipo 1. Il paziente è stato quindi posto a dieta priva di galattosio e sottoposto a monitoraggio clinico e biochimico. Parallelamente sono state avviate indagini genetiche per la conferma molecolare della patologia.

**Metodi:** Per la conferma genetica dello screening neonatale sono stati eseguiti il sequenziamento dell’esoma clinico mediante Next Generation Sequencing (NGS) e successivo sequenziamento Sanger per la validazione delle varianti identificate.

**Risultati:** Il dosaggio biochimico ha evidenziato elevati livelli di galattosio totale, ma un’attività enzimatica normale dell’enzima galattosio-1-fosfato uridiltransferasi (GALT), l’enzima più comunemente coinvolto nella forma classica (tipo I). L’analisi genetica ha evidenziato uno stato di eterozigosi composta per le varianti c.924C>G e c.539C>T nel gene GALE. Secondo i più comuni database di classificazione, la variante c.924C>G è classificata come probabilmente patogenetica, mentre la variante c.539C>T è classificata come variante di significato incerto. Contestualmente è stato eseguito il dosaggio dell’enzima UDP-galattosio-4’-epimerasi, presso altro centro.

**Discussione:** Nel nostro caso clinico abbiamo descritto nuove varianti in eterozigosi composta associate al deficit di GALE, finora non caratterizzate in letteratura, e analizzato la correlazione genotipo-fenotipo attraverso un approccio multidisciplinare integrato.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 116 - Gestione delle complicanze scheletriche nella malattia di Gaucher: risultati di una survey multicentrica**

**Fabio Chesini**<sup>1</sup>, Annalisa Sechi<sup>2</sup>, Francesco Bertoldo<sup>1</sup>, Antonio Randon<sup>1</sup>, Nicola Vitturi<sup>3</sup>, Antonio Barbato<sup>4</sup>, Ludovico Luca Sicignano<sup>5</sup>, Claudia Sgattoni<sup>6</sup>, Natalia Scaramellini<sup>7</sup>, Simona Leoni<sup>7</sup>, Francesca Carubbi<sup>8</sup>, Giacomo Marchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Medicina d’Urgenza, AOUI Verona, <sup>2</sup> Centro di Coordinamento Regionale Malattie Rare, ASUFC Udine, <sup>3</sup> UOC Malattie del Metabolismo, AOUPD, <sup>4</sup> Malattie d’accumulo lisosomiale dell’adulto, AOU Federico II Napoli, <sup>5</sup> Fondazione Policlinico Universitario A. Gemelli IRCCS, <sup>6</sup> SOsD Genetica Medica e Coordinamento Malattie Rare, Ospedali Riuniti Marche, <sup>7</sup> SS Emoglobinopatie e disordini ereditari del metabolismo e del sistema immunitario, SC Medicina ad indirizzo Metabolico, Fondazione IRCCS Ca’ Granda Ospedale Maggiore Policlinico Milano, <sup>8</sup> UO Medicina Interna Metabolica, Ospedale Baggiovara AOU, Università di Modena e Reggio Emilia

La malattia di Gaucher (GD) è una patologia lisosomiale causata da una ridotta attività dell’enzima glucocerebrosidasi. Durante l’età adulta l’interessamento scheletrico riveste un ruolo centrale per il suo impatto clinico. Ridotta densità minerale ossea, osteolisi, osteonecrosi e deformità scheletriche sono tra le manifestazioni più rilevanti. La fisiopatologia delle complicanze scheletriche in età adulta è ancora poco chiara e mancano linee guida sul follow up ed il trattamento dell’osteoporosi in questi pazienti.

All’interno del Gdl-adulto SIMMESN è stato ideato un questionario che è stato inviato ai centri dell’adulto che seguono GD con l’obiettivo di descrivere l’approccio diagnostico-terapeutico adottato in tema di coinvolgimento

scheletrico di malattia.

Hanno riposto alla survey 8 centri italiani che seguono un totale di 193 pazienti con GD, di cui 179 con GD tipo I e 14 con GD tipo III. Considerando tutti i pazienti, nel 46.6% (90/193) è stata riportata una massa ossea nei limiti, nel 31.1% (60/193) osteopenia, e nel 11.4% (22/193) osteoporosi. Inoltre, nel 8.3% (16/1493) storia di frattura da fragilità e nel 6.7%(22/193) osteonecrosi. Per ciò che concerne la stadiazione del danno osseo, questa viene eseguita annualmente da 4/8 centri e ogni due anni dagli altri 4 centri. Da un punto di vista biochimico, tutti i centri utilizzano per il monitoraggio: calcemia, fosfatemia, PTH, ALP e vitamina D25OH; 7/8 utilizzano anche CTx, calciuria e fosfaturia delle 24 ore. Meno frequente l’uso di P1NP e calciuria su spot (3/8 e 1/8 rispettivamente). Inoltre, per la stadiazione strumentale, tutti i centri usano la DEXA lombare ed è prevalente l’uso di DEXA femore e RM femore e colonna (7/8). Meno frequente l’uso dell’Rx colonna (3/8). Per quanto riguarda le terapie: in 177/193 pazienti riceve il trattamento eziologico: terapia enzimatica sostitutiva (70.6%, 125), terapia di riduzione del substrato (29.4%, 37). In aggiunta: il 71.5% (138/193) dei pazienti è in terapia con colecalciferolo. Dei 22 pazienti con osteoporosi, 16 sono stati trattati con bifosfonati ed 1 con teriparatide.

Gli 8 centri intervistati riportano una disomogeneità per quanto riguarda la gestione del FU delle complicanze scheletriche del GD. In merito ai farmaci osteoattivi, l’uso di bifosfonati è comune, a differenza di nuovi farmaci come Denosumab o Romosozumab. Ulteriori studi sono necessari per valutare l’utilità di questi interventi sulle complicanze ossee del GD.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 118 - Digitalizzazione nello Screening Neonatale Esteso: l’Esperienza con la Piattaforma SNC in Regione Campania**

**Rosa Perfetto<sup>1</sup>**, Lucia Albano<sup>1</sup>, Daniela Crisci<sup>1</sup>, Giovanna Gallo<sup>1</sup>, Roberta Fedele<sup>1</sup>, Fabiana Vallone<sup>1</sup>, Annunziata Tramontano<sup>1</sup>, Mariapia Ottaiano<sup>1</sup>, Francesca Auriemma<sup>1</sup>, Rosa Sacchetti<sup>1</sup>, Silvia Di Tommaso<sup>1</sup>, Maria Grazia Fisco<sup>1</sup>, Maria Vittoria Esposito<sup>1</sup>, Mariarca Pontillo<sup>1</sup>, Alessia Corbo<sup>1</sup>, Annamaria Mottola<sup>1</sup>, Marco Benedetto<sup>2</sup>, Domenico Casillo<sup>2</sup>, Antonio D’Addio<sup>2</sup>, Stefano Tagliaferri<sup>2</sup>, Gaetano Cafiero<sup>2</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>3</sup>

<sup>1</sup> CEINGE Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore s.c.ar.l., Naples, <sup>2</sup> Kelyon s.r.l., Naples, <sup>3</sup> Department of Molecular Medicine and Medical Biotechnology, University of Naples “Federico II”, Naples, Italy.

Lo Screening Neonatale Esteso (SNE) è un programma di prevenzione per la diagnosi precoce di malattie metaboliche ereditarie, spesso asintomatiche alla nascita. Una diagnosi tempestiva consente l’avvio di trattamenti specifici che prevengono danni irreversibili per il neonato. La gestione manuale delle fasi operative può comportare inefficienze riducendo l’efficacia dell’intervento terapeutico. Una piattaforma web integrata ha assicurato una maggiore efficienza, qualità e sicurezza in tutto il processo diagnostico. Integrata nell’ecosistema digitale SINFONIA (Sistema INFormativo saNità campanIA), la piattaforma Screening Neonatale Campania (SNC) mette in comunicazione il Centro Unico Regionale di screening neonatale del CEINGE – Biotecnologie Avanzate – Franco Salvatore, 58 punti nascita e 18 terapie intensive neonatali (TIN) in tutta la regione. La piattaforma, inoltre, connette con il laboratorio anche i centri clinici di riferimento che prendono in carico il neonato in caso di positività ai test biochimici. SNC digitalizza l’intero processo: registrazione, tracciabilità, refertazione, segnalazione ai centri di riferimento e monitoraggio degli indicatori di qualità secondo i livelli essenziali di assistenza (LEA). Dal 2019 al 2024, sono stati registrati 269,093 campioni, relativi a 226,659 neonati. 1,596 neonati (0.70%) hanno mostrato un’alterazione dei valori dei biomarcatori al test di screening. La condizione più riscontrata ai test biochimici è stata HPA/PKU Iperfenilalaninemia/Fenilchetonuria (n=125), 3MCC – Deficit di 3-metilcrotonil-CoA carbossilasi (n=69), seguita da MMA – Acidemia Metilmalonica (n=36). Sono stati rilevati 6,597 (2.45%) campioni non conformi, principalmente per insufficienza di gocce (n=5,023; 76.1% dei non conformi). L’introduzione di SNC ha rappresentato un’evoluzione strategica nella gestione dello screening. La digitalizzazione ha migliorato la tracciabilità dei campioni, la tempestività nella condivisione dei referti e la sorveglianza degli indicatori di qualità. Il sistema consente una gestione centralizzata, trasparente e sicura delle informazioni, favorisce la cooperazione tra i nodi della rete, il CEINGE e i centri di riferimento clinici e supporta la governance sanitaria con il monitoraggio in tempo reale delle performance. Un processo digitalizzato consente, infatti, una maggiore efficienza operativa del processo dello screening neonatale.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 123 - Sferocitosi ereditaria: una causa di falso positivo allo screening neonatale per difetti del metabolismo**

della vitamina B12

**Agnese De Giorgi**<sup>1</sup>, Teresa Giovanniello<sup>2</sup>, Silvia Santagata<sup>2</sup>, Manuela Tolve<sup>2</sup>, Valentina Fedele<sup>2</sup>, Francesco Pisani<sup>1</sup>, Antonio Agneloni<sup>2</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>1</sup>, Claudia Carducci<sup>2</sup>, Francesca Nardecchia<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

**Introduzione / Background:** La propionilcarnitina (C3) è uno dei principali marcatori utilizzati nello screening neonatale esteso (SNE) per l’identificazione dei disordini del metabolismo del propionato. Tuttavia, la sua specificità è limitata, con un’elevata incidenza di falsi positivi associati a situazioni quali deficit materno di vitamina B12, prematurità o stress metabolico del neonato. L’introduzione di analiti di secondo livello, come l’acido metilmalonico (MMA) e l’omocisteina totale (tHcy), ha migliorato il valore predittivo positivo dello SNE. Nonostante questi progressi, l’identificazione dei difetti congeniti del metabolismo della vitamina B12 rappresenta ancora una sfida diagnostica.

**Metodi:** Descriviamo il caso di una neonata segnalata dallo SNE per sospetto difetto del metabolismo della vitamina B12, risultata affetta da sferocitosi ereditaria.

**Risultati:** La paziente è stata inviata presso il Centro Clinico per elevazione di C3 (3,9 µmol/L; v.n. < 2,6) e MMA su DBS (5,8 µmol/L; v.n. <0,9). I successivi accertamenti evidenziavano valori di vitamina B12 nel range basso (290 pg/ml; v.n. 177–802) e valori alterati di tHcy (13,6 µmol/L; v.n. 3,3–8,3) e MMA urinario (91,6 mmol/mol creatinina; v.n. 0,4–23). Alla supplementazione con cianocobalamina non seguiva una normalizzazione dei parametri metabolici, che invece si ottenne transitoriamente con idrossicobalamina. Le analisi genetiche per i principali difetti del metabolismo della B12 (*MMAA*, *MMAB*, *MMACHC*, *MMADHC*, *MUT*) risultavano negative. Successivamente, alla luce del persistere delle alterazioni di C3 associate a lieve anemia e iperbilirubinemia con aumento di ferro, ferritina, RDW e reticolociti, veniva avviato uno studio morfologico dei globuli rossi che evidenziava anisopoichilocitosi con microsferociti ed echinociti. Le curve di resistenza osmotica confermavano un’alterazione della membrana eritrocitaria, compatibile con sferocitosi ereditaria.

**Discussione / Conclusioni:** Il turnover eritrocitario aumentato, tipico della sferocitosi ereditaria, può determinare una maggiore richiesta di vitamina B12 e indurne una carenza funzionale, con accumulo secondario di C3, MMA e tHcy. È quindi fondamentale considerare cause alternative nei neonati con anomalie metaboliche persistenti e test genetici negativi, per evitare diagnosi errate e trattamenti non necessari.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 124 - NUOVE POTENZIALITÀ PER LO SCREENING NEONATALE: RAPPORTO TRA METABOLOMICA E LESIONI ALLA RM ENCEFALO NEL NEONATO PRETERMINE.**

**Marco Scaglione**<sup>1</sup>, Sara Pessano<sup>2</sup>, Stefano Mariani<sup>1</sup>, Francesca Nastasia Perri<sup>3</sup>, Paolo Massirio<sup>4</sup>, Francesca Cappozzo<sup>1</sup>, Luca Antonio Ramenghi<sup>4</sup>, Maria Cristina Schiaffino<sup>3</sup>

<sup>1</sup> DINOGLI, Università degli studi di Genova, Genova, Italia, <sup>2</sup> IRCCS Giannina Gaslini, Unità di Biostatistica, Genova, Italia, <sup>3</sup> IRCCS Giannina Gaslini, Clinica Pediatrica ed Endocrinologia, Genova, Italia, <sup>4</sup> IRCCS Giannina Gaslini, Unità di Terapia Intensiva Neonatale, Genova, Italia

**INTRODUZIONE/BACKGROUND:**

Un risvolto meno noto dello screening neonatale esteso (SNE) è la possibilità di avere informazioni riguardanti lo stato nutritivo-metabolico di ogni neonato. I nati pretermine Very Low Birth Weight (VLBW) risultano potenzialmente a rischio di complicanze nel periodo post-natale, tra cui lo sviluppo di lesioni encefaliche caratteristiche visualizzabili poi all’RM encefalo. Lo scopo del nostro lavoro è utilizzare in modo innovativo i dati provenienti dallo SNE per valutare la presenza di eventuali fattori di rischio per lo sviluppo di lesioni alla RM encefalo nei nati pretermine VLBW.

**METODI:**

Sono stati inclusi 155 neonati pretermine con peso alla nascita <1500g (VLBW) nati tra il 1/05/2021 e il 31/12/2023. Tra i vari Dried Blood Spot previsti dalla procedura operativa di Protocollo Speciale ne abbiamo selezionati tre: 48-72h di



vita (T0), 30 gg di vita (T1) e il campionamento conclusivo (T2, raggiunti i 1800g). Per ogni prelievo sono stati selezionati 57 metaboliti tra aminoacidi e acilcarnitine. Per ogni neonato è stata valutata la presenza di vari tipi di lesioni alla RM encefalo effettuata a 37 EG: emorragia della matrice germinativa (GMH), emorragia intraventricolare (IVH), lesioni della sostanza bianca e lesioni puntate della sostanza bianca.

**RISULTATI:**

Per quanto riguarda il campionamento T0, è emersa una correlazione statisticamente significativa tra un incrementato livello di Tirosina e tutti i 4 tipi di lesioni di RM Encefalo studiati. Altra correlazione statisticamente significativa è stata trovata tra ridotti livelli di C0 (carnitina libera) e lo sviluppo di GMH e IVH. Dopo la regressione logistica, nessuna di queste correlazioni è risultata persistere. Anche per quanto riguarda i campionamenti T1 e T2, nessuna correlazione statisticamente significativa è risultata persistere dopo la regressione logistica delle variabili.

**DISCUSSIONE/CONCLUSIONI:**

Nell'intento di riproporre questo tipo di studio, potrebbe risultare utile una raccolta dati su scala multicentrica ai fini di migliorare la potenza del campione, visto l'elevato numero di variabili analizzate. Potrebbe essere interessante anche rivalutare il ruolo eventualmente patogenetico dell'elevata tirosinemia al tempo T0 (verosimilmente riferibile alla nota transitoria immaturità enzimatica del pretermine), associata a neurotossicità in alcuni modelli sperimentali.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 126 - Applicazione del WES nello Screening Neonatale: risultati preliminari dal progetto OMNISAFE (Lombardia)** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Clarissa Berardo<sup>1</sup>, Francesca Fiumani<sup>1</sup>, Alessia Mauri<sup>1</sup>, Alessandra Vasco<sup>1</sup>, Simona Lucchi<sup>1</sup>, Joranda Ceku<sup>1</sup>, Carola Sanguinazzi<sup>1</sup>, Diana Postorivo<sup>1</sup>, Cristina Montrasio<sup>1</sup>, Stephana Carelli<sup>1</sup>, Cristina Cereda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di genomica funzionale, malattie rare e screening neonatale, Ospedale dei Bambini “V. Buzzi”, Milano, Italia

**Introduzione:** Lo screening neonatale esteso (SNE) consente l'identificazione di un gruppo di malattie metaboliche ereditarie (MME) in neonati ancora asintomatici. Tuttavia, il percorso diagnostico a seguito di un risultato positivo allo SNE può risultare prolungato, in quanto sono inclusi test di conferma e valutazioni specialistiche. Per questo, il progetto OMNISAFE, finanziato da Regione Lombardia, propone l'integrazione dell'approccio genetico, mediante esoma, eseguito direttamente su DBS risultati positive allo SNE.

**Metodi:** Il sequenziamento dell'esoma (WES) è stato eseguito su DNA genomico estratto da DBS di neonati positivi allo SNE. Le librerie sono state preparate con Twist Exome 2.0 plus Comprehensive Exome Spike e sequenziate su NextSeq2000 (Illumina). L'analisi è stata effettuata utilizzando un pannello virtuale di 112 geni correlati alle MME tramite il software eVAI. Le varianti sono state classificate secondo i criteri ACMG.

**Risultati:** Nei primi sei mesi del progetto OMNISAFE, sono stati sottoposti a screening circa 30.000 neonati. Il WES è stato eseguito su 99 DBS di neonati risultati positivi allo SNE e indirizzati alla valutazione clinica. L'analisi genetica ha rivelato che 13 neonati erano portatori di varianti in omozigosi, e 16 risultavano essere eterozigoti composti. In 41 casi è stata rilevata una singola variante eterozigote, mentre in 29 casi non sono state identificate varianti genetiche. Il flusso di lavoro, incluse le analisi biochimiche e genetiche, richiede 6 giorni, di cui la componente genetica viene completata in 4 giorni lavorativi.

**Discussione e Conclusioni:** Questi risultati dimostrano la fattibilità di eseguire routinariamente l'analisi WES da DBS e ne evidenziano il potenziale nel completare o chiarire rapidamente i risultati biochimici dello SNE. Sulla base dei nostri dati, solo 29/99 casi sarebbero stati indirizzati ai centri clinici; gli eterozigoti non affetti sarebbero stati avviati a un percorso alternativo (consulenza genetica), mentre i neonati geneticamente negativi avrebbero potuto essere esclusi da ulteriori procedure diagnostiche. Complessivamente, questi dati sottolineano il valore dell'integrazione dei dati genetici nel percorso dello SNE come strategia efficace per aumentare la sensibilità dello SNE e ridurre lo stress dei genitori. Tuttavia, il flusso di lavoro proposto verrebbe applicato ai casi non classificati come ad alto rischio, per i quali rimane essenziale l'invio al centro clinico immediato.

**ID: 127 - Ipermetioninemia da Deficit di Metionina Adenosiltransferasi a Trasmissione Dominante: Aspetti clinici e metabolici. Esperienza del Centro Screening Neonatale di Palermo** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Laura Santoro**<sup>1</sup>, Rosaria Amodeo<sup>1</sup>, Ildegarda Campisi<sup>1</sup>, Stefania Graci<sup>1</sup>, Vincenzo Bellavia<sup>1</sup>, Antonella Di Fiore<sup>2</sup>, Loredana Lazzaro<sup>1</sup>, Tommaso Silvano Aronica<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Diagnostica Avanzata –U.O.S. Pat.Clin. Ped. Lab CSNE, Ospedale Pediatrico G. di Cristina, Palermo, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Malattie Metaboliche-CCR- SNE, Ospedale Pediatrico G. di Cristina, Palermo, Italia

**Introduzione** Descriviamo due casi di ipermetioninemia da deficit di metionina adenosiltrasferasi (MATD) isolata, persistente, a trasmissione dominante identificati allo SNE. MAT catalizza il trasferimento del gruppo adenosile dell'ATP alla metionina per formare Sadenosilmetionina, fonte di gruppi metilici nelle reazioni di metilazione. La forma dominante è comunemente associata al deficit dell'isoenzima epatico MATI. Il fenotipo varia da forme benigne a forme con deficit neurologici gravi. **Metodi** L'analisi degli spot (DBS) è stata eseguita tramite FIA-MS/MS. I test di conferma hanno incluso HPLC (aminoacidi e omocisteina plasmatica) e GC-MS (acidi organici urinari). L'analisi genetica è stata condotta mediante resequencing di esoni e siti di splicing dei geni target. **Risultati** Entrambi i casi, sesso diverso, etnia slava, sono stati identificati allo SNE per moderato aumento di metionina, confermato su plasma. Il caso 1 mostrava omocisteina plasmatica (HCY) normale e lieve incremento di ac. metilmalonico urinario (MMA), normalizzato ai successivi controlli. Il sequenziamento di MAT1A ha permesso l'identificazione della variante rara c.632A>G in eterozigosi, classificata VUS. Il caso 2 presentava un lieve aumento di MMA e HCY con lieve riduzione della Vit.B12, normalizzati dopo alimentazione con formula. Aumento isolato della bilirubina ad un mese di vita. Con l'analisi molecolare è stata identificata la SNV c.791G>A in eterozigosi nel gene MAT1A, classificata patogenetica. L'analisi in silico supporta che questa variante altera la dimerizzazione proteica, riducendo l'attività enzimatica. In entrambi i casi i livelli di metionina hanno avuto un trend in aumento nei primi 40 giorni senza mai superare 250 µmol/l su plasma. Follow-up a 2 anni (caso 2): obiettività clinica negativa in assenza di restrizioni dietetiche. **Conclusioni** I nostri due casi di MATD, identificati allo SNE, non hanno presentato sintomi clinici e non è stato necessario un intervento terapeutico. Le indicazioni per un trattamento dietetico a basso contenuto di Met rimangono oggetto di dibattito ed è solitamente raccomandato solo per valori superiori a 500 µmol/L. È noto che il danno al sistema nervoso centrale sia più probabile quando i livelli di MET superano gli 800 µmol/L dopo i 5 mesi di età. Questi casi dimostrano l'efficacia dello SNE nel rilevare l'ipermetioninemia ad eredità dominante e può essere diagnosticata combinando gli indici biochimici con i risultati dei test genetici

**ID: 129 - DEFICIT DI UDP-GALATTOSIO EPIMERASI: 3 CASI IDENTIFICATI AL CENTRO SCREENING NEONATALE DELLA SICILIA OCCIDENTALE** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Stefania Graci**<sup>1</sup>, Rosaria Amodeo<sup>1</sup>, Laura Santoro<sup>1</sup>, Maria Pitrone<sup>1</sup>, Marina Caserta<sup>2</sup>, Cinzia Castana<sup>2</sup>, Giuseppina Calagna<sup>1</sup>, Tommaso Silvano Aronica<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Diagnostica Avanzata –U.O.S. Pat.Clin. Ped. Lab CSNE, Ospedale Pediatrico G. di Cristina, Palermo, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Malattie Metaboliche-CCR- SNE, Ospedale Pediatrico G. di Cristina, Palermo, Italia

**Introduzione** Il deficit di UDP-galattosio 4'-epimerasi (GALE) è un disturbo metabolico ereditario che compromette la conversione di UDP-galattosio in UDP-glucosio, fondamentale per il metabolismo del glicogeno. La manifestazione clinica varia da forme "generalizzate" severe, ad esordio neonatale, a forme "periferiche" meno gravi, spesso benigne e tessuto-specifiche. Ad oggi in Italia è possibile identificare il deficit GALE attraverso lo screening neonatale come diagnosi differenziale con la galattosemia classica, consentendo interventi terapeutici rapidi per prevenire gravi complicanze. **Metodi** I valori di Galattosio totale (TGAL) su spot di sangue essiccato (DBS) sono stati determinati tramite immunofluorescenza a tempo risolto e l'attività GALT con metodo enzimatico semiquantitativo. La ricerca di mutazioni nei geni target è stata eseguita con NGS e confermata con Sanger. **Risultati:** Dal 2022, presso il CSN della Sicilia Occidentale sono stati identificati 3 casi di deficit di GALE su 50.330 neonati, con un'incidenza di 1:16.776. Tutti i casi presentavano TGAL elevato (x<sub>med</sub>=16.8 mg/dl) e GALT nella norma. Il sequenziamento del gene GALE ha permesso l'identificazione di 3 eterozigoti composti: Caso 1 caucasico: 2 SNV probabilmente patogenetiche, di cui una

missenso (c.755T>C) ed una associata a forma periferica (c.658C>T). Caso 2 africano: 2 VUS potenzialmente patogenetiche di cui c.956G>A comunemente riscontrata in pazienti africani con forma periferica e la c.23C>T mai riportata nella popolazione africana. Caso 3 africano: variante c.770A>G riportata in pazienti afroamericani con deficit di GALE periferico paucisintomatico e la VUS c.267G>A mutazione silente (Ala89Ala) che cade nel sito di splicing. **Discussioni** Al follow-up, nessuno dei casi ha mostrato anomalie cliniche o strumentali significative. Il numero limitato di casi identificati rende difficile stabilire forti correlazioni genotipo-fenotipo definitive per il deficit di GALE. La forma generalizzata beneficia di una dieta povera di galattosio/lattosio per prevenire sintomi acuti. Per le forme intermedie o periferiche, una restrizione alimentare durante l’infanzia è raccomandata per prevenire complicanze a lungo termine, ma mancano ancora dati sufficienti per formulare raccomandazioni conclusive e standardizzate. Per una diagnosi di precisione sarebbero utili test biochimici aggiuntivi per differenziare le tre forme di deficit di GALE.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 130 - Il nuovo percorso per lo screening neonatale dell’Ipotiroidismo Congenito (IC) nella Sicilia Occidentale**  
(L’abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Rosaria Amodeo**<sup>1</sup>, Laura Santoro<sup>1</sup>, Letizia Cocciadiferro<sup>1</sup>, Stefania Graci<sup>1</sup>, Filippa Lo Cascio<sup>1</sup>, Giulia Narisi Varsalona<sup>1</sup>, Maria Cristina Maggio<sup>2</sup>, Tommaso Silvano Aronica<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Diagnostica Avanzata –U.O.S. Pat.Clin. Ped. Lab CSNE, Ospedale Pediatrico G. di Cristina, Palermo, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento Universitario PROMISE UNIPA, Palermo, Italy

**INTRODUZIONE** Il programma di prevenzione dell’IC inizia con lo SNE e prosegue con conferma diagnostica, follow-up. Ad oggi, tra i Centri SNE italiani, emergono differenze relative alla strategia, alla definizione dei cut-off, all’applicazione dei protocolli speciali e alla presa in carico del neonato positivo da parte del CCR-IC. La riduzione del cut off del TSH e la progressiva adozione dei protocolli speciali per fattori di rischio associati, ha consentito l’individuazione di un maggior numero di forme mild e transitorie e di identificare un ritardato innalzamento del TSH, aumentando l’efficacia del programma di screening. **METODI** I livelli di TSH su DBS sono stati determinati con metodo fluoroimmunologico a tempo risolto. I cut-off sono stati calcolati da un dataset di 67746 nati e differenziati per peso, età gestazionale ed età al prelievo. I dati relativi a 5880 nuovi nati, sono stati analizzati per valutare l’efficacia della nuova strategia di screening dell’ IC che prevede il dosaggio di TSH sulla terza DBS-Card per valori borderline sulla seconda, solo se rientra nel timing diagnostico. Il numero delle consulenze è stato utilizzato come indicatore. **RISULTATI** 364 normopeso su 5880 nati, hanno presentato valori di TSH>6 (cut off) al primo test. Tra i 61 confermati al recall, 28 hanno avuto 5≤TSH≤7 (borderline) sul secondo spot. Tre erano protocollo speciale pretermine, per i restanti 25 è stata richiesta la terza DBS-card: 6 sono risultati positivi al terzo spot ed inviati al CCR. Tra i 364 positivi, un caso con valore borderline al primo spot (TSH 5.9), in assenza di fattori di rischio, ha presentato un valore positivo al richiamo (TSH 13) ed un TSH su siero di 75µU/mL alla consulenza. Solo in tre casi i livelli di TSH sono risultati critici (≥20) al primo dosaggio. In tutti e tre i casi è stata posta diagnosi di IC entro il 10 giorno di vita. **DISCUSSIONE** L’implementazione di questa strategia per lo SNE-IC, con cut-off differenziati ed un algoritmo decisionale più mirato per i richiami, ha ottimizzato il percorso diagnostico, mantenendo un’elevata sensibilità diagnostica e migliorando la specificità in quanto le consulenze specialistiche non necessarie (falsi positivi) sono state significativamente ridotte. Inoltre, l’identificazione anche di un solo caso di IC, che ha permesso l’inizio precoce del trattamento terapeutico, a nostro avviso, giustifica la scelta del cut-off iniziale, seppure tra i più’ bassi, rispetto ad altri Centri italiani.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 140 - Programmi di screening neonatale in Regione Puglia: un possibile approccio multi-omico.**

**Paola Orsini**<sup>1</sup>, Cristina Bartolomeo<sup>1</sup>, Roberta Bucci<sup>1</sup>, Rosa Buonamassa<sup>1</sup>, Mauro De Guglielmo<sup>1</sup>, Romina Ficarella<sup>1</sup>, Emanuela Ponzi<sup>1</sup>, Francesco Nicola Riviello<sup>1</sup>, Carlotta Ranieri<sup>1</sup>, Simonetta Simonetti<sup>2</sup>, Marialuisa Valente<sup>1</sup>, Albina Tummolo<sup>2</sup>, Mattia Gentile<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Genetica Medica , Ospedale Di Venere, ASL Bari, Bari, <sup>2</sup> UOC Malattie Metaboliche e Genetica Medica, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, Azienda Consorziale Policlinico di Bari, Bari

**Introduzione.** Il percorso di screening neonatale (NBS) operativo in Puglia comprende tutte le patologie previste dalla Legge 167/2016 e otto malattie metaboliche previste dalla DGR 17/2022. Il “Progetto Genoma Puglia” (PGP) è un

programma di screening genomico su base volontaria che prevede la analisi di 407 geni per circa 500 patologie rare, di cui 150 errori congeniti del metabolismo (ECM). Scopo dello studio è stato sviluppare una strategia rapida ed accurata per la diagnosi precoce di ECM basata sulla integrazione dei due approcci. **Metodi:** Per NBS è stata utilizzata metodica non butilata, con kit certificati e spettrometria di massa tandem (MS/MS). I valori di cut-off sono stati stabiliti in base ai dati ricavati dalla popolazione di neonati sani ed aggiornati ciclicamente. Per PGP è stato utilizzato un approccio di targeted-gene sequencing, valutando varianti note e predette come patogenetiche/probabilmente patogenetiche (P/LP); varianti di significato incerto (VoUS) sono state analizzate per condizioni recessive se presente una variante P/LP. I dati metabolici e genomici sono stati analizzati separatamente e successivamente integrati seguendo una flowchart stabilita da un protocollo interno che definisce tempi e modalità di richiamo e gestione dei risultati. **Risultati:** Confrontando i dati SNE con i dati PGP sono stati identificati 35 neonati così suddivisi: 21 con SNE positivo e varianti P/LP in PGP, 2 negativi al secondo richiamo con PGP negativo, 12 presunti positivi in PGP, o con SNE negativo (8) o con SNE borderline (4, associati a forme lievi o ad esordio tardivo). L'origine monoparentale delle varianti o il ruolo non causativo di varianti LP o VoUS potrebbe spiegare la discrepanza tra PGP e SNE. Per le malattie lisosomiali, 6 degli 8 casi analizzati presentavano concordanza con il dato genomico. **Discussione/conclusioni:** L'integrazione di PGP e SNE ha permesso: 1) lo sviluppo di una strategia accurata per la diagnosi precoce e la rapida presa in carico del paziente e della famiglia 2) la possibilità di rivalutare varianti VoUs o LP attraverso supporto biochimico, riducendo i falsi positivi e negativi delle due metodiche. Pertanto l'approccio multi-omico potrebbe rivelarsi uno strumento essenziale nel campo degli screening neonatali, offrendo una maggiore precisione diagnostica, snellendo il percorso gestionale e riducendo significativamente i tempi di diagnosi

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 141 - Un approccio di Machine Learning per l'ottimizzazione del processo di screening neonatale** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Maria Lucia Tommolini<sup>1</sup>**, Remo Petruccioli<sup>1</sup>, Maria Concetta Cufaro<sup>1</sup>, Silvia Valentinuzzi<sup>1</sup>, Mirco Zucchelli<sup>1</sup>, Ilaria Cicalini<sup>1</sup>, Alberto Frisco<sup>1</sup>, Gessica Di Carlo<sup>1</sup>, Luca Natale<sup>1</sup>, David Perpetuini<sup>1</sup>, Maurizio Aricò<sup>1</sup>, Ines Bucci<sup>1</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>, Luca Federici<sup>1</sup>, Damiana Pieragostino<sup>1</sup>, Sara Moccia<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Università degli Studi “G. d’Annunzio” Chieti-Pescara

**Background:** Dal 2019, il laboratorio di Screening Neonatale (SN) della regione Abruzzo ha analizzato circa 50.000 campioni, di cui l'8,9% ha richiesto test di secondo livello, con un tasso di richiamo del 2,79%, lo 0,5% ha necessitato di conferma diagnostica e lo 0,16% ha infine ricevuto una diagnosi positiva. Come noto, diversi fattori tra cui influenze ambientali, farmaci, variabili materne e neonatali possono contribuire all'elevato tasso di falsi positivi. Al fine di migliorare il processo diagnostico, abbiamo deciso di analizzare l'intero dataset ottenuto dalle analisi di SN impiegando un approccio di Machine Learning (ML).

**Metodi:** I test di SN sono stati eseguiti mediante tecniche immunofluorimetriche e spettrometria di massa tandem a flusso continuo (FIA-MS/MS). Analizzando l'intero dataset (50.000 neonati), sono stati raccolti i risultati delle analisi di SN insieme a variabili cliniche e demografiche. Abbiamo dunque esaminato numerosi biomarcatori e caratteristiche del paziente utilizzando un approccio di ML con l'algoritmo eXtreme Gradient Boosting (XGBoost). Il modello ha l'obiettivo di stabilire se un neonato sia potenzialmente affetto da patologia (Disease = 1) oppure sano (No Disease = 0). Il campione di studio è stato suddiviso in set di addestramento (80%) e set di test (20%), garantendo una rappresentazione bilanciata di entrambe le classi.

**Risultati:** Facendo riferimento, ad esempio, all'anno 2021, per la classe 0 la precisione è risultata pari a 0,99 e il recall a 1,00, con un F1-score di 0,99. Per la classe 1, la precisione era 0,89 e il recall 0,72, con un F1-score pari a 0,80. L'accuratezza complessiva raggiunta è stata del 99%. Le variabili più importanti ai fini predittivi sono risultate essere IRT (ng/mL di sangue), C0/(C16 C18)(-), Met/Phe(-) e C3 (µmol/L).

**Discussione:** Considerando le variabili cliniche ed i numerosi biomarcatori, abbiamo applicato un approccio di ML per identificare gli Errori Congeniti del Metabolismo in modo più efficace rispetto ai metodi tradizionali. I risultati valutati dal 2019 al 2024 mostrano che il modello ha raggiunto un'accuratezza del 99%, indicando alte prestazioni nella distinzione tra neonati affetti e sani. L'analisi dell'importanza delle variabili ha inoltre dimostrato la possibilità di valutare quali parametri clinici e biomarcatori influenzano maggiormente il processo di SN.

**ID: 143 - Screening Neonatale Esteso: messa a punto e validazione di un pannello NGS per la conferma molecolare su DBS**

**Manuela Tolve**<sup>1</sup>, Amelia Pasquali<sup>1</sup>, Fiammetta Sorge<sup>1</sup>, Cristiana Artiola<sup>1</sup>, Arianna Malgieri<sup>1</sup>, Teresa Giovanniello<sup>1</sup>, Annamaria Gigliello<sup>3</sup>, Sabrina Prudente<sup>2</sup>, Antonio Angeloni<sup>2</sup>

<sup>1</sup> UOC Patologia Clinica, Laboratorio Screening Neonatale e Malattie Genetico-Metaboliche, AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>2</sup> UOC Patologia Clinica, Laboratorio Screening Neonatale e Malattie Genetico-Metaboliche, AOU Policlinico Umberto; Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Roma Sapienza, <sup>3</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Roma Sapienza

**Introduzione**

La conferma diagnostica tempestiva, accurata e specifica risulta sempre più strategica nell’ambito dello Screening Neonatale Esteso (SNE) e della presa in carico dei pazienti positivi. In questo contesto, le tecnologie di sequenziamento di nuova generazione (NGS) hanno assunto un ruolo centrale. Nel nostro Centro (Laboratorio di Screening Neonatale e Conferma Diagnostica della Regione Lazio) è stato sviluppato e validato un pannello NGS custom per l’analisi del DNA estratto da spot di sangue (DBS), con cui è possibile analizzare 132 geni, di cui ~120 direttamente correlati a patologie rilevabili dallo SNE, per la conferma molecolare dei casi positivi allo Screening Neonatale.

**Metodi**

Il DNA genomico è stato estratto da DBS e sangue periferico mediante i kit QIASymphony DNA Mini e Midi (Qiagen). Il pannello è stato disegnato per coprire esoni, siti di splicing, regioni introniche profonde sito di mutazioni note, UTRs e tutti i trascritti MANE incluse altre isoforme. Le librerie sono state preparate con DNA Prep with Enrichment (Illumina) e sonde custom su GRCh37/hg19, mediante protocollo modificato. Il sequenziamento è stato eseguito su piattaforma Illumina MiSeq (2×150 bp). L’analisi bioinformatica è stata effettuata mediante IGV, Sophia DDM v4 e Varsome Clinical v13.

**Risultati**

La validazione è stata condotta su 63 campioni di DNA (44 da sangue intero, 19 da DBS, 6 in doppio) con 14 replicati. Per 34 campioni è stata confermata la presenza di varianti patogenetiche precedentemente identificate con metodo Sanger; per 26, è stata invece confermata la negatività. In 6 campioni sono state identificate nuove varianti confermate successivamente con metodo Sanger. Su 316.348 bp esaminate sono state rilevate 254 varianti (SNV patogenetiche o benigne), oltre a 2 varianti adiacenti nello stesso codone e 15 piccole indel. Sensibilità e specificità analitiche sono risultate superiori al 99%. Il pannello è stato quindi utilizzato per la conferma diagnostica di ~90 pazienti positivi allo SNE, inclusi casi di MCC e CUD materne.

**Conclusioni**

La metodica NGS validata è risultata affidabile e applicabile su DNA da DBS e si conferma uno strumento diagnostico efficace per la conferma dei positivi allo SNE, migliorando l’accuratezza diagnostica e la tempestività di intervento terapeutico e di presa in carico rispetto al sequenziamento Sanger, soprattutto per quelle patologie caratterizzate da elevata eterogeneità genetica.

**ID: 145 - Analisi della fase preanalitica nello screening neonatale: Survey multicentrica sugli errori procedurali e strategie di miglioramento nella Regione Abruzzo.**

**Luca Natale**<sup>1</sup>, Ilaria Cicalini<sup>1</sup>, Mirco Zucchelli<sup>1</sup>, Maria Concetta Cufaro<sup>1</sup>, Alberto Frisco<sup>1</sup>, Maria Lucia Tommolini<sup>1</sup>, Ines Bucci<sup>1</sup>, Luca Federici<sup>1</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>, Damiana Pieragostino<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center for Advanced Studies and Technology (CAST), Università degli Studi G. d’Annunzio di Chieti.

**Background.** La fase preanalitica dello screening neonatale è essenziale per l’accuratezza dei risultati, ma è anche la più suscettibile ad errori che possono compromettere l’efficacia complessiva dello screening. La gestione efficace e l’adozione di buone pratiche cliniche sono cruciali per garantire la qualità dei risultati e per ottenere certificazioni di qualità nei servizi sanitari. **Metodi.** La survey è stata condotta utilizzando un questionario distribuito ai 169 infermieri dei nove punti nascita della Regione Abruzzo, allo scopo di valutare la consapevolezza e le pratiche infermieristiche correnti in relazione alla gestione preanalitica, ricontestualizzandolo alle malattie oggetto di screening regionale. I dati raccolti sono stati analizzati statisticamente tramite il software GraphPad. **Risultati.** L’analisi dei dati ha evidenziato come gli errori più comuni nella fase preanalitica includano raccolta impropria del campione, mancato rispetto dei protocolli speciali ed errata compilazione delle informazioni anamnestiche. In particolare, gli errori principali si verificano nel prelievo, nel mancato rispetto dei tempi di digiuno e nei ritardi nella raccolta. Il questionario ha inoltre rivelato una scarsa consapevolezza del personale infermieristico circa gli errori preanalitici, con procedure non sempre adeguate come la mancata esecuzione del prelievo post-exitus e post-trasferimento, la segnalazione dell’infusione con glucosata al centro screening, la raccolta di più gocce di sangue nello stesso punto del cartoncino. Inoltre, è stata riscontrata un’alta percentuale di errori nei reparti ad alto rischio di stress, come le terapie intensive neonatali. **Discussione.** I risultati della survey sottolineano l’urgenza di rafforzare la fase preanalitica all’interno degli screening neonatali, evidenziando lacune che possono compromettere la qualità e l’affidabilità dei risultati. Per affrontare queste criticità è necessario promuovere un cambiamento sistemico che includa la standardizzazione delle procedure e il rafforzamento delle attività di formazione mirata. Estendere iniziative simili a livello nazionale potrà favorire una maggiore uniformità delle pratiche, contribuendo in modo sostanziale alla sicurezza del paziente e all’efficacia degli interventi precoci. L’impegno condiviso verso una cultura della qualità e della responsabilità professionale è la chiave per garantire screening sempre più sicuri, efficaci e conformi agli standard internazionali.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 146 - Sviluppo di un nuovo test su DBS per la misura degli autoanticorpi: un’applicazione allo screening pediatrico del Diabete di Tipo 1 e della malattia celiaca**

Erika Pizzinato<sup>1</sup>, Beatrice Dufrusine<sup>1</sup>, Federica Di Marco<sup>1</sup>, Luca Natale<sup>1</sup>, Ilaria Cicalini<sup>1</sup>, Francesca Potenza<sup>1</sup>, Anna Giulia Ruggieri<sup>1</sup>, Fabio Di Ferdinando<sup>1</sup>, Luca Federici<sup>1</sup>, Fabrizio Di Giuseppe<sup>1</sup>, Michele Sallese<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>, **Damiana Pieragostino<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Università G. d’Annunzio di Chieti-Pescara

**Introduzione:** L’Italia è stato il primo Paese al mondo ad emanare una legge (n. 130 del 2023) per lo screening pediatrico del diabete di tipo 1 (T1D) e della celiachia, due importanti patologie autoimmuni. L’obiettivo del programma di screening è quello di prevenire l’insorgenza della chetoacidosi diabetica, che riguarda il 40% di tutti gli esordi di T1D in Italia e di limitare la progressione della celiaca. Spinta ulteriore è arrivata dall’approvazione da parte della FDA di un innovativo farmaco immunosoppressore, il Teplizumab, in grado di ritardare l’esordio del T1D di circa due anni. **Obiettivo:** È stato attuato un progetto propedeutico D1Ce per testare la fattibilità del programma al fine di emanare i decreti attuativi della legge. **Risultati:** I risultati del progetto hanno evidenziato criticità circa la compliance in fase di prelievo, il trasporto e la conservazione dei sieri raccolti rendendo necessario l’utilizzo di campioni biologici più idonei ai programmi di screening come lo spot di sangue secco (DBS). Pertanto, è stato coinvolto il laboratorio di screening neonatale della Regione Abruzzo per la messa a punto di un innovativo test su DBS. Il test sviluppato sfrutta la tecnologia DELFIA e permette di misurare contemporaneamente la presenza combinata di autoanticorpi anti-decarbossilasi dell’acido glutammico (GAD), anti-trasportatore dello zinco 8 (ZnT8) ed anti- tirosina fosfatasi (IA2) con elevata efficienza, mostrando una sensibilità del 96% e una specificità del 94% con una AUC del 98%. Il test è stato poi utilizzato nel programma D1Ce parallelamente ai test convenzionali e 4663 campioni sono stati analizzati al fine di determinare le performance del test su soggetti asintomatici e di confrontare i risultati con i test su siero. Lo screening condotto su DBS ha individuato 24 positivi (0,5% della coorte), in linea con quanto noto in letteratura e con quanto ottenuto sul siero, rivelando, inoltre, un’eccellente robustezza del test per lo screening del T1D. **Conclusione:** Il DBS è risultato il campione biologico più facile da trasportare e conservare, permette di superare i limiti attualmente esistenti per l’attuazione della legge 130 e di riconoscere una matrice unica nel programma. Il DBS, infatti, è attualmente utilizzato per lo screening degli aplotipi DQ2/DQ8 predisponenti alla celiachia, che secondo il workflow ministeriale, entreranno nei programmi di screening neonatale come primo step di accesso allo screening della celiachia.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 147 - Screening neonatale esteso mediante sequenziamento genico per patologie “early actionable”: studio pilota in Regione Campania**

**Daniela Dottore Stagna**<sup>1</sup>, Ferdinando Barretta<sup>2</sup>, Fabiana Uomo<sup>2</sup>, Nicholas Iacovelli<sup>3</sup>, Chiara De Falco<sup>1</sup>, Rosa Redenta De Simone<sup>1</sup>, Francesco Granata<sup>1</sup>, Cristina Mazzaccara<sup>3</sup>, Roberta Fedele<sup>2</sup>, Lucia Albano<sup>2</sup>, Marianna Alagia<sup>4</sup>, Alessandro Rossi<sup>4</sup>, Simona Fecarotta<sup>4</sup>, Giancarlo Parenti<sup>5</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>2</sup>, Giulia Frisso<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università Federico II, Napoli, <sup>2</sup> CEINGE Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore, s.c.a r.l., Napoli, <sup>3</sup> DAI di Medicina di laboratorio e trasfusionale, AOU Federico II, Napoli, <sup>4</sup> DAI Materno Infantile, AOU Federico II, Napoli, <sup>5</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli

**Introduzione** Lo screening neonatale esteso (SNE) è un approccio di prevenzione secondaria che consente l’identificazione precoce di malattie rare ereditarie. In Italia lo SNE si basa, prevalentemente, sull’identificazione di biomarcatori con metodica biochimica. In caso di positività, il neonato è riferito al Centro Clinico di Riferimento che richiede il test genetico per la diagnosi definitiva. Le innovazioni tecnologiche stanno proponendo l’introduzione *first-tier testing* genetico. L’obiettivo dello studio è valutare l’applicabilità del sequenziamento di tipo Next-Generation Sequencing (NGS) come test di primo livello per lo SNE.

**Materiali e metodi** 265 neonati precedentemente analizzati per alterazioni dello SNE sono stati rianalizzati, dopo anonimizzazione dei campioni biologici, mediante sequenziamento NGS di 609 geni, che consentono la diagnosi di 329 patologie, ad esordio nei primi anni di vita e per cui esistono possibilità terapeutiche. La classificazione delle varianti genetiche è stata eseguita con il tool Franklin Genoox.

**Risultati** L’analisi genetica ha identificato 39 soggetti con varianti patogenetiche (P) o probabilmente patogenetiche (LP) note in letteratura. Di questi, 23 erano già stati identificati dallo screening metabolico, mentre 16 presentavano mutazioni in geni non analizzati precedentemente. Includendo varianti P/LP non note o presenti in database di varianti geniche, ma senza chiara evidenza di associazione a definito fenotipo, i casi aumenterebbero a 45. Infine, considerando anche genotipi biallelici P(LP)/VUS, emergerebbero ulteriori 10 possibili affetti, di cui 3 precedentemente diagnosticati. Tuttavia, l’esclusione dei genotipi con presenza esclusiva di VUS non ha consentito l’identificazione di 5 soggetti affetti da malattie metaboliche dello SNE.

**Conclusioni** L’implementazione dell’analisi genetica alla nascita ha il vantaggio di aumentare il numero delle patologie da sottoporre a screening, in particolare di quelle prive di marcatore biochimico noto alterato alla nascita. Tuttavia, sono necessari ulteriori studi per ottimizzare la selezione dei geni da includere nel pannello SNE-NGS e l’interpretazione delle varianti, per il rischio di sovradiagnosi. Tuttavia, l’approccio genetico, privo di un marcatore biochimico, può mancare diagnosi che l’approccio biochimico attualmente consente. Pertanto, al momento, il sequenziamento genetico non può sostituire lo screening metabolico, ma può rappresentare una valida strategia addizionale

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 153 - Screening neonatale del Deficit di Biotinidasi: esperienza di 6 anni condotto sulla popolazione nella Regione Lazio** (L’abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Arianna Malgieri**<sup>1</sup>, Teresa Giovanniello<sup>1</sup>, Francesca Nardecchia<sup>2</sup>, Manuela Tolve<sup>1</sup>, Cristiana Artiola<sup>1</sup>, Fiammetta Sorge<sup>1</sup>, Amelia Pasquali<sup>1</sup>, Antonio Angeloni<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UOC Patologia Clinica, Laboratorio Screening Neonatale e Malattie Genetico-Metaboliche, AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>2</sup> Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino e Scienze Urologiche, Sapienza Università di Roma, Roma; Unità di Neurologia e Psichiatria Infantile, Policlinico Umberto I, Roma, <sup>3</sup> UOC Patologia Clinica, Laboratorio Screening Neonatale e Malattie Genetico-Metaboliche, AOU Policlinico Umberto I, Roma; Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università di Roma Sapienza

**Introduzione:** Il difetto di Biotinidasi (BTD), a trasmissione autosomica recessiva, si può presentare in forma parziale o severa a seconda all’attività enzimatica residua, con uno spettro fenotipico che va da forme ad esordio precoce con interessamento neurologico fino a forme paucisintomatiche o del tutto asintomatiche. La diagnosi precoce attraverso lo Screening Neonatale (SN) seguita da tempestiva conferma molecolare consente l’avvio immediato della supplementazione di biotina prevenendo l’insorgenza dei sintomi.

**Metodo:** Presso il Laboratorio di Screening Neonatale (LSN) del Lazio, il dosaggio dell’attività della BTD viene eseguito su DBS con saggio immunoenzimatico su piattaforma GSP (Revvity) e con cut-off allo 0,5%ile. Presentiamo i

dati di Screening e conferma dei primi sei anni (2019–2024) di esperienza del nostro Centro, che dal 2024, per la conferma molecolare, ha visto l'introduzione di un pannello NGS custom di 132 geni correlati allo SN, con analisi terziaria effettuata con SOPHIA DDM e Varsome Clinical.

**Risultati:** Nel periodo considerato, sono stati sottoposti a screening 234.019 neonati. Complessivamente, 1069 presentavano un'attività al di sotto del cut-off, richiedendo un secondo prelievo. In 998 casi, non si è confermata la riduzione. Nei restanti 71 è stata avviata la conferma genetico-molecolare. Sono stati diagnosticati 54 deficit parziale, 4 deficit severo, e 13 portatori della variante p.Asp424His in eterozigosi o omozigosi. Un caso di deficit severo non conclusivo (2019) è stato caratterizzato mediante NGS rilevando una duplicazione dell'esone 2 (CNVs). Tutti i pazienti sono asintomatici al FU

**Discussione:** L'esperienza del nostro Centro conferma l'efficacia dello Screening Neonatale per il deficit di Biotinidasi, con un'incidenza stimata di 1:3304. L'introduzione del NGS dal 2024 ha migliorato la capacità diagnostica, permettendo l'identificazione precoce anche di forme atipiche, incluse le CNV. L'integrazione dei dati biochimici e genetici si conferma fondamentale per una diagnosi tempestiva e per l'avvio precoce della terapia. In tutti i pazienti seguiti, la supplementazione con biotina ha dimostrato un'efficace prevenzione dell'insorgenza dei sintomi.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 154 - Una nuova malattia metabolica candidata al programma di screening neonatale esteso: l'epilessia piridossina dipendente (PDE)**

**Roberta Damiano**<sup>1</sup>, Maria Della Bona<sup>1</sup>, Elena Procopio<sup>2</sup>, Serena Gasperini<sup>3</sup>, Renzo Guerrini<sup>4</sup>, Alessandra Bettiol<sup>5</sup>, Giancarlo la Marca<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Biochimica Clinica e Farmacia Clinica, Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Umana, A.O.U. Meyer I.R.C.C.S., Firenze, Italia, <sup>2</sup> Unità Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, A.O.U. Meyer I.R.C.C.S., Firenze, Italia, <sup>3</sup> SS Malattie Metaboliche Ereditarie, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, Italia, <sup>4</sup> Dipartimento di Neuroscienze, Psicologia, Area del Farmaco e Salute del Bambino (NEUROFARBA), Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia; Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Umana, AOU Meyer IRCCS, Firenze, Italia, <sup>5</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche, Sperimentali e Cliniche "Mario Serio", Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia, <sup>6</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Biochimica Clinica e Farmacia Clinica, Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Umana, A.O.U. Meyer I.R.C.C.S., Firenze, Italia; Dipartimento di Scienze Biomediche, Sperimentali e Cliniche "Mario Serio", Università degli Studi di Firenze, Firenze, Italia

**Introduzione:** L'epilessia piridossina dipendente (PDE) è una rara malattia del metabolismo della lisina, con insorgenza pre-, neo- o post-natale. È caratterizzata da crisi epilettiche resistenti ai farmaci convenzionali, ma sensibili alla supplementazione con piridossina (vitamina B6). La diagnosi precoce è fondamentale per iniziare tempestivamente la terapia, migliorando gli outcome clinici, e si basa sulla quantificazione di semialdeide  $\alpha$ -aminoadipica (AASA), piperideina-6-carbossilata (P6C) e acido pipercolico (PA) in urine o plasma, in pazienti con sintomi conclamati. Tuttavia, questi biomarcatori non sono sempre specifici, sono instabili e la quantificazione ha limiti tecnici. Studi recenti hanno identificato due nuovi biomarcatori, 2S,6S-/2S,6R-oxo-propilpiperidina-2-carbossilato (2-OPP) e 6-oxo-piperidina-2-carbossilato (6-oxoPIP), potenzialmente includibili nello screening neonatale esteso (SNE).

**Metodi:** Abbiamo sviluppato un test di primo livello su spot di sangue neonatale (nDBS), includendo 2-OPP e 6-oxoPIP nell'attuale metodo in flow injection-spettrometria di massa (FIA-MS/MS) impiegato nello SNE, e abbiamo calcolato i valori di riferimento su 5405 neonati sani. Il test di secondo livello in cromatografia liquida (LC)-MS/MS su nDBS è stato validato secondo linee guida, utilizzando retta di taratura esterna e standard interno. Inoltre, per superare le sfide tecniche dei biomarcatori tradizionali, sia per la diagnosi che per il monitoraggio, abbiamo validato due metodi in LC-MS/MS per quantificare 2-OPP e 6-oxoPIP su campioni di urine e plasma.

**Risultati:** L'applicabilità clinica è stata confermata su nDBS di due pazienti con conferma genetica di PDE, evidenziando una maggiore sensibilità del 2-OPP nel distinguere la PDE allo SNE. La validazione del test di secondo livello ha confermato la stabilità di questi analiti in DBS a tutte le temperature monitorate (ambiente, 4 °C e -20 °C per un mese e 37 °C per 72 ore). Anche su plasma e urine, si conferma la stabilità dei biomarcatori per un mese a 4 °C, -20 °C e 24 ore a temperatura ambiente. L'applicabilità clinica è stata testata su campioni di tre pazienti con PDE.

**Conclusioni:** Questi nuovi biomarcatori possono essere inclusi nel pannello di SNE, consentendo una diagnosi e trattamento precoce della PDE. Inoltre, la loro rapida e facile quantificazione in urine e plasma potrebbe facilitare il monitoraggio dei pazienti, in sostituzione o integrazione ai biomarcatori classici.



**ID: 155 - CFTRdup15-22: una nuova macro-duplicazione del CFTR associata alla fibrosi cistica in un caso di screening neonatale.** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Arianna Malgieri**<sup>1</sup>, Giovanna Blaconà<sup>2</sup>, Cristiana Artiola<sup>1</sup>, Manuela Tolve<sup>1</sup>, Teresa Giovanniello<sup>1</sup>, Carlo Pignattoni<sup>1</sup>, Fabiana Narzi<sup>3</sup>, Giuseppe Cimino<sup>3</sup>, Marco Lucarelli<sup>2</sup>, Antonio Angeloni<sup>4</sup>

<sup>1</sup> UOC Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Umberto 1 Screening Neonatale, Italy, <sup>2</sup> Dipartimento Medicina Sperimentale Università Sapienza di Roma, Italy, <sup>3</sup> Centro Fibrosi Cistica Azienda Ospedaliera Policlinico Umberto 1, Italy, <sup>4</sup> UOC Patologia Clinica, Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico Umberto 1 Screening Neonatale, Italy; Dipartimento Medicina Sperimentale Università Sapienza di Roma, Italy

Riportiamo il caso di un paziente con Fibrosi Cistica (FC) portatore di una nuova macroduplicazione nel gene CFTR. Al momento dell’identificazione, il Laboratorio di Screening Neonatale (LSN) del Lazio utilizzava l’algoritmo IRT/IRT/DNA e test del sudore (TS) per la conferma diagnostica. All’epoca della diagnosi, l’algoritmo del nostro Centro prevedeva la misurazione della tripsina immunoreattiva (IRT) su piattaforma GSP (Revvity) sul DBS iniziale e sull’eventuale controllo richiesto, successivamente alla positività del controllo, si procedeva alla conferma molecolare e Test del Sudore (TS). Il test molecolare di primo livello è stato eseguito mediante InnolipaCFTR (DR=83%) mentre gli ulteriori approfondimenti diagnostici molecolari tramite NGS (Devyser) e MLPA (Mrc Holland). Un neonato maschio è stato identificato mediante SN, con valori di IRT superiori al cut-off, su due campioni. L’analisi genetica iniziale (InnolipaCFTR) su DNA estratto da DBS, è risultata negativa per le varianti CF analizzate (DR=83%). Il TS, ripetuto più volte, ha mostrato risultati borderline (57, 67 e 57 mEq/L). Il successivo test molecolare, eseguito mediante NGS (Devyser CFTR; D.R. 97%) su DBS, ha rilevato in eterozigosi la variante di splicing c.7113A>G e una sospetta CNV. L’analisi MLPA ha confermato una nuova macroduplicazione, denominata CFTR14a-19dup, estesa dagli esoni 15 a 22, mai descritta in letteratura. Il test MLPA (MRC Holland) ha confermato la duplicazione dall’esone 15 all’esone 22 del gene CFTR. L’analisi della segregazione parentale ha evidenziato la trasmissione in trans delle due varianti: la c.7113A>G a segregazione paterna e la CFTR14a-19dup materna. La successiva caratterizzazione dell’RNA materno, ha rilevato la presenza di un trascritto aberrante differente in peso molecolare da quello WT. Come rivelato dalla RT-PCR e dal sequenziamento del cDNA (Sanger, Thermo Fisher Scientific), l’mRNA aberrante presenta un trascritto WT fino all’esone 22, seguito dalla duplicazione in-frame degli esoni 15-22 e prosecuzione con gli esoni 23-27. Tale mRNA dovrebbe codificare per una proteina CFTR contenete 409 aminoacidi duplicati. Questo caso evidenzia l’importanza dell’analisi molecolare approfondita nei pazienti con sospetta FC e TS borderline. L’identificazione di una nuova macroduplicazione in CFTR sottolinea il valore dell’integrazione tra NGS, MLPA e RNA per una diagnosi genetica accurata, essenziale per un corretto inquadramento clinico del paziente nello SN.

**ID: 162 - Screening Neonatale dell’ Adrenoleucodistrofia X-linked in Italia: risultati del progetto pilota nella regione Lombardia e outcome a medio-termine**

**Eleonora Bonaventura**<sup>1</sup>, Fabio Bruschi<sup>1</sup>, Ylenia Vaia<sup>1</sup>, Luisella Alberti<sup>2</sup>, Cecilia Parazzini<sup>3</sup>, Filippo Arrigoni<sup>3</sup>, Giana Izzo<sup>3</sup>, Alessandra Bosetti<sup>4</sup>, Barbara Borsani<sup>4</sup>, Giulia Fiore<sup>4</sup>, Matilde Ferrario<sup>4</sup>, Luigina Spaccini<sup>5</sup>, Elisa Cattaneo<sup>5</sup>, Maria Iascone<sup>6</sup>, Laura Cappelletti<sup>2</sup>, Simona Lucchi<sup>2</sup>, Elvira Verduci<sup>4</sup>, Cristina Cereda<sup>2</sup>, Davide Tonduti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro COALA (Centro Ospedaliero per l’Assistenza e la cura delle Leucodistrofie e delle condizioni Associate), Unità Operativa di Neurologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, <sup>2</sup> Unità di Screening Neonatale e Malattie Metaboliche Ereditarie, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, <sup>3</sup> Unità di Radiologia e Neuroradiologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, <sup>4</sup> Unità di Pediatria, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, <sup>5</sup> Unità di Genetica Clinica, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, <sup>6</sup> Laboratorio di Genetica Molecolare, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo

**Introduzione** L’adrenoleucodistrofia X-linked (X-ALD) è una patologia perossisomiale causata da varianti patogenetiche del gene *ABCD1*. Nei maschi si può manifestare con insufficienza surrenalica, adrenomieloneuropatia e con la forma cerebrale (cALD), isolate o in combinazione tra loro. In Europa, il trattamento standard per la cALD è il trapianto di cellule staminali ematopoietiche. La diagnosi precoce è fondamentale per garantire un intervento tempestivo, sia nei casi di coinvolgimento cerebrale che surrenalico. Per questo, vari Paesi hanno integrato l’X-ALD nello screening neonatale tramite la quantificazione della C26:0-lisofosfatidilcolina (C26:0-LPC), marker che può risultare elevato anche

in altre patologie perossisomiali come i disordini dello spettro Zellweger (ZSD) o la sindrome di Aicardi-Goutières. Nel giugno 2021 è stato avviato in Lombardia uno studio pilota per l’implementazione dell’X-ALD nel programma di screening neonatale. **Materiali e Metodi** Screening su tre livelli: 1° tier-test, quantificazione di C26:0-LPC su DBS via FIA-MS/MS; 2° tier-test, conferma mediante UHPLC-MS/MS; 3° tier-test, diagnosi molecolare con NGS mirato **Risultati** Da giugno 2021 a giugno 2025, su 237.548 nati vivi, 138.116 hanno aderito allo screening. Di questi, 1900 sono risultati “non negativi” al 1° tier-test e 298 al retest; 14 pazienti si sono confermati “non negativi” al 2° tier-test (8 maschi, 6 femmine). L’analisi genetica ha evidenziato varianti patogeniche in *ABCD1* in 6 maschi e 5 femmine; in 3 pazienti sono state identificate varianti in geni associati a ZSD (*ACOX1*, *PEX10*, *PEX26*). I maschi X-ALD affetti vengono monitorati tramite uno specifico programma di follow-up; finora nessuno ha sviluppato coinvolgimento cerebrale, mentre 3 hanno manifestato insufficienza surrenalica e ricevono trattamento ormonale sostitutivo. Il monitoraggio dei valori di C26:0-LPC su DBS ha mostrato una riduzione progressiva nel tempo. Al momento, in linea con studi recenti, i valori di C26:0-LPC alla nascita sembrerebbero correlare con l’outcome clinico. **Conclusioni** Lo screening neonatale per X-ALD modifica radicalmente la storia naturale di malattia tramite diagnosi precoce, sorveglianza continua e trattamenti tempestivi. Studi futuri con follow-up estesi saranno utili per confermare la correlazione tra i livelli neonatali di C26:0-LPC e l’ outcome clinico.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 165 - Approcci omici integrati per la caratterizzazione di un modello murino della sindrome di Sanfilippo A: disfunzione del metabolismo lipidico**

**Damiana Pieragostino**<sup>1</sup>, Beatrice Dufrusine<sup>2</sup>, Erika Pizzinato<sup>1</sup>, Federica Di Marco<sup>1</sup>, Fabio Di Ferdinando<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>, Enrico Dainese<sup>2</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Università G. d’Annunzio di Chieti-Pescara, <sup>2</sup> Università di Teramo

**Background.** La mucopolisaccaridosi di tipo IIIA (MPS IIIA), nota come sindrome di Sanfilippo A, è una rara malattia neurometabolica ereditaria appartenente alle malattie da accumulo lisosomiale. Tale patologia autosomica recessiva è causata dalla carenza dell’enzima eparan sulfamidasi, che porta all’accumulo di eparan solfato. I glicosaminoglicani che si accumulano in diversi tessuti causano danni cellulari permanenti e progressivi, che portano ad un’estesa neurodegenerazione con conseguente morte prematura. La diagnosi, mediante il dosaggio dell’enzima, viene effettuata solo dopo il manifestarsi dei sintomi, solitamente assenti alla nascita. Le terapie disponibili comprendono la terapia enzimatica sostitutiva e il trapianto di cellule staminali ematopoietiche. **Metodi.** Per investigare le alterazioni metaboliche dovute all’accumulo lisosomiale di eparansolfato abbiamo impiegato un modello murino di MPS IIIA. Topi eterozigoti ipomorfi MPS IIIA sono stati incrociati per ottenere topi omozigoti per la mutazione missenso (c.91G>A) del gene *Sgsh*, con un’attività residua della sulfamidasi <5%. I topi omozigoti ed eterozigoti sono stati sacrificati ad esordio di malattia (4 settimane), a malattia conclamata (16 settimane) ed avanzata (32 settimane), per la raccolta di spot di sangue secco (DBS), cervello, fegato, rene e milza. I campioni sono stati caratterizzati tramite approccio di proteomica e di imaging mass spectrometry, per identificare possibili meccanismi molecolari e biomarcatori sistemici utili per monitorare l’esordio e la progressione della malattia. **Risultati.** Dopo aver ottenuto modelli murini di MPS IIIA, mediante analisi allelic discrimination plot, sono stati identificati i cluster di topi omozigoti ed eterozigoti. Le analisi di proteomica dei DBS prelevati dai topi ai diversi time-point hanno mostrato attivazione dei pathways legati allo stress ossidativo ed anomalie nel metabolismo cellulare, in particolare riguardo il signaling dei lipidi. L’analisi di imaging ha ulteriormente confermato l’alterato metabolismo dei lipidi, identificando una distribuzione di classi di lipidi caratteristica nel cervello di topi MPSIIIA. **Discussione.** L’integrazione di approcci omici di tessuti e organi da un modello murino di MPS IIIA ha messo in luce diverse alterazioni dei lipidi e del loro metabolismo, potenzialmente utili come biomarcatori della malattia.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 171 - Deficit di VLCAD: l’esperienza della Regione Abruzzo nello screening neonatale e nel follow-up clinico**  
(L’abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Ilaria Cicalini**<sup>1</sup>, Gessica Di Carlo<sup>1</sup>, Maria Concetta Cufaro<sup>1</sup>, Maria Lucia Tommolini<sup>1</sup>, Mirco Zucchelli<sup>1</sup>, Giulia Tozzi<sup>2</sup>, Giorgia Olivieri<sup>3</sup>, Cristiano Rizzo<sup>3</sup>, Carlo Dionisi-Vici<sup>3</sup>, Silvia Di Michele<sup>4</sup>, Maurizio Arico<sup>4</sup>, Rossella Ferrante<sup>1</sup>, Ines Bucci<sup>1</sup>, Damiana Pieragostino<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center for Advanced Studies and Technology (CAST), G. d’Annunzio University of Chieti-Pescara, 66100, Chieti, Italy., <sup>2</sup> Unit for

Il deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena molto lunga (VLCAD) è un disturbo metabolico ereditario autosomico recessivo, con incidenza stimata tra 1:30000 e 1:100000 nati<sup>1</sup>, che inibisce la β-ossidazione degli acidi grassi a lunga catena. Classificato tra le malattie ad alto rischio, presenta sintomi che possono manifestarsi precocemente in epoca neonatale includendo ipoglicemia, rabdomiolisi ricorrente, miopatia, epatomegalia e cardiomiopatia<sup>2</sup>. Lo Screening Neonatale Esteso (SNE) consente l’individuazione precoce di neonati affetti da VLCAD, garantendo un tempestivo intervento con terapie dietetiche specifiche per prevenire crisi metaboliche ed eventuali complicanze. La diagnosi di VLCAD è effettuata su DBS in seguito ad accumulo delle acilcarnitine: C14:1, C14, C14:2 e dei rapporti metabolici C14:1/C2 e C14:1/C16, attraverso dosaggio in infusione diretta in spettrometria di massa tandem. Nel periodo compreso tra il 2018 e il 2024, il programma SNE della Regione Abruzzo ha identificato 13 casi di deficit di VLCAD, su una popolazione annuale di circa 8.000 neonati. La conferma molecolare effettuata ha evidenziato 3 neonati con mutazione del gene ACADVL in eterozigosi semplice, 5 in eterozigosi composta e 3 erano falsi positivi (WT al test di conferma). Nonostante le conferme diagnostiche effettuate non abbiano fatto emergere casi in omogizosi, il 40% dei neonati attenzionati ha mostrato un’attività enzimatica residua inferiore al 30%. Lo SNE consente di rivelare anche i casi in eterozigosi. L’analisi dei dati ha messo in luce come tutti e 5 i casi di eterozigosi composta identificati presentavano un’attività enzimatica residua inferiore al 30%. Diagnosticare l’eterozigosi VLCAD consente un approccio clinico poco invasivo, ma altamente preciso, che può rappresentare un vantaggio significativo durante la valutazione e la gestione dei neonati nelle fasi critiche.

1 D’Annibale OM et al. Cells. 2022 Aug 24;11(17):2635. doi: 10.3390/cells11172635.

2 Van Calcar SC et al. Mol Genet Metab. 2020 Sep-Oct;131(1-2):23-37. doi: 10.1016/j.ymgme.2020.10.001.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 181 - Un nuovo 2nd tier test per migliorare il valore predittivo positivo per sospetto di VLCADD nel Programma di Screening Neonatale Esteso**

**Michela Perrone Donnorso**<sup>1</sup>, Michela Cassanello<sup>2</sup>, Luisella Alberti<sup>3</sup>, Elvira Sondo<sup>2</sup>, Andrea Mascagni<sup>1</sup>, Francesca Nastasia Perri<sup>4</sup>, Concetta Aloï<sup>5</sup>, Alessandro Salina<sup>5</sup>, Cristina Cereda<sup>6</sup>, Maria Cristina Schiaffino <sup>4</sup>, Mohamad Maghnie<sup>1</sup>

<sup>1</sup> LABSIEM – UOC Clinica Pediatrica e Endocrinologia, DINO GMI-UNIGE, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia, <sup>2</sup> UOS Biochimica, Farmacologia e Screening Neonatale - UOC Laboratorio Centrale di Analisi - IRCCS Istituto G. Gaslini, <sup>3</sup> SC Laboratorio Analisi, ASST Ovest Milanese, Milano, Italia, <sup>4</sup> UOC Clinica Pediatrica e Endocrinologia, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia., <sup>5</sup> LABSIEM – UOC Clinica Pediatrica e Endocrinologia, IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italia, <sup>6</sup> Genomica Funzionale e Malattie Rare, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, Italia

**Introduzione.** Il Deficit di Acil-CoA deidrogenasi a catena molto lunga (VLCADD) è una malattia ereditaria rara dovuta a varianti bialleliche del gene ACADVL, causative di disfunzione mitocondriale della β-ossidazione degli acidi grassi. Il test di screening per VLCADD viene eseguito di routine mediante l’analisi del profilo delle Acilcarnitine (AC) in flow Injection e spettrometria di massa tandem (FIA-MS/MS). Nel campione di sangue essiccato neonatale (DBS), è misurato l’incremento della tetradecenoilcarnitina (C14:1), insieme ad altre AC a catena lunga (C14:2, C14 e C12:1) e dei rapporti molarli (C14:1/C2, C14:1/C16, C14:1/C12:1). Tuttavia, le stesse alterazioni sono riscontrate anche nel deficit multiplo di acil-CoA deidrogenasi (MADD), nei difetti congeniti del trasporto/metabolismo della riboflavina (B2) e a causa di diversi altri fattori, anche fisiologici, che possono produrre un numero di risultati falsi positivi non trascurabile. Le strategie applicate per la diagnosi differenziale e per ridurre i richiami evitabili sono diverse e comprendono anche l’uso di tools post-analitici. Tuttavia, l’aumento del valore predittivo positivo (PPV%) è ancora una sfida. **Metodi.** A tale scopo, abbiamo sviluppato un test di seconda istanza (2nd tier test o 2TT) multiplex in cromatografia liquida e spettrometria di massa (LC-MS/MS) per il dosaggio veloce di biomarcatori specifici, utili per la valutazione di fenotipi biochimici MADD e MADD-like (difetti ereditari/nutrizionali di B2), VLCADD e di stati associati alla chetosi. Il metodo consente anche la risoluzione degli isomeri della C14:1, il cui profilo è risultato, dalla nostra osservazione, un promettente indicatore di VLCADD. **Risultati.** Tale approccio, basato anche sull’utilizzo di un algoritmo post-analitico appositamente studiato, è stato applicato all’analisi, in alcuni casi retrospettiva, di 100 presunti positivi per VLCADD/MADD su un totale di 10.000 neonati analizzati, permettendo l’identificazione di 10 VLCADD e 2 MADD.

La maggior parte dei restanti neonati, classificati come falsi positivi dall’algoritmo, hanno mostrato anche aumento dei marcatori 2TT di chetosi. Test molecolari e/o biochimici sono stati eseguiti per confermare l’applicabilità del metodo. **Conclusioni.** L’analisi dei 5 cluster (VLCADD, MADD, chetosi/deficit vitaminici, carrier e P/V), ottenuti grazie alla misura degli isomeri C14:1 ha permesso di discriminare i veri neonati affetti dimostrando la potenzialità di questo metodo 2TT.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 183 - Impatto del deficit materno di vitamina B12 sui risultati dello screening neonatale: analisi retrospettiva su 42 casi positivi allo SNE**

**Donatella De Giovanni**<sup>1</sup>, Rosa Carella<sup>1</sup>, Aleksandra Skublewska D’Elia<sup>1</sup>, Vito Di Tullio<sup>1</sup>, Albina Tummolo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche e Genetiche Rare, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII

**Introduzione**

La vitamina B12 è essenziale per lo sviluppo del sistema nervoso. La sua carenza in età neonatale può manifestarsi con segni aspecifici ma essere prontamente identificata grazie allo screening neonatale esteso (SNE). In letteratura è noto che la carenza di vitamina B12 nei neonati è spesso secondaria a deficit materno.

**Metodi**

Abbiamo condotto un’analisi retrospettiva su 42 neonati risultati falsi positivi allo screening per deficit di vitamina B12 tra il 2017 e il 2024 presso il Laboratorio di Screening Neonatale della Regione Puglia. Tutti i pazienti presentavano elevati livelli di propionilcarnitina (C3) (media 5,06 µM/L; v.n. 0–2,99), con presenza di acido metilmalonico al second tier test (MMA) (media 154,7 µM/L; v.n. 1–11). Tutti i neonati sono stati richiamati per approfondimenti diagnostici: dosaggio plasmatico di C3 e dei suoi rapporti, vitamina B12, folati, omocisteina, MMA urinario.

**Risultati**

In tutti i casi i valori alterati si sono normalizzati agli accertamenti di secondo livello. Il 30% dei pazienti era figlio di genitori stranieri, principalmente provenienti dal Medio Oriente, e a dieta con prevalente apporto di vegetali, il 14% aveva madre con ipotiroidismo, il 56% presentava peso alla nascita <3 kg. Tutti hanno presentato una progressiva normalizzazione dei parametri biochimici dopo singola somministrazione di vitamina B12 intramuscolo. Una più una rapida normalizzazione dei valori, si è verificata per neonati di basso peso alla nascita, verosimilmente correlata all’uso di formule tipo 0 maggiormente supplementate.

**Conclusioni**

Il deficit materno di vitamina B12 determina alterazione dello SNE, generando falsi positivi. I dati suggeriscono una possibile correlazione tra positività allo screening e deficit nutrizionali materni, legati a patologie o abitudini alimentari influenzate da fattori socio-culturali e religiosi. Una valutazione nutrizionale materna nel periodo preconcezionale e durante la gravidanza potrebbe ridurre tale incidenza, migliorando la specificità dello screening.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 184 - Deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena molto lunga (VLCADD): influenza delle varianti genetiche sulla tolleranza metabolica**

**Paolo Laviola**<sup>1</sup>, Maria Caprella<sup>1</sup>, Arando Prosperoso<sup>1</sup>, Maria Teresa Moricca<sup>2</sup>, Giuseppe Bonapace<sup>2</sup>, Stefania Ferraro<sup>2</sup>, Simona Sestito<sup>2</sup>, Daniela Concolino<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Scuola di specializzazione in Pediatria - Università degli studi Magna Graecia di Catanzaro, <sup>2</sup> Pediatria Specialistica e Malattie Rare - AOU R. Dulbecco Catanzaro

Il deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena molto lunga (VLCADD) è un disordine autosomico recessivo del metabolismo degli acidi grassi, causato da varianti patogenetiche in ACADVL, che presenta ampia eterogeneità fenotipica. Questo caso descrive una paziente di 2 anni affetta da VLCADD diagnosticata tramite screening neonatale, con ottima tolleranza agli stress metabolici. L’analisi genetica ha rivelato varianti eterozigoti in altri geni coinvolti in disturbi metabolici potenzialmente responsabili della modulazione fenotipica suggerendo un possibile meccanismo di ereditarietà oligogenica. La paziente richiamata allo screening per valori sospetti di VLCADD, eseguiva: dosaggio acilcarnitine plasmatiche con spettrometria di massa tandem; dosaggio attività enzimatica su linfociti; analisi molecolare geni correlati

al metabolismo degli acidi grassi; follow-up clinico regolare senza seguire dietoterapia per scelta familiare. Si riscontrava aumento delle acilcarnitine plasmatiche a catena lunga con attività enzimatica residua VLCAD del 4,4%. L'analisi molecolare ha identificato due varianti in eterozigosi composta nel gene ACADVL: c.887\_888del con perdita completa di funzione;c.1700G>A con ridotta attività enzimatica residua.Venivano riscontrate le seguenti varianti in eterozigosi: c.199T>C in ACADM (associata a MCADD) e c.1270G>C in BTBD9 (associata a deficit di biotinidasi) classificate come patogenetiche; c.1480G>C in EFTDH (associata a MAD) classificata come VUS. Clinicamente,nonostante la dieta libera,la paziente mostrava un eccellente compenso metabolico.Durante due episodi intercorrenti (polmonite a 4 mesi, gastroenterite con vomito a 5 mesi) non venivano rilevati segni di scompenso metabolico, ipoglicemia o rabdomiolisi.Il follow-up documentava buon accrescimento e buona tolleranza al digiuno notturno. Questo caso evidenzia una discordanza tra genotipo severo e fenotipo benigno.La presenza delle varianti ACADVL avrebbe fatto prevedere un decorso clinico più grave, ma la simultanea presenza di varianti eterozigoti in geni intercalati nella stessa via metabolica (BTBD9, ACADM e EFTDH)potrebbe modulare il metabolismo energetico e influenzare la severità della malattia. Tale meccanismo di ereditarietà oligogenica è stato già descritto in casi di rabdomiolisi da sforzo, ipogonadismo ipogonadotropo e retinite pigmentosa ipotizzando che l'effetto cumulativo di difetti parziali su geni di vie metaboliche affini possa modulare la penetranza e l'espressività fenotipica.

TOPIC: 1 - Screening neonatale

**ID: 189 - Atrofia muscolare spinale (SMA): un anno di screening neonatale nella regione Emilia Romagna**

Angela Serena Ricco<sup>1</sup>, Maria Angela Paladino<sup>1</sup>, Laura Desiderio<sup>1</sup>, Francesco Bisognin<sup>1</sup>, Antonella Pini<sup>2</sup>, Alessandra Ferlini<sup>3</sup>, Renato Seracchioli<sup>4</sup>, Annalisa Lonetti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Laboratoristico Regionale di Riferimento per lo Screening Neonatale e MEM, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, <sup>2</sup> Neuropsichiatria Età pediatrica, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche, Bologna, <sup>3</sup> UOC Genetica Medica, Azienda Ospedaliera Universitaria S. Anna, Ferrara, <sup>4</sup> Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Università di Bologna; UO Ginecologia e fisiopatologia della riproduzione umana, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna.

**Introduzione/Background.** L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una rara malattia autosomica recessiva dovuta a mutazioni nel gene *SMN1* (survival motor neuron 1). L'assenza della proteina SMN compromette il funzionamento dei motoneuroni con perdita di capacità motorie e funzionalità respiratoria. La gravità della SMA dipende dal numero di copie del gene correlato *SMN2* che produce basse percentuali di proteina funzionale (circa 10%). L'identificazione di farmaci efficaci e lo sviluppo di metodiche molecolari ha portato all'estensione dello screening neonatale alla SMA, definito in Italia dalla Legge 30/12/2018 n. 145 (c.d. Legge di Bilancio 2019). Tuttavia in assenza di una linea nazionale uniforme, le regioni hanno introdotto autonomamente tale screening: in Emilia Romagna (ER) lo screening della SMA è stato introdotto con Delibera Num. 1441 del 01/07/2024. **Metodi.** È stato impiegato il sistema EONIS™ e EASI™ software (Revvity) che, mediante multiplex qPCR dell'esone 7 di *SMN1* e del gene di controllo *RPP30*, identifica le delezioni in omozigosi di *SMN1* (presunto positivo: Cq>32). È stata utilizzata la Workstation Zephyr™ G3 NGS iQ™ (Revvity) per l'automazione. **Risultati.** Dal 1/07/2024 al 30/06/2025, sono stati sottoposti a screening per la SMA 27551 neonati, mentre in 38 casi è stato rifiutato lo screening esteso. Le Guthrie cards pervenute in laboratorio sono state immediatamente analizzate. Sono stati identificati 2 neonati presunti positivi (Cq>45): nella stessa giornata il test è stato ripetuto e il risultato confermato è stato comunicato al centro clinico (Neuropsichiatria Età pediatrica, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche, Bologna) che ha convocato le famiglie e predisposto l'esecuzione del test di conferma diagnostica presso il laboratorio di riferimento (UOC Genetica Medica, AOU S. Anna, Ferrara). Entrambi i neonati avevano delezione in omozigosi di *SMN1* con 3 e 2 copie di *SMN2*: il primo è stato trattato con Spinraza (8° giornata di vita); il secondo ha assunto Evrysdi dal 5° giorno di vita e terapia genica al 10° giorno. **Conclusioni.** L'incidenza della SMA dovuta a delezione di *SMN1* nella popolazione dell'ER è risultata essere 1,4/10000 neonati. Il percorso di screening adottato, che prevede l'esecuzione del test alla ricezione delle Guthrie cards e l'eventuale ripetizione in giornata, grazie alla stretta interazione tra laboratorio e centro clinico di riferimento, ha permesso rapide conferme diagnostiche e trattamenti tempestivi ed efficaci.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 16 - L'omocisteina plasmatica come potenziale biomarcatore di gravità nella malattia di Fabry.**

Enrica Epifani<sup>1</sup>, Andrea Dardis<sup>1</sup>, Andrea Bordugo<sup>1</sup>, Marco Driutti<sup>2</sup>, Paola Piovani<sup>1</sup>, Manuela Zanatta<sup>1</sup>, Martina Bon<sup>1</sup>, Maurizio Scarpa<sup>1</sup>, Annalisa Sechi<sup>1</sup>

Introduzione/background

L’omocisteina (Hcy) è un amminoacido solforato che si forma durante il metabolismo della metionina, ed è considerato un fattore di rischio per le malattie cardiovascolari nella popolazione generale. Nei pazienti con malattia di Fabry (FD) sono stati precedentemente riscontrati livelli di Hcy più elevati rispetto alla popolazione sana, ma il significato di questo dato in relazione alla gravità e alle complicanze della malattia rimangono sconosciuti.

Lo scopo principale di questo studio è stato quello di valutare l’eventuale correlazione tra i livelli di Hcy nel sangue e la gravità di malattia nei pazienti di entrambi i sessi affetti da malattia di Fabry. In secondo luogo quello di valutare l’andamento dell’Hcy in risposta ad eventuali trattamenti di malattia specifici.

Metodi

Sono stati analizzati retrospettivamente i dati dei pazienti con FD afferenti al nostro Centro negli ultimi 10 anni, inclusi: Hcy plasmatica, folati, vitamina B12, lysoGb3, clearance della creatinina, proteinuria nelle 24 ore. La gravità della malattia è stata calcolata tramite il Mainz Severity Score Index (MSSI).

Risultati

I dati sull’Hcy erano disponibili per 28 pazienti con FD, 10 uomini e 18 donne. I livelli medi di Hcy erano  $10,0 \pm 1,9$  uMol/L nelle donne e  $16,2 \pm 6,9$  negli uomini. L’Hcy risultava inversamente correlata con i livelli di folati ( $p < 0,005$ ). Abbiamo riscontrato una correlazione statisticamente significativa tra i livelli di Hcy e punteggio MSSI e tra i livelli di Hcy e i valori di proteinuria aggiustati per vitamina B12 e folati (valore  $p < 0,005$ ). I dati pre e post terapia (ERT o chaperone) erano disponibili per 14 dei 28 pazienti; l’omocisteina mostrava un valore medio in diminuzione dopo 1 anno di terapia, non è stato tuttavia possibile valutarne la significatività statistica data la bassa dimensione campionaria.

Discussione/conclusione

Questi risultati preliminari indicano la potenzialità dell’Hcy come possibile biomarcatore della gravità della malattia di Fabry. Tuttavia sono necessari ulteriori studi con maggiore numerosità di pazienti al fine di confermare questa associazione.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

ID: 21 - Case report: Fatigue and unexplained gastrointestinal symptoms - Think malonic and methylmalonic aciduria (CMAMMA)

Sara Tucci<sup>1</sup>, Khaled Alatibi<sup>1</sup>, Martin Hug<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pharmacy, University of Freiburg, Germany

**Introduzione:** La malonyl-CoA sintetasi (ACSF3) catalizza la reazione iniziale della biosintesi mitocondriale degli acidi grassi (mtFAS), promuovendo l’attivazione del malonato e del metilmalonato nei rispettivi tioesteri CoA. Varianti patogene del gene ACSF3 sono responsabili dell’aciduria malonica e metilmalonica combinata (CMAMMA, OMIM #614265). Il quadro clinico della CMAMMA è estremamente eterogeneo e può includere manifestazioni neurologiche quali crisi epilettiche, disturbi della memoria, patologie psichiatriche e/o decadimento cognitivo.

**Case Report:** Descriviamo il caso di un paziente affetto da una sindrome dell’intestino irritabile e affaticamento cronico, rimasto privo di diagnosi per oltre 15 anni. Le analisi biochimiche di sangue e urine hanno evidenziato un accumulo selettivo di acido metilmalonico, in assenza di acido malonico o di iperomocisteinemia. Le analisi genetiche hanno rilevato la presenza in omozigosi della variante c.1672C>T (p.Arg558Trp) nel gene ACSF3, confermando la diagnosi di CMAMMA. Un intervento dietetico basato sull’incremento dell’apporto glucidico e sulla riduzione delle proteine ha determinato un marcato peggioramento dei sintomi di affaticamento e dei disturbi gastrointestinali mentre un aumento dell’apporto proteico ha notevolmente migliorato i sintomi.

**Metodi e Risultati:** L’analisi biochimica dei fibroblasti del paziente ha evidenziato un’alterazione dei livelli globali di malonilazione e una marcata riduzione della lipoilazione dell’ $\alpha$ -chetoglutarato deidrogenasi ( $\alpha$ -KGDH) e della piruvato deidrogenasi (PDH). Inoltre, l’attività enzimatica della PDH risultava significativamente compromessa.

**Discussione e Conclusioni:** Questo caso clinico sottolinea la necessità di considerare la CMAMMA nel differenziale diagnostico di pazienti con affaticamento cronico e sintomi gastrointestinali di origine non identificata. I nostri dati confermano un difetto nell’ossidazione mitocondriale del piruvato, associato alla ridotta funzionalità della PDH, e suggeriscono che un’alimentazione ad alto contenuto di carboidrati possa aggravare il fenotipo clinico nei pazienti affetti.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 35 - Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Deficiency: A Genetic Screening in Sicilian Patients with Neurodevelopmental and Neuromuscular Disorders**  
(L’abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Sandro Santa Paola**<sup>1</sup>, Eugenia Borgione<sup>1</sup>, Mariangela Lo Giudice<sup>1</sup>, Marika Giuliano<sup>1</sup>, Francesco Domenico Di Blasi<sup>1</sup>, Vincenzo Di Stefano<sup>2</sup>, Rosa Pettinato<sup>1</sup>, Carmela Scuderi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Oasi Research Institute – IRCCS, Troina, Italy, <sup>2</sup> Department of Biomedicine, Neuroscience and Advanced Diagnostic (BIND), University of Palermo - Palermo, Italy

**Background:** Aromatic L-amino acid decarboxylase deficiency (AADCd) is a rare autosomal recessive neurometabolic disorder caused by AADC deficiency, an enzyme encoded by the DDC gene. The enzyme is involved in the biosynthesis of serotonin and dopamine. Onset is early and the key signs are hypotonia, movement disorders (oculogyric crises, dystonia and hypokinesia), developmental delay and autonomic dysfunction. A recent review reported 348 patients AADC been described worldwide. Really, the number of affected persons could be greater, given that the spectrum of clinical manifestations is broad and still little known. **Methods:** In our study, 350 unrelated patients with different neurological disorders including heterogeneous neurodevelopmental and neuromuscular disorders, were selected to carry out molecular investigation of the DDC gene, using the Next Generation Sequencing technique, with the aim of identifying affected patients and/or carriers. **Results:** The variant analysis showed the presence of 3 known pathogenic variants (p.P210L, p.R462Q, p.F77L) in 9 patients in heterozygous conditions, and the presence of the new variant (IVS63A>G on the splicing site) in two patients and the missense variant p.G258S in a patient. **Conclusions:** Our study show a high frequency of carriers (2,57%) in Sicilian subjects with neurological deficits, with a higher concentration in the territory of northern and eastern Sicily; assuming these data as representative of the general Sicilian population, the risk may be comparable to some rare diseases included in the newborn screening programs such as spinal muscular atrophy, cystic fibrosis and phenylketonuria.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 36 - Sviluppo di una nuova piccola molecola indirizzata a ripristinare l’attività della  $\beta$ -galattosidasi mutata nella GM1-gangliosidosi**

**Eleonora Pavan**<sup>1</sup>, Maximiliano Ormazabal<sup>1</sup>, Emma Cuttini<sup>1</sup>, Roger Marti<sup>2</sup>, Maurizio Scarpa<sup>1</sup>, Christine Serratrice<sup>3</sup>, Vincent Mutel<sup>4</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> Institute ChemTech, Haute école d’ingénierie et d’architecture de Fribourg, Fribourg, Switzerland., <sup>3</sup> Department of internal medicine of the Aged, University Hospital of Geneva, Switzerland., <sup>4</sup> Dorphan Sa, Epalinges, Switzerland.

**Background**

La GM1-gangliosidosi (GM1) è una malattia d’accumulo lisosomiale per la quale non esiste terapia. È dovuta alla carente attività enzimatica della  $\beta$ -galattosidasi ( $\beta$ -gal), a causa di varianti patogenetiche bialleliche nel gene *GLB1*. Recentemente, l’aloxistatina, un inibitore della cisteina proteasi, ha mostrato un effetto sull’attività della  $\beta$ -gal in vitro: sulla base di questi risultati, abbiamo sviluppato e testato 6 composti ottimizzati da essa derivati.

## Metodi

Una tecnica computazionale di ottimizzazione multidimensionale è stata impiegata per la progettazione delle molecole migliorate, tra le quali 6 composti sono stati selezionati e testati per le proprietà ADME/PK e per la loro capacità di aumentare l'attività della  $\beta$ -gal in fibroblasti GM1. La tecnica CRISPR/Cas e la trasfezione transiente sono state sfruttate per sviluppare un sistema in vitro per testare i composti.

## Risultati

Il composto #73 è stato selezionato in quanto ha mostrato il miglior profilo ADME/PK complessivo e un aumento dell'attività della  $\beta$ -gal in fibroblasti P1 (p.R201H/p.W576\*) di 3 e 0,7 volte rispetto alle cellule non trattate e trattate con aloxistatina, rispettivamente. Nessun effetto è stato osservato in P2 (p.T82M/p.Y199C), confermando la diversa suscettibilità delle varianti *GLBI* ai composti, già nota per l'aloxistatina. Sulla base di queste osservazioni, il composto #73 è stato testato su altre 4 linee di fibroblasti GM1 (P3: p.T82M/p.R419W; P4: p.R201H/p.P549L; P5: p.G123R/p.R201C; P6: p.L422R/p.L422R) mostrandosi efficace solo su P4 e P5.

Al fine di studiare la suscettibilità di diverse varianti di *GLBI*, abbiamo sviluppato e validato un sistema in vitro; nello specifico, abbiamo: 1) generato una linea *GLBI* KO e un set di plasmidi contenenti il cDNA di *GLBI* wild-type o con le varianti presenti nei fibroblasti GM1 testati; 2) trasfettato ciascun plasmide nelle cellule KO; 3) trattato le cellule trasfettate con il composto #73 e misurato l'attività della  $\beta$ -gal: solo le cellule trasfettate con R201H o R201C hanno risposto al trattamento, mostrando un aumento di attività simile a quello osservato in P1, P4 e P5.

## Conclusione

Attraverso un'ottimizzazione in silico dell'aloxistatina abbiamo sintetizzato una piccola molecola con un miglior profilo di distribuzione e un'efficacia superiore nel ripristinare l'attività della  $\beta$ -gal mutata. Inoltre, abbiamo sviluppato un sistema in vitro per studiare la suscettibilità delle diverse varianti di *GLBI* al trattamento.

---

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

## ID: 37 - Gestione di una famiglia complicata: non è mai troppo tardi per fare diagnosi...

**Nadia Altavilla**<sup>1</sup>, Anita Vergatti<sup>1</sup>, Paolo Manzi<sup>1</sup>, Michelina Sibilio<sup>2</sup>, Giulia Frisso<sup>3</sup>, Domenico Rendina<sup>1</sup>, Antonio Barbato<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Medicine and Surgery, Federico II University, Naples., <sup>2</sup> Metabolic Diseases Unit, Santobono-Pausilipon Children's Hospital, 80129 Naples, Italy., <sup>3</sup> Department of Molecular Medicine and Medical Biotechnology, University of Naples "Federico II", Naples, Italy.

---

**Introduzione:** La Malattia di Gaucher è una patologia da accumulo lisosomiale autosomica recessiva causata da mutazioni del gene GBA responsabile della sintesi della  $\beta$ -glucocerebrosidasi. Il tipo 1 (GD1) più frequente, si presenta con citopenie, epatosplenomegalia e interessamento osseo. Sebbene la diagnosi si basi tradizionalmente su dati clinico-enzimatici, la crescente disponibilità di tecniche genetiche avanzate ha portato alla luce varianti complesse e fenotipi sfumati, con implicazioni diagnostiche e gestionali.

**Metodi:** Una paziente con GD1 diagnosticata in età pediatrica sulla base del quadro clinico-enzimatico è stata sottoposta in età adulta, insieme a genitori e fratello, a rivalutazione genetica mediante Clinical Exome Sequencing e Sanger sequencing, dosaggio enzimatico, e valutazione dei biomarcatori lisosomiali (lyso-Gb1 e chitotriosidasi).

**Risultati:** La paziente è risultata eterozigote composta per la mutazione N370S e un allele ricombinante complesso AH006907.2g.1942\_7678 con 10042\_14165 (derivante da ricombinazione genica con lo pseudogene GBAP1). La madre è risultata portatrice dell'allele ricombinante. Il padre presentava la variante N370S e la variante a significato incerto p.M124V, con sintesi enzimatica significativamente ridotta, ma biomarcatori nei limiti e assenza di manifestazioni tipiche. Il fratello ha ereditato l'allele ricombinante dalla madre e la p.M124V dal padre, mostrando un'attività enzimatica borderline, biomarcatori nei limiti alti, e splenomegalia moderata, ma senza altri segni clinici.

**Conclusioni:** Il caso dimostra come l'inquadramento diagnostico nella GD1 dipenda da una valutazione integrata di dati clinici, molecolari e biochimici. In particolare, la presenza di un fenotipo subclinico con attività enzimatica ridotta ma markers normali solleva interrogativi gestionali nella cosiddetta “zona grigia” dei portatori con potenziale espressività patologica. È indispensabile rafforzare la comunicazione medico-paziente-genetista, approfondire il significato funzionale delle varianti non note e adottare un approccio individualizzato guidato da una valutazione clinica attenta e multidisciplinare. È inoltre necessario un attento monitoraggio per cogliere nel tempo eventuali segni di progressione



della malattia, data l’eterogeneità dell’espressione fenotipica. Infine è fondamentale la creazione di percorsi condivisi per la gestione clinico/terapeutica dei pazienti con profili genetico-enzimatici non chiaramente definibili.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 39 - Dal sequenziamento dell’esoma al modeling computazionale: caratterizzazione integrata di una nuova variante del gene ABCD1 legata a X-ALD** (L’abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Vincenzo Scorrano**<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>, Sara Matricardi<sup>2</sup>, Giovanni Prezioso<sup>2</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>, Valentina Gatta<sup>1</sup>, Rossella Ferrante<sup>1</sup>, Liborio Stuppia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center for Advanced Studies and Technology, Università “G. d’Annunzio” di Chieti-Pescara, Chieti, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Università “G. d’Annunzio” di Chieti-Pescara, Chieti, Italia

**Introduzione** L’Adrenoleucodistrofia (ALD) è una malattia neurometabolica recessiva legata al cromosoma X, causata da mutazioni del gene ABCD1, e rappresenta la più comune malattia ereditaria perossisomiale. Il gene ABCD1 codifica per un trasportatore perossisomiale che lega l’ATP agli acidi grassi a catena molto lunga e ne assicura l’eliminazione dai perossisomi. Il quadro clinico di X-ALD comprende insufficienza surrenalica, mielopatia e leucoencefalopatia.

**Metodi** In considerazione del sospetto clinico in due fratelli, maschi di 10 e 6 anni, e seguendo il workflow del programma di screening neonatale per X-ALD, il profilo di lisofosfatildilcoline e acilcarnitine è stato determinato da campione DBS in FIA-MS/MS. Inoltre, sullo stesso campione è stato possibile misurare i livelli di C26:0-LPC e C26:0 in LC-MS/MS, come analisi di secondo livello. I due probandi sono stati sottoposti ad analisi dell’esoma clinico. La conferma della variante identificata in NGS e l’analisi di segregazione parentale sono state realizzate tramite sequenziamento Sanger. L’analisi in silico degli effetti molecolari della variante è stata condotta utilizzando PolyPhen2 e VarSite.

**Risultati** Le analisi condotte da campione DBS come test di primo livello, confermate dal test di secondo livello, hanno evidenziato lievi alterazioni nei livelli di alcune lisofosfatildilcoline e acilcarnitine. L’analisi dell’esoma condotta sui probandi ha identificato una variante emizigote del gene ABCD1, c.281T>C (Leu94Pro), a segregazione materna. La variante risulta attualmente non classificata e non è mai stata descritta in letteratura. I dati bioinformatici indicano una probabile patogenicità della variante, evidenziando un’elevata conservazione evolutiva della Leu94 e una differenza strutturale nella sostituzione della leucina, alifatica e idrofobica, con la prolina, che limita la conformazione dell’ $\alpha$ -elica.

**Discussione/Conclusioni** Una nuova variante del gene ABCD1 (L94P), identificata in due fratelli maschi affetti da X-ALD, potrebbe rivestire un ruolo nella patogenesi della malattia secondo il dosaggio biochimico, il dato genetico e il modeling computazionale. La variante L94P del gene ABCD1, localizzata nell’esone 1 che codifica per il dominio transmembrana, interessa la Leu94, un residuo evolutivamente conservato, con un potenziale effetto deleterio sulla funzione del trasportatore.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 44 - Definizione della minima dose terapeutica di terapia genica lentivirale in vivo per l’acidemia metilmalonica**

**Elena Barbon**<sup>1</sup>, Chiara Simoni<sup>1</sup>, Elisabetta Manta<sup>1</sup>, Francesca Sanvito<sup>1</sup>, Giancarlo la Marca<sup>2</sup>, Alessio Cantore<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto San Raffaele-Telethon per la terapia genica (SR-Tiget), <sup>2</sup> Università di Firenze

Background: L’acidemia metilmalonica (MMA) è una malattia congenita del metabolismo, causata da mutazioni nel gene metilmalonil-coA mutasi (MUT), che provocano un accumulo di acido metilmalonico (MMAc). La terapia genica integrativa basata su vettori lentivirali “immunoschermati” (ISLV) ha il potenziale di consentire un beneficio clinico stabile anche in pazienti pediatriche. Metodi: Abbiamo valutato la dose-risposta e la sicurezza della terapia genica diretta al fegato in un modello murino intermedio della malattia, mediante ISLV codificante MUT in una cassetta di espressione specifica per gli epatociti (ISLV.MUT). Per definire la dose di ISLV necessaria alla trasduzione degli epatociti umani, abbiamo somministrato dosi crescenti di ISLV.MUT a topi umanizzati nel fegato (FRGN) con epatociti umani  $\geq 60\%$ .

Risultati: Topi MMA trattati con terapia genica a 2 settimane di vita hanno mostrato una rapida, sostanziale e duratura diminuzione dell'MMAc circolante con normalizzazione di FGF-21, un biomarcatore della funzione mitocondriale. Abbiamo ottenuto over espressione dell'enzima MUT di circa 5 volte superiore al normale, parallelamente al miglioramento della mitocondriopatia. L'istologia epatica era completamente normale nei topi trattati e non mostrava le alterazioni riscontrate nei topi malati non trattati. MMAc intraepatico era quasi completamente normalizzato e significativamente ridotto anche nel cervello e nel rene, indicando un beneficio extraepatico, accompagnato da un miglioramento del profilo di metaboliti sia nel fegato che nel circolo in topi trattati con terapia genica. Abbiamo osservato trasduzione epatica dose-dipendente (fino >80%) e un miglioramento dei biomarcatori e del fenotipo della malattia, con un evidente vantaggio selettivo degli epatociti corretti alle dosi più basse di ISLV. Abbiamo dimostrato una trasduzione epatica efficiente e dose-dipendente nel topo umanizzato, raggiungendo livelli comparabili a quelli osservati nel modello murino a dosi inferiori, grazie all'arricchimento di CD47, un inibitore della fagocitosi, sulla superficie di ISLV, riconosciuto nei topi FRGN, che protegge ISLV dalla cattura da parte dei macrofagi e aumenta quindi il trasferimento genico negli epatociti. Conclusione: Questi dati ci informano sulla minima dose terapeutica di ISLV necessaria per la correzione genica, fornendo ulteriori dati a supporto dell'avvio di una sperimentazione clinica basata su vettori lentivirali in vivo in pazienti affetti da MMA.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 45 - Tossicità gastrointestinale grave in pazienti portatori di varianti rare del gene DPYD** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Claudia Palmarini<sup>1</sup>**, Marianna Ranaudo<sup>1</sup>, Rossella Ferrante <sup>1</sup>, Cristina Milillo<sup>1</sup>, Melania Dovizio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Università degli Studi G. D'Annunzio, Chieti

**Introduzione:** Le fluoropirimidine, in particolare il 5-fluorouracile (5-FU), sono farmaci largamente utilizzati nel trattamento di diverse neoplasie. Il loro metabolismo è regolato dall'enzima DPD, codificato dal gene DPYD. Varianti genetiche in DPYD possono ridurre l'attività enzimatica, aumentando il rischio di tossicità. Sebbene i test genetici pre-trattamento si concentrino su varianti comuni, anche varianti rare possono compromettere la clearance del farmaco e provocare eventi avversi gravi. Riportiamo un caso clinico che evidenzia il ruolo di due varianti rare nella tossicità severa da 5-FU. **Metodi:** Tre pazienti candidati al trattamento con 5-FU sono stati sottoposti a screening genotipico per i cinque polimorfismi più comuni del gene DPYD, mediante Real Time PCR con kit EasyPGX. A seguito di gravi reazioni avverse, è stato eseguito il sequenziamento Sanger dell'intero gene DPYD per individuare eventuali varianti rare non incluse nel pannello iniziale. **Risultati:** I test iniziali hanno mostrato un genotipo wild-type in tutti e tre i pazienti. Tuttavia, entro 48 ore dalla somministrazione del 5-FU, ciascun paziente ha sviluppato tossicità gastrointestinale severa di grado 4 (nausea, vomito, diarrea), richiedendo l'interruzione della terapia e il ricovero ospedaliero. Successivamente è stato effettuato il sequenziamento dell'intero gene, che ha identificato la variante c.85T>C in due pazienti e la variante c.1601G>A in uno. Entrambe sono associate in letteratura a una ridotta attività dell'enzima DPD, coerente con il quadro clinico osservato. Sebbene il loro significato clinico sia ancora oggetto di dibattito, è verosimile che abbiano contribuito a un metabolismo alterato del 5-FU e alla conseguente tossicità grave. **Conclusioni:** Questo caso clinico evidenzia l'importanza di un'analisi genetica più estesa per l'identificazione di varianti rare non rilevabili con i test standard. Il sequenziamento Sanger ha permesso di individuare varianti potenzialmente responsabili della tossicità da 5-FU. Pertanto l'inclusione delle varianti c.85T>C e c.1601G>A nei pannelli diagnostici potrebbe migliorare la stratificazione del rischio e consentire trattamenti oncologici più sicuri e personalizzati.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 47 - Analisi dei profili urinari degli acidi organici nei bambini con disturbi dello spettro autistico: studio caso-controllo**

**Maria Pitrone<sup>1</sup>**, Vincenzo Bellavia<sup>1</sup>, Anna Lelio<sup>1</sup>, Tommaso Silvano Aronica<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Diagnostica Avanzata – U.O.S. Patologia Clinica Pediatrica Lab CSNE, Ospedale Pediatrico G. Di Cristina, Palermo, Italia

Background: i disturbi dello spettro autistico (ASD) sono patologie del neurosviluppo caratterizzate da compromissione dell'interazione sociale, uso atipico del linguaggio e comportamenti ripetitivi o stereotipati. La diagnosi clinica si basa prevalentemente su criteri fenotipici (DSM-5), mentre la ricerca di biomarcatori oggettivi per l'identificazione e la

comprensione eziologica dell’ASD è ancora in corso. Questo studio ha confrontato i profili degli acidi organici urinari di bambini con ASD rispetto a bambini con sviluppo tipico (TD), con l’obiettivo di identificare potenziali biomarcatori diagnostici.

**Metodi:** i campioni urinari sono stati raccolti da bambini con diagnosi di ASD effettuata secondo i criteri del DSM-5 e da bambini TD sani, tra agosto 2023 e dicembre 2024. Sono stati esclusi soggetti con patologie metaboliche concomitanti. In totale, sono stati analizzati 30 campioni di bambini con ASD, 15 controlli non-ASD abbinati per età e sesso, e 7 campioni casuali provenienti da individui selezionati casualmente. I campioni urinari sono stati trattati con HCl 6N e sottoposti a estrazione degli acidi organici mediante un metodo validato. I metaboliti sono stati derivatizzati in BSTFA. Tutti i campioni (ASD, non-ASD e di controllo) sono stati addizionati con uno standard interno. L’analisi è stata eseguita mediante GC-MS utilizzando un sistema Agilent. I dati ottenuti sono stati sottoposti ad analisi discriminante lineare canonica (CDA) per identificare metaboliti discriminanti.

**Risultati:** l’analisi ha evidenziato differenze significative tra il gruppo ASD e il gruppo di controllo nei livelli di tre acidi organici urinari: acido 3-(3-idrossifenil)-3-idrossipropionico (3-HPHPA), acido 3-idrossifenilacetico (3HPA), acido 3-idrossiippurico (3HHA). Tutti e tre i composti si sono dimostrati biomarcatori potenzialmente discriminanti tra i gruppi (valori di  $p < 0,05$ ).

**Conclusioni:** i risultati suggeriscono che specifici metaboliti urinari, in particolare derivati fenolici, possono rappresentare validi biomarcatori per la diagnosi e lo studio patogenetico dei disturbi dello spettro autistico. Ulteriori studi con campioni più ampi e analisi longitudinali sono necessari per confermare questi dati e per chiarire il ruolo dei meccanismi metabolici alterati nell’ASD.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 48 - Difetto di TANGO2: fisiopatologia sinaptica e mitocondriale in neuroni glutamatergici derivati da pazienti**

**Silvia Carestiato**<sup>1</sup>, Katarina Vulić<sup>2</sup>, Giulia Amos<sup>2</sup>, Koen Wentinck<sup>3</sup>, Tatijana Kleele<sup>3</sup>, Bruno Sterlini<sup>4</sup>, Martina Servetti<sup>4</sup>, Aldamaria Puliti<sup>5</sup>, Paolo Scudieri<sup>5</sup>, Simona Baldassari<sup>5</sup>, Federico Zara<sup>5</sup>, Francesco Porta<sup>6</sup>, Giovanni Battista Ferrero<sup>7</sup>, Janos Vörös<sup>2</sup>, Alfredo Brusco<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Università di Torino, Dipartimento di Neuroscienze, Torino, Italia, <sup>2</sup> ETH Zürich, Istituto di Ingegneria Biomedica, Laboratorio di Biosensori e Bioelettronica, Zurigo, Svizzera, <sup>3</sup> ETH Zürich, Dipartimento di Biologia, Zurigo, Svizzera, <sup>4</sup> Università di Genova, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Genova, Italia, <sup>5</sup> Università di Genova, Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica, Materno-Infantile (DiNOGMI), Genova, Italia, <sup>6</sup> Università di Torino, Dipartimento di Pediatria, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino, Italia, <sup>7</sup> Università di Torino, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Orbassano, Italia

**Introduzione:** Il difetto di TANGO2 è una rarissima condizione genetico-metabolica caratterizzata, accanto a ritardo mentale e epilessia, da fenomeni di scompenso metabolico acuto simili a quelli osservati nei difetti di beta-ossidazione (rabdomiolisi acuta, ipoglicemia, aritmie cardiache, coma). In effetti, la proteina TANGO2 è coinvolta nel metabolismo lipidico e nella funzione mitocondriale, fondamentali per soddisfare la richiesta energetica. In questo contesto, il ruolo metabolico-cellulare (ed in particolare, neuronale) di TANGO2 resta poco chiaro, nonostante sia stata osservata un potenziale beneficio della vitamina B5. Nello specifico, il difetto di TANGO2 può presentare ampia variabilità clinico-sintomatologica, come nel caso di 2 fratelli seguiti presso il nostro Centro (uno completamente asintomatico e uno con ritardo mentale e gravi episodi di scompenso metabolico acuto).

**Metodi:** Abbiamo generato cellule staminali (iPSC) dai due fratelli affetti da difetto di TANGO2 con fenotipi differenti. Le iPSC dei pazienti e controlli sono state differenziate in neuroni glutamatergici indotti (iGluNeurons) tramite espressione del gene NGN2. Per 21 giorni, abbiamo registrato l’attività elettrofisiologica mediante sistema MEA ad alta densità (HD-MEA) e valutato gli effetti del trattamento con vitamina B5. Inoltre, abbiamo studiato la connettività sinaptica e funzione mitocondriale, anche conducendo saggi di rilascio del glutammato e analizzato il potenziale di membrana mitocondriale e la mitofagia.

**Risultati:** I neuroni del paziente sintomatico (TO1) hanno mostrato attività di rete compromessa e ridotto rilascio di glutammato, indicativi di un deficit nella trasmissione sinaptica e nell’efficienza neuronale. Questi difetti sono stati parzialmente recuperati dal trattamento con vitamina B5. Al contrario, i neuroni del paziente asintomatico (TO2) hanno mantenuto una normale funzione elettrofisiologica, ma con un aumento della mitofagia, suggerendo meccanismi compensatori per il mantenimento mitocondriale. In entrambi abbiamo osservato un potenziale di membrana mitocondriale elevato, probabilmente indicativo di una risposta adattativa.

**Conclusioni:** La disfunzione sinaptica nei neuroni TO1, parzialmente recuperata con vitamina B5, evidenzia un ruolo cruciale di TANGO2 nella trasmissione sinaptica. La funzione preservata nel paziente TO2, nonostante lo stesso genotipo, sembra spiegata da un’aumentata mitofagia, indicativa di un meccanismo compensatori

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 52 - Studio dell’effetto degli anticorpi anti-alglucosidasi alfa sulla farmacocinetica nella malattia di Pompe infantile classica**

**Martha Caterina Faraguna**<sup>1</sup>, Daan Lambregts<sup>1</sup>, Ed H. Jacobs<sup>2</sup>, Marianne Hoogetveen-Westerveld<sup>2</sup>, Ina Barzel<sup>3</sup>, Tim Preijers<sup>3</sup>, Viola Crescitelli<sup>4</sup>, Serena Gasperini<sup>4</sup>, Johanna M.P. van den Hout<sup>1</sup>, Ans T. van der Ploeg<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center for Lysosomal and Metabolic Diseases, Department of Pediatrics, Erasmus MC University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands, <sup>2</sup> Department of Clinical Genetics, Erasmus MC University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands., <sup>3</sup> Department of Hospital Pharmacy, Erasmus MC, Erasmus University Medical Center Rotterdam, Rotterdam, The Netherlands, <sup>4</sup> Department of Pediatrics, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, Italy

**Introduzione:** Gli anticorpi anti-alglucosidasi alfa (anti-ADA) hanno un impatto sull’outcome dei pazienti con la malattia di Pompe infantile classica. Sono state eseguite curve farmacocinetiche (PK) dopo l’infusione di 40 mg/kg di alglucosidasi alfa. **Metodi:** L’attività enzimatica alfa-glucosidasi è stata analizzata utilizzando sfere artificiali di proteina A e sefariosio per studiare l’effetto degli anticorpi. L’attività neutralizzante degli ADA è stata valutata in fibroblasti derivati dai pazienti. Gli anti-ADA sono stati determinati con metodica ELISA; un titolo è definito elevato è se  $\geq 1:31250$ . I parametri PK sono stati determinati mediante analisi non compartimentale. **Risultati:** Sono state analizzate 15 curve PK, di cui nove eseguite ad un titolo anticorpale elevato. La massima concentrazione mediana (Cmax) è stata osservata al termine dell’infusione, pari a 1142 nmol/10ul/h (range 513-1994) e 1107 nmol/10ul/h (range 656-1987) negli assay con proteina A e sefariosio (p=0.62), rispettivamente. L’emivita mediana era di 2,6 ore (proteina A) e 3,0 ore (sefariosio). L’area sotto la curva (AUC), calcolata in 12 pazienti, è risultata inferiore nell’assay con proteina A (5540 nmol/10ul, range 3352-9500) rispetto a sefariosio (6072 nmol/10ul, range 4627-9407) (p=0.19). Nel gruppo di soggetto con anti-ADA elevati, Cmax era ridotto (p=0.018 proteina A, p=0.007 sefariosio). In tre pazienti, con un titolo di 1:156000, è stata osservata una riduzione del 15-30% del Cmax nell’assay con proteina A. In caso di pregressa reazione infusione, lo schema infusione personalizzato portava ad una Cmax ulteriormente ridotta (p=0.03 proteina A, p=0.009 sefariosio); complessivamente è stata osservata una correlazione inversa tra Cmax e durata dell’infusione (R=−0.67). I parametri PK miglioravano dopo immunomodulazione. Gli effetti degli anticorpi neutralizzanti sono stati confermati su fibroblasti in 6 su 7 pazienti con elevati titoli di ADA. **Conclusioni:** gli anticorpi anti-alglucosidasi alfa possono avere un effetto notevole sulla farmacocinetica e sulla disponibilità in circolazione del farmaco. Il monitoraggio degli ADA nei soggetti con malattia di Pompe infantile classica è cruciale, così come l’eliminazione dei titoli elevati tramite immunomodulazione.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 53 - Livelli di lyso-Gb3 in pazienti pediatrici con malattia di Fabry identificati allo screening neonatale**

**Vincenza Gragnaniello**<sup>1</sup>, Alessandro Burlina<sup>3</sup>, Chiara Edini<sup>1</sup>, Leonardo Salvati<sup>1</sup>, Elena Porcù<sup>1</sup>, Natan Meloni<sup>1</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Dominique Germain<sup>4</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche Ereditarie, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università di Padova, <sup>2</sup> UOC Genetica Clinica, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università di Padova, <sup>3</sup> UOC Neurologia, Ospedale San Bassiano, Bassano del Grappa, <sup>4</sup> Division of Medical Genetics, University of Versailles and APHP Paris Saclay University, Garches, France

**Introduzione:** La malattia di Fabry è una malattia da accumulo lisosomiale legata all’X causata da una carenza dell’enzima  $\alpha$ -galattosidasi A ( $\alpha$ -Gal A), con accumulo di globotriaosilceramide (Gb3) e del suo derivato deacilato, globotriaosilsfingosina (lyso-Gb3). Il livello plasmatico di lyso-Gb3 correla alla gravità nei maschi sintomatici, ma poco è noto sul suo andamento nelle popolazioni pediatriche presintomatiche. Scopo del nostro studio è valutare i livelli di lyso-Gb3 alla nascita e in età pediatrica nei pazienti identificati allo screening neonatale. **Metodi:** Sono stati raccolti campioni di plasma da 25 maschi identificati allo screening neonatale con malattia di Fabry. Tutti presentavano una ridotta attività  $\alpha$ -Gal A e varianti del gene GLA, classificate come later-onset (LO) o di significato incerto (VUS). Il follow-up a lungo termine è stato condotto fino all’età di 9 anni (mediana: 5 anni) con valutazioni annuali. Il lyso-Gb3

plasmatico è stato misurato mediante LC-MS/MS (vn <0,43 nmol/L). Risultati: I livelli di lyso-Gb3 sono stati analizzati in 105 campioni di plasma. Dei 13 pazienti con varianti LO, sono state testati 53 campioni, di cui 50 presentavano livelli di lysoGb3 elevati (media: 2,87 nmol/L, SD: 3,46). Al contrario, sono stati raccolti 52 campioni da 12 soggetti con VUS, e 29 mostravano valori solo leggermente elevati (0,43-1 nmol/L). La differenza tra i due gruppi era statisticamente significativa (p<0,0001), sebbene i valori fossero sovrapponibili alla nascita. I livelli di lyso-Gb3 nei pazienti LO hanno mostrato un aumento più pronunciato durante i primi due anni di vita prima di raggiungere un plateau, mentre nei casi portatori di VUS si sono mantenuti stabili nel tempo. Conclusioni: L’aumento dei livelli plasmatici di lyso-Gb3 è rilevabile prima dei sintomi clinici nei pazienti pediatrici con malattia di Fabry a insorgenza tardiva, facilitando la differenziazione precoce dagli individui con quelli portatori di VUS. Questi risultati, non presenti ad oggi in letteratura, rafforzano il valore diagnostico e prognostico del lyso-Gb3, in particolare nei pazienti identificati attraverso lo screening neonatale. Tuttavia, il plateau precoce osservato pone dubbi sulla sua utilità per il monitoraggio della malattia a lungo termine.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

ID: 75 -

**Deficit di β-ureidopropionasi associato a fenotipo Leigh-like e ad aciduria metilmalonica: descrizione di un caso clinico**

Giulia Ferrera<sup>1</sup>, Sara Boenzi<sup>2</sup>, Eleonora Lamantea<sup>3</sup>, Daniele Ghezzi<sup>3</sup>, Anna Ardisson<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unit of Child Neurology, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "Carlo Besta", Milan, <sup>2</sup> Division of Metabolism, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma , <sup>3</sup> Unit of Medical Genetics and Neurogenetics - Mariani Centre for Paediatric Mitochondrial Disorders; Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "Carlo Besta", Milan

**Introduzione:** Il deficit di β-ureidopropionasi (βUP) è un raro disordine autosomico recessivo causato da varianti bialleliche del gene *UPB1*, con meno di 60 casi descritti. Il fenotipo è eterogeneo, da soggetti asintomatici a bambini con gravi encefalopatie dello sviluppo. La diagnosi si basa sul dosaggio urinario di specifici metaboliti del catabolismo delle pirimidine, quali N-carbamil-β-alanina (NCβA) e N-carbamil-β-aminoisobutirrato (NCβAIBA), che però richiedono laboratori altamente specializzati. Sono quindi necessari marcatori alternativi più accessibili per facilitare la diagnosi precoce. **Metodi:** Raccolta retrospettiva e analisi di dati clinici, biochimici, strumentali e genetici di un paziente affetto da βUP. **Risultati:** Il paziente, di 7 anni, ha mostrato da subito un grave ritardo psicomotorio (controllo del capo a 12 mesi, parziale del tronco a 14 mesi, assenza di linguaggio). Nel tempo sono comparsi segni extrapiramidali agli arti superiori. I primi accertamenti sono stati eseguiti a 18 mesi con riscontro di persistente aumento dell’acido metilmalonico urinario e di lattato e piruvato sierici. I potenziali evocati hanno mostrato un coinvolgimento multisistemico del SNC; EEG e studio del periferico erano nella norma. La RM encefalo ha mostrato lesioni bilaterali e simmetriche della grigia profonda, stabili nel tempo, compatibili con fenotipo Leigh-like. La biopsia muscolare ha evidenziato un difetto isolato del complesso I su muscolo (attività residua 52%). Le analisi genetiche per mitocondriopatie e per difetti del metabolismo dell’acido metilmalonico sono risultate negative. Lo studio dell’esoma ha infine rilevato due varianti in *UPB1*, trasmesse in trans. L’analisi biochimica mirata ha evidenziato accumulo urinario di NCβA e NCβAIBA, confermando il difetto del metabolismo delle pirimidine. **Discussione:** Il nostro caso amplia lo spettro fenotipico e neuroradiologico associato a varianti patogene in *UPB1*. L’aumento dell’acido metilmalonico urinario, finora non descritto in questa patologia, potrebbe rappresentare un biomarcatore facilmente disponibile a supporto della diagnosi. Ad oggi la fisiopatologia del difetto di βUP non è nota, e i nostri dati suggeriscono una disfunzione mitocondriale come potenziale meccanismo patogenetico. I clinici dovrebbero considerare le varianti *UPB1* nei disturbi del neurosviluppo ad esordio precoce, soprattutto nella diagnosi differenziale delle encefalopatie Leigh-like associate ad aciduria metilmalonica

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

ID: 87 - **Deficit di alfa-mannosidasi: dosaggio enzimatico su DBS** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Giulia Tozzi<sup>1</sup>, Federica Deodato<sup>1</sup>, Carlo Dionisi Vici<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche ed Epatologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma

**Introduzione:** L’ $\alpha$ -mannosidosi (OMIM 248500) è una malattia da accumulo lisosomiale (LSD) ultra-rara causata da mutazioni nel gene *MAN2B1*, che codifica per l’ $\alpha$ -mannosidasi (EC 3.2.1.24), un’idrolasi acida responsabile della degradazione degli oligosaccaridi contenenti mannosio (OS). Il deficit di  $\alpha$ -mann causa l’accumulo tissutale di OS, responsabile di una malattia multisistemica con disabilità intellettiva, anomalie facciali/scheletriche, deficit uditivo e immunodeficienza. I fenotipi clinici sono variabili, il che complica/ritarda l’identificazione del paziente. La diagnosi si basa sulla misurazione dell’attività enzimatica (AE) dell’ $\alpha$ -mann su leucociti o dried blood spot (DBS) combinata all’analisi degli OS urinari. Una ridotta/assente AE e un elevato livello di OS sono suggestivi di  $\alpha$ -mannosidosi, per la cui conferma è necessaria l’analisi del gene *MAN2B1*. L’utilizzo del DBS presenta diversi vantaggi rispetto all’uso di sangue intero: volume di sangue ridotto e tempi di risposta più rapidi. Poiché la diagnosi precoce e un intervento rapido sono importanti per migliorare l’esito della malattia, abbiamo messo a punto il dosaggio enzimatico dell’ $\alpha$ -mann su DBS con metodo fluorimetrico. **Metodi:** Il dosaggio enzimatico viene eseguito utilizzando il substrato fluorescente 4-MU- $\alpha$ -D-mannopiranoside ( $\lambda_{exc}$  365 nm e  $\lambda_{em}$  450 nm). L’AE è espressa come pmol di substrato idrolizzato per spot per ora (pmol/spot/ora). Per il controllo di qualità, l’ $\alpha$ -mann viene misurata in parallelo con l’AE della  $\beta$ -gal. Per la messa a punto del metodo e la validazione clinica abbiamo analizzato 200 soggetti di controllo e 1 caso positivo. **Risultati:** Sensibilità e riproducibilità: LOQ 1.37, LOD 1.17, Intra-assay variation  $31.5 \pm 1.2$  (CV% 3.8, mediana 31.1), Inter-assay variation  $36.5 \pm 4.3$  (CV% 11.8, mediana 37.4). L’AE nei controlli di  $41.2 \pm 8.6$  pmol/spot/h (CV% 20.8, mediana 42.3) è risultata nettamente superiore a quella osservata nel paziente con deficit di  $\alpha$ -mann ( $2.5 \pm 0.6$  pmol/spot/h). **Conclusioni:** L’AE messa a punto nello studio ha permesso di discriminare soggetti sani dai pazienti con  $\alpha$ -mann, utilizzando un metodo semplice e rapido. Il dosaggio dell’AE, in combinazione allo studio genetico-molecolare, offre un avanzamento diagnostico per una malattia attualmente sottovalutata. Una diagnosi precoce è cruciale in quanto permette un intervento terapeutico tempestivo, come la terapia enzimatica sostitutiva (ERT) che può aiutare a rallentare la progressione della malattia e migliorare la qualità di vita dei pazienti.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 90 - Dosaggio multiplex per la determinazione simultanea di GAG urinari: un approccio semplificato per la diagnosi e il monitoraggio delle mucopolisaccaridosi**

Paola Nocerino<sup>1</sup>, Roberta Fedele<sup>2</sup>, Marica Cozzolino<sup>2</sup>, Melania Scarcella<sup>1</sup>, Valeria De Pasquale<sup>3</sup>, Luigi Michele Pavone<sup>1</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>1</sup>, Marianna Caterino<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli Federico II, Napoli, Italia, <sup>2</sup> CEINGE - Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore s.c.a r.l., Napoli, Italia, <sup>3</sup> Dipartimento di Medicina Veterinaria e Produzioni Animali, Università degli Studi di Napoli Federico II, Napoli, Italia

**Introduzione.** Le mucopolisaccaridosi (MPS) sono patologie ereditarie lisosomiali causate da deficit enzimatici responsabili della degradazione dei glicosaminoglicani (GAG). Questi difetti enzimatici determinano un accumulo progressivo di GAG nei tessuti e nei fluidi biologici, dando origine a manifestazioni cliniche multisistemiche. Le MPS sono descritte da specifici profili di accumulo di GAG: livelli elevati di HS indicano la MPS III; un aumento di DS è tipico della MPS VI; mentre l’accumulo di cheratansolfato (KS) è indicativo della MPS IV; l’accumulo combinato di dermatansolfato (DS) ed eparansolfato (HS), invece, è caratteristico delle MPS I, II e VII. Pertanto, l’analisi quantitativa dei biomarcatori DS, HS e KS nelle urine rappresenta un approccio efficace per la diagnosi, il monitoraggio terapeutico e il follow-up dei pazienti. **Metodi.** Il presente studio ha avuto l’obiettivo di ottimizzare un metodo semplice e affidabile per la quantificazione simultanea dei GAG diagnostici, mediante cromatografia liquida ultra-performante accoppiata a spettrometria di massa tandem (UPLC-MS/MS). Il protocollo prevede un singolo passaggio di preparazione del campione, in cui i GAG sono sottoposti a metanolisi per formare dimeri disaccaridici specifici, successivamente quantizzati mediante MRM (monitoraggio multiplo delle reazioni). **Risultati.** Rispetto ai protocolli precedenti, la procedura proposta affronta la sfida della risoluzione del condroitinsolfato (CS), che risulta generalmente indistinguibile con la sola spettrometria di massa. La procedura ottimizzata migliora la capacità di discriminazione del condroitinsolfato (CS), la cui identificazione risulta indistinguibile dagli altri GAG per spettrometria di massa. Nonostante la sua semplicità, il dosaggio multiplex mantiene un’eccellente sensibilità, precisione (HS, CV $\leq$ 10,8%; DS, CV $\leq$ 7%; KS, CV $\leq$ 9,9%) e accuratezza (HS 1,3-9,2%; DS 3,9-13,1%; KS 0,47-15,2%) con curve di calibrazione che mostrano una linearità superiore a  $r^2 > 0,995$ . **Conclusioni.** Il metodo consente la differenziazione biochimica della maggior parte dei tipi di MPS, supportando la diagnosi clinica e il monitoraggio longitudinale del paziente.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 96 - Alta frequenza di varianti geniche associate a disordini da accumulo lisosomiale (LSD) in una coorte italiana di 148 pazienti neurologici adulti** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Federica Feo**<sup>1</sup>, Anna Caciotti<sup>1</sup>, Luciana Tramacere<sup>2</sup>, Silvia Ramat<sup>3</sup>, Alessandra Govoni<sup>3</sup>, Luca Caremani<sup>3</sup>, Giulia Grigioni<sup>3</sup>, Francesca Piattellini<sup>3</sup>, Davide Mei<sup>4</sup>, Silvia Falliano<sup>1</sup>, Francesca Marin<sup>1</sup>, Lorenzo Ferri<sup>1</sup>, Antonella Paoli<sup>1</sup>, Marina Rinaldi<sup>1</sup>, Giancarlo la Marca<sup>5</sup>, Daniela Ombrone<sup>6</sup>, Elena Procopio<sup>7</sup>, Renzo Guerrini<sup>8</sup>, Amelia Morrone<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Genetica Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Medica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> USL Toscana Centro, Unità di Neurologia, Ospedale San Giovanni di Dio, Firenze, <sup>3</sup> Unità Parkinson, AOU Careggi, Firenze, <sup>4</sup> Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Medica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>5</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Chimica Clinica e Farmacologia, AOU Meyer IRCCS/ Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche, Università di Firenze, <sup>6</sup> Laboratorio di Screening Neonatale, Chimica Clinica e Farmacologia, AOU Meyer IRCCS, <sup>7</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, AOU Meyer IRCCS, <sup>8</sup> Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Medica, AOU Meyer IRCCS/ Dipartimento di NEUROFARBA, Università di Firenze, <sup>9</sup> Laboratorio di Genetica Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Medica, AOU Meyer IRCCS/ Dipartimento di NEUROFARBA, Università di Firenze

**Introduzione:** I disturbi neurodegenerativi (NDD) comuni, come la malattia di Parkinson (PD), il morbo di Alzheimer o atassie ad eziologia variabile, possono manifestarsi con sintomi simili a quelli dei disordini da accumulo lisosomiale (LSD). È ben nota l’associazione tra varianti patogenetiche allo stato di eterozigosi nel gene *GBA* (Malattia di Gaucher) e PD. Anche varianti in eterozigosi nei geni codificanti l’enzima galattocerebrosidasi (*GALC*) e arilsolfatasi A (*ARSA*), causative in modalità biallelica rispettivamente della malattia di Krabbe e della leucodistrofia metacromatica, sono state identificate come fattori di rischio per lo sviluppo di NDD. Il nostro studio ha incluso pazienti neurologici privi di diagnosi con sintomi di NDD sovrapponibili a quelli identificati nelle LSD ad esordio tardivo. **Metodi:** I 148 pazienti arruolati in questo studio sono stati analizzati utilizzando un pannello NGS comprendente 64 geni associati a LSD. Sono state inoltre effettuati dosaggi di attività enzimatica e studi di patogenicità in silico, oltre alle analisi genetiche familiari. **Risultati:** In questo studio abbiamo identificato un paziente affetto dalla forma tardiva della malattia di Krabbe e due pazienti con varianti patogenetiche nel gene lisosomiale *GRN*, che causa la demenza frontotemporale, un disturbo autosomico dominante. Inoltre, abbiamo identificato 17 pazienti con varianti patogenetiche note allo stato di eterozigosi. Nello specifico, 11 pazienti con varianti nel gene *GBA*, 3 pazienti nel gene *GALC* e 3 pazienti nel gene *ARSA*. **Discussione:** Questi dati evidenziano l’importanza di includere le LSD nella diagnosi differenziale delle NDD. Inoltre, rispetto alla popolazione generale, abbiamo identificato un’alta percentuale di portatori eterozigoti di varianti patogenetiche note coinvolte nei LSD, il che suggerisce che i difetti genetici dei LSD possono comportare un rischio maggiore di sviluppare NDD.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 97 - Terapia combinata nella MPS IIIB: impatto dello chaperone farmacologico L-NBDNJ sulla terapia enzimatica sostitutiva** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Mariangela Ciampa**<sup>1</sup>, Melania Scarcella<sup>1</sup>, Federica Rossin<sup>3</sup>, Anna Esposito<sup>2</sup>, Annalisa Guaragna<sup>2</sup>, Valeria De Pasquale<sup>3</sup>, Luigi Michele Pavone<sup>1</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 Mucopolisaccaridosi IIIB (MPS IIIB) è una malattia metabolica ereditaria causata dal deficit dell’enzima  $\alpha$ -N-acetil-glucosaminidase (NAGLU) e dal conseguente accumulo di eparano solfato (HS) nei lisosomi e in altri compartimenti cellulari. Le manifestazioni cliniche della MPS IIIB colpiscono principalmente il sistema nervoso con neurodegenerazione e declino cognitivo. Attualmente non esistono terapie risolutive per la MPS IIIB e pertanto, numerosi studi sono rivolti all’identificazione di nuovi approcci terapeutici. In questo contesto, di recente abbiamo individuato alcuni imminozuccheri della stereochimica L come possibili agenti terapeutici per la MPS IIIB.

**Metodi.** La variazione dei livelli di HS e di LAMP1 (marcatore lisosomiale) è stata analizzata mediante immunofluorescenza in seguito al trattamento di fibroblasti di pazienti MPS IIIB con L-imminozuccheri. Il meccanismo terapeutico dell’imminozucchero selezionato tra i più attivi (L-NBDNJ) è stato valutato da solo e in combinazione con l’enzima NAGLU ricombinante (rhNAGLU). Mediante metodiche di western blotting e metodiche fluorimetriche per la

determinazione dell’attività enzimatica è stata valutata la capacità di L-NBDNJ di stabilizzare la proteina NAGLU e la sua attività enzimatica, sia della forma mutata endogena sia di quella ricombinante wild-type.

**Risultati.** Gli imminozuccheri sono in grado di aumentare i livelli proteici dell’enzima NAGLU in fibroblasti MPS IIIB e di correggere i difetti lisosomiali riducendo l’accumulo di HS. L’imminozucchero L-NBDNJ si è dimostrato efficace nella stabilizzazione della proteina e nell’aumento dell’attività enzimatica sia di NAGLU mutato endogeno e sia dell’enzima ricombinate rhNAGLU somministrato ai fibroblasti di pazienti affetti da MPS IIIB.

**Discussione.** Questi risultati evidenziano il potenziale terapeutico di L-NBDNJ in combinazione con la terapia enzimatica sostitutiva per il trattamento della MPS IIIB, aprendo la strada allo sviluppo di nuovi approcci terapeutici. Inoltre, i dati ottenuti chiariscono il meccanismo d’azione di tali agenti terapeutici. Tuttavia, sono attualmente in corso studi in vivo per validare l’efficacia nel modello murino della MPS IIIB.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 98 - Profilo fosfo-proteomico epato-specifico di un modello murino di GSDIa: nuovi meccanismi di progressione patologica**

Marianna Caterino<sup>1</sup>, Francesca Pirozzi<sup>1</sup>, Roberta Fedele<sup>2</sup>, Alessandro Rossi<sup>3</sup>, Pietro Strisciuglio<sup>3</sup>, Terry G. J. Derks<sup>4</sup>, Giancarlo Parenti<sup>3</sup>, Rutten Martijn G.S<sup>5</sup>, Maaïke H. Oosterveer<sup>5</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> University of Naples Federico II - Department of Molecular Medicine and Medical Biotechnology, Naples, Italy, <sup>2</sup> CEINGE - Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore, s.c.a r.l., Naples, Italy, <sup>3</sup> University of Naples Federico II - Department of Translational Medicine, Section of Pediatrics, Naples, Italy, <sup>4</sup> Section of Metabolic Diseases, Beatrix Children’s Hospital, University Medical Centre Groningen, University of Groningen, Groningen, The Netherlands, <sup>5</sup> Department of Pediatrics and Laboratory Medicine, University Medical Center Groningen, University of Groningen, Groningen, The Netherlands

**Introduzione.** La Glicogenosi Ia (GSDIa) è un raro disordine del metabolismo dei carboidrati, causato dal deficit dell’attività catalitica della glucosio-6-fosfatasi. La disfunzione enzimatica compromette l’omeostasi del glucosio, causando ipoglicemia, epatomegalia e aumentando il rischio di insulino-resistenza, sindrome metabolica ed epatocarcinoma. Nonostante le alterazioni metaboliche associate alla GSDIa siano state ampiamente caratterizzate a livello trascrittomico e metabolico, i cambiamenti nei network di segnalazione fosfo-dipendenti restano tuttora inesplorati. In questo studio, è stato implementato un approccio fosfoproteomico su un modello murino di GSDIa, finalizzato all’analisi dei meccanismi di regolazione fosforilativa e al loro possibile coinvolgimento nella progressione patologica. **Metodi.** L’analisi del profilo fosfoproteomico GSDIa-specifico è stata condotta su frazioni epatiche di un modello murino epato-specifico di GSDIa (Rutten MGS et al., 2021), mediante tecnologia LC-MS/MS. Lo studio ha incluso 18 topi GSDIa, stratificati per età (4 sett., n=6; 75 sett., n=12) e presenza di epatocarcinoma (75 sett., n=6), e 11 controlli (4 sett., n=6; 75 sett., n=5). Sono state eseguite analisi statistiche differenziali e integrazioni multi-livello di dati proteomici e fosfoproteomici per la caratterizzazione funzionale e temporale delle alterazioni molecolari associate alla progressione di malattia, con predizione bioinformatica dell’attività chinasi. **Risultati.** Nel modello murino GSDIa sono state identificate 7839 proteine e 4957 fosopeptidi. L’analisi integrata ha evidenziato l’arricchimento di pathways legati al metabolismo di carboidrati e lipidi, con proteine variabilmente regolate a livello di espressione e/o fosforilazione, a seconda di età e insorgenza della patologia. In particolare, la proteina IRS2, coinvolta nel pathway insulinico, risulta iperfosforilata esclusivamente nella fase precoce della patologia. **Discussione.** Per la prima volta, il profilo fosfoproteomico epato-specifico della GSDIa è stato caratterizzato in un modello murino, evidenziando alterazioni nei network di fosforilazione potenzialmente coinvolte nei meccanismi molecolari alla base delle complicanze metaboliche, tra cui l’insulino-resistenza. Questi risultati forniscono nuove prospettive per la comprensione della patogenesi e per l’identificazione di possibili strategie di intervento terapeutico mirate alla modulazione dei pathway di segnalazione alterati.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 100 - Rimodulazione metabolica nella Acidemia Metilmalonica: studio integrato mediante modelli metabolici basati sul genoma e analisi multi-omiche**

Michele Costanzo<sup>1</sup>, Sabrina Bianco<sup>1</sup>, Marianna Caterino<sup>1</sup>, Armando Cevenini<sup>1</sup>, Ramin Amiri<sup>2</sup>, Camilla Luni<sup>2</sup>, Margherita Ruoppolo<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 Ingegneria



**Introduzione.** L’acidemia metilmalonica isolata (MMA) è un disordine congenito del metabolismo del propionato caratterizzato da gravi alterazioni pleiotropiche e danno multiorgano. Il difetto genetico è causato da mutazioni nel gene codificante l’enzima metilmalonil-CoA mutasi (MUT), che isomerizza il metilmalonil-CoA in succinil-CoA per l’ingresso nel ciclo di Krebs. Il deficit di MUT determina accumulo nei fluidi corporei di alcuni metaboliti a monte della via enzimatica, come il metilmalonil-CoA, l’acido metilmalonico e la propionilcarnitina. Sebbene l’accumulo di metaboliti tossici induca danno metabolico nei pazienti, i difetti cellulari e molecolari alla base della fisiopatologia dell’MMA sono ancora ignoti con limitate e non curative opzioni terapeutiche.

**Metodi.** I modelli metabolici basati sul genoma (GEM) rappresentano un importante strumento per lo studio del metabolismo e delle sue alterazioni, raccogliendo l’attuale conoscenza della rete di reazioni metaboliche, con dettagliata stechiometria, termodinamica e associazioni enzimatiche. Attraverso l’integrazione di profili multi-omici, i GEM possono migliorare l’interpretazione delle alterazioni metaboliche associate alla MMA, permettendo la simulazione della carenza di MUT.

**Risultati.** Le analisi proteomiche e metabolomiche eseguite su un modello in vitro di MMA, in combinazione con le simulazioni dei flussi metabolici basate sui GEM, hanno rivelato un’ampia rimodulazione metabolica in risposta alla perdita di produzione di succinil-CoA, indicando l’attivazione di meccanismi compensatori al deficit di MUT. Un dato interessante riguarda la marcata alterazione dei flussi coinvolti nel trasporto degli amminoacidi tra il citoplasma e lo spazio extracellulare, sebbene i dati proteomici non abbiano mostrato alcuna espressione differenziale dei trasportatori di amminoacidi. Questi dati suggeriscono che i cambiamenti nei flussi di trasporto, piuttosto che l’abbondanza dei trasportatori, possano contribuire alla variazione delle concentrazioni di amminoacidi.

**Conclusioni.** In prospettiva, l’integrazione dei processi di regolazione trascrizionale nei GEM insieme alle analisi multi-omiche potrà fornire una maggiore comprensione della progressione e delle complicazioni a lungo termine della MMA.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 102 - Malattie neurometaboliche pediatriche: il ruolo diagnostico della risonanza magnetica cerebrale**

Arianna Zappietro<sup>1</sup>, Elisa Biamino<sup>2</sup>, Veronica Pagliardini<sup>3</sup>, Giovanni Morana<sup>4</sup>, Fiorenza Coppola<sup>5</sup>, Marco Spada<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Università degli studi di Torino , <sup>2</sup> Medico Pediatra, U.O.C. Pediatria, Dipartimento "Patologia e Cura del Bambino Regina Margherita", AOU Città della Salute e della Scienza di Torino - Ospedale Infantile Regina Margherita, Torino, <sup>3</sup> Dirigente Medico Pediatra, Dipartimento “Patologia e Cura del Bambino Regina Margherita”, AOU Città della Salute e della Scienza, Torino, <sup>4</sup> Professore associato di Neuroradiologia, Università di Torino; Direttore S.C. Neuroradiologia, Ospedale Infantile Regina Margherita, AOU Città della Salute e della Scienza, Torino, <sup>5</sup> Neuroradiologa presso il Dipartimento Diagnostica per Immagini e Radioterapia, Città della Salute e della Scienza, <sup>6</sup> Direttore S.C. Pediatria, Dipartimento “Patologia e Cura del Bambino Regina Margherita”, AOU Città della Salute e della Scienza di Torino; Ricercatore Universitario, Università di Torino; Coordinatore Centro Regionale Difetti Congeniti del Metabolismo

**Background**

Le malattie neurometaboliche ereditarie (IEM) sono patologie genetiche rare, spesso a esordio pediatrico, caratterizzate da quadri clinici eterogenei e sintomi neurologici aspecifici che rendono difficile una diagnosi precoce. La RM cerebrale rappresenta uno strumento utile per orientare la diagnosi, anticipando il ricorso all’analisi esomica (WES) per la conferma.

**Obiettivi**

Valutare retrospettivamente l’accuratezza diagnostica e il potere predittivo della RM encefalica nei pazienti con IEM, identificando pattern radiologici significativi e correlazioni con la clinica.

**Metodi**

Tra il 2018 e il 2024, 140 bambini sono stati riferiti all’OIRM per sospetta patologia genetico-metabolica. Tutti sono stati sottoposti a WES, diagnostico nel 60% dei casi, tra cui sono stati selezionati i 24 pazienti con IEM con almeno una RM encefalica svolta presso il centro. La coorte è stata divisa in 3 gruppi: disordini delle molecole complesse, del metabolismo energetico e delle piccole molecole. E’ stato elaborato uno score qualitativo su 20 criteri radiologici, per classificare le RM in patologiche, aspecifiche o normali. Si è poi analizzata la correlazione tra RM e regressione psicomotoria, ritardo del neurosviluppo e onset clinico.

**Risultati**

Dall’analisi delle RM svolte pre-diagnosi (21) è emersa una sensibilità del 57%, senza differenze significative tra i tre gruppi (p=0.90). Alcuni segni radiologici hanno mostrato trend specifici: le alterazioni mieliniche risultano significativamente associate a patologie delle molecole complesse e delle piccole molecole (p=0.027); le restrizioni in diffusione (p=0.108) e le alterazioni dei nuclei profondi (p=0.195) hanno mostrato un trend di associazione con patologie del metabolismo energetico. Inoltre i pazienti con regressione psicomotoria avevano tutti RM patologiche (p=0.0186); in quelli con ritardo del neurosviluppo la RM ha avuto un VPP del 62%, con un trend di associazione (p=0.08). Riguardo l’onset la RM ha mostrato un VPP del 40% nei pazienti con esordio entro il 1° mese di vita, salito al 70% dopo il 1° anno.

**Conclusioni**

La RM encefalica è un esame utile e predittivo nel sospetto precoce di IEM, seppur con dei limiti, soprattutto nell’onset neonatale. Pattern suggestivi, maggiormente se correlati a segni predittivi, dovrebbero orientare all’effettuazione del WES, riducendo i tempi diagnostici. L’integrazione di clinica, neuroimaging e genetica è essenziale per l’accesso precoce a terapie personalizzate.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 108 - Studio dell’interattoma della proteina MMACHC per la comprensione del pathway biosintetico della cobalamina**

**Armando Cevenini<sup>1</sup>**, Michele Costanzo<sup>1</sup>, Marianna Caterino<sup>1</sup>, Sabrina Bianco<sup>1</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli Federico II.

**Introduzione**

La proteina MMACHC è uno chaperone citosolico che partecipa alla via biosintetica della cobalamina, in uno step che è essenziale per la sintesi sia di adenosilcobalamina (AdoCbl) nel mitocondrio che di metilcobalamina (MeCbl) nel citosol. La AdoCbl funge da cofattore dell’enzima mitocondriale metilmalonil-CoA mutasi per la produzione di succinil-CoA, un intermedio del ciclo di Krebs. La MeCbl invece costituisce un cofattore dell’enzima citosolico metionina sintasi che catalizza la conversione dell’omocisteina in metionina. Mutazioni nel gene MMACHC causano l’insorgenza in epoca neonatale dell’acidemia metilmalonica combinata con omocistinuria di tipo cblC, un raro errore congenito del metabolismo del propionato e della metionina. Nonostante il suo ruolo nella biosintesi di AdoCbl e MeCbl sia ampiamente riconosciuto, le funzioni esatte di MMACHC non sono ancora del tutto chiare. A tale scopo abbiamo effettuato uno studio per identificare gli interattori proteici di MMACHC.

**Metodi**

Una linea cellulare HepG2 di epatocarcinoma umano è stata trasfettata stabilmente per ottenere una popolazione cellulare che iper-esprime MMACHC fusa ad un epitopo FLAG (FLAG-MMACHC) e come controllo una popolazione di cellule che iper-esprime una proteina ricombinante FLAG-GFP. Gli interattori di MMACHC sono stati identificati sfruttando una immunoprecipitazione con anticorpi anti-FLAG ed un’analisi proteomica quantitativa gel-free label-free mediante cromatografia liquida e spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS). L’interazione di MMACHC con alcuni dei suoi putativi partner è stata anche validata mediante analisi di western blot degli immunoprecipitati.

**Risultati**

L’analisi dell’interattoma di MMACHC ha portato all’identificazione di diversi putativi partner proteici di MMACHC, di cui molti risultano implicati non solo nel metabolismo ma anche nella regolazione della divisione e proliferazione cellulare, delle dinamiche dei microtubuli e delle giunzioni cellulari.

Conclusioni

Questi risultati possono contribuire ad ampliare le conoscenze sul ruolo funzionale fisiologico di MMACHC. Una miglior comprensione di tale ruolo potrà fornire spunti per individuare nuovi bersagli terapeutici per i pazienti affetti dall’acidemia metilmalonica di tipo cblC.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

ID: 109 - Il profilo trascrizionale di modelli CRISPR e chimici come nuova prospettiva di indagine dei meccanismi molecolari coinvolti nella malattia di Gaucher

Emma Cuttini<sup>2</sup>, Eleonora Pavan<sup>1</sup>, Maximiliano Emanuel Ormazabal<sup>1</sup>, Natascha Bergamin<sup>1</sup>, Silvia Cattarossi<sup>1</sup>, Paolo Peruzzo<sup>1</sup>, Martina Ferro<sup>2</sup>, Maurizio Scarpa<sup>1</sup>, Andrea Dardis<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro di Coordinamento Regionale Malattie Rare, Azienda Ospedaliera Universitaria ASUFC, Udine, <sup>2</sup> Università degli studi di Udine, Dipartimento di Medicina, DMED

**Introduzione:** La malattia di Gaucher (MG) è una malattia da accumulo lisosomiale dovuta a varianti patogenetiche bialleliche del gene GBA1, che causano il deficit dell’attività dell’enzima  $\beta$ -glucocerebrosidasi e l’accumulo di glucosilceramide e glucosilsfingosina, principalmente nei macrofagi.

**Obiettivi:** (1) Valutare l’utilità di diversi modelli di cellule macrofagiche per lo studio della MG tramite l’analisi del profilo trascrizionale. (2) Validare l’espressione differenziale dei geni di interesse.

**Metodi:** Sono stati utilizzati due modelli di cellule macrofagiche di MG ottenuti mediante differenziamento di: 1) linee cellulari monocitiche THP1 wild type e GBA1 KO e 2) monociti primari isolati dai donatori sani trattati o meno con l’inibitore di GCase ME656 (modello chimico). La libreria per il sequenziamento del trascrittoma è stata preparata mediante il QIAseq UPXome RNA Library Kit (QIAGEN). L’analisi dell’espressione differenziale è stata effettuata attraverso il portale QIAGEN GeneGlobe ed il software DAVID (NIH). La validazione dei risultati è stata effettuata tramite qPCR.

**Risultati:** L’analisi del profilo trascrizionale del modello THP1 GBA1 KO ha evidenziato l’espressione differenziale di pathway legate alla segnalazione citochinica, alle risposte infiammatorie e alle funzioni lisosomiali. Inoltre, tali differenze sono state confrontate con quelle del modello chimico e con il profilo trascrizionale precedentemente pubblicato di macrofagi differenziati a partire da iPSC di un paziente affetto da MG di tipo 2. Sono stati prioritizzati per la validazione dell’espressione differenziale i geni con un pattern comune fra i 3 modelli analizzati. In particolare, sono stati selezionati i geni CMPK2, RSAD2 e SECT1M, rispettivamente coinvolti nell’infiammazione, nelle risposte antivirali e nella polarizzazione dei macrofagi.

**Conclusioni:** I risultati ottenuti nei due modelli cellulari descritti in questo lavoro hanno dimostrato che il profilo trascrizionale del modello THP1 GBA1 KO è compatibile con le conoscenze attuali relative alla MG e consente, a differenza del modello chimico, di valutare gli effetti cronici del deficit enzimatico caratteristico della malattia. Inoltre, mediante la comparazione del trascrittoma in questi due modelli e dati precedentemente pubblicati abbiamo individuato alterazioni in pathway legate alla polarizzazione dei macrofagi, l’infiammazione e le risposte antivirali, identificando possibili target per future strategie terapeutiche.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

ID: 112 - Progetto pilota per lo screening neonatale del deficit di  $\alpha$ -mannosidosi

Natan Meloni<sup>1</sup>, Vincenza Gragnaniello<sup>2</sup>, Elena Porcù<sup>2</sup>, Giacomo Biasucci<sup>3</sup>, Alice Saracini<sup>2</sup>, Alessia Zacchettin<sup>2</sup>, Elisa Lusiani<sup>2</sup>, Michela Bertan<sup>2</sup>, Chiara Edini<sup>1</sup>, Tiziana Gomiero<sup>1</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento Salute della Donna e del Bambino, Università degli studi di Padova, <sup>2</sup> Centro Interregionale Screening Neonatale Esteso, U.O.C. Malattie Metaboliche Ereditarie, Azienda Ospedale Università di Padova, <sup>3</sup> U.O.C. Pediatria e neonatologia, Ospedale "Guglielmo da Saliceto", Piacenza

## Introduzione

L’ $\alpha$ -mannosidosi è una malattia rara da accumulo lisosomiale dovuta ad una mutazione del gene MAN2B1 codificante l’enzima  $\alpha$ -mannosidasi, capace di idrolizzare i legami mannosidici  $\alpha$ (1-2),  $\alpha$ (1-3) e  $\alpha$ (1-6) negli N-oligosaccaridi. Ad oggi, la diagnosi della patologia avviene tramite il dosaggio degli oligosaccaridi urinari con conferma dell’attività enzimatica nei leucociti dei pazienti. Da pochi anni è disponibile una terapia enzimatica che se iniziata precocemente permette di prevenire i danni causati dalla malattia. La presenza di un trattamento è stata un criterio per iniziare un progetto pilota per una possibile inclusione della patologia nel pannello di screening delle malattie lisosomiali già attivo presso il nostro centro e previsto in Italia per legge. Abbiamo pertanto sviluppato un metodo in LC-MS/MS e validato la sua riproducibilità analizzando 3000 DBS in forma anonima.

## Metodi

Il metodo scelto si basa sull’utilizzo di UPLC-MS/MS ad alte prestazioni, in quanto caratterizzate da alta specificità, precisione e riproducibilità. Il metodo prevede la quantificazione dell’attività enzimatica su DBS tramite l’utilizzo di un kit commerciale (GelbChem, Oregon, USA). Le misurazioni vengono eseguite impiegando colonne da UPLC Waters e spettrometro di massa Waters TQS-micro. Ad oggi 1500 DBS sono stati analizzati per valutare le prestazioni analitiche del metodo, determinando così il valore di cut-off di normalità della nostra popolazione. Inoltre abbiamo valutato l’attività enzimatica di DBS in pazienti affetti, prima dell’inizio della terapia.

## Risultati

Il metodo mostra ottime prestazioni analitiche, tra cui linearità ( $R^2$ ) pari a 0.98, precisione (CV%) intra-day di 1.36%, sensibilità (SE) e specificità (SP) del 100%, assenza di effetti matrice e limite di quantificazione di 0.07  $\mu\text{mol/h/L}$ . Il valore mediano di attività enzimatica nella popolazione è di 99.9  $\mu\text{mol/h/L}$  e una  $\text{MoM}_{0.2}$  pari a 20.0  $\mu\text{mol/h/L}$  da poter intendere come possibile valore soglia sotto il quale considerare la positività del campione dovuto alla carenza di attività dell’ $\alpha$ -mannosidasi. Il campione positivo ha mostrato un’attività enzimatica di 1.35  $\mu\text{mol/h/L}$ , sovrapponibile al valore ottenuto nei leucociti.

## Conclusioni

Il metodo si dimostra specifico e riproducibile. Pertanto, l’attività enzimatica dell’ $\alpha$ -mannosidasi su DBS è un possibile strumento di screening neonatale che permetterà di valutare la vera incidenza della malattia e un intervento terapeutico precoce.

---

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

## ID: 113 - Utilizzo di un innovativo volumetric absorptive microsampling device (VAMS) per il monitoraggio di pazienti affetti da fenilchetonuria

**Natan Meloni**<sup>1</sup>, Alessia Zacchetin<sup>2</sup>, Alice Saracini<sup>2</sup>, Michela Bertan<sup>2</sup>, Elisa Lusiani<sup>2</sup>, Tiziana Gomiero<sup>1</sup>, Chiara Edini<sup>1</sup>, Elena Porcù<sup>2</sup>, Chiara Cazzorla<sup>2</sup>, Christian Loro<sup>2</sup>, Vincenza Gragnaniello<sup>2</sup>, Andrea Puma<sup>2</sup>, Daniela Guerardi<sup>2</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento Salute della Donna e del Bambino, Università degli studi di Padova, <sup>2</sup> Centro Interregionale Screening Neonatale Esteso, U.O.C. Malattie Metaboliche Ereditarie, Azienda Ospedale Università di Padova

---

## Introduzione

La fenilchetonuria (PKU) è una malattia autosomica recessiva caratterizzata dalla deficienza dell’enzima fenilalanina idrossilasi (PAH) che metabolizza la fenilalanina. Un monitoraggio regolare dei livelli ematici dell’aminoacido è fondamentale per valutare l’efficacia terapeutica. Attualmente il dosaggio della fenilalanina su DBS presenta una variabilità di quantificazione superiore al 15% se raffrontata con i valori plasmatici. Viene proposto in questo studio l’utilizzo di innovativi VAMS come supporto di prelievo per la quantificazione accurata e precisa di fenilalanina nel sangue di pazienti affetti da PKU, tramite l’impiego di tandem spettrometria di massa accoppiata a cromatografia liquida (LC-MS/MS).

## Materiali e metodi

VAMS (Neoteryx, California, USA) da 10 µL di sangue intero sono stati usati per preparare controlli di qualità a quattro diversi livelli di concentrazione di fenilalanina (0, 100, 200, 400 µmol/L). Analogamente, sono stati utilizzati per raccogliere campioni di pazienti PKU in cura presso il nostro centro. Accuratezza diagnostica, precisione intra-day e stabilità del campione sono state misurate per validare il metodo. Tutte le analisi sono state compiute su spettrometro di massa QSight 225MD (PerkinElmer). I valori ottenuti dal dosaggio coi VAMS sono stati analizzati anche nel plasma degli stessi soggetti.

Risultati

I dati ottenuti mostrano un eccellente grado di correlazione (variabilità <15%) tra i valori ottenuti su VAMS e quelli su plasma. Il metodo mostra linearità ( $R^2$ ) di 0.97, riproducibilità (CV%) intra-day di 0.85%, sensibilità (SE) e specificità (SP) diagnostiche pari al 100%. Si è inoltre comprovata la stabilità del campione a temperatura ambiente su VAMS per 20 giorni.

Conclusioni

Lo studio mostra che i VAMS sono un eccellente strumento per la raccolta di sangue e la quantificazione di fenilalanina nei pazienti. L’analita si è dimostrato stabile su VAMS a temperatura ambiente, cosa che permette di semplificare la logistica di trasporto e conservazione dei campioni. Inoltre, i risultati sono stati lineari anche a valori inferiori a 100 µmol/L, che in soggetti sottoposti a terapia enzimatica non potevano essere testati nel DBS.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

ID: 133 - L’integrazione del “machine learning” alle variabili di follow up nei pazienti affetti da Tirosinemia di tipo I permette di migliorare la rilevazione del carcinoma epatocellulare.

Karen Fuenzalida<sup>1</sup>, Maria Jesus Leal-Witt <sup>1</sup>, Alejandro Acevedo<sup>1</sup>, Manuel Munoz<sup>1</sup>, Camila Gudenschwager<sup>1</sup>, Carolina Arias<sup>1</sup>, Juan Francisco Cabello<sup>1</sup>, Giancarlo La Marca<sup>2</sup>, Cristiano Rizzo<sup>4</sup>, Andrea Pietrobattista<sup>4</sup>, Marco Spada<sup>5</sup>, Carlo Dionisi-Vici <sup>4</sup>, Veronica Cornejo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Genetic and Metabolic Diseases, Institute of Nutrition and Food Technology INTA, University of Chile, <sup>2</sup> Meyer Children’s Hospital IRCCS, Florence, Italy, <sup>3</sup> Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences, University of Florence, Florence, Italy, <sup>4</sup> Division of Metabolic Diseases and Hepatology, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, Rome, Italy, <sup>5</sup> Division of Abdominal Transplantation, Hepato-Bilio-Pancreatic Surgery Unit, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS, 00165 Rome, Italy

**Introduzione:** Il carcinoma epatocellulare (HCC) è una delle principali complicanze della Tirosinemia Epatorenale di tipo 1 (HT-1), un difetto congenito del metabolismo che influenza il catabolismo della tirosina. Il rischio di sviluppare HCC è maggiore nella HT-1 con diagnosi tardiva nonostante la possibilità di un trattamento sull’uso del farmaco Nitisinone (NTBC) in combinazione con una dieta a basso contenuto di tirosina e fenilalanina. L’alfa-fetoproteina (AFP) sierica è un biomarcatore comunemente utilizzato per rilevare il cancro al fegato, ma presenta dei limiti nella diagnosi precoce dell’HCC.

**Metodo:** Questo studio propone, utilizzando dati multidimensionali vincolati provenienti da coorti HT-1 cilene e italiane, un approccio di apprendimento automatico “machine learning” (ML) per identificare le variabili di laboratorio più rilevanti utili a predire l’alterazione dell’AFP. Lo studio retrospettivo longitudinale ha analizzato 219 cartelle cliniche di 35 pazienti HT-1, di cui 8 con HCC e 5 diagnosticati tramite screening neonatale. Il set di dati conteneva variabili biochimiche e demografiche (età alla diagnosi, età attuale, livelli di NTBC, succinilacetone, AFP, fenilalanina, metionina, tirosina, transaminasi (ALT, AST), GGT, tempo di protrombina, bilirubina totale, fosfatasi alcalina e livelli di glicemia), analizzate utilizzando l’algoritmo eXtreme Gradient Boosting, addestrato per predire livelli anomali di AFP (>5 ng/mL).

**Risultati:** Quattro variabili chiave sono emerse come fattori predittivi significativi: alanina transaminasi (ALT), fosfatasi alcalina, età alla diagnosi ed età attuale. L’ALT è emersa come l’indicatore più promettente di alterazione dell’AFP, potenzialmente precedente alle variazioni dei livelli di AFP e in grado di migliorare la specificità di rilevamento dell’HCC a un valore di cut-off di 29 UI/L (AUROC = 0,73).

**Conclusioni:** Nonostante i dati limitati su questa rara malattia, l’approccio ML ha analizzato con successo i biomarcatori di follow-up, identificando l’ALT come un predittore precoce dell’aumento dell’AFP e un potenziale biomarcatore per la progressione dell’HCC.

**ID: 135 - Riduzione dei livelli di Coenzima Q10 e alterazioni bioenergetiche nella fenilchetonuria (PKU): implicazioni metaboliche e possibili bersagli terapeutici**

**Nicola Rizzardi**<sup>1</sup>, Lucia Brodosi<sup>2</sup>, Dorina Mita<sup>3</sup>, Michele Stecchi<sup>2</sup>, Luca Pincigher<sup>1</sup>, Francesca Valenti<sup>1</sup>, Beniamino Benedetto Cattuti<sup>1</sup>, Romana Fato<sup>1</sup>, Christian Bergamini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie (FABIT), Alma Mater Studiorum-Università di Bologna, via Imerio 48, Bologna, Italia, <sup>2</sup> Nutrizione Clinica e Metabolismo, IRCCS AOUBO, Bologna, Via Albertoni 15, 40138, Bologna, Italia, <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Alma Mater Studiorum - Università of Bologna, Via Zamboni 33, 40126, Bologna, Italia

**Introduzione:** La fenilchetonuria (PKU, OMIM 261600) è una malattia metabolica ereditaria autosomica recessiva, causata da mutazioni con perdita di funzione nel gene PAH, codificante per la fenilalanina idrossilasi (PAH), enzima deputato alla conversione della fenilalanina (Phe) in tirosina (Tyr). Il deficit di PAH comporta un accumulo di Phe e riduzione di Tyr, compromettendo la sintesi di neurotrasmettitori e accumulo di metaboliti neurotossici. La Tyr è coinvolta nella sintesi del Coenzima Q10 (CoQ10), molecola cruciale nel metabolismo mitocondriale e nella difesa antiossidante. Recenti studi hanno evidenziato una deficienza dei livelli di CoQ10 in pazienti affetti da PKU ma il suo ruolo in tale patologia rimane ancora da chiarire.

**Metodi** Sono stati analizzati campioni ematici a digiuno di 24 pazienti PKU e 12 controlli sani, previa firma del consenso informato. Nei pazienti, sono stati inoltre raccolti dati laboratoristici (Phe, colesterolo totale) e i dati clinici (sesso, età). I livelli plasmatici di CoQ10 sono stati analizzati mediante cromatografia liquida ad alta prestazione (HPLC). I parametri bioenergetici sono stati valutati in fibroblasti umani (HDF) e cellule epatiche tumorali (HepG2) trattati con alte concentrazioni di Phe (20 mM) o con l’analogo non metabolizzabile 4-cloro-fenilalanina (4-CPA, 4 mM) per 24h. Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico Area Vasta Emilia Centro.

**Risultati:** I pazienti affetti da PKU hanno mostrato una significativa riduzione dei livelli plasmatici di CoQ10 (-64% vs controlli), particolarmente marcata nei soggetti con iperfenilalaninemia severa. In vitro, il trattamento con Phe o 4-CPA induceva una diminuzione dei livelli di CoQ10 (-30%), ridotta crescita cellulare, calo della sintesi di ATP (-42%) e aumento dello stress ossidativo (44%). Tali risultati confermano un legame diretto tra accumulo di Phe e deficit di CoQ10, suggerendo un coinvolgimento diretto del deficit bioenergetico nella PKU.

**Conclusioni:** Questo studio mostra, sia in pazienti che in modelli cellulari, che l’alterazione di PAH diminuisce i livelli di CoQ, suggerendo inoltre che l’apporto esogeno di Tyr non sia sufficiente a supportarne una normale biosintesi. Questo deficit, correlato alla gravità dell’iperfenilalaninemia, potrebbe contribuire ai danni neurologici osservati nella PKU. Il ripristino dei livelli di CoQ10 rappresenta un potenziale target terapeutico per migliorare le alterazioni metaboliche e bioenergetiche nella patologia.

**ID: 139 - STUDIO RANDOMIZZATO SULL’EFFETTO DELL’INTEGRAZIONE MARZIALE SUI LIVELLI EMATICI DI FENILALANINA NEI PAZIENTI AFFETTI DA FENILCHETONURIA**

**Raed Selmi**<sup>1</sup>, Alessandro Federico<sup>2</sup>, Valentina Rovelli<sup>1</sup>, Mario Romeo<sup>2</sup>, Marcello Dallio<sup>2</sup>, Fiammetta Di Nardo <sup>2</sup>, Sabrina Paci<sup>1</sup>, Graziella Cefalo<sup>1</sup>, Giuseppe Banderali<sup>1</sup>

<sup>1</sup> S.C. di Pediatria, Dipartimento Materno Infantile, Ospedale San Paolo, Università degli Studi di Milano, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano, Italia, <sup>2</sup> Scuola di Medicina, Università della Campania Luigi Vanvitelli, Napoli, Italia

**Background:** La fenilchetonuria (PKU) è una malattia metabolica ereditaria rara causata da un difetto genetico, dovuto a mutazioni nel gene PAH, che porta alla carenza o assenza dell’enzima fenilalanina idrossilasi (PAH). La PAH è un enzima tetramerico, che comprende un dominio catalitico contenente ioni ferro (Fe<sup>2+</sup>), essenziali per la sua attività.

**Pazienti e Metodi:** Lo studio prevedeva l’arruolamento di 84 pazienti con valori di Hb nei limiti, affetti da PKU (valori di Phe 120–360 µmol/L), in trattamento con una dieta a basso contenuto di fenilalanina. I pazienti sono stati randomizzati (Randomized Block Design) in due gruppi distinti: il gruppo (A), (15 F; 27 M) trattato con dieta a basso contenuto di

fenilalanina e supplementazione di ferro (Fe), secondo fabbisogno giornaliero dei Livelli di Assunzione di Riferimento di Nutrienti ed energia per la popolazione Italiana (LARN); ed il gruppo (B) (20 F; 22 M) trattato esclusivamente con dieta a basso contenuto di fenilalanina. La durata della supplementazione di ferro per ciascun paziente del gruppo (A) è stata di 3 mesi consecutivi. Durante lo studio sono stati effettuati tre controlli ematologici e clinici: al tempo T0 (giorno dell'arruolamento), T3 (3 mesi da T0) e T6; inoltre, sono stati eseguiti altri controlli a T1, T2, T4 e T5. Durante i controlli clinici, sono stati eseguiti prelievi di sangue per la determinazione dei livelli di fenilalanina e tirosina in tutti i pazienti.

**Risultati:** Sono stati arruolati 84 pazienti di età compresa tra 3-25 anni (35 F; 49 M). Nel gruppo A, durante la supplementazione di ferro, si è osservata una riduzione significativa ( $p<0,001$ ) dei livelli di Phe e del rapporto Phe/Tyr, e un aumento significativo dei livelli ematici di Tyr. Il valore medio di Phe a T0= 326,11  $\mu\text{mol/L}$  e si è ridotto a 173,96  $\mu\text{mol/L}$  (-46,7%) a T3. A T6, dopo la sospensione del ferro, il valore di Phe è tornato a 335,49  $\mu\text{mol/L}$ . A T0 il valore medio di Tyr= 52,51  $\mu\text{mol/L}$  ed è aumentato fino a 100,33  $\mu\text{mol/L}$  (91,07%) a T3. A T6 dopo la sospensione del ferro, il valore di Tyr è tornato a 56,74  $\mu\text{mol/L}$ . Il gruppo B non ha mostrato variazioni significative durante il periodo di studio.

**Conclusioni:** Questi risultati preliminari suggeriscono che una supplementazione di ferro ai pazienti affetti da PKU potrebbe supportare l'ipotesi che la supplementazione di ferro possa avere un ruolo sulla funzionalità dell'enzima PAH. E' necessario un numero maggiore di pazienti per confermare questi dati.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 149 - Morquio A: approccio integrato in sistemi cellulari derivanti da pazienti e in modello animale per l'identificazione di nuovi bersagli terapeutici**

**Carla Damiano**<sup>1</sup>, Antonietta Tarallo<sup>1</sup>, Federica Feo<sup>4</sup>, Rodolfo Tonin<sup>4</sup>, Antonia Assunto<sup>1</sup>, Anna Valanzano<sup>1</sup>, Elena Polishchuk<sup>2</sup>, Roman Polishchuk<sup>2</sup>, Nadia Minopoli<sup>2</sup>, Maria Rosaria Tuzzi<sup>1</sup>, Simona Fecarotta<sup>1</sup>, Amelia Morrone<sup>4</sup>, Giancarlo Parenti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli, <sup>2</sup> Telethon Institute of Genetics and Medicine, Pozzuoli, <sup>3</sup> AORN Santobono Pausilipon, Napoli, <sup>4</sup> Laboratorio di Genetica Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Medica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>5</sup> Dipartimento NEUROFARBA, Università degli Studi di Firenze, Firenze

**Introduzione** La mucopolisaccaridosi di tipo IVA (MPS IVA) è una malattia da accumulo lisosomiale causata dal deficit dell'enzima N-acetilgalattosamina-6-solfato solfatasi (GALNS), che comporta l'accumulo progressivo di glicosaminoglicani, in particolare cheratan solfato e condroitina-6-solfato, con danno tissutale a livello osseo e cartilagineo. Sebbene il difetto enzimatico primario sia noto, la patogenesi secondaria della malattia è ancora poco compresa. Attualmente, l'unica terapia disponibile è la terapia enzimatica sostitutiva (ERT), che tuttavia mostra una limitata efficacia, in particolare sulle manifestazioni scheletriche. Una comprensione più approfondita della fisiopatologia e, in particolare, delle alterazioni cellulari secondarie indotte dall'accumulo di glicosaminoglicani – come la disfunzione mitocondriale, lo stress ossidativo, l'infiammazione cronica e il blocco del differenziamento osteocondrogenico – potrebbe contribuire all'identificazione di nuovi bersagli terapeutici complementari all'ERT e più efficaci nel modificare il decorso clinico della malattia.

**Metodi** Fibroblasti, Cellule Progenitrici Mesenchimali (MPC) derivate da cellule staminali pluripotenti indotte (iPSC) da pazienti MPS IVA e condrociti primari isolati da ratti knock-out per GALNS sono stati analizzati mediante RNA-seq, RT-qPCR e western blot. La funzionalità mitocondriale è stata valutata attraverso la quantificazione del contenuto di mtDNA e saggi di stress ossidativo (dosaggio intracellulare di ROS, perossidazione lipidica, livelli di GSH). Le alterazioni ultrastrutturali sono state analizzate mediante microscopia elettronica a trasmissione.

**Risultati** L'analisi trascrittomica ha evidenziato una riduzione dell'espressione dei geni coinvolti nella biogenesi mitocondriale, nella risposta allo stress e nella segnalazione osteocondrogenica. I dati proteici confermano un'attivazione marcata delle vie infiammatorie (p-P38, p-STAT1, p-PERK) e una riduzione della segnalazione osteogenica (RUNX2, p-SMAD1/5/8). Le cellule MPS IVA mostrano un accumulo di LAMP2 e LC3, aumento del danno ossidativo con incremento di ROS, perossidazione lipidica e riduzione di GSH. L'analisi ultrastrutturale conferma la presenza di mitocondri disorganizzati e alterati.

ConclusioneNella MPS IVA si osservano alterazioni mitocondri, stress ossidativo, autofagia e difetti di segnalazione osteocondrogenica. Queste disfunzioni rappresentano potenziali target terapeutici per strategie terapeutiche complementari.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 151 - Studio della prevalenza del deficit di AADC in una popolazione con sintomi neurologici**

**Annamaria Gigliello<sup>1</sup>**, Silvia Santagata<sup>2</sup>, Manuela Tolve<sup>2</sup>, Cristiana Artiola<sup>2</sup>, Valentina Fedele<sup>2</sup>, Claudia Carducci<sup>1</sup>, Antonio Angeloni<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma, <sup>2</sup> AOU Policlinico Umberto I, Roma

Introduzione

Il deficit di AADC (OMIM 608643) è una malattia causata da varianti sul gene DDC con trasmissione autosomica recessiva. E’ caratterizzata da disturbi neurologici variabili come ipotonia, crisi oculogire, ptosi palpebrale, distonia, ritardo sviluppo neuromotorio, disturbi del sonno, ipoglicemia, ritardo di crescita staturo-ponderale, ipotensione ortostatica, disturbi tratto gastrointestinale, congestione nasale, prematurità. Lo scopo di questo studio multicentrico è stato la valutazione della prevalenza del AADCd in una popolazione italiana selezionata in base ai sintomi clinici.

Metodi

Sono stati inclusi nello studio 252 pazienti provenienti da diverse regioni italiane con il coinvolgimento di 53 pediatri e neuropsichiatri infantili (età mediana 4 anni, sesso maschi e femmine). E’ stato raccolto uno spot di sangue essiccato su carta nel quale è stata effettuata l’analisi del 3OMD e 5HTP in ULPC-MS/MS. I campioni con un valore superiore al 97.5 %ile della popolazione di riferimento sono stati sottoposti ad analisi NGS per la ricerca di mutazioni nel gene DDC.

Risultati

Il valore medio del multiplo della media (MoM) rispetto ai valori di riferimento è pari a 1.01 e 0.86 e la DS 1.20 e 0.50 rispettivamente per 3OMD e 5HTP. Due campioni sono risultati positivi e su entrambi è stata avviata l’analisi molecolare. Per il primo campione (valore 321 nM 3OMD e 89 nM 5HTP, rv 192, 42) l’analisi molecolare ha evidenziato la presenza di singole varianti per DDC: c.749C>T (p.Ser250Phe) con genotipo c.[749C>T];[=]. Per il secondo campione (valore 2127 nM 3OMD e 104 nM 5HTP, rv 192, 42) l’analisi molecolare ha evidenziato la presenza di due varianti per c.1172T>C (p.Leu391Pro) e c.1040G>A (p.Arg347Gln) con genotipo c.1040G>A (;)1172T>C) (paziente affetto da AADCd già noto al centro clinico).

Conclusioni

Il deficit AADC è una rara malattia metabolica ereditaria ma considerando le possibilità terapeutiche oggi disponibili, effettuare una diagnosi in presenza dei primi sintomi ci permette di iniziare un trattamento precoce e di migliorare la prognosi dei soggetti affetti. L’analisi del 3OMD e 5HTP, pertanto, si conferma un valido strumento per l’identificazione dei pazienti con deficit di AADC. Si ringraziano tutti i pediatri e neuropsichiatri che hanno contribuito alla realizzazione di questo studio.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 167 - Screening urinario di mucopolisaccaridi ed oligosaccaridi: esperienza del laboratorio Malattie Metaboliche di Ancona** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Lucia Padella<sup>1</sup>**, Lucia Zampini<sup>1</sup>, Chiara Monachesi<sup>1</sup>, Milena Ascani<sup>1</sup>, Rosanna Cordiali<sup>1</sup>, Lucia Santoro<sup>1</sup>, Maria Elena Lionetti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SOD Clinica Pediatrica, AOU delle Marche

Introduzione



Le mucopolisaccaridosi e le oligosaccaridosi appartengono al gruppo delle Malattie da accumulo lisosomiale e sono causate dal deficit di specifiche idrolasi acide deputate alla degradazione di molecole complesse. Il deficit enzimatico comporta l'accumulo di mucopolisaccaridi e/o oligosaccaridi, con conseguente danno multiorgano progressivo e prognosi spesso severa. Questi due gruppi di patologie sono caratterizzati da manifestazioni cliniche spesso sovrapponibili e sempre ingravescenti, in particolare regressione cognitiva e dello sviluppo, organomegalia e anomalie scheletriche. Nel sospetto di malattia da accumulo lisosomiale (mucopolisaccaridosi o oligosaccaridosi), si esegue un primo test di screening su urine e poi in base al risultato si procede allo specifico test enzimatico e all'analisi genetica, nell'ottica di giungere ad una diagnosi il prima possibile ed iniziare tempestivamente la terapia quando disponibile. Lo studio retrospettivo qui riportato ha lo scopo di mettere in evidenza come l'analisi urinaria sia dei mucopolisaccaridi che degli oligosaccaridi rappresenti uno strumento valido ed efficace nell'iter diagnostico.

**Metodi** Nel periodo 2018-2024 sono stati ricevuti 1310 campioni di urine provenienti da pazienti con sospetto clinico di mucopolisaccaridosi. Per tutti i campioni con risultati normali per i mucopolisaccaridi, sono stati esaminati anche gli oligosaccaridi. Tutti i campioni sono stati analizzati sia con metodi tradizionali (TLC Humbel e DMBElettroforesi) che con metodi innovativi (LC-MS/MS).

**Risultati** Su 1310 campioni di urine 17 sono risultati positivi per MPS (4 MPSI, 1MPSII, 7 MPSIII, 5 MPSIV) e 4 per oligosaccaridosi (2 alfa-mannosidosi e 2 gangliosidosi GM1). In tutti i casi i metodi tradizionali e quelli innovativi hanno dato risultati analoghi. Tutti i positivi sono stati poi confermati dall'analisi enzimatica e molecolare.

**Conclusione** Dai dati presentati emerge l'importanza di eseguire sempre anche l'analisi degli oligosaccaridi urinari nel sospetto di mucopolisaccaridosi. Nella popolazione esaminata, selezionata per sospetta mucopolisaccaridosi, è stato possibile porre diagnosi di oligosaccaridosi in 4 casi su 1310 pazienti, con una frequenza di alfa-mannosidosi e di gangliosidosi GM1 pari in entrambi i casi a 1:655.

---

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 169 - Una nuova variante missenso nel gene POLG amplia lo spettro fenotipico dei disturbi correlati alla Polimerasi gamma mitocondriale**

Valentina Fumini<sup>3</sup>, Alexandru Ionut Gilea<sup>1</sup>, Enrico Baruffini<sup>1</sup>, Leonardo Salvati<sup>2</sup>, **Mara Doimo**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità ambientale, Università di Parma, <sup>2</sup> Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Università di Padova, <sup>3</sup> UOSD Genetica medica e Genomica, ULSS8 Berica

---

Il gene *POLG* codifica per la subunità catalitica della polimerasi replicativa mitocondriale. Mutazioni in questo gene rappresentano la causa più comune di malattia mitocondriale. Ad oggi, sono state descritte diverse varianti patogenetiche in *POLG* associate a una moltitudine di fenotipi diversi, caratterizzati da ereditarietà sia dominante che recessiva, età di insorgenza variabile e che colpiscono principalmente i tessuti neuronale e muscolare. A causa di questa complessità, valutare l'effetto di nuove varianti è cruciale per determinare se una specifica sostituzione nucleotidica sia causa del fenotipo malattia nel paziente in esame.

In questo studio, descriviamo una nuova variante missenso in *POLG* in un paziente con disturbo del neurosviluppo e disabilità intellettiva. Il paziente ha sviluppato una cardiopatia ed è deceduto per arresto cardiaco nella prima adolescenza. I test genetici hanno permesso l'identificazione della variante NM\_002693.3:c.337T>A; p.(Trp113Arg) in eterozigosi composta con l'allele malattia NM\_002693.3: [c.752C>T; c.1760C>T]; p.[(Thr251Ile); (Pro587Leu)].

Per dimostrare la patogenicità della nuova variante missenso abbiamo esaguito lo studio di segregazione nella famiglia del probando ed analisi in silico per valutare la conservazione e il ruolo della sostituzione amminoacidica. Infine abbiamo espresso la variante mutata in un modello di *S.cerevisiae* depleto del gene omologo *Mip1*.

L'analisi di segregazione ha rivelato che i due alleli sono in trans, mentre gli studi in silico e in vitro hanno dimostrato che la sostituzione del triptofano in posizione 113 con una arginina ha un effetto deleterio sulla funzione della proteina.

In conclusione abbiamo identificato una nuova variante patogenetica nel gene *POLG* in un paziente con disabilità intellettiva e cardiopatia, ampliando lo spettro fenotipico dei disturbi correlati a *POLG*.

---

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 170 - Deficit di carbamil fosfato sintetasi I acquisito con trapianto ortotopico di fegato da graft “sano”**

**Catia Cavicchi**<sup>1</sup>, Raffaella Viganò<sup>2</sup>, Marina Rinaldi<sup>1</sup>, Francesca Marin<sup>1</sup>, Silvia Falliano<sup>1</sup>, Miriam Rigoldi<sup>3</sup>, Stella De Nicola<sup>4</sup>, Renzo Guerrini<sup>5</sup>, Amelia Morrone<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio di Genetica Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Medica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> SC Epatologia e Gastroenterologia, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano, <sup>3</sup> Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, Bergamo, <sup>4</sup> Divisione di Medicina Interna e Epatologia, Dipartimento di Gastroenterologia, IRCCS Humanitas Research Hospital Rozzano, Milano, <sup>5</sup> Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Medica, AOU Meyer IRCCS, Firenze / Dipartimento di NEUROFARBA, Università di Firenze, <sup>6</sup> Laboratorio di Genetica Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, Dipartimento di Neuroscienze e Genetica Medica, AOU Meyer IRCCS, Firenze / Dipartimento di NEUROFARBA, Università di Firenze

**Background:** I disordini del ciclo dell’urea (UCD) late-onset possono restare latenti per anni e, se non trattati, risultare letali. Nel setting dei trapianti d’organo, lo screening degli UCD non fa parte della valutazione standard del donatore poiché la trasmissione di un UCD attraverso un trapianto ortotopico di fegato (OLT) è improbabile.

**Caso clinico:** uomo di 51 anni, sottoposto a OLT per cirrosi HCV. Dopo 48 giorni, 6 ricoveri in 6 mesi per stato confusionale, agitazione psicomotoria e aggressività, regrediti con glucosata e terapia con CytoSorb. Il riscontro di grave iperammoniemia (HA) con funzionalità epatica e renale nella norma e assenza di shunt portosistemici e di diabete suggeriva un’encefalopatia metabolica a genesi non definita, ma a partenza dal graft, compatibile con la morte del donatore per encefalite febbrile. Veniva quindi avviata terapia con lattulosio e dieta ipoproteica con beneficio clinico. Esami metabolici non indicativi perchè eseguiti in fase di benessere. Successivi episodi più lievi si associavano a scarsa aderenza alla dieta ipoproteica e stipsi e regredivano con lattulosio per via rettale. A 6 anni dall’OLT, veniva eseguita una 2° biopsia epatica durante una laparoplastica.

**Metodi:** Sequenziamento del gene *OTC* su DNA epatico (IDNA) del donatore (9 mesi post-OLT); analisi NGS Ampliseq (Illumina) di 4 geni associati a HA su IDNA isolato da campione fresco e targeted-resequencing NGS (Illumina) di 20 geni associati a HA su IDNA da campione fissato in formalina ed incluso in paraffina (6 anni post-OLT).

**Risultati:** L’analisi del gene *OTC* è risultata negativa. L’NGS Ampliseq ha evidenziato le nuove varianti c.1891G>A p.(Glu631Lys) e c.3002G>T p.(Arg1001Leu) in eterozigosi nel gene *CPS1* (causativo del deficit di carbamil fosfato sintetasi I, CPS1D), ma con qualità dei dati insufficiente per il referto. Il targeted-resequencing NGS ha prodotto dati di buona qualità e ha confermato entrambe le varianti *CPS1* in eterozigosi. Le varianti sono state validate con metodica Sanger anche sul primo campione biotico.

**Discussione:** Nel nostro caso, i test genetici sono stati dirimenti per la diagnosi differenziale di encefalopatia iperammoniemica post-OLT. Ad oggi, i tempi dei test genetici non sono compatibili con l’urgenza della valutazione del donatore, ma almeno il dosaggio dell’ammonio plasmatico, rapido e semplice, dovrebbe essere eseguito in tutti i donatori deceduti con sintomatologia neurologica acuta.

*Si ringrazia AMMeC ONLUS*

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 177 - Deficit di transaldolasi: un raro disordine metabolico svelato da ipermetioninemia e grave epatopatia neonatale**

**Simona Fecarotta**<sup>1</sup>, Ferdinando Barretta<sup>2</sup>, Marianna Alagia<sup>1</sup>, Fabiana Uomo<sup>2</sup>, Fabiola Di Dato<sup>3</sup>, Raffaele Iorio<sup>3</sup>, Daniela Concolino<sup>4</sup>, Giancarlo Parenti<sup>3</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>5</sup>, Giulia Frisso<sup>5</sup>

<sup>1</sup> DAI Materno Infantile, AOU Federico II, Napoli, <sup>2</sup> CEINGE Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore, s.c.a r.l., Napoli, <sup>3</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli, <sup>4</sup> UOC di Pediatria Specialistica e Malattie Rare AOU Renato Dulbecco, Catanzaro, <sup>5</sup> DAI di Medicina di laboratorio e trasfusionale, AOU Federico II, Napoli

**Introduzione:** Il deficit di transaldolasi è un raro disordine autosomico recessivo del metabolismo dei pentosi, causato da mutazioni nel gene *TALDO1*, caratterizzato da epatosplenomegalia, disfunzione epatica, alterazioni ematologiche, dismorfismi. L’assenza di biomarcatori patognomonic rende la diagnosi complessa. La prognosi epatologica è severa e

può richiedere epato-trapianto. È suggerito che una terapia con N-acetilcisteina ad alte dosi possa avere un ruolo protettivo. **Caso clinico:** Lo screening neonatale esteso (SNE) ha identificato una neonata con ipermetioninemia. L’approfondimento diagnostico ha incidentalmente evidenziato ipertransaminasemia, iperbilirubinemia, acidi biliari elevati, piastrinopenia, ipoglicemie asintomatiche e marcato incremento dell’AFP, configurando un quadro di grave coinvolgimento epatico neonatale. Le indagini ecografiche hanno evidenziato la presenza di lesioni angiomatiche benigne. È stato quindi intrapreso un percorso diagnostico differenziale, volto a indagare patologie metaboliche e genetiche con interessamento epatico, nonché a escludere le malattie metaboliche ereditarie ipotizzate in seguito al richiamo dello SNE per ipermetioninemia. L’analisi genetica, effettuata mediante l’utilizzo di un pannello multi-genico custom, includente geni selezionati in base alle caratteristiche fenotipiche della paziente, ha rilevato la presenza in omozigosi della variante c.618\_619del-p.(Tyr206\*) nel gene *TALDO1*, classificata come verosimilmente patogena secondo ACMG, compatibile con il fenotipo della lattante, ed ha escluso cause genetiche di ipermetioninemia. La diagnosi eziologica ha consentito l’introduzione di una terapia antiossidante ad alte dosi con N-acetilcisteina e uno specifico follow-up per il rischio di insufficienza epatica e sviluppo di tumore epatico. **Conclusioni:** Il caso evidenzia come un richiamo allo SNE per ipermetioninemia possa condurre al riscontro incidentale di una grave epatopatia neonatale. L’approccio diagnostico integrato, includente dati clinici, biochimici, radiologici e genetici ha condotto alla diagnosi di un raro disordine del metabolismo, quale il deficit di transaldolasi. In particolare, in presenza di epatopatia precoce, quando il quadro clinico è atipico o mancano elementi diagnostici e biochimici specifici, le analisi genetiche ad ampio spettro si rivelano strumenti decisivi per la diagnosi di condizioni ultra-rare, non identificabili attraverso i percorsi diagnostici convenzionali.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 185 - Sinergia tra terapia genica mediata da AAV e modulazione di stress ossidativo nel modello animale della malattia di Pompe.**

Anna Valanzano<sup>2</sup>, Carla Damiano<sup>2</sup>, Rosa Maritato<sup>2</sup>, Antonia Assunto<sup>1</sup>, Nadia Minopoli<sup>1</sup>, Maria Rosaria Tuzzi<sup>2</sup>, Alessia Medugno<sup>2</sup>, Emanuela D’Andretta<sup>2</sup>, Enrico Maria Surace<sup>2</sup>, Giancarlo Parenti<sup>2</sup>, Antonietta Tarallo<sup>2</sup>, Edoardo Nusco<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Istituto Telethon di Genetica e Medicina (TIGEM), Pozzuoli, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli, Italia

**Background**

La malattia di Pompe (MP) è una miopatia metabolica ereditaria causata dal deficit dell’enzima lisosomiale  $\alpha$ -glucosidasi acida (GAA), con conseguente accumulo di glicogeno. Molteplici pathways e funzioni cellulari secondariamente alterati (come autofagia, infiammazione, funzione mitocondriale e stress ossidativo), in aggiunta al difetto enzimatico primario, possono influenzare la cascata patogenetica della malattia e la risposta alle terapie. Attualmente, la Terapia Enzimatica Sostitutiva (ERT) è l’unico trattamento approvato, mentre approcci alternativi, anche basati sull’utilizzo di Vettori Adeno-Associati (AAV) sono ancora in fase sperimentale. Lo scopo del presente studio è di valutare gli effetti della combinazione di terapia genica e modulazione genetica o farmacologica dello stress ossidativo. **Metodi** Abbiamo utilizzato un costrutto AAV9-CMV-GAA. Per la modulazione di pathways di stress ossidativo e funzione mitocondriale abbiamo utilizzato costrutti recanti geni antiossidanti endogeni (AAV-CMV-Catalasi o SOD2) oppure abbiamo utilizzato antiossidanti farmacologici (N-Acetilcisteina - NAC). Per gli studi preliminari in-vitro abbiamo utilizzato cellule HEK293 e fibroblasti di pazienti affetti da malattie di Pompe. Gli studi in vivo sono stati effettuati nel modello murino della malattia (Gaa). I diversi vettori sono stati utilizzati da soli o in combinazione. I vettori sono stati somministrati per via sistemica alla dose di  $3 \times 10^{12}$  gc/kg a 4 settimane di età, e gli animali sacrificati dopo 4 settimane. Abbiamo utilizzato Real-Time PCR per valutare le copie genomiche dei vettori e l’espressione dei geni; dosaggio enzimatico per l’attività della GAA; Western blot e saggi biochimici specifici per analizzare livello di stress, ROS e perossidazione lipidica.

**Risultati**

In vitro, la co-espressione di GAA con Catalasi o SOD2 ha incrementato l’attività enzimatica rispetto al solo costrutto GAA. In-vivo, la co-iniezione di AAV9-CMV-GAA con AAV9-CMV-Catalasi ha determinato l’effetto migliore sull’attività enzimatica della GAA, con effetti più evidenti nel cuore, e più modesti in diaframma, gastrocnemio, quadricipite e fegato. I livelli di pP38, GR e LC3, ROS e perossidazione lipidica hanno evidenziato una modulazione tessuto-specifica dello stress ossidativo e dell’autofagia in base ai vari trattamenti.

**Conclusione**

La modulazione di pathways specifici può fornire un approccio complementare per potenziare la risposta terapeutica alla terapia genica.

ID: 187 - Analisi integrata trascrittomica e mitocondriale nei tessuti bersaglio della Malattia di Pompe

**Antonietta Tarallo**<sup>1</sup>, Carla Damiano<sup>1</sup>, Nadia Minopoli<sup>2</sup>, Anna Valanzano<sup>1</sup>, Maria Rosaria Tuzzi<sup>1</sup>, Antonia Assunto<sup>2</sup>, Edoardo Nusco<sup>2</sup>, Rossella De Ceglie<sup>2</sup>, Giancarlo Parenti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali (DISMET), Università Federico II, Napoli, <sup>2</sup> Telethon Institute of Genetics and Medicine (TIGEM), Pozzuoli, <sup>3</sup> AORN Santobono Pausilipon, Napoli

Introduzione /background

Negli ultimi anni, diversi studi hanno evidenziato l’attivazione di alterazioni cellulari secondarie nella malattia di Pompe (MP), tra cui stress ossidativo, disfunzione mitocondriale e infiammazione. Tuttavia, la loro dinamica temporale e la specificità tissutale rimangono poco caratterizzate. È noto, inoltre, che la terapia enzimatica sostitutiva (ERT), mostra un’efficacia variabile nei diversi tessuti, risultando meno efficace in quelli con maggiore compromissione. In questo contesto, un’analisi sistematica dei profili trascrittomici in modelli murini di MP a diversi stadi della malattia, integrata con dati morfologici e funzionali, può offrire una comprensione più approfondita della patogenesi multisistemica della malattia e contribuire all’identificazione di nuovi target terapeutici.

Metodi

Sono stati analizzati topi GAA knock-out (KO) e wild-type (WT) a 3 e 12 mesi in diversi tessuti rilevanti per la patologia (cuore, gastrocnemio, cervello, diaframma e quadricipite). L’analisi ha incluso RNA-seq per l’identificazione dei geni differenzialmente espressi (DEGs), valutazione della produzione di ROS, livelli di lipidi perossidati, quantificazione del contenuto di DNA mitocondriale, osservazione dell’ultrastruttura mitocondriale mediante Microscopia Elettronica (EM) e analisi dei livelli proteici di marcatori mitocondriali mediante anali di Western blot.

Risultati

L’analisi di trascrittomica ha evidenziato un aumento età-dipendente dei DEGs nei tessuti KO, con up-regolazione di geni coinvolti in pathway associati a stress ossidativo, autofagia, risposta infiammatoria e rimodellamento muscolare. Nei topi KO si osserva un incremento marcato della produzione di ROS e perossidazione lipidica, una alterazione del contenuto di mtDNA e gravi alterazioni della morfologia mitocondriale. Tali alterazioni risultano più accentuate nel gastrocnemio rispetto al cuore, suggerendo un grado di compromissione che varia in base al tipo di tessuto e all’età. Un aumentato dell’espressione delle proteine, VDAC1 e MFN2, nei topi KO suggerisce una risposta adattativa allo stress mitocondriale.

Discussione / Conclusioni

L’integrazione dei dati trascrittomici, funzionali e ultrastrutturali evidenzia una disfunzione mitocondriale progressiva nella MP, con coinvolgimento precoce e specifico dei principali tessuti bersaglio. Queste alterazioni secondarie rappresentano potenziali target per lo sviluppo di strategie terapeutiche complementari all’ERT.

ID: 190 - Arylsulfatase L (ARSL) Regulates Chondroitin Sulfate Desulfation in the Golgi to Control Skeletal Development

**Chiara De Leonibus**<sup>1</sup>, Marianna Maddaluno<sup>1</sup>, Eugenio Del Prete<sup>1</sup>, Francesco Giuseppe Salierno<sup>1</sup>, Daniela Intartaglia<sup>2</sup>, Diego Carrella<sup>1</sup>, Ivan Conte<sup>3</sup>, Nicola Volpi<sup>4</sup>, Carmine Settembre<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Health Sciences, University of Basilicata, Potenza, Italy , <sup>2</sup> CNR, Institute of Applied Sciences and Intelligent Systems "Eduardo Caianiello" (ISASI), Pozzuoli, Italy , <sup>3</sup> Department of Biology, Federico II University, Naples, Italy, <sup>4</sup> Department of Life Sciences, UniMORE, University of Modena and Reggio Emilia, Italy

Proteoglycans are essential components of the cartilage extracellular matrix (ECM), composed of a core protein linked to highly sulfated glycosaminoglycan (GAG) chains. During their biosynthesis, the degree of GAG sulfation is tightly

regulated by sulfotransferases within the Golgi apparatus. Precise control of this sulfation is crucial for proper skeletal development. In this study, we identify arylsulfatase L (ARSL) - mutated in X-linked chondrodysplasia punctata (CDPX) - as a Golgi-localized enzyme responsible for GAG desulfation. We demonstrate that ARSL catalyzes the 4-O-desulfation of chondroitin sulfate (CS). A medaka fish model deficient in the ARSL orthologous Ol-Arsd showed hyper-4-O-sulfation of chondroitin sulfate and skeletal malformations that recapitulate key features of human CDPX syndrome. These findings establish ARSL as a novel regulator of GAG desulfation within the Golgi and underscore the critical role of proteoglycan desulfation in skeletal development.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 191 - Analisi metabolomica untargeted di una coorte di pazienti con difetto severo di HPRT: studio prospettico monocentrico osservazionale/biologico traslazionale**

**Alessandro La Rosa**<sup>1</sup>, Fantasia Delvecchio<sup>2</sup>, Chiara Lavarello<sup>3</sup>, Andrea Petretto<sup>3</sup>, Francesca Cappozzo<sup>2</sup>, Maria Cristina Schiaffino<sup>4</sup>, Annalisa Madeo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Gastroenterologia Pediatrica ed Endoscopia Digestiva, IRCCS Istituto Gaslini, Genova, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantili (DINOEMI), Università degli Studi di Genova, Genova, Italia, <sup>3</sup> Core Facilities - Clinical Proteomics and Metabolomics, IRCCS Istituto Gaslini, Genova, Italia, <sup>4</sup> Clinica Pediatrica ed Endocrinologica, IRCCS Istituto Gaslini, Genova, Italia

**Background:** La malattia di Lesch-Nyhan (LND) è una condizione rara a trasmissione X-linked dovuta a difetto dell’ipoxantina-guanina fosforibosiltransferasi, che comporta un accumulo di acido urico per blocco della via di salvataggio delle purine. Le manifestazioni cliniche includono sintomi renali e articolari, dovuti all’iperuricemia, e disturbi neurologici e comportamentali con tipici agiti autolesionistici, la cui causa ad oggi è sconosciuta. L’obiettivo principale dello studio è individuare una possibile correlazione tra il disordine genetico e le alterazioni metaboliche nei soggetti affetti, al fine ultimo di comprendere i meccanismi fisiopatologici alla base delle alterazioni neurocomportamentali tipiche della malattia.

**Metodi:** Abbiamo condotto un’analisi metabolomica untargeted su campioni di plasma di 24 pazienti LND, confrontandoli con controlli sani (CTRL) appaiati per età e sesso e un terzo gruppo di pazienti con paralisi cerebrale infantile (PCI). I risultati sono stati ottenuti tramite cromatografia liquida associata a spettrometria di massa.

**Risultati:** L’analisi ha rilevato 400 metaboliti statisticamente significativi evidenziando che il difetto enzimatico responsabile della LND non si limita ad alterare esclusivamente il metabolismo purinico, bensì determina modificazioni trasversali nel network metabolico. Infatti, sono emerse significative modificazioni nel metabolismo degli amminoacidi, in particolare dell’istidina, nel metabolismo della dopamina, nel metabolismo energetico e lipidico. 216 dei 400 metaboliti sono risultati significativamente modulati nel confronto tra LND e CTRL; 122, invece, rappresentano i metaboliti significativamente alterati tra LND e PCI. I restanti 62, unicamente significativi nel confronto tra PCI e CTRL, non sono stati presi in considerazione, in quanto non oggetto di interesse dello studio. L’Enrichment Analysis, utilizzando un programma agnostico che non richiede a priori un’ipotesi sui pathway coinvolti, ha mostrato un profilo metabolomico fortemente compatibile con LND, rafforzando l’affidabilità e la rilevanza biologica dell’analisi effettuata.

**Conclusioni:** Questo studio rappresenta, al meglio delle nostre conoscenze, la più ampia analisi metabolomica untargeted su plasma di pazienti LND attualmente disponibile in letteratura. I risultati emersi appaiono promettenti e rappresentano una solida base per futuri approfondimenti e sviluppi della ricerca.

TOPIC: 2 - Malattie metaboliche ereditarie – laboratorio

**ID: 192 - Valutazione dei livelli plasmatici di omocisteina, metionina, SAM, SAH e del loro rapporto, in pazienti affetti da cblC**

**Giorgia Olivieri**<sup>1</sup>, Francesco Baldo<sup>1</sup>, Raffaele Simeoli<sup>1</sup>, Carlo Dionisi Vici<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Malattie Metaboliche ed Epatologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

**Introduzione:** Scopo dello studio è valutare i livelli plasmatici di omocisteina, metionina, S-adenosilmetionina (SAM), S-adenosilomocisteina (SAH) e del rapporto SAM/SAH, in pazienti con difetto cblC, trattati con idrossicobalamina e betaina.

**Metodi:** Sono stati arruolati 54 pazienti con diagnosi genetica di cblC, sia ad esordio precoce (n=40) che ad esordio tardivo (n=14). I pazienti sono stati classificati in tre gruppi in base alla risposta terapeutica: Gruppo A: 32 pazienti con genotipo severo non responsivi alla terapia standard con idrossicobalamina (<0.3 mg/kg/die), Hcy > 30 µmol/L; Gruppo B: 8 pazienti con genotipo severo trattati con dosi elevate di idrossicobalamina (>0.3 mg/kg/die); Gruppo C: 14 pazienti responsivi alla terapia standard con idrossicobalamina (Hcy < 30 µmol/L). Sono stati misurati i livelli plasmatici di omocisteina (tHcy), metionina, SAM, SAH e rapporto SAM/SAH mediante LC-MS/MS. Per le variabili non normalmente distribuite sono state utilizzate mediana, valori massimi e minimi. Le differenze tra i gruppi sono state analizzate con test di Kruskal-Wallis e post-test di Dunn. È stata inoltre condotta un’analisi di correlazione (Spearman) tra variabili continue (significatività: p<0.05).

**Risultati:** I valori mediani nei gruppi A vs B vs C hanno mostrato: tHcy: 55.6 vs 25.6 vs 12.8 µmol/L; metionina: 25.0 vs 27.5 vs 30.0 µmol/L; SAM 184.3 vs 125.4 vs 111.5 nmol/L; SAH: 7.8 vs 7.2 vs 9.8 nmol/L; SAM/SAH: 22.8 vs 17.0 vs 9.9. L’omocisteina risultava significativamente aumentata nel gruppo A rispetto al gruppo C (p<0.001); il trattamento ad alto dosaggio ha normalizzato i livelli di Hcy nei pazienti del gruppo B rispetto a quelli del gruppo A (p<0.001). La metionina era significativamente ridotta nel gruppo A rispetto al gruppo C (p<0.001), ma non mostrava differenze significative tra i gruppi B e C. I livelli di SAM risultavano significativamente aumentati solo nel gruppo A (p<0.01). L’analisi della matrice di correlazione ha evidenziato una correlazione positiva significativa tra metionina e SAM (rho=0.35, p<0.05), esclusivamente nei pazienti del gruppo B trattati con alte dosi.

**Discussione e conclusioni:** il trattamento con idrossicobalamina ad alto dosaggio, in associazione a betaina, non solo consente una migliore normalizzazione dei livelli di tHcy, ma favorisce un più efficace ripristino della metilazione cellulare nei pazienti CblC con genotipo severo, come evidenziato dall’incremento di SAM e dalla correlazione positiva con i valori di metionina.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 7 - Espansione del fenotipo clinico nel disturbo congenito della glicosilazione di tipo Iy (SSR4-CDG): descrizione di un nuovo caso rilevato tramite l’analisi di sequenziamento dell’esoma**

Alessandra Verde<sup>1</sup>, Maria Rosa Cutri<sup>2</sup>, Federica Pagani<sup>3</sup>, Alba Pilotta<sup>2</sup>, Lorenzo Pinelli<sup>4</sup>, Alessia Asaro<sup>5</sup>, Luca Cattaneo<sup>5</sup>, Raffaele Badolato<sup>1</sup>, Enza Maria Valente<sup>6</sup>, Jessica Galli<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Università degli studi di Brescia, <sup>2</sup> Unità di Auxo-Endocrinologia e Genetica Medica, Dipartimento di Pediatria, ASST- Spedali Civili di Brescia, Brescia, <sup>3</sup> Unità di Neurologia e Psichiatria infantile, ASST-Spedali Civili di Brescia, Brescia, <sup>4</sup> Unità di Neuroradiologia, Sezione di neuroradiologia pediatrica, ASST-Spedali Civili di Brescia, Brescia, <sup>5</sup> Centro di ricerca in neurogenetica, IRCCS Fondazione Mondino, Pavia, <sup>6</sup> Dipartimento di Medicina molecolare, Università di Pavia

**Introduzione.** Il disturbo congenito della glicosilazione di tipo Iy (SSR4-CDG) è un sottotipo ultra-raro, che interessa principalmente i maschi emizigoti. Ritardo di sviluppo e di crescita, disabilità intellettiva, ipotonia muscolare, caratteristiche facciali tipiche e problemi gastrointestinali sono sintomi descritti. Ulteriori segni recentemente enfatizzati riguardano il coinvolgimento del tessuto connettivo, cardiovascolare, le convulsioni e le anomalie comportamentali. Poiché i test metabolici possono essere normali, la maggior parte degli individui viene diagnosticata tramite test genetici, tra cui il sequenziamento dell’esoma. Descriviamo un nuovo paziente di 16 anni, identificato tramite esoma. La diagnosi è stata mancata durante lo screening metabolico e genetico iniziale. Il paziente ha presentato sintomi respiratori dovuti a un’ernia diaframmatica, ampliando ulteriormente il fenotipo clinico di malattia. **Metodi/Caso.** I dati sono stati raccolti retrospettivamente. L’anamnesi comprendeva distress respiratorio perinatale, caratteristiche facciali distinte, disturbo neurovisivo, scoliosi, difficoltà di alimentazione, criptorchidismo, ritardo dello sviluppo associato a disabilità intellettiva e ritardo di crescita. Alla risonanza magnetica cerebrale ipoplasia del corpo calloso, EEG con attività di fondo normale. A 11 anni, il paziente ha sviluppato insufficienza respiratoria da subocclusione intestinale per un’ernia diaframmatica di 6 cm. **Risultati.** Agli esami del sangue ipertansaminasemia (7x) e riduzione delle Proteine C e S. Lo screening metabolico e genetico (per Prader-Willi, array-CGH, esoma clinico) di prima linea sono risultati negativi. L’esoma in trio, tramite l’analisi di sequenziamento delle variazioni del numero di copie (CNVs), ha identificato una delezione interstiziale di 13,1 kb in Xq28, comprendente il gene *SSR4* e parte dei geni *PDZD4* e *IDH3G*, a

trasmissione materna.Conclusioni.L’ esoma ha permesso di identificare uno squilibrio genomico patogeno inferiore a 30 kb,non evidenziato all’array-CGH, confermando la diagnosi di SSR4-CDG nel nostro paziente.Supportiamo l’uso dell’esoma in pazienti con disturbi neurologici inspiegati e fenotipi facciali tipici, anche in presenza di test metabolici e genetici di prima linea normali.Segnaliamo, per la prima volta,il coinvolgimento respiratorio dovuto a ernia diaframmatica,da escludere nei giovani pazienti con sintomi respiratori inspiegati,confermando la rilevanza del coinvolgimento del tessuto connettivo in questo disordine.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 10 - Ampliamento dello spettro clinico del disturbo correlato a NDUFAF3: caratterizzazione funzionale come strumento diagnostico chiave**

**Alessandra Verde**<sup>1</sup>, Barbara Risi<sup>2</sup>, Chiara Mingotti<sup>3</sup>, Alba Pilotta<sup>3</sup>, Fabio Buzi<sup>3</sup>, Lorenzo Pinelli<sup>4</sup>, Lucio Giordano<sup>5</sup>, Eleonora Lamantea<sup>6</sup>, Fiorella Piemonte<sup>7</sup>, Paolo Colomba<sup>8</sup>, Maria Iascone<sup>9</sup>, Alessandro Padovani<sup>10</sup>, Raffaele Badolato<sup>1</sup>, Massimiliano Filosto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Brescia e ASST-Spedali Civili di Brescia, Brescia, <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, NeMO-Brescia Centro Clinico per le Malattie Neuromuscolari, Università degli Studi di Brescia, Brescia, <sup>3</sup> Unità di Auxo-Endocrinologia e Genetica Medica, Dipartimento di Pediatria, ASST-Spedali Civili di Brescia, Brescia , <sup>4</sup> Unità di Neuroradiologia, Sezione di neuroradiologia pediatrica, ASST-Spedali Civili di Brescia, Brescia , <sup>5</sup> Unità di Neurologia e Psichiatria infantile, ASST-Spedali Civili di Brescia, Brescia , <sup>6</sup> Fondazione IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Unità di Genetica Medica e Neurogenetica; Centro Fondazione Mariani per i Disturbi Mitocondriali Pediatrici, Milano , <sup>7</sup> Unità di Malattie Muscolari e Neurodegenerative, IRCCS Ospedale Pediatrico Bambino Gesù,Roma , <sup>8</sup> Istituto per la Ricerca e l’Innovazione Biomedica (IRIB), Consiglio Nazionale delle Ricerche (CNR),Palermo , <sup>9</sup> Laboratorio di Genetica Medica, ASST-Papa Giovanni XXIII, Bergamo , <sup>10</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche e Sperimentali, Unità di Neurologia, Università degli Studi di Brescia, Brescia

Introduzione.Varianti recessive in *NDUFAF3* sono una causa nota di disturbi mitocondriali (DM) correlati al complesso I(CI).Sette pazienti segnalati hanno mostrato gravi sintomi neurologici e acidosi lattica,con decorso fatale durante l’infanzia.Un paziente di 10 anni ha presentato un disturbo dello sviluppo neurologico,intolleranza progressiva all’esercizio,distonia,anomalie dei gangli basali e concentrazioni di lattato elevate nel sangue.Riportiamo il caso di una ragazza di 14 anni a cui abbiamo recentemente diagnosticato un DM correlato a *NDUFAF3*.La paziente ha presentato un decorso neurologico lieve e coinvolgimento del tessuto connettivo,caratteristica non precedentemente evidenziata.Metodi/Caso.I dati clinici sono stati raccolti retrospettivamente e prospetticamente.L’anamnesi mostrava andatura goffa,intolleranza all’esercizio e ritardo di crescita dall’età di 2 anni.A 13 anni la paziente si presentava con habitus marfanoide,lassità legamentosa,distrofia severa,atassia e funzionamento intellettuale borderline (WISC-IV IQ: 75).La pianificazione e l’esecuzione motoria erano compromesse (ABC-2 Movement Battery,Sugden-Henderson:<1° ct).Risultati.Il lattato ematico e’ risultato lievemente elevato(max 4,3 mmol/L),con iperalaninemia persistente(668-857 µmol/L; valori normali 192-508) e FGF-21 aumentato(1428 pg/mL; vn <200 pg/mL).La risonanza magnetica cerebrale ha mostrato un quadro Leigh-like.La spettroscopia, l’EEG,lo studio di conduzione nervosa,le valutazioni oftalmologiche,audiologiche e cardiologiche sono risultate nella norma.Il sequenziamento in trio del genoma ha evidenziato la variante missenso omozigote c.460A>G p.(Asn154Asp) nel gene *NDUFAF3*,ereditata da entrambi i genitori. Questa variante è estremamente rara (gnomAD v4.1 MAF 1/1.614.128) e REVEL, un metodo in silico per predirne la patogenicità, assegna un punteggio di 0,85(patogenicità moderata 0,773-0,932);secondo i criteri ACMG,la sua classificazione è di significato incerto(VUS).Per definirne la patogenicità, è stata eseguita una biopsia muscolare che ha rivelato un minimo accumulo subsarcolemmale di mitocondri in fibre sparse alla colorazione con COX-SDH e un deficit biochimico del CI isolato(4,9 nmol/min mg; vn 12-22).Dopo l’inizio di coenzima Q10 e riboflavina, all’età di 14 anni, è stato osservato un aumento di peso, senza miglioramento motorio. Conclusioni. Il difetto isolato nel tessuto muscolare di CI supporta la patogenicità di questa variante, insieme ai dati clinici, biochimici e di imaging.Il nostro caso amplia lo spettro clinico dei DM associati a *NDUFAF3*, evidenziando per la prima volta il coinvolgimento del tessuto connettivo insieme a un fenotipo neurologico lieve.Sottolineiamo l’importanza di una valutazione funzionale completa nei casi che coinvolgono VUS, anche quando la presentazione clinica è atipica o lieve, per una diagnosi accurata e per futuri possibili correlazioni genotipo-fenotipo nei rari DM.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 12 - Profili clinici di 134 pazienti con alfa-mannosidosi dal programma clinico con velmanase alfa e dal registro SPARKLE: un’analisi integrata per età**

Nicole Muschol<sup>1</sup>, Julia B. Hennermann<sup>2</sup>, Martin Magner<sup>3</sup>, Christina Lampe<sup>4</sup>, Monica A. Lopez-Rodriguez<sup>5</sup>, Katarína Juričková<sup>6</sup>, Daniela

<sup>1</sup> International Center for Lysosomal Disorders (ICLD), University Medical Center Hamburg-Eppendorf, Hamburg, Germany, <sup>2</sup> Villa Metabolica, University Medical Center Mainz, Mainz, Germany, <sup>3</sup> Department of Pediatrics and Inherited Metabolic Disorders, First Faculty of Medicine, Charles University, General University Hospital, Prague, Czech Republic, <sup>4</sup> Center for Pediatric and Adolescent Medicine, Giessen University Hospital, Giessen, Germany, <sup>5</sup> Hospital Universitario Ramón Y Cajal, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS), Madrid, Spain, <sup>6</sup> Department of Paediatrics, Faculty of Medicine, Comenius University in Bratislava, and National Institute of Children’s Diseases, Bratislava, Slovakia, <sup>7</sup> Chiesi Farmaceutici S.p.A., Parma, Italy, <sup>8</sup> Reference Centre for Inherited Metabolic Diseases (CERLYMM), Hospices Civils of Lyon (HCL), Lyon, France

L’alfa-mannosidosi (AM) è una malattia lisosomiale ultra-rara, la cui storia naturale è ancora poco conosciuta. I primi sintomi possono manifestarsi dalla nascita all’adolescenza. La presentazione clinica eterogenea spesso ritarda o impedisce la diagnosi. Per meglio caratterizzare il quadro clinico, abbiamo analizzato i dati anamnestici di pazienti trattati con velmanase alfa (VA), prima dell’inizio della terapia, e di pazienti non trattati, provenienti da un dataset integrato del programma clinico VA e del registro SPARKLE (EUPAS29038). Presentiamo qui le caratteristiche della malattia stratificate per età in una coorte di 134 pazienti, una delle più ampie finora descritte. I pazienti sono stati suddivisi in base all’età al basale: <6 anni (n=25); ≥6–<12 anni (n=29); ≥12–<18 anni (n=24); ≥18–<35 anni (n=44); ≥35 anni (n=12). Undici classi di organi/sistemi sono risultate coinvolte nel ≥20% dei pazienti, con “infezioni e infestazioni” al primo posto (63%, 84/134). La perdita uditiva è stata la manifestazione più frequente nei pazienti ≥6 anni (42%–73%, n=70). Nei bambini <6 anni, le otiti sono state più comuni (48%, 12/25), seguite da ipoacusia (40%, 10/25) e infezioni respiratorie superiori e inferiori (ciascuna 28%, 7/25). Nei pazienti ≥35 anni, sono risultati comuni osteoartropatie (42%, 5/12), infezioni respiratorie superiori (33%, 4/12) e inferiori (25%, 3/12). Nei pazienti di 6–<12 anni, alterazioni del linguaggio/parola (38%, 11/29) e disturbi della coordinazione/equilibrio (28%, 8/29) erano frequenti, con una percentuale crescente di disturbi della coordinazione/equilibrio tra 12 e 35 anni (≥12–<18 anni: 38%, 9/24; ≥18–<35 anni: 43%, 19/44). Le deformità di colonna/collo sono risultate frequenti in quasi tutti i gruppi: <6 anni (24%), ≥6–<12 anni (21%), ≥12–<18 anni (29%), ≥18–<35 anni (43%). Infezioni respiratorie, disturbi del linguaggio e alterazioni muscoloscheletriche erano comuni in tutte le età, confermando la letteratura esistente. Sono emerse nuove informazioni sull’età di insorgenza di alcune manifestazioni (es. deformità del rachide/collo nei bambini <10 anni). Una maggiore consapevolezza clinica delle manifestazioni specifiche per età potrebbe favorire diagnosi più precoci e interventi tempestivi.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 15 - Mutazioni HFE ed iperferritinemia in pazienti del Sud Italia con malattia di Gaucher**

**Antonio Barbato<sup>1</sup>**, Nadia Altavilla<sup>1</sup>, Anita Vergatti<sup>1</sup>, Paolo Manzi<sup>1</sup>, Angelo Forte<sup>1</sup>, Michelina Sibilio<sup>1</sup>, Immacolata Andolfo<sup>3</sup>, Roberta Russo<sup>3</sup>, Domenico Rendina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Medicine and Surgery, Federico II University, Naples, Italy, <sup>2</sup> Metabolic Diseases Unit, Santobono-Pausilipon Children’s Hospital, Naples, Italy, <sup>3</sup> Department of Molecular Medicine and Medical Biotechnology, University of Naples Federico II, Naples, Italy and CEINGE advanced biotechnologies Franco Salvatore, Naples Italy

**INTRODUZIONE:** La malattia di Gaucher (GD), una malattia da accumulo lisosomiale autosomica recessiva dovuta a deficit di glucocerebrosidasi lisosomiale (GBA), è caratterizzata da epatosplenomegalia e alterazioni metaboliche, tra cui iperferritinemia (HF). Il ruolo dell’HF nei pazienti con GD è dibattuto e pochi studi hanno valutato il ruolo delle mutazioni del gene HFE nell’iperferritinemia dei pazienti con GD. **METODI:** Il genotipo HFE e i parametri del metabolismo del ferro (sideremia, ferritina, saturazione della transferrina) sono stati valutati in un gruppo di 33 pazienti italiani (18 uomini e 23 donne) con GD, seguiti presso il nostro Dipartimento per cui era disponibile un database completo contenente l’anamnesi del paziente, le misurazioni antropometriche e i principali dati biochimici raccolti all’ultimo follow-up. **RISULTATI:** La genotipizzazione HFE ha rivelato 1 paziente omozigote per H63D, 7 pazienti eterozigoti per la mutazione H63D, 2 per la mutazione C282Y e 1 per la mutazione S65C; In totale il 30.3 % (n=10) erano portatori di almeno una mutazione HFE di cui 8 maschi e 2 femmine. L’età media era di 51,3 anni (range 26-78), 29 pazienti erano affetti da DG tipo 1 (87.9%) e 4 da GD tipo 3 (12.1%). Tutti i partecipanti erano trattati con terapia enzimatica sostitutiva da più di 5 anni, tranne 1 in terapia di riduzione del substrato (SRT) da meno di 5 anni ed una paziente passata a SRT da meno di 5 anni. Dopo l’esclusione del paziente omozigote per H63D, trattato con salasso, la sideremia (media ± DS: 107.8±34.92 mcg/dl vs 84.3±28.1; p=0.07), la saturazione della transferrina (35,1%±10.9 vs 24,7±9.0; p=0,012) e i livelli di ferritina (433.3±484.9 ng/mL vs 165.1±212.6; p=0,017) sono risultati più alti nei



portatori di mutazione HFE (HFEMC) rispetto ai non portatori. **DISCUSSIONE:** Questa analisi ha mostrato che il 30.3% dei pazienti GD presentava almeno una mutazione nel gene HFE, con una prevalenza maggiore nei maschi (50%) rispetto alle femmine (11%), più alta rispetto a quanto riportato in letteratura per la popolazione del sud Italia. Gli indici di sovraccarico di ferro erano più elevati nei pazienti con HFEMC rispetto ai pazienti non-HFEMC. In conclusione, sebbene l'iperferritinemia sia comune nei pazienti con GD, quando non risponde adeguatamente al trattamento specifico per la malattia, dovrebbe essere presa in considerazione la genotipizzazione HFE.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 28 - DEFICIT MULTIPLO DI ACIL-COA DEIDROGENASI (MADD) SECONDARIO ALL’USO DI SERTRALINA: UN CASO CLINICO**

**Elena Sani**<sup>1</sup>, Giuliana Da Prato<sup>1</sup>, Alessandra Ziliani<sup>1</sup>, Silvia Rigon<sup>1</sup>, Alice Dianin<sup>2</sup>, Aurora Favaro<sup>2</sup>, Francesco Crescenzo<sup>3</sup>, Gaetano Vattermi<sup>4</sup>, Paola Tonin<sup>4</sup>, Laura Rubert<sup>2</sup>, Maddalena Trombetta<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Endocrinologia, Diabetologia e Malattie del Metabolismo, Dipartimento di Medicina, Azienda Ospedaliera Università Integrata di Verona, <sup>2</sup> UOS Malattie Metaboliche Ereditarie, Pediatria C, Azienda Ospedaliera Università Integrata di Verona, <sup>3</sup> UOC Neurologia, Ospedale Mater Salutis di Legnago, Verona, <sup>4</sup> UOC Neurologia B, Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento, Azienda Ospedaliera Università Integrata di Verona

**Introduzione:** Il deficit multiplo di acil-CoA deidrogenasi (MADD) è un disturbo ereditario dell’ossidazione degli acidi grassi. Negli ultimi anni, sono stati riportati in letteratura casi di pazienti con manifestazioni cliniche e indagini biochimiche ed istologiche compatibili con la diagnosi di MADD, ma con analisi genetica negativa, e pertanto secondarie all’utilizzo di sertralina.

**Metodi:** Riportiamo il caso di una signora di 72 anni, ricoverata per ingravescente ipostenia prossimale ai 4 arti determinante inizialmente frequenti cadute e successivamente disfagia e deficit ventilatorio tali da richiedere il ricovero in UTI. L’anamnesi patologica remota includeva una sindrome depressiva in terapia con sertralina da circa 2 anni.

**Risultati:** Gli esami ematochimici all’ingresso mostravano un netto aumento dei valori di CPK e transaminasi epatiche. L’elettromiografia confermava la presenza di miopatia cronica. Nel sospetto di miopatia infiammatoria, la paziente veniva inizialmente posta in terapia con cortisone ed immunoglobuline endovena. Gli accertamenti bioumorali, tuttavia, escludevano una miosite. La biopsia muscolare diagnosticava una miopatia da accumulo di lipidi e la RM degli arti inferiori confermava un quadro di infiltrazione adiposa degenerativa a livello muscolare. L’analisi delle acilcarnitine evidenziava un lieve aumento dei composti C4-C18, mentre la ricerca degli acidi organici urinari risultava negativa. Venivano pertanto avviate terapia con riboflavina 300 mg/die e dieta a ridotto contenuto lipidico, assistendo ad un netto miglioramento del quadro clinico. L’analisi genetica, tuttavia, non identificava mutazioni a carico di geni associati a disturbi del metabolismo degli acidi grassi. La terapia con sertralina veniva sospesa dopo il ricovero e sostituita nei mesi successivi con vortioxetina per il perdurare dei sintomi depressivi.

**Conclusioni:** La sertralina è un farmaco antidepressivo di largo utilizzo, tuttavia recenti evidenze mostrano la sua possibile associazione con una disfunzione mitocondriale in grado di causare un quadro clinico e biochimico che mima la MADD. Il trattamento con riboflavina sembra essere efficace anche in questa forma secondaria ed è consigliabile la sospensione della terapia con sertralina. Il clinico deve considerare l’utilizzo di sertralina nella diagnosi differenziale di MADD se l’analisi genetica non identifica mutazioni nei geni candidati.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 32 - Terapia genica intraputaminale del deficit di AADC: 24 mesi di follow-up clinico post-intervento.**

**MARIO MASTRANGELO**<sup>1</sup>, ROBERTA BATTINI<sup>2</sup>, CLAUDIA CARDUCCI<sup>3</sup>, ROBERTA SCALISE<sup>2</sup>, FILIPPO MANTI<sup>4</sup>, MANUELA TOLVE<sup>3</sup>, MARIA TERESA GIANNINI<sup>4</sup>, PATRIZIA MAGGIORE<sup>4</sup>, FEDERICA D’ACUNTO<sup>2</sup>, VINCENZO LEUZZI<sup>4</sup>, FRANCESCO PISANI<sup>4</sup>

<sup>1</sup> 1- Dipartimento Materno Infantile e Scienze Urologiche- Sapienza Università di Roma 2-Dipartimento di Neuroscienze/Salute Mentale-AOU Policlinico Umberto I, <sup>2</sup> 3-Dipartimento di Neuroscienze-IRCSS Stella Maris-Pisa 4-Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale-Università di Pisa, <sup>3</sup> 5-Dipartimento di Medicina Sperimentale- Sapienza Università di Roma, <sup>4</sup> 6-Dipartimento di Neuroscienze/Salute Mentale-Sapienza Università di Roma

**Background** La decarbossilasi degli aminoacidi aromatici (MIM 608643) (AADC) è l'ultimo step nella sintesi presinaptica di dopamina e serotonina. Il deficit di AADC è causa di una grave encefalopatia ad esordio precoce con ipotonia, distonia-parkinsonismo, gravi disturbi disautonomici, ritardo globale di sviluppo e disabilità intellettiva di variabile gravità. È la prima condizione genetica del bambino per cui è stata approvata una terapia genica intracerebrale (infusione intraputaminale di eladocagene exuparvovec), sino ad oggi effettuata in oltre 60 pazienti nel mondo. **Metodi** Case report. Il paziente, maschio di 5 anni, ha presentato grave ipotonia, ritardo delle acquisizioni psicomotorie, crisi oculogire e abbondante scialorrea sin dai primi mesi di vita. All'età di 12 mesi il dosaggio del 3-OMD nel DBS era elevato, quello delle amine biogene nel CSF ridotto sia per dopamina che serotonina e la sequenza del gene DDC confermava la diagnosi di deficit di AADC (variante c.749C>T [p.Ser250Phe], esone 7, in omozigosi). Dai 17 mesi il bambino ha assunto trattamento farmacologico antiparkinsoniano con lieve miglioramento del controllo posturale e delle crisi oculogire. A 3 anni e 4 mesi ha subito infusione intraputaminale di Eladocagene exuparvovec. **Risultati** Non complicanze post-operatorie. Al follow-up post-intervento si osservava una immediata risoluzione delle crisi oculogire e un graduale recupero delle acquisizioni neuromotorie (postura eretta con sostegno dopo 3 mesi, deambulazione autonoma dopo 12 mesi, corsa dopo 18 mesi, salto a due piedi, appoggio monopodalico, salto da un gradino dopo 24 mesi) e, parallelamente, progressione positiva delle abilità prassiche. Più lenta l'evoluzione delle competenze espressive verbali che permangono discrepanti rispetto alle abilità motorie con tendenza all'iperattività. Progressiva riduzione della terapia farmacologica fino a sospensione (con eccezione della B6). Il monitoraggio delle amine biogene nel CSF effettuato a 1, 3, 6, 12 e 24 mesi dopo l'intervento ha mostrato valori dei metaboliti delle amine biogene poco superiori ai basali, quindi poco correlabili con l'evoluzione clinica. **Conclusioni** La terapia genica in questo primo paziente italiano ha confermato l'efficacia nel modificare la storia naturale della malattia. Si conferma il drammatico miglioramento dello sviluppo neuropsicomotorio, un effetto più lento sullo sviluppo del linguaggio e modesto sui disturbi disautonomici.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 34 - L'epilessia è parte del fenotipo di coinvolgimento del sistema nervoso centrale nella malattia di Pompe infantile classica**

**Martha Caterina Faraguna**<sup>1</sup>, Viola Crescitelli<sup>1</sup>, Gaia Kullmann<sup>1</sup>, Elena Procopio<sup>4</sup>, Francesca Menni<sup>2</sup>, Federica Deodato<sup>3</sup>, Alexander Broomfield<sup>5</sup>, Yin-Hsiu Chien<sup>6</sup>, Hernan Amartino<sup>7</sup>, Nicole Muschol<sup>8</sup>, Ans T. van der Ploeg<sup>9</sup>, Andreas Hahn<sup>10</sup>, Johanna M.P. van den Hout<sup>9</sup>, Serena Gasperini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pediatria, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, Italia, <sup>2</sup> Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro di Riferimento Metabolico, Milano, Italia, <sup>3</sup> UOC Malattie Metaboliche ed Epatologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, Italia, <sup>4</sup> Unità di Malattie Metaboliche e Neuromuscolari, Dipartimento di Neuroscienze, Azienda Ospedaliera Universitaria Meyer, Firenze, Italia, <sup>5</sup> Manchester Centre for Genomic Medicine, St Mary's Hospital, Central Manchester University Hospital Foundation Trust, Oxford Road, Manchester, UK, <sup>6</sup> Department of Medical Genetics and Pediatrics, National Taiwan University Hospital, Taipei, Taiwan, <sup>7</sup> Servicio de Neurología Infantil, Hospital Universitario Austral, Pilar, Buenos Aires, Argentina, <sup>8</sup> University Medical Center Hamburg-Eppendorf, International Center for Lysosomal Disorders (ICLD), Hamburg, Germany, <sup>9</sup> Center for Lysosomal and Metabolic Diseases, Department of Pediatrics, Erasmus MC University Medical Center, Rotterdam, The Netherlands, <sup>10</sup> Department of Child Neurology, Justus-Liebig-University Giessen, Giessen, Germany

**Introduzione:** La terapia enzimatica sostitutiva (ERT) ha rivoluzionato il decorso della malattia di Pompe infantile classica; la sopravvivenza prolungata ha evidenziato il coinvolgimento del sistema nervoso centrale (SNC), caratterizzato da anomalie della sostanza bianca e declino cognitivo. Sono stati inoltre riportati singoli casi di epilessia. **Metodi:** È stato condotto un sondaggio per individuare pazienti con malattia di Pompe infantile classica (definita dalla presenza di cardiomiopatia ipertrofica, esordio di sintomi/segni < 6 mesi, deficit completo di alfa-glucosidasi, due mutazioni severe del gene GAA) ed epilessia, al fine di determinarne le caratteristiche e descrivere il coinvolgimento del SNC. **Risultati:** Sono stati identificati 17 pazienti in 10 centri internazionali. La durata mediana del follow-up era di 13,7 anni (range 3,3–19). Sette pazienti sono deceduti. L'età mediana di inizio dell'ERT era pari a 3,0 mesi (range 0,4–11), mentre quella di esordio dell'epilessia era di 11,5 anni (range 2,5–17,5). Al momento dell'esordio dell'epilessia, 6 pazienti deambulavano. La semeiologia delle crisi era variabile, più frequentemente focale (10 pazienti) e generalizzata tonico-clonica (10 casi). 6 pazienti presentavano molteplici tipi di crisi; 7 sviluppavano crisi in occasione di episodi febbrili e/o infettivi. La frequenza delle crisi era anch'essa variabile (occasionale in 9 casi, mensile in 5, settimanale in 2, quotidiana in 1). I riscontri più frequenti all'elettroencefalogramma erano rappresentati da attività di fondo rallentata e focalità epilettiche non attivate dal sonno. Il farmaco antiepilettico più prescritto era il levetiracetam. Il 70% dei pazienti presentava una risposta completa alla terapia antiepilettica. I neurofilamenti a catena leggera risultavano elevati in 6 su 6

casi. In 8 dei 10 pazienti in cui è stato calcolato il quoziente intellettivo all’esordio dell’epilessia, il valore era  $\leq 66$ . Quattordici dei 15 pazienti con risonanza magnetica disponibile presentavano anomalie della sostanza bianca, in molti casi estese. Conclusioni: Questo studio evidenzia una frequenza aumentata di epilessia nella malattia di Pompe infantile classica, che tende a manifestarsi in una fase avanzata del decorso clinico e sembra costituire parte del coinvolgimento del SNC. Pertanto, durante il follow-up dei “long-term survivors”, l’insorgenza di crisi epilettiche deve essere attentamente valutata.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 43 - Olipudase alfa nella Real-world practice: i risultati dopo un anno di terapia in un singolo Centro italiano**

**Francesca Cappozzo**<sup>1</sup>, Alessandro La Rosa<sup>2</sup>, Maria Cristina Schiaffino<sup>3</sup>, Paolo Gandullia<sup>2</sup>, Annalisa Madeo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Neuroscienze, Riabilitazione, Oftalmologia, Genetica e Scienze Materno-Infantile (DINOEMI), Università di Genova, Genova, Italia, <sup>2</sup> U.O.C. Gastroenterologia Pediatrica ed Endoscopia Digestiva, IRCCS Giannina Gaslini, Genova, Italia, <sup>3</sup> U.O.C. Clinica Pediatrica ed Endocrinologia, IRCCS Giannina Gaslini, Genova, Italia

**Background:** Il deficit di sfingomielinasi acida (ASMD) è una malattia da accumulo lisosomiale con interessamento multiorgano progressivo. Olipudase alfa è la prima terapia enzimatica sostitutiva (ERT) disponibile per le manifestazioni non neurologiche di pazienti pediatrici e adulti con ASMD cronica viscerale (tipo B) e cronica neuroviscerale (tipo A/B).

**Metodi:** Due pazienti italiane con ASMD tipo B sono state trattate con Olipudase alfa presso l’IRCCS Istituto Gaslini per 12 mesi. Una paziente (P1) ha iniziato il trattamento a 15 anni, l’altra (P2) a 55 anni. La ERT è stata somministrata ogni due settimane, con titolazione della dose da 0,03 mg/kg (P1) e 0,1 mg/kg (P2) fino a 3 mg/kg. Le pazienti sono state monitorate in regime di ricovero per almeno 24 ore dopo l’infusione durante la fase di dose-escalation. A ogni infusione sono stati monitorati emocromo, funzionalità epatica e profilo lipidico. Lyso-SM, spirometria, DLCO, volumi epatico e splenico (RMN) e rigidità epatica (elastografia) sono stati valutati al baseline, a 6 e 12 mesi di terapia.

**Risultati:** Dopo 12 mesi di trattamento si sono ridotti colesterolo LDL (-55.7% P1, -20.1% P2), trigliceridi (-44.7% P1, -47.6% P2), ferritina (-54.5% P1, -34.8% P2), Lyso-SM (-82,2% P1, -73% P2). Le transaminasi si sono normalizzate in P1, già nella norma in P2. Sono aumentati colesterolo HDL (12% P1, 31.8% P2), piastrine in P1 (38%), mentre non è migliorata la piastrinopenia significativa in P2 (72.000/mmc). Il volume epatico si è ridotto del 23.2% dopo 6 mesi in P1 e del 29.9% dopo 12 mesi in P2. Il volume splenico è diminuito del 26% dopo 6 mesi in P1 e del 30.7% dopo 12 mesi in P2. La rigidità epatica è diminuita del 27,8% (P1) e 35,8% (P2) dopo un anno di ERT. DLCO è aumentato del 21% in P1, è rimasto stabile in P2, sebbene con lieve miglioramento alla TC torace eseguita dopo 6 mesi di terapia. In P1 miglioramento della crescita staturale (da -4 SDS a -2.5 SDS) con menarca a 6 mesi di terapia; in P2 miglioramento dell’osteoporosi (T-score colonna da -4.1 a -3.5, T-score femore stabile -2.3) dopo 6 mesi. La terapia è stata ben tollerata in entrambe le pazienti, senza reazioni avverse.

**Conclusioni:** Olipudase alfa è sicuro ed efficace anche nella pratica clinica, con miglioramenti significativi su biomarcatori e parametri clinici. La risposta più marcata in P1 sottolinea l’importanza di iniziare precocemente la terapia, prima dello sviluppo di manifestazioni avanzate come la pneumopatia severa.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 54 - Un nuovo approccio terapeutico nel danno polmonare nella malattia di Gaucher tipo 3**

**Vincenza Gragnaniello**<sup>1</sup>, Silvia Carraro<sup>2</sup>, Tiziana Zangardi<sup>3</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Daniela Guerardi<sup>1</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unità Operativa Malattie Metaboliche Ereditarie, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università di Padova, <sup>2</sup> Unità Operativa Pneumologia e Allergologia Pediatrica, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università di Padova, <sup>3</sup> Unità Operativa Pronto Soccorso Pediatrico e Pediatria d’Urgenza, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Azienda Ospedale Università di Padova

**Introduzione:** La malattia di Gaucher (GD) è una malattia da accumulo lisosomiale causata dalla carenza dell’enzima glucocerebrosidasi, con accumulo di glucosilceramide, in particolare nei macrofagi di fegato, milza, midollo osseo, polmoni e sistema nervoso centrale. La terapia enzimatica sostitutiva (ERT) migliora il coinvolgimento viscerale.

Tuttavia, il coinvolgimento polmonare può progredire nonostante la ERT, evidenziando la necessità di nuovi e personalizzati approcci terapeutici. Metodi: Presentiamo il caso di un paziente con GD neuroviscerale [(p.His294Gln p.Asp448His), p.Leu483Pro], diagnosticato allo screening neonatale, che ha sviluppato un grave coinvolgimento polmonare a 4 mesi di età nonostante l’inizio precoce della ERT (60 U/kg ogni due settimane a partire dai 2 mesi di età). Il paziente ha presentato dispnea, tachipnea (50-60 apm) e desaturazione con SpO<sub>2</sub> media del 90% alla polisonnografia. Sono state escluse cause infettive, cardiologiche e neurologiche. La HRCT ha rivelato una densità polmonare eterogenea con un pattern "a mosaico" e aree confluenti "a vetro smerigliato". La ERT è stata intensificata a 90 U/kg settimanali. Dato il grave coinvolgimento polmonare, scarsamente responsivo alla ERT, e la presenza di marcatori infiammatori persistentemente elevati (TNF-alfa: 28,5 ng/L, vn <8,1; livelli di Pp38 MAPK nelle cellule mononucleate del sangue periferico [PBMC]: 4,8 volte superiore al controllo), abbiamo iniziato una terapia antinfiammatoria in combinazione con la ERT. Risultati: Dopo 2 mesi di metilprednisolone orale (2 mg/kg/die), il paziente ha mostrato un miglioramento clinico con una ridotta necessità di ossigenoterapia domiciliare. I livelli di TNF-alfa sono diminuiti (9,6 ng/L a 1 mese, 13,2 ng/L a 2 mesi), insieme ai livelli di Pp38 MAPK in PBMC (-72% dopo 2 mesi). Visto il peggioramento clinico alla sospensione della terapia steroidea, a 11 mesi di età è stata introdotta l’idrossiclorochina (6 mg/kg/die) con un ulteriore miglioramento clinico e degli indici di flogosi/stress cellulare (TNF-alfa: 11.3 ng/L, vn <8,1; livelli di Pp38 MAPK -88%, comparabile al controllo dopo 2 mesi). La polisonnografia si è normalizzata (SpO<sub>2</sub> media: 98%). Conclusioni: La ERT non si dimostra efficace nel prevenire le manifestazioni polmonari della GD3 e nuove strategie di trattamento devono essere associate. L’efficacia delle terapie antinfiammatorie e immunomodulanti suggerisce un ruolo potenziale di questi nel trattamento a lungo t

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 57 - Ecografia Polmonare da Sforzo: Uno Strumento Promettente per la Valutazione del Coinvolgimento Cardiaco nella Malattia di Fabry**

**FABIO CHESINI<sup>3</sup>, GIACOMO MARCHI<sup>3</sup>, MATTIA COMINACINI<sup>1</sup>, ALESSANDRO NEGRINI<sup>1</sup>, LUCA GIUSEPPE DALLE CARBONARE<sup>1</sup>, MICHELE BRAGGIO<sup>1</sup>, GIANLUIGI DORELLI<sup>2</sup>, DOMENICO GIRELLI<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Dipartimento di Ingegneria per la Medicina di Innovazione Verona, <sup>2</sup> Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento-Verona, <sup>3</sup> UOC Medicina d’Urgenza AOUI Verona

Introduzione

Il danno cardiaco nella malattia di Fabry (FD) rappresenta la principale causa di morbidità e mortalità. Il coinvolgimento cardiaco può rimanere asintomatico e difficilmente rilevabile per molti anni. Assieme all’ECG a 12 derivazioni, all’Holter, all’ecocardiografia e alla risonanza magnetica cardiaca (CMR), lo strain miocardico e il T1 mapping stanno emergendo come indicatori precoci del coinvolgimento cardiaco, ma presentano alcune limitazioni in termini di disponibilità e sono ancora limitati ad un uso sperimentale. Il test da sforzo cardiopolmonare (CPET) è stato proposto per una valutazione funzionale dei pazienti con FD, ma il suo ruolo nel monitoraggio della progressione della malattia è ancora poco chiaro.

Metodi

Nel nostro studio abbiamo eseguito un’ecografia polmonare (US) a riposo e dopo esercizio fisico per indagarne l’utilità come strumento per la stadiazione della malattia.

Risultati

Sono stati arruolati sette pazienti (6 donne, 1 uomo) con FD in follow-up regolare presso l’AOUI di Verona (Italia); cinque con fenotipo classico e due con forma ad insorgenza tardiva. L’età mediana era di 46 anni (DS 14,8); tre pazienti presentavano coinvolgimento cardiaco e tutti erano in terapia enzimatica sostitutiva. Sono stati esclusi i soggetti con comorbidità non correlate alla FD che potessero alterare la valutazione con CPET e/o ecografia polmonare. Dopo consenso informato, abbiamo raccolto dati antropometrici, clinici, biochimici, elettrocardiografici, ecocardiografici ed eseguito CPET ed ecografia polmonare a riposo e entro cinque minuti dal picco di sforzo. Nella nostra coorte, abbiamo osservato la presenza di linee B sia a riposo che dopo CPET, a differenza della popolazione sana. Le linee B aumentavano dopo lo sforzo in tutti i pazienti (p = 0.022), anche in assenza di segni di coinvolgimento cardiaco agli esami convenzionali. Il numero di linee B era direttamente proporzionale alla durata del QRS (p<0.001), alla massa ventricolare sinistra indicizzata (p = 0.03) e al volume atriale sinistro (p = 0.011), e inversamente proporzionale alla frazione di eiezione (p = 0.039) e allo strain globale (p = 0.035).

I nostri risultati preliminari suggeriscono che l’ecografia polmonare associata a CPET possa rappresentare uno strumento semplice ed economico per valutare in modo funzionale il coinvolgimento cardiaco nella FD, dai primi fino agli stadi avanzati.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

ID: 60 - Terapia con leriglitazone nell’adrenoleucodistrofia X-linked (X-ALD)

**Fabio Bruschi**<sup>1</sup>, Eleonora Bonaventura<sup>1</sup>, Ylenia Vaia<sup>1</sup>, Jacopo Sartorelli<sup>2</sup>, Filippo Arrigoni<sup>3</sup>, Giana Izzo<sup>3</sup>, Cecilia Parazzini<sup>3</sup>, Francesco Nicita<sup>2</sup>, Davide Tonduti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro COALA (Centro Ospedaliero per l’Assistenza e la cura delle Leucodistrofie e delle condizioni Associate), Unità di Neurologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini V. Buzzi - Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia, <sup>2</sup> Unità di Malattie Neuromuscolari e Neurodegenerative, IRCCS Ospedale Bambino Gesù, Roma, Italia, <sup>3</sup> Unità di Radiologia e Neuroradiologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, Italia

Introduzione

L’adrenoleucodistrofia X-linked (X-ALD) è il più comune disturbo perossisomiale ed è causato da varianti nel gene *ABCD1* che determinano una compromissione della β-ossidazione degli acidi grassi a catena molto lunga (VLCFA), il cui accumulo a livello del sistema nervoso centrale (SNC) provoca nel 35-40% dei maschi affetti una progressiva demielinizzazione della sostanza bianca cerebrale (cALD). Senza trattamento, il quadro clinico evolve rapidamente verso un esito fatale, rendendo la diagnosi precoce un fattore critico. Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT) rappresenta il trattamento standard per la cALD; esso è efficace nell’arrestare la progressione della malattia, ma è gravato da morbidità elevata. Recentemente, il leriglitazone, un agonista del PPARγ, si è mostrato in grado di rallentare e/o arrestare la progressione della malattia cerebrale. Presentiamo i dati dei primi 2 pazienti italiani con cALD trattati con leriglitazone in uso compassionevole.

Materiali e metodi

Follow-up clinico, biochimico e neuroradiologico a 6 e 9 mesi dall’avvio del trattamento con leriglitazone in mono-somministrazione giornaliera in due pazienti con diagnosi di adrenoleucodistrofia X-linked - forma cerebrale.

Risultati

Due pazienti (A, 8 anni; B, 11 anni) con cALD in attesa di ricevere trapianto hanno mostrato stabilità clinica (NFS=0) e velocità di progressione neuroradiologica delle lesioni inferiore rispetto a quanto atteso per storia naturale, sia a 3 sia a 6 mesi dall’avvio del trattamento con leriglitazone, con score di Loes invariato (LS=2). Verranno presentati i risultati del follow-up clinico e strumentale dei pazienti A e B, rispettivamente a 9 mesi e a 6 mesi dall’introduzione del farmaco.

Conclusioni

La nostra esperienza conferma l’efficacia del leriglitazone nel rallentare la progressione della malattia cerebrale nei pazienti affetti da adrenoleucodistrofia X-linked e sostiene i risultati dello studio NEXUS, studio multicentrico, in aperto, della durata di 96 settimane sull’efficacia e la sicurezza di leriglitazone in pazienti pediatrici con cALD. Il leriglitazone appare dunque una nuova terapia promettente, in grado di modificare la storia naturale di malattia.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

ID: 61 - Follow-up nei pazienti con Adrenoleucodistrofia X-Linked diagnosticati precocemente

**Filippo Manti**<sup>1</sup>, Claudia Carducci<sup>2</sup>, Manuela Tolve<sup>3</sup>, Silvia Santagata<sup>3</sup>, Teresa Giovannello<sup>3</sup>, Annamaria Gigliello<sup>3</sup>, Antonio Angeloni<sup>2</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>4</sup>, Francesco Pisani<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Neuroscienze/Salute Mentale-AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale - Sapienza-Università di Roma, <sup>3</sup> UOC di Patologia Clinica, AOU Policlinico Umberto I, Roma, <sup>4</sup> Dipartimento di Neuroscienze Umane Sapienza Università di Roma

**Background/Introduzione:** L’adrenoleucodistrofia X-Linked (X-ALD) è una malattia perossisomiale rara causata da mutazioni nel gene ABCD1, che porta all’accumulo di acidi grassi a catena molto lunga (VLCFA) nei tessuti. La presentazione clinica è estremamente variabile e può includere forme cerebrali infantili rapidamente progressive, insufficienza surrenalica e mielopatia ad esordio adulto. L’introduzione dello SNE per X-ALD consente di identificare i pazienti in fase presintomatica, aprendo la possibilità a monitoraggi e interventi precoci, tra cui il trapianto di cellule staminali ematopoietiche, che potrebbe modificare significativamente la prognosi.

**Obiettivi dello studio:** a) valutazione dell’outcome clinico e neuroradiologico in soggetti con diagnosi precoce di X-ALD.

**Metodi:** E’ stato effettuato il dosaggio dei VLCFA coniugati alla carnitina e alla lisofosfatidilcolina su DBS (C24, C26, C26:0-LPC) mediante spettrometria di massa tandem e successivo dosaggio plasmatico dei VLCFA (C26:0, rapporto C24:0/C22:0, rapporto C26:0/C22:0) e conferma genetica. È stato avviato un percorso di follow-up neurologico, neuroradiologico ed endocrino. Sono state esaminate le funzioni cognitive e adattive.

**Risultati:** Presentiamo il caso di un neonato di sesso maschile in cui è stata rilevata un’elevata concentrazione di VLCFA e successiva estensione dell’analisi al fratello maggiore. Le analisi biochimiche e genetiche (c.390delT/p.Phe130Leufs\*68) hanno confermato la diagnosi di X-ALD in entrambi i fratelli. È stato avviato un follow-up multidisciplinare comprendente valutazioni neurologiche, endocrine e neuroradiologiche periodiche. Il paziente, identificato durante lo studio pilota di validazione del metodo, è attualmente asintomatico e sottoposto a monitoraggio continuo per identificare tempestivamente eventuali segni di progressione cerebrale. Il fratello maggiore presenta un quadro di iposurrenalismo subclinico in terapia sostitutiva, senza coinvolgimento cerebrale.

**Conclusioni:** La diagnosi precoce di X-ALD migliora significativamente la prognosi nei casi con evoluzione cerebrale identificata in fase iniziale. È fondamentale garantire protocolli diagnostici accurati e percorsi clinici strutturati per massimizzare i benefici di questa strategia di prevenzione.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 62 - Trattamento dei sintomi psichiatrici nel deficit di tirosina idrossilasi**

**Filippo Manti**<sup>1</sup>, Mario Mastrangelo<sup>2</sup>, Claudia Carducci<sup>3</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>4</sup>, Francesco Pisani<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Neuroscienze/Salute Mentale-AOU Policlinico Umberto I, <sup>2</sup> Dipartimento Materno Infantile e Scienze Urologiche- Sapienza Università di Roma, <sup>3</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale – Sapienza Università di Roma, <sup>4</sup> Dipartimento di Neuroscienze Umane-Sapienza Università di Roma

**Background/Introduzione:** Il deficit di TH è un raro disturbo di sintesi delle amine biogene (dopamina, noradrenalina e adrenalina) caratterizzato da sindrome rigida o ipotonico-ipocinetica e ritardo globale di sviluppo nei primi mesi di vita e distonia-parkinsonismo in età adulta. La dopamina è coinvolta nella regolazione delle funzioni motorie, del comportamento, delle emozioni e degli aspetti cognitivi. La sintomatologia psichiatrica nei soggetti con deficit di TH (THD) non è stata esplorata, né esistono delle indicazioni sul piano terapeutico.

**Obiettivi dello studio:** a) valutazione dell’outcome in funzione del trattamento; b) valutazione del valore prognostico delle alterazioni biochimiche alla diagnosi; 3) responsività al trattamento farmacologico.

**Metodi:** Sono stati inclusi 3 soggetti con THD (range 8-35 anni; M: 24.72; DS:14.25), caratterizzati sia da un punto di vista clinico, biochimico che genetico. E’ stato condotto uno studio clinico focalizzato su sintomi neurologici (UPDRS, MDRS), psichiatrici (Aseba Scale, DSM-5-TR), funzioni cognitive (Leiter-3, WAIS-IV, BRIEF) e adattive (Vineland-II). **Risultati:** Tutti i soggetti hanno presentato nel primo anno di vita ritardo globale dello sviluppo, sindrome rigida o ipotonica-ipocinetica e crisi oculogire. Il profilo cognitivo di 1 soggetto diagnosticato nei primi mesi di vita risulta nella norma mentre i soggetti diagnosticati tardivamente presentano un quadro di disabilità intellettiva. Sono state obiettivate alcune comorbidità psichiatriche (disturbo d’ansia, DOC, comportamenti dirompenti) e valutate le risposte al trattamento farmacologico. E’ stato valutato il rapporto tra livelli di amine biogene liquorali alla diagnosi e le misure di outcome.

**Conclusioni:** Le attuali terapie ci hanno permesso di raggiungere una stabilità del fenotipo neurologico a fronte dell’emergenza di una sintomatologia psichiatrica (senza evidenti linee guida sul trattamento). Disturbi d’ansia e DOC

nell’infanzia, possono in età adulta evolvere verso franchi quadri di psicosi con comportamenti dirompenti. La nostra esperienza clinica ci ha permesso di identificare trattamenti farmacologici personalizzati riducendo al minimo effetti di on-off. Questo studio preliminare necessita di ulteriori studi longitudinali in modo tale da valutare da una parte l’impatto degli interventi terapeutici, e dall’altra le possibili linee guida di trattamento mirate a modificare i fattori psicosociali.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 63 - Follow-up e outcome nei disturbi del metabolismo del BH4**

**Filippo Manti**<sup>1</sup>, Francesca Nardecchia<sup>2</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Neuroscienze/Salute Mentale-AOU Policlinico Umberto I, <sup>2</sup> Dipartimento di Neuroscienze Umane-Sapienza Università di Roma

Background/Introduzione: I difetti della sintesi del BH4 comprendono quattro condizioni associate all’iperfenilalaninemia (HPHE) e tre che non lo sono. Il follow-up clinico per il primo gruppo ha come obiettivo la prevenzione dell’insorgenza dei sintomi tipici della malattia. Al contrario, per le altre tre condizioni la diagnosi avviene generalmente dopo la comparsa dei sintomi e il follow-up si concentra principalmente sul monitoraggio dell’efficacia del trattamento nel ripristinare, per quanto possibile, le funzioni neurologiche alterate. Le attuali informazioni sul follow-up clinico derivano principalmente da studi osservazionali retrospettivi, con l’utilizzo di misure standardizzate in solo pochi studi.

Metodi: E’ stata condotta un’analisi di revisione sistematica della letteratura.

Risultati: Ad eccezione del deficit di carbinolamina deidratasi (PDCC), per tutte le altre condizioni il follow-up clinico, focalizzato sulle alterazioni dello sviluppo neuropsicomotorio e i disturbi del movimento, rappresentano le migliori misure predittive degli esiti e dovrebbero costituire i principali obiettivi del follow-up.

Discussione/Conclusioni: Disturbi neurocognitivi, psichiatrici e del sonno possono insorgere sia in età pediatrica che in età adulta, rendendo necessario un follow-up specifico e dedicato. I livelli di fenilalanina nel sangue devono essere monitorati regolarmente nelle forme con HPHE. Il monitoraggio dei livelli dei neurotrasmettitori nel liquido cerebrospinale durante la supplementazione con precursori non è raccomandato nei pazienti asintomatici mentre, nei pazienti sintomatici, non supera il valore dell’osservazione clinica. Può essere considerato nei soggetti che non rispondono al trattamento o che presentano un decorso clinico disarmonico o inatteso. I dati clinici retrospettivi attualmente disponibili, spesso aggregati tra pazienti trattati precocemente e tardivamente, mostrano che i migliori esiti clinici si osservano nella AD-GTPCHD. Per le condizioni recessive, la prognosi risulta invece variabilmente influenzata dal tempo di inizio del trattamento (AR-GTPCHD, PTPSD, SRD, DHPRD) e dalla gravità dell’alterazione metabolica (AR-GTPCHD, PTPSD). È importante sottolineare che il deficit delle funzioni cognitive superiori e i disturbi comportamentali, attualmente spesso sottovalutati, hanno un impatto rilevante sull’adattamento sociale e sulla qualità della vita. In prospettiva futura, la valutazione clinica dovrebbe basarsi su s

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 67 - SCREENING NEONATALE POSITIVO PER GALATTOSEMIA DA MICRO-SHUNT PORTO SISTEMICO CONGENITO MISCONOSCIUTO**

**Laura Fiori**<sup>1</sup>, Veronica Maria Tagi<sup>2</sup>, Chiara Montanari<sup>2</sup>, Cristina Cereda<sup>3</sup>, Simona Lucchi<sup>4</sup>, Martina Tosi<sup>5</sup>, Luigina Spaccini<sup>6</sup>, Elvira Verduci<sup>7</sup>, Gianvincenzo Zuccotti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia; Dipartimento di Scienze Cliniche e Biomediche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia , <sup>3</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia; Laboratorio Screening Neonatale, Genomica Funzionale e Malattie Rare, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>4</sup> Laboratorio Screening Neonatale, Genomica Funzionale e Malattie Rare, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>5</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia; Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia , <sup>6</sup> Unità di Genetica Clinica, Dipartimento di Ostetricia e Ginecologia, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>7</sup> Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia; Unità di Malattie Metaboliche, Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia

**Introduzione.**Lo shunt porto-sistemico congenito(CPSS) può causare ritardo di crescita intrauterina, ipertensione polmonare, colestasi fino all'encefaloptia epatica.L'ecocolordoppler consente la diagnosi nella maggior parte dei casi sia in epoca pre che post-natale.Il riscontro di ipergalattosemia allo screening neonatale esteso(SNE) può essere un campanello d'allarme per la presenza di un micro-CPSS, in particolare in caso di esclusione di malattie metaboliche congenite a carico del metabolismo del galattosio(geni GALT,GALE, GALK, GALM), di disturbi congeniti della glicosilazione, di assenza di deficit di GLUT2, epatopatie di altra origine e soprattutto in assenza diCPSS macroscopicamente evidenti. Caso clinico. Descriviamo un neonato richiamato allo SNE per sospetta galattosemia non classica.All'ecografia pre e post-natale erano stati evidenziati micronoduli epatici in sospetta angiomasiosi.Tuttavia, l'indagine doppler non aveva evidenziato segni di shunt. Dato l'aumento del valore plasmatico di galattosio, pari a 11 e 14 mg/dl in III e IX giornata di vita, con vn<6,3 mg/dl, con aumentato galattosio urinario (150,23mg/dl,v.n.0-60), a 10giorni di vita veniva introdotta una dieta priva di galattosio.L'ecodoppler epatica a 15giorni mostrava 10neoformazioni iperecogene di diametro massimo 1cm e confermava la diagnosi, sempre in assenza di shunt. Veniva prescritto propranololo 1mg/kg/die. L'analisi dei geni imputati al metabolismo del galattosio è risultata negativa.L'ipergalattosemia veniva quindi attribuita ad un possibile shunt misconosciuto a livello epatico. A 1mese di vita, visto il miglioramento del quadro radiologico epatico, veniva liberalizzata la dieta. Il livello di galattosio plasmatico, risultato poco superiori al cutoff dopo 10giorni di formula 1(Gal tot.10 mg/dl), si è mantenuto stabilmente nella norma. Conclusioni. Sebbene in caso di CPSS siano stati descritti livelli plasmatici di galattosio sia elevati che normali, sia in epoca neonatale che successivamente, questo caso suggerisce che una ipergalattosemia allo SNE può indicare un micro-CPSS anche con indagini radiologiche non conclusive.Il galattosio plasmatico dovrebbe essere monitorato anche in pazienti con CPSS diagnosticato dopo la nascita e SNE negativo. Qualora l'entità del CPSS peggiorasse dopo la nascita e prima un trattamento efficace, il subentrare di una condizione di ipergalattosemia secondaria potrebbe causare intossicazione a carico del pz.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 68 - Effetti della valutazione nutrizionale tramite telemedicina nei pazienti pediatrici con Malattie Metaboliche Ereditarie diagnosticate attraverso lo Screening Neonatale durante il primo anno di vita**

**Veronica Maria Tagi**<sup>1</sup>, Martina Tosi<sup>2</sup>, Letizia Gandini<sup>3</sup>, Chiara Montanari<sup>1</sup>, Alessandra Bosetti<sup>4</sup>, Laura Fiori<sup>4</sup>, Elvira Verduci<sup>5</sup>, Gianvincenzo Zuccotti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia; Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia; Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia, <sup>3</sup> Università degli Studi di Milano, Milano, Italia, <sup>4</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia , <sup>5</sup> Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia; UOS Malattie Metaboliche, Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia

**Background:** La dieta rappresenta una componente fondamentale nella gestione di bambini affetti da malattia metabolica ereditaria (MME) diagnosticata attraverso screening neonatale. Il primo anno di vita è un momento critico a causa delle diverse necessità nutrizionali e dell'inesperienza dei caregiver. L'implementazione della gestione nutrizionale tramite telemedicina (TLM) può apportare benefici negli esiti clinici dei pazienti. L'obiettivo dello studio è valutare l'efficacia della gestione nutrizionale tramite TLM in pazienti con MME durante il primo anno di vita, per definire l'utilità dell'integrazione di questo strumento nei protocolli terapeutici esistenti. **Materiali e metodi:** È stato condotto uno studio pilota analizzando i marker biochimici e gli indici nutrizionali dalla nascita fino ai 12 mesi di età di pazienti pediatrici con MME diagnosticati tramite screening neonatale. Abbiamo confrontato marker e indici di pazienti che integravano la TLM con valutazioni in presenza con quelli dei bambini seguiti completamente in presenza. Abbiamo somministrato ai caregiver un questionario di soddisfazione (adattato da Parmanto et al. Int J Telerehabil 2016), comprendente domande a risposta chiusa con espressione numerica di un grado (16=minima soddisfazione, 64=massima soddisfazione). **Risultati:** Sono stati arruolati nove neonati richiedenti terapia nutrizionale: 3 con fenilchetonuria, 2 con citrullinemia di tipo I, 1 con hawkinsinuria, 1 con deficit di beta-cheto-tiolasi, 1 con MCADD e 1 con acidemia metilmalonica. Tra questi, 7 hanno scelto di utilizzare la TLM integrata con valutazioni in presenza, mentre 2 hanno effettuato tutte le valutazioni esclusivamente in presenza. Tutti i caregiver che hanno utilizzato la TLM hanno mostrato una buona aderenza al programma e hanno espresso un'opinione favorevole (punteggio medio: 59,25/64; intervallo: 54–62). Lo svantaggio più frequentemente riportato è la difficoltà nella comunicazione dovuta a barriera linguistica. Tutti i pazienti hanno mostrato un eccellente controllo metabolico e indici nutrizionali comparabili a quelli dei pazienti seguiti in presenza. **Conclusioni:**



I risultati suggeriscono che la TLM può rappresentare uno strumento efficace a supporto della pratica clinica. Questo servizio dovrebbe essere implementato con interpreti dedicati per evitare barriere linguistiche.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 76 - IL MONITORAGGIO CARDIORESPIRATORIO NOTTURNO COME STRUMENTO DI VALUTAZIONE DELLA FUNZIONALITÀ RESPIRATORIA E DELLA RISPOSTA AL TRATTAMENTO IN PAZIENTI CON MALATTIA DI POMPE INFANTILE CLASSICA.** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

MARIANNA ALAGIA<sup>1</sup>, RAFFAELE CERCHIONE<sup>2</sup>, MELISSA BORRELLI<sup>1</sup>, GIANCARLO PARENTI<sup>2</sup>, SIMONA FECAROTTA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento Materno-Infantile, Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli , <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli

**INTRODUZIONE** La malattia di Pompe è una miopatia metabolica progressiva dovuta a deficit di alfa-glucosidasi acida lisosomiale (GAA). Nella forma infantile classica (IOPD) l’esordio avviene entro il primo anno con cardiomiopatia, ipotonia e insufficienza respiratoria, con esito infausto senza trattamento. L’ERT con alglucosidase ha migliorato la sopravvivenza, ma la risposta è variabile e si osserva progressivo coinvolgimento dei muscoli respiratori e del diaframma. Nei bambini con IOPD la valutazione respiratoria è complessa per scarsa collaborazione e carenza di strumenti idonei. Il monitoraggio cardiorespiratorio notturno (MCR) è particolarmente utile per individuare disturbi respiratori del sonno e stimare la funzione diaframmatica senza la collaborazione del paziente. Con le nuove ERT e terapie emergenti, strumenti oggettivi come il MCR sono fondamentali per monitorare la progressione, valutare l’efficacia, orientare lo switch e fungere da endpoint nei trial. Presentiamo un caso che evidenzia l’utilità di MCR nella gestione di IOPD, supportando le scelte terapeutiche e monitorando la risposta alla terapia. Pazienti e metodi RC, 8 anni, IOPD, ha mostrato a 1 mese distress respiratorio, cardiomiopatia ipertrofica, macroglossia, epatomegalia e ipotonia. La diagnosi è stata confermata da attività GAA ridotta (0,5 nmol/mg prot/h; VN 15–28) e genetica (mutazione CRIM positiva c.1124G>T, p.R375L, omozigote). A 2 mesi ha iniziato ERT con Alglucosidasi (20 mg/kg ogni 2 settimane) e metotrexate, con successivo incremento fino a 40 mg/kg/settimana. A 8 anni, per risposta subottimale, è passato ad Avalglucosidasi alfa (40 mg/kg ogni 2 settimane). La funzione respiratoria è stata monitorata con MCR notturno periodico (sistema NOX T3), che registra flusso oronasale, SpO<sub>2</sub>, movimenti toraco-addominali e posizione, calcolando oAHI, ODI e % di respiro paradossso. Risultati Il MCR ha mostrato un progressivo peggioramento respiratorio, con aumento di oAHI, ODI e % di respiro paradossso nonostante l’ERT con alglucosidase ad alte dosi. Dopo 6 mesi dallo switch ad Avalglucosidasi si è osservato, seppur nel breve follow-up, un miglioramento della funzione delle alte vie aeree (riduzione di oAHI e ODI) e della funzione diaframmatica (minor % di respiro paradossso). **CONCLUSIONI** Il MCR si conferma uno strumento prezioso nei pazienti IOPD per rilevare precocemente il declino respiratorio, spesso non evidente clinicamente, supportare le decisioni terapeutiche e moni

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 77 - Efficacia della N-acetilcisteina nei sintomi dello spettro autistico nella sindrome da mutazione di DDX3X**

MARIANNA ALAGIA<sup>1</sup>, GENNARO PIO GISONNI<sup>2</sup>, EMANUELA ZACCARIA<sup>2</sup>, MARIAPIA RICCIO<sup>3</sup>, ROSAMARIA SIRACUSANO<sup>3</sup>, MARIANGELA PEZONE<sup>4</sup>, ADELE MAISTO<sup>4</sup>, ANNALISA TASSIELLO<sup>4</sup>, GAETANO TERRONE<sup>2</sup>, GIANCARLO PARENTI<sup>2</sup>, SIMONA FECAROTTA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento Materno-Infantile, Programma di Errori congeniti del metabolismo e del sistema immune Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli , <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli, <sup>3</sup> Dipartimento Materno-Infantile ,P.I. di Neuropsichiatria infantile Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli, <sup>4</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, PI Neuropsichiatria infantile, Università Federico II, Napoli

**RAZIONALE DELLO STUDIO** La sindrome da mutazione del gene DDX3X è un disturbo del neurosviluppo associato a sintomi dello spettro autistico (ASD), disturbi motori e del linguaggio, epilessia e disabilità intellettiva. Tra i meccanismi patogenetici coinvolti, l’aumento dello stress ossidativo rappresenta un elemento centrale, suggerendo un possibile beneficio dell’impiego di terapie antiossidanti come la N-acetilcisteina (NAC). Nella popolazione ASD è stato documentato un incremento dello stress ossidativo e la NAC è stata proposta come trattamento, sebbene con efficacia clinica variabile, probabilmente a causa dell’elevata eterogeneità genetica. Nel caso specifico della sindrome DDX3X, i

sintomi autistici si inseriscono in un contesto patogenetico più definito, in cui lo stress ossidativo potrebbe avere un ruolo diretto, rendendo la NAC potenzialmente più efficace rispetto alle forme ASD geneticamente eterogenee. **OBIETTIVI DELLO STUDIO** Caratterizzare il fenotipo neurocomportamentale dei pazienti con mutazioni DDX3X e valutare l'efficacia del NAC sui sintomi autistici. **MATERIALI E METODI** Sono stati inclusi 19 pazienti (18 femmine, 1 maschio; età: 3-18 anni) con diagnosi genetica di sindrome DDX3X e ASD. L'efficacia e la sicurezza della NAC sono state valutate alla baseline e dopo 6 e 12 mesi con esami di routine, scala CARS per ASD, e scale validate per analizzare iperattività, attenzione, comportamenti disfunzionali e disturbi del sonno. Eventi avversi e terapie concomitanti sono stati registrati. **RISULTATI** Dodici pazienti hanno completato il follow-up a T12. Tutti presentavano punteggi patologici alla scala CARS, confermando la presenza di ASD. Dopo 12 mesi di trattamento con NAC, si è osservata una riduzione significativa dei punteggi CARS (T0 media: 64,3 ± 15,39; T12 media: 34,7 ± 8,12; Wilcoxon p<0.05). I miglioramenti in altri ambiti neurocomportamentali sono risultati variabili; l'iperattività e il deficit di attenzione (scala CPRS) si sono ridotti in 5 dei 12 pazienti. **CONCLUSIONE** I dati preliminari suggeriscono che il trattamento con NAC ha portato a un miglioramento significativo dei sintomi ASD nei pazienti con mutazione DDX3X, con risultati promettenti anche nel trattamento di sintomi ADHD. L'analisi comportamentale indica un effetto positivo su più domini neurocomportamentali. Sono necessari ulteriori studi per confermare questi risultati e correlarli a misure biochimiche dello stress ossidativo.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 78 - Leucodistrofie e deglutizione in età pediatrica: analisi clinica retrospettiva di 25 casi**

**Ylenia Vaia**<sup>1</sup>, Nicole Pizzorni<sup>2</sup>, Sibora Rama<sup>2</sup>, Fabio Bruschi<sup>1</sup>, Anna Colombo<sup>2</sup>, Elvira Verduci<sup>3</sup>, Sara Vizzuso<sup>4</sup>, Antonio Schindler<sup>2</sup>, Davide Tonduti<sup>1</sup>

<sup>1</sup> C.O.A.L.A. (Centro per la Diagnosi e Cura delle Leucodistrofie), Unità di Neurologia Pediatrica, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, Italia, <sup>2</sup> Unità di Foniatria e Logopedia, Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, Itali, <sup>3</sup> Unità Malattie Metaboliche, Dipartimento di Pediatria, Dipartimento di Scienze della Salute, Università di Milano, Ospedale Pediatrico V. Buzzi, Milano, Italia, <sup>4</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini V. Buzzi, Milano, Italia

**Introduzione**

Le leucodistrofie sono un gruppo eterogeneo di rare malattie neurodegenerative genetiche. La disfagia ne è un sintomo comune e la prevenzione delle complicanze è uno degli obiettivi della gestione di questi pazienti. Tuttavia, è scarsamente investigata in letteratura e limitata a descrizione di casi clinici. Lo scopo dello studio è stato caratterizzare la funzione deglutitoria nei bambini con leucodistrofie.

**Materiali e Metodi**

I dati relativi ad età, sesso, diagnosi e gravità di malattia, via di alimentazione e tipo di dieta, presenza di scialorrea e segni clinici di disfagia o feeding disorders sono stati estratti retrospettivamente dalle cartelle cliniche di tutti i bambini affetti da leucodistrofia inviati a valutazione deglutologica. Quando indicato è stata eseguita una valutazione endoscopica con fibroscopia e uno studio videofluoroscopico della deglutizione.

**Risultati**

Sono stati inclusi nell'analisi 25 bambini con 13 diversi tipi di leucodistrofie. La maggior parte del campione presentava un grave deficit neurologico al momento della valutazione della deglutizione. 16 pazienti avevano un sospetto di disfagia, 2 pazienti un disturbo dell'alimentazione e 1 paziente entrambi. 6 pazienti avevano storia di polmonite ab ingestis. I segni rilevati comprendevano: preparazione orale prolungata/difficile, tosse, durata del pasto prolungata, comportamenti suggestivi di disturbo dell'alimentazione, scialorrea. Venti pazienti sono stati sottoposti ad almeno una valutazione strumentale e la penetrazione/aspirazione è stata rilevata in 4 pazienti, lo scolo predeglutitorio in 3 pazienti, i residui faringei in 2 pazienti. I meccanismi della disfagia erano scarso controllo orale, fase orale prolungata e fase faringea prolungata.

**Conclusioni**

Segni suggestivi di disfagia sono comuni tra i bambini con leucodistrofie, principalmente in quelli con compromissione motoria più severa. In particolare, la disfagia sembra essere caratterizzata soprattutto da alterazioni nella fase orale, mentre la fase faringea è solitamente preservata, anche se dovrebbe essere comunque attentamente monitorata a causa dell'alta prevalenza di complicanze respiratorie. La necessità di restrizioni dietetiche è spesso correlata alla gravità neurologica, sebbene una dieta completamente orale sia spesso possibile.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

# ID: 79 - Diagnosi Tempestiva delle Forme a Esordio Precoce di Leucodistrofia Metacromatica: Uno Studio di Consenso Italiano

**Francesca Fumagalli**<sup>1</sup>, Anna Ardisson<sup>2</sup>, Cristina Baldoli<sup>3</sup>, Valeria Calbi<sup>4</sup>, Giancarlo la Marca<sup>5</sup>, Maria Grazia Natali Sora<sup>6</sup>, Giancarlo Parenti<sup>7</sup>, Andrea Pession<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica (SR-Tiget), Unità di Immunoematologia Pediatrica e Programma di Trapianto di Midollo Osseo, Unità di Neurologia e Servizio di Neurofisiologia, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, <sup>2</sup> Istituto Neurologico Besta, Milan, Italy, <sup>3</sup> Unità di Neuroradiologia, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, <sup>4</sup> Istituto San Raffaele Telethon per la Terapia Genica (SR-Tiget), Unità di Immunoematologia Pediatrica e Programma di Trapianto di Midollo Osseo, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, <sup>5</sup> Screening Neonatale, Laboratorio di Biochimica Clinica e Farmacia Clinica, Ospedale Pediatrico Meyer IRCCS, Firenze, Italia; Dipartimento di Scienze Biomediche Sperimentali e Cliniche, Università di Firenze, Italia, <sup>6</sup> Unità di Neurologia e Servizio di Neurofisiologia, IRCCS Istituto Scientifico San Raffaele, Milano, Italia, <sup>7</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università Federico II, Napoli, Italia, <sup>8</sup> Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche, Alma Mater Studiorum, Università di Bologna, Bologna, Italia

**Introduzione.** La leucodistrofia metacromatica (MLD) è una malattia neurodegenerativa ereditaria, causata da mutazioni nel gene ARSA, che determinano una demielinizzazione progressiva del sistema nervoso centrale e periferico. Le forme a esordio precoce (<7 anni) si associano a un più rapido declino motorio e cognitivo e a una ridotta sopravvivenza. Poiché i trattamenti disponibili, come la terapia genica, sono efficaci solo se somministrati in una fase precoce, preferibilmente prima della comparsa dei sintomi, una diagnosi tempestiva è fondamentale. Tuttavia, la MLD può inizialmente somigliare ad altre condizioni neurodegenerative e neurometaboliche: solo un approccio multidisciplinare, comprendente valutazione clinica, risonanza magnetica e test neurofisiologici, biochimici e genetici, consente una diagnosi corretta. Inoltre, lo screening neonatale (NBS) favorirebbe l’identificazione dei pazienti pre-sintomatici. Alla luce di queste criticità, è stato condotto uno studio di consenso in Italia, finalizzato allo sviluppo di un protocollo diagnostico integrato. **Metodi.** È stata utilizzata la metodologia di consenso della Nominal Group Technique (NGT). Otto esperti di 5 centri di riferimento italiani hanno contribuito all’elaborazione e alla votazione (scala Likert a 5 punti) di una serie di statement basati sulle evidenze e sull’esperienza clinica, relativi a 6 aree: A) Sospetto clinico e valutazioni iniziali; B) Segni e sintomi suggestivi della presenza di MLD; C) Approccio diagnostico parallelo; D) Esami chiave per la diagnosi di MLD; E) Screening familiare e neonatale; F) Identificazione dei centri di riferimento. Il consenso è stato definito come un accordo ≥ 66,6% per i punteggi 45. **Risultati.** Su 79 statement, 75 hanno raggiunto il consenso (71,4-100% di accordo); 4 hanno ottenuto un accordo del 50%. I livelli più alti di consenso hanno riguardato i sintomi suggestivi di MLD, gli esami strumentali raccomandati in caso di sospetto, l’importanza dei test biochimici e genetici per la conferma diagnostica, lo screening famigliare, il ruolo del NBS e dei centri di riferimento. **Conclusioni.** L’alto grado di consenso ottenuto evidenzia un approccio condiviso alla diagnosi di MLD in Italia, finalizzato a garantire diagnosi e trattamento precoci. Sono emerse alcune priorità operative, quali l’adozione di un iter diagnostico uniforme, l’implementazione di un programma di NBS in Italia, la creazione di una rete di centri di riferimento e di laboratori qualificati.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

# ID: 82 - Esperienza real-life con Velmanase alfa in due pazienti adulti affetti da Alfa-Mannosidosi tipo 2: diciotto mesi in terapia

**Paolo Manzi**<sup>1</sup>, Nadia Altavilla<sup>1</sup>, Anita Vergatti<sup>1</sup>, Domenico Rendina<sup>1</sup>, Michelina Sibilio<sup>2</sup>, Antonio Barbato<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Clinica e Chirurgia, AOU Policlinico "Federico II", Napoli, <sup>2</sup> Unità di Malattie Metaboliche, Ospedale Pediatrico Santobono Pausilipon, Napoli

## Introduzione/Background:

L’Alfa-Mannosidosi (AM) è una malattia da accumulo lisosomiale ereditaria ultra-rara (prevalenza 1:500000) causata da mutazioni nel gene MAN2B1, che determinano un deficit dell’enzima  $\alpha$ -mannosidasi e il conseguente accumulo intracellulare di oligosaccaridi. La AM tipo 2 (forma moderata) è la più frequente ed è caratterizzata da esordio infantile, ipoacusia neurosensoriale, disostosi multipla, miopatia, infezioni ricorrenti e deterioramento cognitivo variabile. Velmanase alfa (VA) è la prima terapia enzimatica sostitutiva (ERT) approvata per le manifestazioni non neurologiche dell’AM da lieve a moderata.

**Metodi:**

Sono stati osservati due pazienti adulti (una donna di 31 anni, un uomo di 24 anni) affetti da AM tipo 2, seguiti presso la nostra Unità Operativa. Entrambi presentavano fenotipo multisistemico e compromissione funzionale moderata. Dal mese di Ottobre del 2023 è stato avviato un trattamento settimanale con VA alla dose di 1 mg/kg monitorando i principali endpoint clinico-laboratoristici a 3, 6 e 12 e 18 mesi: 6-Minute Walk Test (6MWT), 3-Minute Stair Climb Test (3MSCT), scala di Borg per l'affaticamento, audiometria tonale, livelli sierici di immunoglobuline (IgG) e oligosaccaridi urinari.

**Risultati:**

Dopo 18 mesi, entrambi i pazienti hanno mostrato miglioramenti funzionali: aumento della distanza percorsa al 6MWT (15-20%), incremento nel numero di gradini al 3MSCT (fino al 100%), e riduzione dell'affaticamento percepito (-15-30%). I livelli sierici di IgG sono aumentati del 35% e del 23% rispettivamente. Gli oligosaccaridi urinari si sono ridotti già al terzo mese, mantenendosi stabili nel tempo. Non si sono verificate reazioni avverse né fenomeni di immunogenicità. Nella paziente donna si è assistito a un lievissimo miglioramento della ipoacusia, mentre nessun beneficio clinico è stato rilevato riguardo le funzioni cognitive.

**Discussione/Conclusioni:**

Il trattamento con Velmanase alfa nei due pazienti adulti affetti da AM tipo 2 ha mostrato un buon profilo di tollerabilità e segnali di efficacia clinico-funzionale, in linea con i pochi casi riportati in letteratura. Il miglioramento oggettivo delle prestazioni motorie si è associato a un incremento soggettivo della qualità di vita (QoL) riferita. Questi dati, seppur su un campione limitato, contribuiscono ad ampliare le evidenze real-world sull'uso della ERT anche in età adulta, sottolineando l'importanza di una diagnosi precoce e di un approccio terapeutico personalizzato.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 84 - Indagine congiunta SIMMESN\_SIEDP sulla gestione delle ipoglicemie sul territorio italiano**

Arianna Maiorana<sup>1</sup>, Alessandro Rossi<sup>2</sup>, Francesco Tagliaferri<sup>3</sup>, Maurizio Delvecchio<sup>4</sup>, Enza Mozzillo<sup>2</sup>, Roberta Pajno<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Unità Operativa Complessa di Malattie Metaboliche ed Epatologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, IRCCS, Roma, <sup>2</sup> Dipartimento Scienze Mediche Traslazionali, Sezione di Pediatria, Università Federico II, Napoli, <sup>3</sup> Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro Regionale di Riferimento per lo Screening Neonatale Esteso, Milano, <sup>4</sup> Dipartimento di Scienze Cliniche Applicate e Biotecnologiche, Università degli Studi dell'Aquila, <sup>5</sup> Unità di Pediatria, IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano

**Background** L'ipoglicemia è un'importante causa di danno neurologico. L'obiettivo dello studio è descrivere la gestione dell'ipoglicemia sul territorio italiano in quanto non appare ottimale.

**Metodi** Questionario elettronico diffuso ai soci SIMMESN e SIEDP tra maggio e giugno 2025.

**Risultati** 112 partecipanti (104 pediatri) da 18 Regioni, 40 soci SIMMESN (9.7% dei soci totali) e 79 SIEDP (9.2%). Il 71.7% dei partecipanti lavora in ospedali di III livello/universitari/IRCCS. I pazienti afferiscono da PS (94.7%), pediatria di base (78.9%), neonatologia (61.4%). Iperinsulinismo e ipoglicemia chetotica idiopatica sono le patologie più rappresentate. L'afferenza è prevalente per inquadramento diagnostico alla SIEDP (42.7% vs SIMMESN 15.1%), per inquadramento e gestione alla SIMMESN (84.5% vs SIEDP 48.6%, p=0.002). Il 54% dei soci SIMMESN segue adulti (vs SIEDP 8.3%, p<0.001), verosimilmente per la preponderanza di malattie metaboliche (90.1% vs SIEDP 52.3%, p<0.001), con difficoltà nella transizione. Sono state riscontrate minime differenze nella scelta del cut-off diagnostico per ipoglicemia: 60 mg/dl per SIMMESN (54.5%), 50 mg/dl per SIEDP (37.5%)(p=0.003). Nel lattante il valore dell'ipoglicemia viene considerato più importante ai fini diagnostici rispetto alla triade di Whipple (46.5% vs 30.7%). La maggioranza dei centri (SIMMESN 97% vs SIEDP 72.2%, p=0.003) raccolgono il critical sample per la diagnostica in house, ormonale (93.9%) e metabolica (59.6%), e l'analisi genetica mediante NGS (SIMMESN 84.8% vs SIEDP 34.7%, p<0.001). Chetoni plasmatici/urinari, lattato, ammonio sono i metaboliti più dosati. Solo nella metà di casi vengono effettuati test del digiuno e test al glucagone. Nel monitoraggio clinico viene largamente utilizzato l'holter glicemico. In assenza di diagnosi eziologica l'ipoglicemia viene corretta soprattutto con bustine di zucchero al di fuori dell'ambiente ospedaliero, dove il bolo di SG 200 mg/kg seguito da infusione di mantenimento è prevalente. In una piccola percentuale è ancora utilizzato il corticosteroide in caso di ipoglicemia ricorrente, la cui prevenzione viene attuata con dieta iperglucidica supplementata con maltodestrine e/o amido di mais.

**Conclusioni** La gestione dell’ipoglicemia è per lo più in linea con le indicazioni internazionali, con alcune differenze da parte delle due società. Il GdL intersocietario potrà agevolare una maggiore omogeneità di gestione diagnostico/terapeutica nel rispetto delle competenze.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 85 - Dieci anni di transizione clinica nelle malattie metaboliche ereditarie: l’esperienza del centro di Bologna**

**Egidio Candela**<sup>1</sup>, Lucia Brodosi<sup>2</sup>, Dorina Mita<sup>2</sup>, Maria Giulia Regazzi<sup>2</sup>, Federico Baronio<sup>1</sup>, Rita Ortolano<sup>1</sup>, Chiara Capitani<sup>3</sup>, Alessandro Zuccotti<sup>4</sup>, Giacomo Biasucci<sup>5</sup>, Marcello Lanari<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programma di malattie endocrino-metaboliche, Unità di Pediatria, IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, 40138 Bologna, Italia, <sup>2</sup> U.O. Nutrizione Clinica e Metabolismo,IRCCS Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, 40132 Bologna, <sup>3</sup> Facoltà di Medicina, Alma Mater Studiorum, Bologna, <sup>4</sup> Scuola di Specialità in Pediatria, Alma Mater Studiorum, Bologna, <sup>5</sup> Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Parma

**Introduzione / Background:** Le malattie metaboliche ereditarie (MME) sono condizioni croniche complesse, causate da errori congeniti del metabolismo. Molte di esse sono oggetto di screening neonatale e richiedono una presa in carico precoce, specialistica e multidisciplinare, continuativa per tutta la vita. Il passaggio dall’età pediatrica a quella adulta rappresenta una fase critica, spesso associata a riduzione dell’aderenza al follow-up e terapia. Il Policlinico S. Orsola ha avviato nel 2014 un percorso dedicato alla transizione, formalizzato nel 2017 con approvazione di PDTA aziendale.

**Metodi :** Studio osservazionale retrospettivo su 68 pazienti con diagnosi di PKU (n=41), HPA benigna (n=8), galattosemia (n=6), GSD (n=8) e CBSD (n=5), che hanno completato la transizione presso il Policlinico entro ottobre 2024. Sono stati raccolti dati clinici, antropometrici e biochimici relativi a un intervallo di 4 anni (due pre e due post visita di transizione, VDT). Il protocollo di ricerca è stato approvato dal CE nel 2021 nell’ambito del progetto RarEMIX.

**Risultati :** Nei pazienti con PKU si è osservata una riduzione significativa dei livelli medi di fenilalanina tra T-24 e T24 mesi (597,7 vs 509,2 µmol/L; p<0,05) e tra i valori aggregati pre/post VDT (543,5 vs 497,0 µmol/L). Il numero medio di misurazioni DBS si è mantenuto stabile nel post-VDT, suggerendo buona aderenza al follow-up. I pazienti con HPA benigna e galattosemia hanno mantenuto un quadro clinico stabile. In alcuni soggetti con CBSD (2/5) e GSD (4/8), non diagnosticati tramite screening neonatale, si è documentata una progressione della sintomatologia clinica dopo la VDT. Nei pazienti con CBSD, i livelli medi di omocisteina si sono ridotti da 92,9 a 72,7 µmol/L (p>0,05).

**Discussione / Conclusioni :** A dieci anni dall’attivazione del percorso, l’esperienza del Policlinico S. Orsola evidenzia come una transizione strutturata, coordinata e personalizzata favorisca il mantenimento o il miglioramento del controllo metabolico nelle MME, rinnovando l’alleanza terapeutica fra centro clinico e paziente. Nei pazienti con CBSD e GSD si è osservata una progressione clinica, verosimilmente correlata alla diagnosi tardiva e alla bassa aderenza dietoterapica. Il miglioramento progressivo del controllo metabolico nei pazienti con PKU suggerisce come un follow-up più esteso possa rilevare benefici più marcati nel medio-lungo periodo.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 86 - Difetti della β-ossidazione degli acidi grassi in età adulta: caratteristiche cliniche, biochimiche e genetiche di una coorte monocentrica.**

**Edoardo Biancalana**<sup>1</sup>, Giulia Bruni<sup>2</sup>, Noemi Duratti<sup>3</sup>, Lorenzo Ferri<sup>4</sup>, Stefano Fumagalli<sup>1</sup>, Silvia Funghini<sup>5</sup>, Sabrina Malvagia<sup>5</sup>, Amelia Morrone<sup>4</sup>, Anita Nannoni<sup>3</sup>, Debora Paoli<sup>3</sup>, Cinzia Pistolesi<sup>3</sup>, Francesca Pochiero<sup>6</sup>, Elena Procopio<sup>6</sup>, Maria Letizia Urban<sup>1</sup>, Maria Alice Donati<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università di Firenze; SOD Medicina Interna e Specialistica, AOU Careggi, Firenze, <sup>2</sup> UP Dietetica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>3</sup> Linea Dietetica e Nutrizione, Dipartimento Professioni Tecnico Sanitarie e Riabilitazione, AOU Careggi, Firenze, <sup>4</sup> Laboratorio Genetica Molecolare delle Malattie Neurometaboliche, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>5</sup> Laboratorio Diagnostica delle Malattie del Sistema Nervoso e del Metabolismo, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>6</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, AOU Meyer IRCCS, Firenze

**Introduzione:** I difetti della β-ossidazione mitocondriale degli acidi grassi (FAOD) presentano un ampio spettro fenotipico, con possibile esordio in età adulta. Le manifestazioni cliniche includono rabdomiolisi, miopatia cronica,

acidosi metabolica e ipoglicemia ipochetotica. Obiettivo dello studio è descrivere le caratteristiche cliniche, biochimiche e genetiche di una coorte di adulti con FAOD seguiti presso l’Ambulatorio Malattie Metaboliche dell’adulto dell’AOU Careggi, nell’ambito del progetto di transizione IRCCS Meyer–Careggi. Metodi: Analisi retrospettiva dei dati clinici, laboratoristici e genetici di 9 pazienti con diagnosi confermata di FAOD. Risultati: Sono stati inclusi 9 pazienti (6 maschi, 3 femmine; età media alla diagnosi:  $33 \pm 18$  anni), con 4 differenti FAOD: VLCAD (n=3), CPTII (n=2), MAD (n=2), LCHAD (n=2). Sei diagnosi sono avvenute in età adulta (età media  $37 \pm 17$  anni), sebbene i sintomi muscolari fossero presenti fin dall’infanzia/adolescenza. La rabdomiolisi acuta, scatenata da digiuno o esercizio intenso, ha rappresentato la manifestazione iniziale in tutti i pazienti con VLCAD e CPTII. I due pazienti con MAD sono stati diagnosticati a 10 e 47 anni in contesto di scompenso metabolico. Sette pazienti presentavano eterozigosi composta; sono state identificate due nuove varianti patogenetiche: c.354C>A (p.Asn118Lys) in ETFDH e c.98delA (p.Gln33Argfs\*40) in CPT2. Un paziente LCHAD era omozigote per la variante G1528C; nell’altro, la diagnosi è stata confermata su fibroblasti. Il trattamento ha previsto dieta ipolipidica (9–35% delle calorie), pasti frequenti (ogni 4–6 h,  $\leq 12$  h la notte), integrazione con MCT e maltodestrina pre-esercizio. I pazienti con MAD hanno ricevuto anche riboflavina e carnitina, se presente deficit. Al follow-up, 5 pazienti erano paucisintomatici sotto sforzo e 4 asintomatici. Due episodi di rabdomiolisi si sono verificati nell’ultimo anno per scarsa aderenza dietetica. Il CPK all’ultima visita è risultato 92-531 U/L (nella norma in 7 pazienti), senza differenze significative tra i sottotipi. Tutti i profili delle acilcarnitine plasmatiche risultavano alterati, con pattern specifici per ciascun difetto. Conclusioni: I FAOD possono esordire in età adulta con rabdomiolisi o sintomi muscolari cronici. La diagnosi precoce e una gestione multidisciplinare sono essenziali per prevenire complicanze. Il trattamento dietetico è solitamente efficace; nei MAD si osserva buona risposta a riboflavina e carnitina

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 93 - Le vescicole extracellulari come fonte di nuovi potenziali marcatori di resistenza all’insulina e “doppio diabete” nella caratterizzazione di pazienti pediatrici affetti da diabete di tipo I** (L’abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Maria Concetta Cufaro**<sup>1</sup>, Ilaria Cicalini<sup>1</sup>, Paola Lanuti<sup>1</sup>, Paola Guidone<sup>2</sup>, Maria Alessandra Saltarelli<sup>2</sup>, Damiana Pieragostino<sup>1</sup>, Piero Del Boccio<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>, Stefano Tumini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Università degli Studi “G. d’Annunzio” di Chieti-Pescara, Chieti, Italia, <sup>2</sup> Centro regionale di Diabetologia Pediatrica, Ospedale di Chieti, Chieti, Italia

Introduzione: Nonostante la resistenza all’insulina (IR) sia tipica del diabete di tipo 2 (T2DM), essa è stata osservata anche associata all’obesità infantile in individui affetti da diabete di tipo 1 (T1DM). L’IR viene comunemente calcolata utilizzando una semplice formula matematica, l’eGDR (estimated Glucose Disposal Rate). Questo studio ha l’obiettivo di fornire una più chiara “impronta” metabolica in bambini affetti da “doppio diabete”, concentrandosi sul cross-talk molecolare mediato dalle vescicole extracellulari (EVs) al fine di individuare nuovi potenziali biomarcatori metabolici di IR. Metodi: I pazienti pediatrici sono stati classificati in base al valore di eGDR in: insulino-resistenti (T1DM, eGDR<8 mg/Kg/min, n=29) e non insulino-resistenti (T1DM-, eGDR>8 mg/Kg/min, n=35). Il sangue venoso collezionato da essi e da 30 controlli sani è stato utilizzato per ricavare spot di sangue secco per l’analisi di AAs e ACs tramite FIA-MS/MS e per l’isolamento di 2 milioni di EVs attraverso un metodo brevettato in citofluorimetria a flusso. Le EVs sono state sottoposte ad analisi di proteomica shotgun attraverso nanoLC-MS/MS. Metaboanalyst 6.0 è stato usato per processare i dati metabolici con l’algoritmo Random Forest. Risultati: Dall’analisi di proteomica è emerso come le EVs isolate dai pazienti T1DM siano in grado di veicolare proteine responsabili della soppressione del metabolismo degli acidi grassi attraverso l’inibizione di STAT3 e correlate a un possibile danno epatico. Tra di esse spicca la proteina legante gli acidi grassi 5, i cui polimorfismi genetici sono associati a T2DM. Il dosaggio delle ACs su spot ha corroborato tali dati dimostrando un significativo aumento di oleoilcarnitina (C18:1), linoleoilcarnitina (C18:2) e miristoilcarnitina (C14) in T1DM. A tal proposito la combinazione dei dati clinici e metabolici ha portato a individuare un modello statistico con un errore out-of-bag dello 0,115%, dimostrando che la palmitoleoilcarnitina (C16:1) e la C18:1 sono i metaboliti che meglio distinguono i bambini con T1DM da quelli con T1DM-. La C16:1, infatti, correla significativamente con l’eGDR (p=0,0023). Conclusioni: L’approccio “omico” combinato ci ha permesso di individuare una nuova “fotografia” metabolica in un contesto complesso che coinvolge le complicanze del diabete legate all’obesità e all’IR in una popolazione pediatrica non ancora del tutto caratterizzata, individuando nelle EVs delle navette ben organizzate e funzion

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 104 - Iperglicinemia Non Chetotica (NKH) attenuata da varianti del gene GLDC: presentazione clinica, approccio diagnostico e management terapeutico.**

**Martina Randazzo**<sup>1</sup>, Luisa La Spina<sup>2</sup>, Lara Cirnigliaro<sup>1</sup>, Maria Anna Messina<sup>2</sup>, Concetta Meli<sup>2</sup>, Maurizio Elia<sup>3</sup>, Rita Barone<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UO di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Catania - Policlinico G. Rodolico-San Marco, Via Santa Sofia, 78, 95123, Catania, Italia, <sup>2</sup> Centro di Riferimento Regionale per la Cura e il Controllo delle Malattie Metaboliche Congenite dell'Età Pediatrica, Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico "Rodolico-San Marco", Via Santa Sofia, 78, 95123, Catania, Italia, <sup>3</sup> Unità di Neurologia e Neurofisiopatologia Clinica, Istituto di Ricerca Oasi - IRCCS, Troina, Italia

**Introduzione/background:** La NKH è un'encefalopatia epilettica metabolica ad eredità autosomica recessiva causata da deficit nel complesso della glicina decarbossilasi, associato a mutazioni di GLDC. È caratterizzata da aumento dei livelli ematici e liquorali di glicina. La forma attenuata presenta un ampio spettro fenotipico con crisi epilettiche, ipotonia e ritardo dello sviluppo psicomotorio (Van Hove, 2002). Il trattamento principale consiste in strategie di riduzione della glicina (benzoato o dieta chetogenica) (Van Hove, 2024; Shelkowitz, 2022). Presentiamo G.M. affetto da NKH attenuata da mutazione di GLDC (c.733G>A; c.1025G>C; c.2570-3C>G). Metodi: G.M. presentava ipotonia ed è stato sottoposto a EEG seriati con riscontro a 3m di attività rallentata e disorganizzata associata a crisi toniche e cluster di spasmi in flessione. L'aminoacidogramma plasmatico e liquorale a 3m ha riscontrato elevati livelli di glicina (rapporto CSF/plasma = 0,130, v.n. < 0.04). La RMN encefalo a 9m ha mostrato corpo calloso ipoplasico e aspetto dismorfico dei ventricoli sovratentoriali. Ha assunto dai 3m Vigabatrin a 30 mg/kg/die, Sodio Benzoato a 250 mg/kg/die e Destrometorfano a 5.5 mg/kg/die con scarso beneficio. Risultati: In relazione alla persistenza delle crisi, a 12m è stato interrotto il Vigabatrin ed è stato adottato un protocollo terapeutico (Van Hove, 2024) con sodio benzoato a 350 mg/kg/die e monitoraggio dei livelli di glicina pre e post aumento della terapia. I valori plasmatici di glicina si sono ridotti da 792 a <300 µmol/L. A 14 m controllo delle crisi, normalizzazione del tracciato EEG, riduzione dell'ipotonia e incremento dell'interazione con l'ambiente. **Discussione/Conclusioni:** La gestione della NKH attenuata richiede bilancio tra monitoraggio metabolico, controllo delle crisi e follow-up neuroevolutivo. Il trattamento personalizzato con Benzoato di Sodio e Destrometorfano può migliorare il decorso clinico; sospendere terapie neurotossiche come il vigabatrin è cruciale (Van Hove, 2024). La dieta chetogenica è un'opzione nei casi non controllati farmacologicamente (Shelkowitz, 2022).

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 110 - Monitoraggio glicemico continuo e valutazione psicologica in pazienti adulti con Malattie Metaboliche Ereditarie a rischio di ipoglicemia**

**Giorgia Gugelmo**<sup>1</sup>, Sara Pivetta<sup>1</sup>, Sara Bianconi<sup>2</sup>, Livia Lenzini<sup>3</sup>, Simone Messerotti Benvenuti<sup>4</sup>, Federico Boscari<sup>1</sup>, Gian Paolo Fadini<sup>1</sup>, Nicola Vitturi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie del Metabolismo, Dipartimento di Medicina, Azienda Ospedale Università di Padova, Università di Padova, Italia, <sup>2</sup> UOC Psicologia Ospedaliera, Azienda Ospedale Università di Padova, Italia, <sup>3</sup> Dipartimento di Medicina, Azienda Ospedale Università di Padova, Università di Padova, Italia, <sup>4</sup> Dipartimento di Psicologia Generale, Università di Padova, Italia; Padova Neuroscience Center (PNC), Università di Padova, Italia

**Introduzione:** Le glicogenosi (GSD) e l'iperinsulinismo congenito (CH) sono malattie metaboliche ereditarie (MME) che predispongono all'ipoglicemia, potenzialmente influenzando la funzione cognitiva e il benessere psicologico. Tali aspetti sono ancora poco studiati, soprattutto in relazione al monitoraggio continuo della glicemia (CGM), che consente una valutazione dettagliata dell'andamento glicemico.

**Metodi:** È stato condotto uno studio trasversale presso l'UOC Malattie del Metabolismo dell'Azienda Ospedale Università di Padova. Sono stati analizzati dati del CGM (FreestyleLibre2) su 24h e in fascia notturna (00.00–07.00), eseguita una valutazione neurocognitiva e somministrati questionari relativi ad ansia, depressione, qualità di vita e del sonno e alla percezione dell'ipoglicemia.

**Risultati:** Sono stati arruolati 11 adulti (10 GSD, 1 CH; età 35,6±8,8 anni). Dal CGM sono emersi TBR1 notte (<70 mg/dL)=9,3±17,4%, TBR2 notte (<54 mg/dL)=0,9±1,7%, TAR 24h (>140 mg/dL)=9,9±12,6%, glicemia media 24h=103,4±22,6 mg/dL. Le funzioni cognitive erano nei limiti (MoCA Punteggio equivalente=3,55±0,7/4), mentre quelle esecutive erano lievemente ridotte (FAB punteggio equivalente=2,09±1,3/4), con prestazioni migliori associate a TAR24h più elevati (r=0.709, p=0,02). Sono stati rilevati scarsa qualità del sonno (PSQI: 8,09±3,8), qualità di vita

(SF12: PCS=45,6±7,8; MCS=43,4±12,8) sotto la media italiana, sintomi ansioso-depressivi lievi. Maggiore preoccupazione per l'ipoglicemia (HFS-W=16,4±12,4) era associata di notte a maggiori TBR1 (r=0.804, p<0.01) e TBR2 (r=0.736, p<0.01); strategie comportamentali più disfunzionali (HFS-B=8,0±3,5) erano associate a glicemia media più bassa (r=-0.826, p<0.01) e minor TAR 24h (r=-0.857, p<0.01). Una peggiore consapevolezza dell'ipoglicemia (CHAQ=2,8±1,3) era associata a TAR24h più alti (r=0,740, p<0,01).

**Conclusioni:** La funzione cognitiva globale risulta conservata, sebbene con una lieve compromissione delle funzioni esecutive, sintomi ansioso-depressivi e scarsa qualità del sonno. Maggiore stabilità glicemica può contribuire a sostenere le funzioni frontali esecutive. L'ipoglicemia notturna impatta negativamente nella preoccupazione, e glicemie più basse si sono associate ad uso maggiore di strategie comportamentali alterate. Una minore consapevolezza dell'ipoglicemia, associata a TAR24h più alti, potrebbe riflettere meccanismi compensatori disfunzionali. Tali risultati supportano l'utilità di un approccio integrato tra CGM e valutazione psicologica in adulti con MME a rischio di ipoglicemia.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 114 - Caratterizzazione metabolomica e proteomica su campione di sangue essiccato per far luce sul deficit di sfingomielinasi acida e sugli effetti della terapia enzimatica sostitutiva** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

Silvia Valentinuzzi<sup>1</sup>, Giorgia Spalluto<sup>1</sup>, Alberto Frisco<sup>1</sup>, Maria Concetta Cufaro<sup>1</sup>, Maria Lucia Tommolini<sup>1</sup>, Ilaria Cicalini<sup>1</sup>, Beatrice Dufrusine<sup>1</sup>, Daniela Trotta<sup>2</sup>, Piero Del Boccio<sup>1</sup>, Damiana Pieragostino<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>, Maurizio Arico<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Center for Advanced Studies and Technology (CAST), UdA Chieti, <sup>2</sup> U.O.C. Pediatria di Pescara

**Background.** Il deficit di sfingomielinasi acida (ASMD) è una malattia da accumulo lisosomiale causata da mutazioni nel gene *SMPD1* con accumulo di sfingomielina nei tessuti reticoloendoteliali. L'ampio spettro di presentazioni cliniche guida la classificazione in forme neuroviscerali e non neuropatiche, ciascuna con fenotipi e prognosi differenti. La terapia enzimatica sostitutiva (ERT) è stata recentemente approvata per il trattamento delle manifestazioni non neuropatiche, benché l'aderenza alla terapia sia spesso compromessa dalla necessità di infusioni endovenose quindicinali per tutta la vita. Alcune lisosfingomieline (LisoSM) sono usate come biomarcatori, ma resta incerto se i loro livelli siano predittivi del fenotipo nei pazienti pre-sintomatici. L'applicazione della spettrometria di massa (MS) – come strumento per caratterizzare il profilo fenotipico determinato dal background genetico – a campioni facilmente accessibili, come lo spot di sangue secco (DBS), può contribuire alla comprensione dei meccanismi patogenetici dell'ASMD, alla definizione degli effetti della ERT e all'identificazione di nuovi biomarcatori per la diagnosi, la prognosi e il monitoraggio della risposta al trattamento. **Metodi.** Campioni DBS sono stati raccolti da una paziente di 11 anni affetta da ASMD cronico viscerale, che al momento della diagnosi (T0) presentava interstiziopatia polmonare, ipertransaminasemia e ritardo di crescita e ha iniziato la ERT subito dopo. I campioni al T0 e alla dose di mantenimento sono stati caratterizzati tramite metabolomica e proteomica usando una piattaforma MS ad alta risoluzione. L'analisi funzionale dei dati omici è stata eseguita con il software Ingenuity Pathway Analysis. **Risultati.** La metabolomica ha quantificato oltre 1000 composti, confermando le LisoSM come biomarcatori, mentre alcuni ossisteroli sono risultati differenzialmente espressi con trend che si sono invertiti a seguito della ERT. L'integrazione dei dati metabolomici con le centinaia di proteine quantificate mediante proteomica ha consentito di identificare la disomeostasi dello zinco come possibile meccanismo patogenetico dell'ASMD ed alcuni effetti indotti dalla ERT, come l'inibizione dell'infiammazione mediata dai macrofagi. **Discussione.** L'applicazione della MS su DBS in pazienti con ASMD trattati consente di identificare trend molecolari modulati dalla terapia e potenziali biomarcatori.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 115 - Una piattaforma analitica innovativa per decodificare nuove varianti di IDUA di significato incerto identificate dallo screening neonatale per la mucopolisaccaridosi di tipo 1**

Silvia Valentinuzzi<sup>1</sup>, Marianna Viele<sup>1</sup>, Fabio Di Ferdinando<sup>1</sup>, Maria Concetta Cufaro<sup>1</sup>, Maria Lucia Tommolini<sup>1</sup>, Ilaria Cicalini<sup>1</sup>, Alberto Frisco<sup>1</sup>, Mirco Zucchelli<sup>1</sup>, Rossella Ferrante<sup>1</sup>, Michele Sallese<sup>1</sup>, Liborio Stuppia<sup>1</sup>, Damiana Pieragostino<sup>1</sup>, Vincenzo De Laurenzi<sup>1</sup>, Claudia Rossi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Center for Advanced Studies and Technology (CAST), UdA Chieti



**Background.** La mucopolisaccaridosi di tipo 1 (MPS-1) risulta dal deficit di iduronidasi (IDUA), che compromette il metabolismo dei glicosaminoglicani, portandone all'accumulo diffuso ed a conseguente disfunzione multiorgano. La MPS-1 è stata inclusa dal 2022 in un progetto pilota del programma di screening neonatale (SN) della regione Abruzzo. La nostra esperienza ha portato all'identificazione di un numero crescente di varianti di significato incerto (VUS), complicando la gestione clinica dei pazienti. Data la loro rarità, le VUS sono poco comprese; è quindi essenziale caratterizzarle e riclassificarle per valutarne l'associazione con la malattia. **Metodi.** Una nuova VUS per il gene *IDUA* è stata identificata mediante sequenziamento dell'esoma, in seguito alla positività di un neonato per MPS-1. Lo SN, eseguito su spot di sangue secco (DBS) tramite analisi a iniezione di flusso con spettrometria di massa tandem (FIA-MS/MS), ha mostrato una ridotta attività enzimatica di IDUA. La mutazione VUS c.1504C>T (A), insieme alla mutazione patogenica c.1598C>G (B) e ai cDNA di IDUA wild-type (WT), sono stati clonati in vettori pCDNA3 per la trasfezione transitoria in cellule COS-7. Le cellule trasfettate sono state raccolte dopo 72h e deposte su carta Guthrie come Dried Cell Spot (DCS). L'attività enzimatica delle proteine ricombinanti è stata misurata su DCS mediante FIA-MS/MS e normalizzata sulla quantità di enzima espresso. I pellet cellulari sono stati sottoposti a indagini di proteomica. Le proteine identificate sono state analizzate mediante il software Ingenuity Pathway Analysis (IPA) per l'analisi funzionale. **Risultati.** Le attività residue di IDUA sono pari al 41,16% e allo 0,96% nelle cellule che esprimono A e B, con 1401 e 1397 proteine quantificate, rispettivamente, di cui 1378 comuni. IPA ha rivelato che le cellule che esprimono le varianti mutate di IDUA condividono alcuni pathway molecolari, come l'autofagia e la necroptosi, ma con uno stato di attivazione coerente con la gravità nota della mutazione. Analogamente, gli effetti a valle indotti da IDUA mutata sono meno gravi in presenza della VUS, come suggerito dal miglioramento della sopravvivenza delle cellule staminali e della vitalità delle cellule neuronali. **Discussione.** Date le principali differenze tra i modelli e il WT, abbiamo dimostrato che la nostra strategia può essere uno strumento utile per generare modelli affidabili in grado di fornire una descrizione degli effetti delle VUS sul fenotipo.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

ID: 120 - DIAGNOSI DIFFERENZIALE NEURORADIOLOGICA NELLE MALATTIE METABOLICHE

Marco Scaglione<sup>1</sup>, Stefano Mariani<sup>1</sup>, Sara Pessano, Francesca Nastasia Perri, Domenico Tortora, Andrea Rossi, Maria Cristina Schiaffino

<sup>1</sup> DINOGMI, Università degli Studi di Genova, Genova, Italia, <sup>2</sup> IRCCS Giannina Gaslini, Clinica Pediatrica ed Endocrinologia, Genova, Italia, <sup>3</sup> IRCCS Giannina Gaslini, Unità di Biostatistica, Genova, Italia, <sup>4</sup> IRCCS Giannina Gaslini, Unità di Neuroradiologia, Genova, Italia

**INTRODUZIONE/BACKGROUND:** la valutazione di un quadro di RM encefalo sospetto, in pazienti con sintomatologia neurologica acuta o cronica, è un ricorrente motivo di richiesta di consulto per un esperto in malattie metaboliche ereditarie (MME). Vista la grande varietà di possibili diagnosi differenziali, lo scopo del nostro lavoro è fornire una migliore caratterizzazione dei quadri RM suggestivi di MME attraverso la revisione dei dati della nostra coorte di pazienti.

**METODI:** abbiamo raccolto i dati di RM encefalo di 26 pazienti con MME (7 difetti del ciclo dell'urea, 12 organico acidurie-aminoacidopatie, 3 difetti di piruvato deidrogenasi, 2 difetti di biotinidasi, un difetto di biogenesi perossisomiale e una malattia dei neurotrasmettitori). Per tutti i pazienti sono stati valutati dati clinici, di laboratorio e la presenza dei principali marcatori neuroradiologici di malattia metabolica.

**RISULTATI:** sul totale delle RM alterate, la presenza di lesioni bilaterali-simmetriche, l'interessamento diffuso della sostanza bianca (sequenze pesate T2/FLAIR), la restrizione del segnale (sequenze DWI) e le alterazioni del pattern spettroscopico sono stati i reperti più frequenti (100%, 88%, 47% e 41%, rispettivamente). Nel gruppo delle aminoacidopatie-organicoacidurie (AA-OA), le stesse lesioni sono state rilevate nell' 87%, 100%, 50% e 37% dei casi rispettivamente. Le lesioni dei gangli della base hanno interessato più frequentemente i globi pallidi (41% globalmente vs 25% nelle AA-OA), mentre i nuclei caudato/putamen sono risultati interessati nel 29% dei casi globalmente (vs 37% nel gruppo AA-OA); un solo paziente ha presentato coinvolgimento del talamo.

**DISCUSSIONE/CONCLUSIONI:** alcuni pattern di neuroimaging, come le lesioni simmetriche della sostanza bianca e dei gangli basali, con associata restrizione della diffusione e risparmio talamico, possono suggerire una MME; tuttavia, questi risultano spesso segni aspecifici. Quando i dati clinici e biochimici risultano non dirimenti, i test genetici sono spesso necessari per il raggiungimento di una diagnosi.

**ID: 136 - Caratterizzazione clinica e biochimica delle varianti del gene GLA associate alla Malattia di Fabry. Dati provenienti da una larga coorte di 469 mila soggetti genotipizzati del database UK Biobank.**

**Carola Maria Gagliardo<sup>1</sup>**, Chiara Scrimali<sup>1</sup>, Federica Brucato<sup>1</sup>, Maria Grazia Fasciana<sup>1</sup>, Paola Pierro<sup>1</sup>, Marina Lanza<sup>1</sup>, Angelo B Cefalu<sup>1</sup>, Antonina Giammanco<sup>2</sup>, Davide Noto<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Health Promotion, Maternal and Child Health, Internal and Specialized Medicine of Excellence "G. D. Alessandro" (PROMISE), University of Palermo., <sup>2</sup> Regional Center for the Prevention Diagnosis and Cure of the Rare Metabolic Diseases (CERMMET), Sicily

La Malattia di Fabry (FD) è una patologia lisosomiale causata da mutazioni nel gene GLA, localizzato sul cromosoma X. I maschi sono emizigoti, mentre la maggior parte delle femmine presenta un mosaico genetico a causa dell’inattivazione casuale del cromosoma X. Sebbene la maggior parte delle mutazioni note sia deleteria per il gene GLA, in alcuni casi varianti genetiche meno rare sono state considerate responsabili di alcune caratteristiche cliniche della FD nei soggetti portatori. Le varianti polimorfiche di GLA (SNP) sono state selezionate dal database della UKBiobank comprendente 469.000 soggetti genotipizzati per il gene GLA. Le varianti patogenetiche (ALL\_P), le varianti di significato incerto (ALL\_U) e quelle con interpretazione conflittuale di patogenicità (ALL\_C) sono state raggruppate, ed alcune varianti: p.Asp313Tyr, p.Ala143Thr, p.Ser126Gly, p.Arg118Cys, p.Asn215Ser sono state valutate singolarmente. Più di 480.000 soggetti genotipizzati senza mutazioni sono stati utilizzati come controlli negli studi di associazione. I fenotipi clinici e biochimici sono stati estratti dallo stesso database e da essi è stato derivato un punteggio fenotipico della FD (FDF score), basato sul punteggio prognostico FASTEX. I portatori di varianti patogenetiche e della variante p.Asn215Ser sono risultati associati al punteggio FDF, mentre tutte le altre varianti non sono risultate associate ad alcuna caratteristica della FD. La stratificazione dei portatori sulla base di un punteggio di rischio cardiovascolare (CV) calcolato — comprendente età, diabete mellito, dislipidemia, ipertensione, fumo e obesità — ha dimostrato che i portatori di varianti non patogenetiche appartenenti al quartile di rischio più elevato (>75° percentile) mostrano caratteristiche tipiche della FD, mentre quelli appartenenti al gruppo a minor rischio (<75° percentile) presentano odds ratio indicativi di un’associazione inversa con le caratteristiche della FD. In conclusione, i dati provenienti da 469.000 soggetti genotipizzati per le varianti di GLA nell’UK Biobank suggeriscono che le varianti patogenetiche sono sempre associate alle caratteristiche della Malattia di Fabry, mentre le varianti di incerto significato e di interpretazione conflittuale acquisiscono un fenotipo Fabry solo in presenza di un elevato carico di rischio cardiovascolare.

**ID: 142 - Sindrome di Brown-Vialetto-Van Laere associata a variante monoallelica di SLC52A3: caso clinico e revisione sistematica della letteratura** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

**Giorgia Segre<sup>1</sup>**, Giulia Ferrera<sup>1</sup>, Stefania Magri<sup>2</sup>, Daniela Di Bella<sup>2</sup>, Francesca Balistreri<sup>2</sup>, Grazia Pia Palladino<sup>3</sup>, Anna Ardissoni<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Unità di Neurologia Pediatrica, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "Carlo Besta", Milano, Italia, <sup>2</sup> Unità di Genetica Medica e Neurogenetica, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico "Carlo Besta", Milano, Italia, <sup>3</sup> Unità di Genetica Medica, Dipartimento di Diagnostica di Laboratorio, Policlinico Riuniti di Foggia, Foggia, Italia

Introduzione: La sindrome di Brown-Vialetto-Van Laere (BVVL) è una rara patologia neurodegenerativa dovuta a mutazioni nei geni SLC52A2 e SLC52A3, codificanti per trasportatori della riboflavina. Il quadro clinico comprende ipoacusia neurosensoriale, paralisi ponto-bulbare progressiva, neuropatia periferica e, nei casi severi, insufficienza respiratoria. Sebbene la trasmissione sia solitamente autosomica recessiva (AR), in letteratura sono riportati 31 casi a trasmissione autosomica dominante (AD), con una sola variante nei geni coinvolti. Metodi: Descrizione di un caso pediatrico di BVVL dovuto a variante eterozigote in SLC52A3; revisione sistematica dei casi AD in letteratura. Risultati: Una ragazza di 18 anni ha presentato dai 15 anni, senza apparenti fattori scatenanti, ipoacusia bilaterale, con progressivo coinvolgimento di altri nervi cranici. Esami strumentali mirati (RM encefalo, EMG/ENG, EEG, potenziali evocati) sono risultati in norma. Il dosaggio delle acilcarnitine plasmatiche è risultato ai limiti. L’analisi chimico fisica del liquor ha evidenziato una lieve iperproteinorachia (49.7 [10–45] mg/dL). Lo studio dei geni associati a BVVL ha identificato una variante eterozigote in SLC52A3 (c.1151G>A), classificata come VUS e presente anche nella madre asintomatica. Avviato trattamento con riboflavina ad alte dosi (fino a 75 mg/kg/die), si è osservato netto e tempestivo miglioramento clinico. La revisione sistematica della letteratura ha identificato 31 casi di BVVL ad ereditarietà AD. Il fenotipo appare

sovrapponibile alle forme AR con responsività clinica alla riboflavina (0,6–40 mg/kg/die). Studi di segregazione hanno identificato in quasi tutti i casi la presenza di un familiare portatore asintomatico; in 15/20 casi era presente un familiare affetto. Conclusioni: Il nostro caso, insieme ai dati di letteratura, conferma la possibilità di trasmissione AD della sindrome BVVL, con penetranza incompleta ed espressività clinica variabile. Il quadro clinico spazia dalla sola ipoacusia fino a una severa compromissione respiratoria. La diagnosi appare complessa: le acilcarnitine plasmatiche, spesso alterate nei casi AR, sono normali in tutti i casi AD disponibili, e l’iperproteinorrachia liquorale può orientare verso una patologia infiammatoria del SNC. I nostri risultati sottolineano l’importanza di una diagnosi precoce e dell’avvio tempestivo del trattamento riboflavina nei casi con forte sospetto clinico, nell’attesa della conferma genetic

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 156 - Il successo dello screening neonatale nonostante la guerra: una collaborazione internazionale per un caso di deficit di purina nucleoside fosforilasi (PNP)**

**Alessandra Bettiol**<sup>1</sup>, Roberta Damiano<sup>2</sup>, Nataliia Mytsyk<sup>3</sup>, Nataliia Samonenko<sup>4</sup>, Gabriella Cericola<sup>5</sup>, Carsten Speckmann<sup>6</sup>, Nataliia Olkhovich<sup>7</sup>, Giancarlo la Marca<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences “Mario Serio”, University of Florence, Florence, Italy, <sup>2</sup> Newborn Screening, Clinical Biochemistry and Clinical Pharmacy Laboratory, Meyer Children’s Hospital IRCCS, Florence, Italy, <sup>3</sup> Department of Diagnostics of Hereditary Patology, Laboratory of Medical Genetics, National Specialized Children’s Hospital "Ohmatdyt", Kyiv, Ukraine , <sup>4</sup> Center of Orphan Diseases and Gene Therapy, National Specialized Children’s Hospital "Ohmatdyt", Kyiv, Ukraine , <sup>5</sup> Institute for Immunodeficiency, Center for Chronic Immunodeficiency, Faculty of Medicine, Medical Center, University of Freiburg, Freiburg, Germany, <sup>6</sup> Childrens Hospital, Division of Pediatric Hematology and Oncology, University Medical Center Freiburg, University of Freiburg, Freiburg, Germany, <sup>7</sup> Laboratory of Medical Genetics, National Specialized Children’s Hospital "Ohmatdyt", Kyiv, Ukraine, <sup>8</sup> Department of Experimental and Clinical Biomedical Sciences “Mario Serio”, University of Florence; Newborn Screening, Clinical Biochemistry and Clinical Pharmacy Laboratory, Meyer Children’s Hospital IRCCS, Florence, Italy

**Introduzione:** Il deficit di purina nucleoside fosforilasi (PNP) è una rara immunodeficienza combinata severa (SCID) su base genetica. La diagnosi precoce è fondamentale per effettuare tempestivamente il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT), l’unico trattamento curativo. Nel 2014, la Toscana ha inserito la PNP-SCID nel programma di screening neonatale esteso (SNE) mediante spettrometria di massa (MS/MS); tuttavia, ad oggi non è stato riscontrato alcun caso positivo su oltre 250.000 test effettuati.

**Metodi:** Si riporta il caso di un bambino, nato in Ucraina durante la guerra, risultato positivo allo screening neonatale (SN) per PNP-SCID e gestito nell’ambito di una collaborazione internazionale tra Ucraina, Germania e Italia.

**Risultati:** In Ucraina, l’SN per SCID è effettuato in PCR real-time su cartoncino di sangue (nDBS), quantificando le copie di TREC/KREC (T-cell receptor and kappa-deleting recombination excision circles). In questo neonato, l’SN effettuato su nDBS prelevato a 2 giorni, ha evidenziato una marcata riduzione delle copie di TREC/KREC. La ripetizione del test è stata ritardata per la difficile comunicazione con la famiglia, ed è stata effettuata su un nuovo DBS (prelevato a 15 giorni), confermando il profilo. Il test genetico (su DBS prelevato a 20 giorni) mediante whole exome sequencing ha confermato la diagnosi, e il bambino è risultato candidabile all’HSCT. Nonostante le difficoltà del conflitto, il sistema sanitario Ucraino sta dimostrando una notevole resilienza nel mantenere programmi preventivi come l’SN, e procedure terapeutiche critiche come l’HSCT. Tuttavia, lo stress emotivo e fisico dei genitori ha spinto la famiglia a cercare assistenza clinica all’estero. L’HSCT da donatore non consanguineo HLA-compatibile è stato eseguito con successo a 6 mesi, presso l’Ospedale Universitario di Friburgo (Germania). Nel contesto di una collaborazione con l’AOU-Meyer IRCCS (Firenze), sono stati quantificati i biomarcatori di PNP-SCID sugli stessi DBS (prelevati a 2, 15 e 20 giorni), secondo i protocolli dello SNE in Toscana. Sono stati eseguiti il test di primo livello in flow injection analysis (FIA) e il test di secondo livello in cromatografia liquida (LC)-MS/MS, confermando la sensibilità diagnostica dei metodi biochimici.

**Conclusioni:** Questo caso evidenzia l’importanza di proseguire i programmi di prevenzione sanitaria, come l’SN, e di instaurare collaborazioni sanitarie internazionali, soprattutto in assetti geo-poli

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 159 - Una causa insolita di ipoglicemia** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

<sup>1</sup> Centro Regionale per lo Screening Neonatale, la Diagnosi e il Trattamento delle Malattie Metaboliche Ereditarie, U.O.C. Pediatria C, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona, Italia, <sup>2</sup> U.O.C. Pediatria C, Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Odontostomatologiche e Materno-Infantili, Università di Verona, Verona, Italia, <sup>3</sup> U.O.C. Genetica, Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino, Università di Padova, Padova, Italia

**INTRODUZIONE:** La sindrome di Barth (BTHS; OMIM #302060) è una rara malattia mitocondriale X-linked, causata da varianti patogenetiche del gene *TAZ*, che codifica per la tafazzina, enzima coinvolto nel metabolismo della cardiolipina. Il fenotipo classico include cardiomiopatia (CMP), miopatia e neutropenia. Altri segni possibili sono: ipotonia, ritardo di crescita, acidosi lattica e aumentata escrezione dell’acido 3-metilglutaconico urinario (3-MGCA).

**METODI/PAZIENTI:** Riportiamo il caso di un bambino con disturbo del linguaggio e ripetuti episodi di ipoglicemia.

**RISULTATI:** A due anni il bambino ha presentato due episodi di ipoglicemia chetotica severa, con perdita di coscienza e acidosi lattica. Un terzo episodio si è verificato a tre anni, in corso di gastroenterite. L’aminoacidogramma plasmatico mostrava un aumento della prolina post-prandiale, dato aspecifico ma descritto in alcuni pazienti con BTHS. È stata introdotta la somministrazione serale di amido di mais crudo e avviato un percorso riabilitativo, con risoluzione delle ipoglicemie e miglioramento neurocognitivo. Prima analisi genetica per pannello ipoglicemie nel 2021 risultata negativa. Ri-analisi genetica nel 2023, a distanza di quattro anni dal primo episodio di ipoglicemia, con riscontro di variante in emizigosi nel gene *TAZ* NM\_000116.5:c.790A>G;p.(Lys264Glu), coinvolgente un residuo conservato con predizione di effetto deleterio sulla proteina. La variante non è presente nel database di popolazione gnomAD ed è classificata come di significato patogenetico incerto (classe 3 ACMG). Il bambino attualmente ha 8 anni, presenta affaticabilità, è affetto da ADHD in trattamento con metilfenidato e frequenta la scuola primaria con insegnante di sostegno. Ad oggi non ha sviluppato segni di CMP né neutropenia. La valutazione neurocognitiva recente descrive un profilo cognitivo complessivamente nella norma, con fragilità nell’ambito delle funzioni esecutive (memoria di lavoro e velocità di elaborazione).

**CONCLUSIONI:** Il nostro caso atipico/mild conferma l’ampia variabilità fenotipica della BTHS, oggi più evidente grazie all’analisi genetica sempre più diffusa. E’ utile considerare la BTHS nella diagnosi differenziale della ipoglicemia chetotica inspiegata, specialmente se associata ad un disturbo del neurosviluppo.

**TOPIC:** 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 161 - Risposta al trattamento con L-triptofano in due pazienti con deficit di WARS2**

**Francesca Nardecchia<sup>1</sup>**, Agnese De Giorgi<sup>1</sup>, Federica Gigliotti<sup>1</sup>, Maria Novelli<sup>1</sup>, Claudia Carducci<sup>2</sup>, Simona Fecarotta<sup>3</sup>, Francesco Pisani<sup>1</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>1</sup>, Serena Galosi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, <sup>2</sup> Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma, <sup>3</sup> Dipartimento Materno Infantile, AOU Federico II Napoli

**Introduzione/Background:** Il deficit di WARS2 è una malattia genetica rara causata da mutazioni bialleliche nel gene *WARS2*, che codifica per la triptofanil-tRNA sintetasi mitocondriale, enzima chiave per la sintesi proteica mitocondriale. In alcuni deficit di aminoacil-tRNA sintetasi (ARS) è stata sperimentata la supplementazione dello specifico tRNA aminoacido: IARS (L-isoleucina 35–70mg/kg/die), LARS (L-leucina 35–100mg/kg/die), FARSB (L-fenilalanina, 40–100mg/kg/die) e SARS (L-serina, 85,7–97,5mg/kg/die). I primi dati suggeriscono che tali trattamenti sono ben tollerati con effetti sul fenotipo specifico. **Metodi:** Descriviamo il trial con L-triptofano in due pazienti con deficit di WARS2 (genotipo: c.679A>G, c.37T>G). **Risultati:** La prima paziente (8 anni) ha mostrato ipotonia, ritardo dello sviluppo e scarsa crescita somatica sin dalla nascita. A 10 mesi sono comparsi tremori degli arti superiori, accentuati dallo stato emozionale. I livelli liquorali di acido 5-idrossiindolacetico e acido omovanillico (HVA) erano ridotti. A 3 anni si verificava un grave deterioramento neurologico con grave quadro aposturale, bradicinesia, posture distoniche, disfagia e calo ponderale. La terapia con L-Dopa e Oxitriptan determinava un lieve miglioramento clinico associato a normalizzazione dei neurotrasmettitori liquorali. All’età di 7 anni, l’integrazione con L-triptofano (35–100 mg/kg/die) si associava ad incremento ponderale (da –5.8 a –4.9<sup>WHO</sup> z-score), un miglioramento del ritmo sonno/veglia e dell’interazione sociale, con segni positivi entro 3–6 mesi già a 70mg/kg/die. Il secondo paziente (18 anni) ha sviluppato

un quadro di parkinsonismo e deterioramento neurologico all'età di circa 18 mesi associato a ridotto HVA nel CSF. Dopo una transitoria risposta positiva alla L-Dopa, emergevano all'età di 5 anni ingravescenti fenomeni on-off, che inducevano al trattamento con Duodopa. Il quadro ha avuto un'ulteriore evoluzione prevalentemente ipercinetica alterante a fasi di acinesia. Di recente l'integrazione con L-triptofano (40mg/kg/die) ha migliorato motilità gastrointestinale, deglutizione e vocalizzazioni. Discussione/Conclusioni: L'integrazione con L-triptofano può rappresentare una strategia terapeutica promettente nel deficit di WARS2, ampliando le prospettive nei disturbi ARS-correlati. Ulteriori studi saranno fondamentali per confermarne l'efficacia, definire il dosaggio ottimale e identificare marcatori predittivi di risposta (incluso lo stadio della malattia).

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 163 - Ipoglicemia neonatale persistente e tubulopatia prossimale: case report su due varianti genetiche di BCS1L non precedentemente riportate**

**Giulia Masiero**<sup>2</sup>, Francesca Pellegrini<sup>4</sup>, Alice Dianin<sup>1</sup>, Aurora Favaro<sup>1</sup>, Pamela Massa<sup>1</sup>, Irene Cunial<sup>1</sup>, Davide Mattei<sup>1</sup>, Ester Ermacora<sup>2</sup>, Irene Ferrara<sup>2</sup>, Marta Camilot<sup>3</sup>, Francesca Teofoli<sup>3</sup>, Francesca Manzoni<sup>5</sup>, Fiorenzo Lupi<sup>4</sup>, Giorgio Piacentini<sup>2</sup>, Laura Rubert<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Regionale per lo Screening Neonatale, la Diagnosi e il Trattamento delle Malattie Metaboliche Ereditarie, U.O.C. Pediatria C, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona, Italia, <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Odontostomatologiche e Materno-Infantili, Università di Verona, Verona, Italia, <sup>3</sup> Centro Regionale per gli screening neonatali, la diagnosi e cura delle malattie metaboliche ed endocrinologiche congenite, U.O.C. Laboratorio Analisi, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona, Italia, <sup>4</sup> Terapia Intensiva Neonatale, Azienda Sanitaria Alto Adige, Bolzano, Italia, <sup>5</sup> Neurologia e Riabilitazione dell'età evolutiva, Azienda Sanitaria Alto Adige, Bolzano, Italia

**Introduzione.** Mutazioni bialleliche del gene *BCS1L* (OMIM \*603647) sono associate ad un ampio range di fenotipi, che spaziano dalla gravissima sindrome GRACILE (ritardo di crescita, amminoaciduria, colestasi, accumulo di ferro, acidosi lattica, morte precoce) alla più lieve sindrome di Björstand (pili torti e perdita d'udito neurosensoriale). Presentiamo il caso clinico di una paziente con 2 varianti genetiche a carico di BCS1L.

**Metodi/pazienti.** A., nata a 35 EG, ha presentato ipoglicemia persistente dalla nascita. Gli esami in ipoglicemia hanno mostrato acidosi metabolica ad anion gap nella norma, insulina soppressa con cortisolo, ACTH e GH in range. Lo screening neonatale ha evidenziato ipertirosinemia. Inoltre si rilevava glicosuria, amminoaciduria e ipofosfatemia, indicativi di una tubulopatia prossimale. Nel sospetto di glicogenosi XI, è stata iniziata la nutrizione continua enterale oltre alla terapia con bicarbonato, vitamina D e fosfato. Agli esami ematici si riscontrava: aumento di tirosinemia, metionina e acido pipecolico; aumentati livelli di transaminasi e di bilirubina diretta. All'ecografia addominale, riscontro di nefrocalcinosi. Nei mesi le condizioni cliniche della bimba sono progressivamente migliorate e dagli 8 mesi la tolleranza al digiuno si è normalizzata. Attualmente lo sviluppo neurocognitivo è appropriato e la tubulopatia stabile. Gli enzimi epatici sono in lieve peggioramento e i livelli di ferritina indicano un iniziale accumulo di ferro intraepatico.

**Risultati.** L'analisi è risultata negativa per glicogenosi di tipo XI, tirosinemia, pannello per tubulopatie prossimali. È stata riscontrata una variante patogenetica nel gene *BCS1L* (c.736del p.(Glu246Asnfs9)), che determina un codone di stop precoce, associata ad una variante intronica di incerto significato (VUS) (c.-50595T>C on 5'UTR) che verosimilmente influenza lo splicing. Entrambe non sono state riportate precedentemente in letteratura.

**Discussione/conclusione.** La nostra paziente è portatrice di due varianti geniche di nuovo riscontro di BCS1L. La manifestazione clinica neonatale è stata severa, caratterizzandosi da ipoglicemia persistente e tubulopatia prossimale. Attualmente la bambina è in buone condizioni generali, ma lo sviluppo neurocognitivo e l'interessamento epatico devono essere monitorati nel tempo. L'analisi della catena respiratoria è in corso.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 164 - VLCADD e allergia alle proteine del latte vaccino: utilizzo del latte di asina in neonato**

**Jacopo Maria Venanzi**<sup>1</sup>, Giulia Bruni<sup>2</sup>, Valentina Pierattini<sup>2</sup>, Marta Daniotti<sup>1</sup>, Francesca Pochiero<sup>1</sup>, Michele Sacchini<sup>1</sup>, Giusi Maria Scaturro<sup>1</sup>, Chiara Ticci<sup>1</sup>, Simona Barni<sup>3</sup>, Laura Chiesi<sup>2</sup>, Elena Procopio<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> UP Dietetica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>3</sup> SOSD Allergologia, AOU Meyer IRCCS, Firenze

**Introduzione:** Il difetto di Acil-CoA deidrogenasi a catena molto lunga (VLCADD) è il secondo più comune difetto della beta-ossidazione degli acidi grassi, dovuto a varianti patogenetiche bialleliche del gene ACADVL. Il trattamento in età infantile si basa sull'utilizzo di formule a basso contenuto di acidi grassi a catena lunga (LCT) e alto contenuto di acidi grassi a catena media (MCT) e sul controllo del digiuno. Le formule per patologia, tuttavia, contengono proteine del latte vaccino, e non sono pertanto utilizzabili in pazienti con allergia alle proteine del latte vaccino. **Metodi:** Riportiamo il primo caso, a nostra conoscenza, in cui un neonato con VLCADD ha presentato allergia alle proteine del latte vaccino ed è stato pertanto necessario ricorrere ad un sostituto della formula per patologia. **Risultati:** Un neonato in sesta giornata di vita è stato richiamato per SNE positivo per VLCADD; al momento del ricovero era presente rabdomiolisi (CK 5624 U/L), veniva pertanto intrapresa infusione glucosata endovenosa e nutrizione enterale con formula speciale. Dall'undicesima giornata di vita, tuttavia, il neonato ha iniziato a presentare vomito, rettorragia e muco nelle feci, inquadrati come proctocolite allergica. Vista la negatività del prick-by-prick per latte vaccino si decideva di intraprendere dieta con formula per patologia, con iniziale regressione della sintomatologia. Nel corso del follow-up, tuttavia, il paziente ha presentato nuovamente tracce ematiche nelle feci e, agli esami ematici, anemia microcitica iperregenerativa (emoglobina 7,1 g/dl) ed eosinofilia moderata (3040/mmc). Si decideva pertanto di iniziare alimentazione esclusiva con latte d'asina integrato con MCT, maltodestrine e vitamine, con risoluzione clinica della sintomatologia nel giro di alcuni giorni e riduzione progressiva dell'eosinofilia (700/mmc a 2 mesi dall'inizio di latte d'asina) e correzione dell'anemia. Durante il follow-up il controllo metabolico è sempre stato ottimale. **Conclusioni:** Le formule speciali comunemente utilizzate nell'allergia alle proteine del latte vaccino (idrolisato estensivo o idrolisato di riso) non sono impiegabili nel paziente allergico con VLCADD per il loro elevato contenuto lipidico. Il latte d'asina, a basso contenuto lipidico, si presenta come un valido sostituto delle formule speciali ipolipidiche nel paziente allergico.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 168 - Deficit di guanidinoacetato metiltransferasi: nuovo caso clinico. Considerazioni diagnostiche e risposta al trattamento.**

**Francesca Nardecchia**<sup>1</sup>, Agnese De Giorgi<sup>1</sup>, Sabrina De Leo<sup>4</sup>, Manuela Tolve<sup>3</sup>, Claudia Carducci<sup>3</sup>, Silvia Santagata<sup>3</sup>, Antonio Angeloni<sup>3</sup>, Francesco Pisani<sup>1</sup>, Vincenzo Leuzzi<sup>1</sup>, Mario Mastrangelo<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Neuroscienze Umane, Sapienza Università di Roma, <sup>2</sup> Dipartimento Materno-Infantile e Scienze Urologiche, Sapienza Università di Roma, <sup>3</sup> Dipartimento Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma, <sup>4</sup> UOC Medicina Interna e Nutrizione Clinica, AOU Policlinico Umberto I

**Introduzione/Background:** Il deficit di guanidinoacetato (GAA) metiltransferasi (GAMT) è un raro disturbo del metabolismo della creatina, causato da varianti patogenetiche nel gene GAMT, che comporta accumulo di GAA e deplezione di creatina. La malattia si presenta con disturbi del neurosviluppo (ritardo globale, grave compromissione del linguaggio, disturbi dello spettro autistico), deterioramento neurologico, epilessia, ipercinesie. Il trattamento non tempestivo è efficace sulla sola epilessia. **Metodi:** Presentiamo un bambino con deficit di GAMT esordito con disturbo del neurosviluppo ed epilessia. **Risultati:** Il bambino, nato a termine da gravidanza priva di complicazioni, è giunto alla nostra osservazione all'età di 4 anni per crisi epilettiche focali notturne con generalizzazione secondaria. Anamnesi positiva per epilessia sul ramo materno. Nel corso dei primi 2 anni di vita veniva diagnosticato ritardo globale dello sviluppo, assenza di linguaggio espressivo, scarsa persistenza attentiva. Alla prima osservazione si confermava il grave ritardo globale e la gravissima compromissione del linguaggio con atipie dell'interazione sociale. Una MRI dell'encefalo evidenziava iperintensità simmetriche nei tratti tegmentali centrali del ponte. Dal work-up diagnostico emergeva GAA su DBS elevato (10,91 µmol/L; v.n. 1,2–4,3). Retrospectivamente il valore ottenuto dall'analisi nel DBS neonatale era 14.5 µmol/L. La sequenza del gene GAMT confermava la diagnosi (c.393del; c.530T>C). Veniva iniziato trattamento dietetico (dieta ipoproteica con ridotto apporto di arginina, supplementazione di ornitina alfa-chetoglutarato [200 mg/kg/die], creatina monoidrato [300 mg/kg/die]), terapia antiepilettica (valproato di sodio, 10 mg/kg/die). Successivamente si aggiungeva anche sodio benzoato (50 mg/kg/die). Il GAA urinario si riduceva progressivamente (fino a 5,68 µmol/L), con netto miglioramento EEG e clinico dell'epilessia e rilevanti progressi nelle abilità attentive e relazionali. **Discussione/Conclusioni:** In assenza di screening neonatale, la diagnosi di deficit di GAMT è necessariamente tardiva, rendendo meno efficace il trattamento se non sul versante del controllo dell'epilessia. È ormai noto che l'intervento terapeutico presintomatico è in grado di prevenire lo sviluppo del fenotipo del deficit di GAMT. Il dosaggio del GAA, facilmente implementabile negli attuali programmi di screening, sarebbe auspicabile nel modificare la prognosi di questa malattia.

**ID: 172 - La transizione del paziente metabolico dalla care pediatrica all’adulto: l’esperienza della Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori.**

**Anna Commone**<sup>1</sup>, Raffaella Mariani<sup>1</sup>, Antonella Lainà<sup>1</sup>, Mara Botti<sup>1</sup>, Laura Cantoreggi<sup>1</sup>, Alice Ripamonti<sup>1</sup>, Carola Arighi<sup>3</sup>, Cristina Bonfanti<sup>2</sup>, Alessia Cerizza<sup>2</sup>, Katia Pozzi<sup>2</sup>, Silvia Gigante<sup>2</sup>, Maria Valvassori<sup>2</sup>, Martha Caterina Faraguna<sup>2</sup>, Roberta Pretese<sup>2</sup>, Viola Crescitelli<sup>2</sup>, Serena Gasperini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> SSD Malattie Rare, IRCCS S. Gerardo dei Tintori-Monza, <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, <sup>3</sup> Dipartimento di Medicina e Chirurgia- Università degli studi di Milano-Bicocca, Milano

**Background:** I recenti progressi nella diagnosi precoce e nella gestione delle malattie metaboliche ereditarie (MME) hanno aumentato l’aspettativa di vita dei pazienti, rendendo imprescindibile l’organizzazione di percorsi strutturati per la transizione dall’età pediatrica a quella adulta. Tuttavia, a livello europeo, tali percorsi risultano disomogenei, come evidenziato dalla survey MetabERN del 2021. La SIMMESN ha definito i principi guida per una transizione efficace, ma la loro applicazione resta complessa. In questo lavoro presentiamo il modello di transizione sviluppato e affinato in oltre vent’anni presso la Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori.

**Metodi:** La transizione è coordinata dal pediatra, che seleziona i pazienti in base a stabilità clinica e prospettiva di vita ed introduce gradualmente il nuovo referente in base alla patologia (ematologo, nefrologo, internista). Il percorso prevede, a seconda del caso, una o due visite congiunte con condivisione della documentazione clinica. Ai pazienti e alle famiglie viene illustrato il processo, fornendo anche materiale informativo, vengono inoltre accompagnati a conoscere i nuovi spazi con i nuovi curanti. In quanto IRCCS con competenze trasversali, il team multidisciplinare di riferimento rimane invariato.

**Risultati:** Nel corso di 20 anni, la transizione a Monza si è strutturata progressivamente, affrontando anche momenti di criticità dati dalla carenza di personale dedicato. Dal 2024, 57 pazienti hanno effettuato la prima visita di transizione e per 17 ne è stata programmata una seconda. In un caso si è mantenuta una gestione condivisa su richiesta della famiglia. Pazienti e famiglie sono concordi nel riconoscere la transizione come parte essenziale del percorso di cura. Nelle disabilità cognitive complesse e nelle condizioni ad alta intensità d’intervento la compliance è più bassa poiché la transizione non viene sempre identificata come bisogno primario e vi sono maggiori dubbi rispetto al cambiamento delle figure di riferimento.

**Discussione:** Il modello proposto si caratterizza per la sua semplicità ed efficacia, risultando ben accolto da pazienti e famiglie. Il passaggio graduale, supportato da visite congiunte e dalla continuità del team multidisciplinare, rappresenta un punto di forza. Riteniamo che nei pazienti con disabilità cognitive complesse, la figura del neuropsichiatra infantile nel team di transizione potrebbe supportare la gestione di esigenze cliniche specifiche.

**ID: 173 - Ruolo dell’infermiere nei Centri per lo Screening e la gestione delle Malattie Metaboliche Ereditarie: una survey a del Gruppo di Lavoro infermieristico SIMMESN.**

**Paola Piovani**<sup>1</sup>, Luca Natale<sup>2</sup>, Silvia Gigante<sup>3</sup>, Katia Pozzi<sup>3</sup>, Veronica Barbara Sisti<sup>3</sup>, Laura Cantoreggi<sup>3</sup>, Alice Ripamonti<sup>3</sup>, Antonella Lainà<sup>3</sup>, Federica Ambrosio<sup>4</sup>, Manuela Muselli<sup>5</sup>, Alice Facchini<sup>6</sup>, Annamaria Pagano<sup>7</sup>, Anna Grazia Stefanelli<sup>8</sup>, Maria Costabile<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Centro di coordinamento regionale malattie rare. ASUFC, Udine., <sup>2</sup> Centro Studi e Tecnologie Avanzate (CAST), Università degli Studi G. d’Annunzio di Chieti-Pescara., <sup>3</sup> Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza., <sup>4</sup> Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli di Roma , <sup>5</sup> Azienda ospedaliera Universitaria Federico II di Napoli, UOC Pediatria., <sup>6</sup> Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano., <sup>7</sup> Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, Policlinico di Bari., <sup>8</sup> Ospedale San Paolo, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano., <sup>9</sup> AORN Santobono-Pausilipon, UOSD Malattie Metaboliche, Napoli.

**Introduzione.** Le malattie metaboliche ereditarie (MME) costituiscono un gruppo eterogeneo di patologie rare, caratterizzate da una gestione clinica e assistenziale complessa, che richiedono competenze trasversali e altamente specialistiche per una diagnosi accurata e un’adeguata presa in carico del paziente. Il ruolo degli infermieri risulta fondamentale, in particolare nei percorsi diagnostico-terapeutici e nello screening neonatale esteso (SNE). Nel 2025, la

SIMMESN ha istituito un Gruppo di Lavoro (GdL) Infermieristico che ha tra gli obiettivi la promozione di standard assistenziali condivisi. Metodi. La survey è stata condotta mediante un questionario online su piattaforma SurveyMonkey, somministrato ai 14 infermieri del GdL provenienti da 11 diversi contesti. Il questionario, articolato in 119 domande suddivise in otto sezioni, ha indagato competenze, esperienze professionali e aspetti organizzativi. Le risposte duplicate per lo stesso contesto lavorativo sono state escluse; le non risposte codificate come 'N/A'. L'analisi statistica è stata eseguita con SPSS 22.0, includendo descrittive delle caratteristiche sociodemografiche, frequenze, percentuali e punteggi totali. Risultati. L'analisi dei dati ha evidenziato un profilo formativo eterogeneo: il 58% ha svolto corsi sulle MME. L'85% ha oltre 10 anni di esperienza infermieristica e il 57% lavora da più di 7 anni nel settore. L'82% delle strutture è dedicato alle MME e tutti i centri trattano malattie lisosomiali; il 91% anche aminoacidopatie, acidemie organiche e disturbi dei carboidrati; il 78% patologie mitocondriali; il 58% altri gruppi di patologia. Il 75% degli infermieri ha maggiore esperienza nelle lisosomiali. Il 91% somministra terapie enzimatiche sostitutive e l'83% applica protocolli dietetici. Il 58% è coinvolto nello screening neonatale e il 70% segnala criticità preanalitiche. Il 92% partecipa all'educazione di pazienti/caregiver, con criticità sulla compliance e riconoscimento dell'intervento educativo. L'83% dei centri partecipa a trials clinici sulle MME e il 66% degli infermieri è coinvolto. Solo il 42% adotta percorsi di transizione, con barriere legate alla complessità clinica e alla carenza di strutture dedicate. Conclusioni. Le differenze nei modelli assistenziali delle MME evidenziano la necessità di rafforzare la formazione specialistica, uniformare i protocolli e consolidare la rete SIMMESN per garantire un'assistenza infermieristica omogenea.

TOPIC: 3 - Malattie metaboliche ereditarie - clinica

**ID: 176 - Fruttosio urinario nella fructosemia quando la diagnosi fa (ancora) rima con anamnesi**

**Agata Capodiferro**<sup>1</sup>, Francesco Tagliaferri<sup>2</sup>, Viola Crescitelli<sup>3</sup>, Serena Gasperini<sup>3</sup>, Roberta Pretese<sup>3</sup>, Martina Sarra<sup>3</sup>, Sabrina Paci<sup>4</sup>, Juri Zuvadelli<sup>4</sup>, Giuseppe Banderai<sup>4</sup>, Laura Fiori<sup>5</sup>, Simona Salera<sup>2</sup>, Francesca Menni<sup>2</sup>, Francesca Furlan<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Università degli Studi di Milano, Milano, <sup>2</sup> Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Centro di riferimento regionale per lo screening neonatale esteso, Milano, <sup>3</sup> Unità Metabolica per le Malattie Rare, Dipartimento Pediatrico, Fondazione IRCSS San Gerardo dei Tintori, Monza, <sup>4</sup> Dipartimento Clinico di Pediatria, Ospedale San Paolo, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano, <sup>5</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Buzzi, Milano

Introduzione

La fructosemia (HFI) è una rara malattia metabolica ereditaria che può manifestarsi cronicamente con ipertransaminasemia e/o steatosi epatica, o acutamente con ipoglicemia, insufficienza epatica e acidosi metabolica. L'avversione ai dolci spesso rappresenta un meccanismo protettivo contro lo scompenso metabolico acuto. Nella pratica clinica l'HFI è frequentemente considerata nell'iter diagnostico di diverse presentazioni croniche epato-gastroenterologiche e, in questi casi, il fruttosio urinario è spesso utilizzato come marcatore di esclusione

Metodi

Abbiamo analizzato retrospettivamente le caratteristiche anamnestiche, cliniche, strumentali e biochimiche di 38 bambini riferiti a quattro Unità Metaboliche lombarde, prima di ricevere la diagnosi di HFI confermata geneticamente

Risultati

Il 63,2% dei pazienti ha avuto manifestazioni croniche. Le principali motivazioni per l'invio all'ambulatorio malattie metaboliche includevano ipertransaminasemia (45%), steatosi epatica (23%), vomito (19%), epatomegalia (29%) e scarso accrescimento (10%). L'età mediana all'esordio dei sintomi era 0,5 anni (IQR 0,55), mentre quella alla diagnosi era 2,7 anni (IQR 10,9), con un ritardo diagnostico mediano di 1 anno (IQR 4). I livelli di transaminasi (31/38) erano elevati nel 58,1% dei casi (38,7% fino a 3 volte il valore di riferimento, 19,4% >3 volte). L'ecografia addome (36/38) mostrava steatosi epatica nel 75% dei casi. I livelli di fruttosio urinario erano disponibili solo in 13/38 casi, ma nessuno ha mostrato valori patologici. Le isoforme della sialotransferrina sono state misurate in tre casi, di cui 2/3 positive. L'avversione ai dolci era un dato presente nella maggioranza dei pazienti (89,5%) ed è stata il principale indizio diagnostico, portando all'analisi genetica mirata nel 76,3% dei casi.

Discussione

L'avversione ai dolci, l'ipertransaminasemia e la steatosi epatica dovrebbero orientare verso il sospetto di HFI. Il fruttosio urinario non è un marcatore sensibile per le presentazioni sub-acute/croniche, poiché una dieta autoimposta



povera di zuccheri può condizionarne la presenza. Raccomandiamo, in presenza di segni/sintomi compatibili ed anamnesi suggestiva, di considerare direttamente l’analisi genetica mirata. Il nostro campione non ha consentito di stimare l’efficacia delle sialotransferrine come marcatore diagnostico alternativo, ipoteticamente più sensibile, risentendo di un’esposizione cronica anche a piccole quantità di fruttosio

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

**ID: 17 - Attitudine dei sanitari verso l’uso dell’Intelligenza Artificiale: quali predittori**

**Marco Bani<sup>1</sup>**, Selenia Russo<sup>1</sup>, Stefano Ardenghi<sup>1</sup>, Giuseppe Sarne<sup>2</sup>, Niccolò Cremona<sup>2</sup>, Federico Zorzi<sup>1</sup>, Maria Grazia Strepparava<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Medicina e Chirurgia, Università di Milano - Bicocca, <sup>2</sup> Dipartimento di Psicologia, Università di Milano - Bicocca

**Introduzione:** L’intelligenza artificiale (IA) sta rivoluzionando la sanità, ed è importante che i professionisti sanitari siano pronti ad adottare, con curiosità e spirito critico, le innovazioni che si affaceranno nella pratica clinica. L’obiettivo di questo studio è valutare i predittori psicologici, professionali e personali dell’attitudine verso l’IA in un campione misto di operatori sanitari e studenti di area sanitaria, con l’obiettivo di orientare strategie formative e di implementazione responsabile.

**Metodi:** In uno studio cross-sectional 233 partecipanti (99 professionisti sanitari e 134 studenti di professioni sanitarie) hanno completato una survey anonima online (tramite Qualtrics) che include una misura dell’attitudine verso l’IA, la literacy nell’uso dell’IA, alcuni tratti di personalità (big five e dark triad), complottismo, empatia, fiducia generale e alcune applicazioni dell’IA in ambito sanitario. Modelli di regressione gerarchica sono stati utilizzati per verificare il contributo dei diversi fattori nel predire un’attitudine positiva e negativa verso l’IA.

**Risultati:** Per l’atteggiamento positivo verso l’IA, il sesso maschile, l’apertura all’esperienza, il machiavellismo, il bisogno di autonomia e di relazionalità sono risultati predittori significativi, così come la literacy sull’uso etico dell’IA. Il modello finale ha spiegato il 38.8% della varianza. Per l’atteggiamento negativo verso l’IA, bassi livelli di amicalità, autonomia, competenza e relazionalità, e alti livelli di complottismo sono risultati predittori significativi, spiegando il 42.3% della varianza.

**Conclusioni:** Diversi fattori psicosociali influenzano l’atteggiamento verso l’IA tra professionisti sanitari e studenti di area sanitaria. Questi risultati suggeriscono l’importanza di considerare tali variabili nella progettazione e implementazione di interventi formativi volti a promuovere un’adozione consapevole dell’IA nel settore sanitario, adattando le strategie alle diverse caratteristiche individuali.

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

**ID: 50 - Funzionamento Cognitivo ed Emotivo Auto-Riferito in Pazienti Adulti con Disturbi del Ciclo dell’Urea a Esordio Tardivo**

**Pasquale Capuozzo<sup>1</sup>**, Giuseppina Maria Teresa Lanzafame<sup>2</sup>, Concetta Meli<sup>2</sup>, Maria Cristina Schiaffino<sup>3</sup>, Sara Pessano<sup>3</sup>, Francesca Nastasia Perri<sup>3</sup>, Benedetta Salvatori<sup>4</sup>, Cristina Venturino<sup>1</sup>, Alessia Claudia Arena<sup>2</sup>, Martino Ruggeri<sup>2</sup>

<sup>1</sup> U.O.S.D. Centro di Psicologia, I.R.C.C.S. Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy, <sup>2</sup> U.O.S. di Screening Neonatale Esteso e Malattie Metaboliche, U.O.C. Clinica Pediatrica, Azienda Ospedaliero Universitaria Policlinico “G. Rodolico – San Marco”, Catania, Italy , <sup>3</sup> Clinica Pediatrica ed Endocrinologia, Centro Regionale per gli Screening Neonatali e la Diagnosi delle Malattie Metaboliche, I.R.C.C.S. Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy, <sup>4</sup> U.O.C. Genetica Medica, I.R.C.C.S. Istituto Giannina Gaslini, Genova, Italy

**Introduzione:** Questo studio mira a descrivere il funzionamento cognitivo ed emotivo auto-riferito in pazienti adulti con disturbi del ciclo dell’urea a esordio tardivo (LO UCD), evidenziando il significativo onere neuropsichiatrico. I LO UCD sono condizioni metaboliche ereditarie che causano iperammoniemia, con conseguenti compromissioni neurologiche e impatto sulla qualità della vita. **Metodi:** È stato condotto uno studio osservazionale, retrospettivo e multicentrico su 11 donne adulte affette da LO UCD (età mediana 26 anni, IQR: 21.5–41 anni). I dati, provenienti da valutazioni psicodiagnostiche di routine, includevano l’Adult Self-Report (ASR/18–59), lo State-Trait Anxiety Inventory – Form Y (STAI-Y) e il Beck Depression Inventory – Second Edition (BDI–II). I punteggi standardizzati sono stati analizzati con statistiche descrittive (mediana e IQR). **Risultati:** I pazienti hanno mostrato significative difficoltà emotive e cognitive.

Sul Total Problems scale dell’ASR/18-59, il 45% (n=5) ha superato la soglia patologica (mediana T-score 60). Sintomi internalizzanti erano presenti nel 45% (n=5) (mediana T-score 63), con il 55% (n=6) che riportava ritiro sociale di rilievo clinico (mediana T-score 65). I problemi esternalizzanti erano meno diffusi (27%, n=3). Per l’ansia, il 36% (n=4) ha riportato ansia clinicamente significativa (STAI-Y). I sintomi depressivi erano presenti nel 45% (n=5) sul BDI-II totale (mediana percentile 80), con il 45% (n=5) che ha superato la soglia anche sulle sottoscale somatico-affettiva e cognitiva. Le disfunzioni cognitive auto-risportate includevano problemi di attenzione nel 45% (n=5) (mediana T-score 62) e il 55% (n=6) ha mostrato problemi su Sluggish Cognitive Tempo (mediana T-score 67) e Attention Deficit/Hyperactivity Problems (mediana T-score 65). Discussione e Conclusioni: Questo studio evidenzia l’elevata prevalenza di disfunzioni cognitive ed emotive auto-riferite in donne adulte con LO UCD, inclusi deficit di attenzione, ansia, depressione e ritiro sociale. Tali risultati sottolineano l’onere neuropsichiatrico della LO UCD che potrebbe compromettere significativamente la qualità della vita. Nonostante le limitazioni legate alla piccola dimensione del campione e alla natura auto-valutativa delle misure analizzate, i dati indicano la necessità di identificazione precoce e approcci multidisciplinari per gestire tali sfide. Future ricerche dovrebbero includere coorti più ampie e valutazioni neuropsicologiche obiettive.

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

ID: 91 - Qualità di vita e benessere soggettivo nei pazienti affetti da Fenilchetonuria in trattamento con Pegvaliase

Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Giacomo Gaiga<sup>1</sup>, Christian Loro<sup>1</sup>, Daniela Gueraldi<sup>1</sup>, Andrea Puma<sup>1</sup>, Alessandro Burlina<sup>2</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche ed Ereditarie, Centro di Riferimento per lo Screening Neonatale Esteso, Azienda Ospedale-Università di Padova, 35131, Padova (Italia) , <sup>2</sup> U.O.C. Neurologia, Ospedale Civile San Bassiano, 36061, Bassano del Grappa (Italia)

**Introduzione** La Fenilchetonuria (PKU) è una malattia metabolica ereditaria caratterizzata da un deficit enzimatico legato alla mutazione del gene deputato alla trascrizione dell’enzima PAH. Se non diagnosticata e trattata, comporta grave e irreversibile ritardo mentale, oltre a quadri neurologici e comportamentali severi. L’intervento dietetico, sebbene efficace nel ridurre i valori di fenilalanina (Phe) e garantire outcome neurologici ottimali, rappresenta spesso un carico rilevante per paziente e famiglia. La terapia enzimatica sostitutiva (Pegvaliase) è una recente opzione terapeutica, utile soprattutto per pazienti con scarsa aderenza alla dieta. I pazienti trattati con Pegvaliase, raggiunti livelli ottimali di Phe, possono seguire una dieta libera da restrizioni. L’obiettivo dello studio è valutare l’impatto del trattamento con Pegvaliase sulla qualità di vita (QoL) in pazienti adulti con PKU classica e persistente scarsa aderenza alla terapia dietetica. **Metodi** Sono stati valutati 10 pazienti adulti con PKU e scarsa aderenza alla dieta, trattati con Pegvaliase presso l’UOC Malattie Metaboliche Ereditarie di Padova. Per tutta la durata del trattamento sono stati monitorati i livelli di Phe. La QoL è stata misurata in tre momenti: prima dell’inizio (T0), al raggiungimento dell’obiettivo terapeutico (Phe<360 µmol/L per ≥3 mesi, T1) e sei mesi dopo (T2). La QoL è stata valutata tramite il questionario PKU-QOL, integrato da interviste qualitative volte a esplorare percezione soggettiva e soddisfazione. **Risultati** I pazienti (1 maschio, 9 femmine) hanno raggiunto l’obiettivo in media entro 9 mesi, con una riduzione significativa dei valori di Phe. È stato possibile sospendere totalmente le restrizioni dietetiche e le miscele aminoacidiche. I punteggi del PKU-QOL sono diminuiti progressivamente, indicando un miglioramento, in particolare nei domini “PKU in generale”, “Integratori” e “Restrizioni dietetiche”. L’analisi qualitativa ha mostrato miglioramenti nell’energia percepita, qualità del sonno, benessere emotivo e funzionamento sociale. Le principali criticità segnalate erano dolore nel sito di iniezione, paura e ansia iniziali. **Conclusioni** Il trattamento con Pegvaliase si è dimostrato efficace nel ridurre i livelli di Phe e nel miglioramento della QoL e del benessere in adulti con PKU scarsamente aderenti alla dieta. Nonostante iniziali difficoltà, l’eliminazione delle restrizioni alimentari ha favorito un miglioramento del benessere percepito.

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

ID: 92 - Il ruolo dei padri nella gestione della Fenilchetonuria: un aspetto da rivalutare

Giacomo Gaiga<sup>1</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Anna Gazzera<sup>1</sup>, Ludovica Martino<sup>1</sup>, Christian Loro<sup>1</sup>, Daniela Gueraldi<sup>1</sup>, Andrea Puma<sup>1</sup>, Alessandro Burlina<sup>2</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche ed Ereditarie, Centro di Riferimento per lo Screening Neonatale Esteso, Azienda Ospedale-Università di Padova, 35131, Padova (Italia) , <sup>2</sup> U.O.C. Neurologia, Ospedale Civile San Bassiano, 36061, Bassano del Grappa (Italia)

**Introduzione** La diagnosi di Fenilchetonuria (PKU), una malattia metabolica ereditaria caratterizzata da un deficit enzimatico legato all’enzima PAH, in età pediatrica impatta non solo sul benessere del bambino, ma sull’intero sistema familiare. I genitori svolgono un ruolo cruciale nella gestione quotidiana della malattia, che comporta una forte restrizione alimentare, monitoraggi regolari e visite mediche frequenti. Nonostante alcuni studi evidenzino come il coinvolgimento familiare sia associato a migliori esiti psicologici e clinici nel bambino, la maggior parte della letteratura si è finora concentrata quasi esclusivamente sulle madri, trascurando il ruolo dei padri, che, tuttavia, possono sperimentare vissuti di frustrazione e inefficacia. Recenti ricerche nelle malattie croniche pediatriche mostrano che un maggiore coinvolgimento paterno favorisce il benessere della madre, l’aderenza al trattamento e migliori outcome psicologici nel bambino; tuttavia non esistono studi sul ruolo dei padri nella gestione della PKU. Questo studio esplora la percezione del coinvolgimento paterno nella gestione della PKU, valutandone l’associazione con il benessere psicologico dei padri e con la qualità di vita e il controllo metabolico dei figli. **Metodi** È stato condotto uno studio osservazionale su 30 padri e i loro figli con PKU (età 6-12 anni) presso l’Azienda Ospedaliera Universitaria di Padova. Sono stati valutati la qualità di vita e l’intolleranza all’incertezza dei bambini con PKU, e lo stress genitoriale, i vissuti di ansia e il tono dell’umore tramite questionari standardizzati. Il coinvolgimento paterno è stato valutato tramite un questionario ad hoc con item a risposta quantitativa e qualitativa. Sono state condotte analisi di correlazione e regressione. **Risultati** I padri hanno riportato un alto livello medio di coinvolgimento (M=6,9/10), ma anche vissuti di colpa e percezione di un ruolo genitoriale secondario. Un maggiore coinvolgimento è risultato associato a minore stress genitoriale e a una migliore qualità di vita del bambino. L’analisi di regressione ha mostrato che valori di Phe, stress genitoriale e coinvolgimento paterno predicono significativamente la qualità di vita del bambino. **Conclusioni** Promuovere il coinvolgimento dei padri nella gestione della PKU è essenziale per il benessere del bambino e della famiglia. Le équipe multidisciplinari dovrebbero adottare un approccio centrato sulla famiglia, valorizzando attivamente la figura paterna.

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

**ID: 95 - La transizione all’età adulta nella PKU: la dieta, le strategie di coping e la qualità di vita in adolescenti e giovani adulti**

**Giacomo Gaiga**<sup>1</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Silvia Medici<sup>1</sup>, Ludovica Martino<sup>1</sup>, Christian Loro<sup>1</sup>, Daniela Guerardi<sup>1</sup>, Andrea Puma<sup>1</sup>, Alessandro Burlina<sup>2</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> U.O.C. Malattie Metaboliche ed Ereditarie, Centro di Riferimento per lo Screening Neonatale Esteso, Azienda Ospedale-Università di Padova, 35131, Padova (Italia) , <sup>2</sup> U.O.C. Neurologia, Ospedale Civile San Bassiano, 36061, Bassano del Grappa (Italia)

**Introduzione** La Fenilchetonuria (PKU) è una malattia metabolica causata da un difetto enzimatico che richiede una restrittiva terapia dietetica. Adolescenti e giovani adulti affrontano sfide specifiche nella gestione quotidiana della patologia, con ricadute sull’aderenza al trattamento e sul benessere psicologico. Fattori come l’imbarazzo per le restrizioni alimentari e il desiderio di normalità possono influenzare negativamente l’integrazione sociale e il vissuto emotivo. Lo studio esplora l’aderenza alla dieta, le abitudini alimentari e le strategie di coping adottate dai giovani con PKU, indagando inoltre le associazioni tra aderenza, sintomi correlati e qualità di vita (QoL). **Metodi** È stato condotto uno studio con 21 pazienti con PKU classica (età 13–25 anni), seguiti presso l’Unità Malattie Metaboliche Ereditarie dell’Ospedale di Padova. Sono stati somministrati questionari standardizzati per valutare l’aderenza dietetica, la qualità di vita e le strategie di coping; sono stati raccolti inoltre dati biochimici. Sono state descritte le abitudini alimentari, i fattori che ostacolano o facilitano l’aderenza e le strategie di coping adottate. Sono state analizzate correlazioni tra variabili cliniche, dietetiche e psicologiche. **Risultati** Solo il 52.4% dei partecipanti ha avuto un valore medio di Phe all’interno del range di sicurezza, e solo il 57.1% ha riferito un’aderenza completa alla dieta. Tra i principali ostacoli all’aderenza terapeutica sono emerse le barriere sociali, come l’imbarazzo e le difficoltà nei contesti scolastici e lavorativi. Gli adolescenti hanno riportato sintomi come irritabilità e difficoltà di concentrazione; i giovani adulti, invece, hanno riferito maggiore stanchezza e insonnia. La qualità di vita è risultata moderatamente compromessa dalla malattia. Strategie di coping di evitamento erano maggiormente utilizzate dai giovani adulti e associate a maggiore irritabilità e ad una minore QoL. Al contrario, il coping orientato alla trascendenza mostrava una correlazione con minori sintomi di insonnia. **Conclusioni** L’aderenza alla terapia e l’adeguato controllo dei valori di Phe sono difficili per adolescenti e giovani adulti con PKU. Le strategie di coping influenzano significativamente la QoL e la percezione dei sintomi. L’integrazione di un supporto psicologico e di un approccio personalizzato rappresenta un elemento chiave per promuovere l’aderenza terapeutica e accompagnare i pazienti nella delicata transizione all’età adulta.

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

**ID: 99 - SNE: quanto ne sanno i non addetti ai lavori**

**Introduzione.** Lo screening neonatale esteso (SNE) è un importante programma di sanità pubblica per l’identificazione precoce di malattie metaboliche ereditarie. L’introduzione di tecnologie avanzate come la spettrometria di massa tandem (MS/MS) ha ampliato il numero di patologie rilevabili, migliorando significativamente la prognosi e la qualità della vita dei neonati affetti. Tuttavia, la conoscenza della popolazione generale sullo SNE rimane limitata, compromettendo la partecipazione consapevole dei genitori ai percorsi diagnostici e assistenziali.

**Metodi.** In occasione dell’evento pubblico “Le Giornate Napoletane della Salute, Prevenzione e Benessere (III edizione)”, tenutosi a Napoli il 26 e 27 ottobre 2024, è stato distribuito un questionario informativo volto a valutare il livello di conoscenza della popolazione. Il questionario, compilabile in formato cartaceo o digitale, includeva 15 domande su dati demografici, conoscenza dello SNE ed eventuali esperienze o commenti personali.

**Risultati.** Circa 600 cittadini sono stati accolti al nostro stand e la metà di essi ha completato il questionario. Il campione è risultato bilanciato per sesso, età e livello d’istruzione, con un 47% operante nel settore biomedico/sanitario. Tuttavia, solo il 33% del campione totale conosceva lo SNE. Il restante 67%, con minore o assente conoscenza dello SNE, era perlopiù rappresentato da soggetti con livello d’istruzione inferiore e non afferenti al settore sanitario. Dato interessante è stato quello raccolto dai genitori (36% del campione): oltre la metà (51%) ha riferito di non aver compreso appieno l’informazione sullo screening al momento della nascita del proprio figlio. L’attività divulgativa ha ricevuto ampio apprezzamento e oltre l’80% ha valutato positivamente lo stand e il materiale fornito. Dalle risposte aperte sono emersi un forte interesse per i temi trattati, per le modalità di accesso e obbligatorietà dello screening.

**Conclusioni.** Questo studio conferma un preoccupante divario di consapevolezza, in particolare tra i genitori, che non può essere colmato da iniziative occasionali, seppur efficaci. È necessario rafforzare le strategie comunicative sul percorso di screening all’interno dei contesti clinici, con personale formato a dialogare in modo empatico, comprensibile e tempestivo con i neogenitori.

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

**ID: 131 - Analisi delle funzioni cognitive, dell’attenzione, dell’ansia, del benessere psicologico e neuroimaging in pazienti con fenilchetonuria (PKU) trattati con Pegvaliase**

Iris Scala<sup>1</sup>, Valeria Maffettone<sup>2</sup>, Maria Pia Riccio<sup>1</sup>, Mariagrazia Fisco<sup>3</sup>, Margherita Ruoppolo<sup>4</sup>, Carmela Bravaccio<sup>2</sup>, Pietro Strisciuglio<sup>2</sup>, Giancarlo Parenti<sup>2</sup>

<sup>1</sup> DAI Materno Infantile, AOU Federico II, Napoli, <sup>2</sup> Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, AOU Federico II, Napoli, <sup>3</sup> CEINGE Biotecnologie Avanzate Franco Salvatore S.C. a r.l., <sup>4</sup> Dipartimento Medicina Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Napoli “Federico II

**Introduzione**

Sono disponibili pochi dati sulla variazione delle funzioni neuropsicologiche in corso di terapia con Pegvaliase, una terapia enzimatica sostitutiva indicata in pazienti con PKU di età ≥ 16 anni con uno scarso controllo metabolico.

**Metodi**

In 9 pazienti tra i 20 ed i 45 anni trattati con Pegvaliase da almeno 1 anno sono state somministrate le seguenti scale di valutazione: 1. Matrici Progressive di Raven ai tempi T0 e T12mesi per la valutazione dell’intelligenza fluida; 2. Il d2R test a T0 e T12 mesi per la valutazione dell’attenzione e della concentrazione; 3. PGWBI (Psychological General Well-Being Index) a T0, T3, T6, T9, T12mesi per la valutazione di ansia, depressione, positività e benessere, auto-controllo, salute generale, vitalità; 4. Il questionario EDI3 a T0 e T12 mesi. La RMN encefalo è stata praticata a T0 e dopo 12 mesi di controllo metabolico (Phe<600 µmol/L).

**Risultati**

Dopo 12 mesi di terapia, si è osservata una riduzione della fenilalanina ( $1146 \pm 307$  vs  $517 \pm 286$   $\mu\text{mol/L}$ ,  $p < 0.05$ ). Il valore medio di QI è incrementato da 99 a 105, con un miglioramento della capacità di ragionamento logico in 6/9 pazienti. Il punteggio medio di accuratezza è aumentato da 76 a 91 e la capacità di concentrazione è migliorata (83 vs 69). A T0, il punteggio globale PGWBI era indicativo di severo distress in 2 pazienti e distress moderato in 3 pazienti; a T12mesi, in tutti i pazienti si è osservato un miglioramento del benessere generale. Nei primi 3 mesi di terapia è stato osservato un incremento dell'ansia. A T0, l'indice di rischio di disordine alimentare risultava patologico in 2 pazienti e si è normalizzato a T12mesi. I dati di neuroimaging sono stati disponibili per 5 pazienti. A T0 i pazienti mostravano alterazione della sostanza bianca, reperto migliorato/normalizzato dopo 12 mesi di controllo metabolico.

**Discussione/conclusioni**

In questa coorte di pazienti l'intelligenza fluida e l'attenzione sono migliorate durante il trattamento. Il benessere generale è migliorato in tutti i pazienti dopo 6 mesi di terapia, ma è stato osservato un peggioramento nei primi 3 mesi associato a un aumento dell'ansia, probabilmente in relazione agli eventi avversi. Il rischio di disturbi alimentari è migliorato. La patologia della sostanza bianca si è ridotta o normalizzata. In conclusione, è stato osservato un generale miglioramento delle performance e del benessere psicologico nonostante le difficoltà della terapia.

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

**ID: 132 - Rischio psicopatologico in pazienti pediatrici con malattie metaboliche ereditarie: studio osservazionale in un centro di riferimento regionale**

**Pamela Massa**<sup>1</sup>, **Alice Dianin**<sup>1</sup>, **Aurora Favaro**<sup>1</sup>, **Davide Mattei**<sup>1</sup>, **Irene Cunial**<sup>1</sup>, **Sarah Carcereri**<sup>1</sup>, **Michele Piazza**<sup>2</sup>, **Gaetano Cantalupo**<sup>3</sup>, **Giorgio Piacentini**<sup>2</sup>, **Laura Rubert**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 1Centro Regionale per lo Screening Neonatale, la Diagnosi e il Trattamento delle Malattie Metaboliche Ereditarie, U.O.C. Pediatria C, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona, Italia, <sup>2</sup> 2U.O.C. Pediatria C, Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Odontostomatologiche e Materno-Infantili, Università di Verona, Verona, Italia., <sup>3</sup> 3Centro per la Ricerca sull'Epilessia in Età Pediatrica (CREP); U.O.C. Neuropsichiatria Infantile, Azienda Ospedaliera Universitaria di Verona, Italia; Sezione di Biomedicina Innovativa, Dipartimento di Ingegneria per la Medicina di Innovazione, Università di Verona

**Introduzione:** Le malattie metaboliche ereditarie (MME), in quanto malattie croniche, predispongono ad un rischio maggiore di sviluppare disturbi legati alla sfera emotivo-psicologica. La letteratura riporta problematiche della sfera dei disturbi internalizzanti nei pazienti con fenilchetonuria. Questo studio indaga la presenza di questi disturbi in pazienti pediatrici affetti da MME.

**Metodi:** Studio osservazionale trasversale condotto in un centro di riferimento MME nel 2025. Criteri di inclusione: pazienti pediatrici (8-18 anni) con diagnosi di MME in terapia dietetica;  $QI \geq 84$ . Per la valutazione psicologica sono state utilizzate le Scale SAFA: Ansia, Sintomi somatici e ipocondria, Depressione, Ossessivo-compulsivo, Disturbi alimentari psicogeni; Aspetti psicologici (paura della maturità, perfezionismo, inadeguatezza).

**Risultati:** inclusi nel campione 27 pazienti: 5 aminoacidopatie; 12 difetti della beta ossidazione; 7 difetti dei carboidrati; 3 acidurie organiche. Età media 10,5 anni (DS 3,2); 59% maschi e 41% femmine. 67% con diagnosi da SNE. 74% a rischio di scompenso metabolico. L'indagine psicologica ha rilevato 17/27 pazienti (63%) con alterazioni alle Scale SAFA. Di questi: 6/27 (22%) presentavano punteggi significativamente anomali ( $>70$ ) in almeno una scala, mentre 11/27 (41%) presentavano almeno una scala con punteggi considerati indicatori di rischio ( $\geq 65$  ma  $<70$ ). Nello specifico punteggi  $>70$  sono stati riscontrati nelle Scale: ansioso-depressiva 5/27 (18%); Disturbi alimentari psicogeni 3/27 (11%); Aspetti psicologici subscale "paura della maturità" 3/27 (11%). 7/27 (26%) presentavano indicatori di rischio nella Scala Ossessivo-compulsivo prevalentemente nella subscale "ordine-controllo".

**Discussione:** oltre la metà dei pazienti mostrava alterazioni emotivo-psicologiche, tuttavia pochi avevano punteggi patologici. Da sottolineare l'aspetto psicologico "paura della maturità", possibile ostacolo alla gestione autonoma. Punteggi indicatori di rischio nella subscale "ordine-controllo" possono indicare una tendenza ad aspetti controllanti nella vita quotidiana.

**Conclusioni:** I pazienti pediatrici con MME in dietoterapia mostrano un elevato rischio di sviluppare disturbi internalizzanti. Tale tendenza suggerisce la necessità di follow up psicologico con lo scopo di sostenere i pazienti nelle

tappe dello sviluppo, nonché nella gestione autonoma della patologia.

TOPIC: 4 - La psicologia e le malattie metaboliche ereditarie

**ID: 180 - IMPATTO NEUROCOGNITIVO E SULLA QUALITA' DELLA VITA DEL TRAPIANTO EPATICO NELLE ACIDURIE ORGANICHE IN ETÀ PEDIATRICA**

**Benedetta Greco**<sup>1</sup>, **Andrea Pietrobattista**<sup>2</sup>, **Roberta Taurisano**<sup>2</sup>, **Silvio Veraldi**<sup>2</sup>, **Silvia Maria Bernabei**<sup>6</sup>, **Gionata Spagnoletti**<sup>2</sup>, **Riccardo Cirelli**<sup>3</sup>, **Elena Procopio**<sup>7</sup>, **Albina Tummolo**<sup>5</sup>, **Alberto Maria Fratti**<sup>2</sup>, **Alessia Esposito**<sup>6</sup>, **Marta Maistri**<sup>3</sup>, **Maria Sole Basso**<sup>2</sup>, **Roberto Bianchi**<sup>8</sup>, **Andrea Cappoli**<sup>9</sup>, **Rachele Adorisio**<sup>4</sup>, **Antonio Amodio**<sup>4</sup>, **Diego Martinelli**<sup>2</sup>, **Marco Spada**<sup>3</sup>, **Carlo Dionisi-Vici**<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Psychology Unit, Bambino Gesù Children’s Hospital, IRCCS, Rome, Italy, <sup>2</sup> Division of Metabolic Diseases and Hepatology, Bambino Gesù Children’s Hospital IRCCS, Rome, Italy, <sup>3</sup> Division of Hepatobiliopancreatic Surgery, Liver and Kidney Transplantation, Bambino Gesù Children’s Hospital IRCCS, Rome, Italy, <sup>4</sup> Heart Failure, Transplantation and Cardio-Respiratory Mechanical Assistance Unit, Bambino Gesù Children’s Hospital IRCCS, Rome, Italy, <sup>5</sup> Department of Metabolic Diseases and Clinical Genetics, Giovanni XXIII Children Hospital, Azienda Ospedaliero-Universitaria Consorziale, 70126 Bari, Italy, <sup>6</sup> SITRA, Bambino Gesù Children’s Hospital IRCCS, Rome, Italy, <sup>7</sup> Department of Neuroscience and Medical Genetics, Meyer Children’s Hospital IRCCS, Florence, Italy, <sup>8</sup> Department of Anesthesiology, Bambino Gesù Children’s Hospital, IRCCS, Rome, Italy, <sup>9</sup> Division of Nephrology, Bambino Gesù Children’s Hospital, IRCCS, Rome, Italy

**Background:** Il trapianto epatico (TE) rappresenta un’opzione terapeutica sempre più adottata nelle acidurie organiche (AO) e le attuali evidenze ne supportano l’impiego in età precoce con l’obiettivo di prevenire i danni neurocognitivi, ridurre il burden di malattia e migliorare la qualità della vita. Scopo del presente studio è approfondire tali aspetti in una coorte italiana di pazienti con AO, confrontando gli outcome tra pazienti con acidemia metilmalonica (MMA) e propionica (PA).

**Metodi:** Lo studio monocentrico retrospettivo ha coinvolto 12 pazienti (6 MMA, 6 PA) sottoposti a TE nella prima infanzia (PA, età media al TE: 2.1 anni, range 0.8-4.2; MMA: 2.6 anni, range 1.3-4.3) per ricorrenti episodi di scompenso metabolico. La valutazione pre- e post-TE ha incluso profilo di sviluppo/cognitivo, funzionamento adattivo e qualità di vita malattia-specifica.

**Risultati:** Tutti i pazienti hanno mostrato un significativo miglioramento della QoL post-TE (MMA: 56.3 vs 82, p=0.036; PA: 38.8 vs 66.3, p=0.034), soprattutto nelle aree relative alla dietoterapia, alla severità della malattia e alle relazioni sociali. Nel gruppo MMA è stato riscontrato anche un incremento significativo del funzionamento neurocognitivo (mdn IQ/DQ: 83 vs 94.5, p=0.036) post-TE con 3/6 pazienti che hanno mantenuto un funzionamento nella norma, 2/6 sono migliorati da borderline a norma e 1/6 da un ritardo di sviluppo moderato a uno lieve. Nel gruppo PA, solo 2/6 pazienti hanno mostrato un miglioramento o mantenuto un normale profilo di sviluppo; nei restanti 4, che già al pre-TE mostravano un ritardo di sviluppo (3 moderato, 1 severo), si è osservato un peggioramento al post-TE del quoziente di sviluppo (mdn: 55 vs 34, p=ns) e del funzionamento adattivo (mdn 52.5 vs 39, p=ns), con successiva diagnosi di disturbo dello spettro autistico.

**Conclusioni:** Il TE rappresenta oggi una valida strategia terapeutica nei pazienti con AO, contribuendo al miglioramento della stabilità metabolica, alla riduzione delle restrizioni dietetiche e a una migliore qualità della vita. Nei pazienti MMA, il TE ha mostrato anche un impatto positivo sul profilo neurocognitivo, mentre nei pazienti PA l’efficacia risulta limitata, con frequente esito evolutivo verso disturbi del neurosviluppo (es disturbo dello spettro autistico). Rimane tuttora complesso identificare un trattamento risolutivo per i pazienti PA, soprattutto considerando il coinvolgimento del sistema nervoso centrale.

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 33 - Stato nutrizionale e fitness fisica in una coorte di pazienti adulti con malattia di Fabry: uno studio multicentrico trasversale**

**Giorgia Gugelmo**<sup>1</sup>, **Andrea Gasperetti**<sup>2</sup>, **Federica Duregon**<sup>2</sup>, **Livia Lenzini**<sup>3</sup>, **Gianni Carraro**<sup>4</sup>, **Giacomo Marchi**<sup>5</sup>, **Mattia Cominacini**<sup>6</sup>, **Domenico Girelli**<sup>5</sup>, **Andrea Ermolao**<sup>2</sup>, **Gian Paolo Fadini**<sup>1</sup>, **Yuri Battaglia**<sup>7</sup>, **Nicola Vitturi**<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie del Metabolismo, Dipartimento di Medicina – DIMED, Azienda Ospedale Università di Padova, 35128 Padova, Italia, <sup>2</sup> UOC Medicina dello Sport ed Esercizio Fisico, Dipartimento di Medicina, Azienda Ospedale Università di Padova, 35128 Padova, Italia, <sup>3</sup>

**Introduzione:** La malattia di Fabry (FD) è una rara patologia X-linked da accumulo lisosomiale con coinvolgimento multisistemico, tra i quali l’apparato muscoloscheletrico. Tuttavia, lo stato nutrizionale e la fitness fisica nei pazienti con FD sono ancora poco studiati. Pertanto, è stato condotto uno studio multicentrico trasversale per valutare questi due aspetti in relazione a genere, fenotipo e trattamento.

**Metodi:** Sono stati arruolati adulti (>18 aa) con diagnosi genetica di FD. Lo stato nutrizionale è stato valutato con antropometria, bioimpedenziometria (BIA) e intake alimentare; la fitness fisica è stata analizzata tramite test da sforzo cardiopolmonare (CPET) (picco di consumo di ossigeno-VO<sub>2</sub>), test del cammino (6 minuti), forza di presa manuale (handgrip), test di sollevamento dalla sedia (chair-stand) e Short Physical Performance Battery (SPPB). Le analisi statistiche sono state condotte stratificando per genere, fenotipo (classico vs late-onset/VUS) e terapia (enzimatica sostitutiva/chaperone vs non trattati).

**Risultati:** Sono stati valutati 42 soggetti (13 maschi; età media 46 anni [DS 13.9]). Il CPET ha evidenziato una prevalenza significativamente maggiore di VO<sub>2</sub><85% del predetto in pazienti con fenotipo classico rispetto ai late-onset/VUS (53,8% vs 11,5%; p<0.01). L’indice di massa corporea era significativamente inferiore nei pazienti con fenotipo classico (20.7 [DS 1.8] vs 27.3 [DS 6.9] kg/m<sup>2</sup>; p<0.001), in particolare maschi con fenotipo classico (19.7 [DS 1.6] kg/m<sup>2</sup>; p=0.002), senza differenze nell’intake nutrizionale. L’indice di massa magra era inferiore nei soggetti classici rispetto ai late-onset/VUS (16.8 [DS 1.0] vs 18.6 [DS 2.1] kg/m<sup>2</sup>; p=0.01), l’angolo di fase inferiore nei maschi trattati rispetto ai non trattati (4.8° [DS 1.0] vs 7.6° [DS 0.9]; p=0.04), correlando positivamente con il VO<sub>2</sub> in tutta la coorte (r=0.879, p=0.01). Rispetto a valori di riferimento della popolazione generale, il 74,3% dei maschi con fenotipo classico presentava handgrip <50° percentile (26.1 [DS 7.8] kg), il 60,9% performance ridotta nel chair-stand test (12.4 [DS 4.3] ripetizioni).

**Conclusioni:** I soggetti con fenotipo classico, soprattutto maschi, presentavano un deficit nello stato nutrizionale ed una ridotta fitness fisica. Questi risultati evidenziano l’importanza di integrare valutazione nutrizionale e funzionale fisica nella pratica clinica per pazienti con FD, attraverso misure antropometriche, BIA, CPET, test di forza e funzionalità muscolare.

---

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 38 - Dalla fenilchetonuria alla sindrome metabolica: il ruolo cruciale dell’educazione alimentare precoce**

**Rosa Carella**<sup>1</sup>, Vito Di Tullio <sup>1</sup>, Donatella De Giovanni<sup>1</sup>, Albina Tummolo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche e Genetica Medica, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, Azienda Ospedaliero-Universitaria Consorziale Policlinico di Bari, 70126 Bari, Italy

---

**Abstract: Introduzione / Background** Nella fenilchetonuria (PKU), lo svezzamento rappresenta una fase delicata, spesso accompagnata da ansie nei caregiver. Un approccio non responsivo può instaurare dinamiche rigide e disfunzionali nel rapporto con il cibo, con ripercussioni a lungo termine. L’educazione alimentare precoce diventa essenziale, soprattutto in vista delle terapie che consentono una dieta libera in età adulta. **Metodi** Descriviamo il caso di un paziente di 30 anni con PKU classica e iniziale buona aderenza alla dieta (340 mg Phe/die). Inizia il trattamento con pegvaliase nell’ottobre 2022, con graduale introduzione di pasti liberi. Dopo una fase di compenso metabolico stabile, il paziente riferisce difficoltà nel gestire la nuova libertà alimentare. **Risultati** Si osserva un peggioramento del quadro metabolico: Phe 800–1000 µmol/l, BMI da 22,9 a 26 kg/m<sup>2</sup>, incremento della massa grassa (6,1 kg), trigliceridi da 91 a 227 mg/dl. Con l’introduzione di un piano alimentare bilanciato ispirato al modello mediterraneo, a sei mesi si rileva un miglioramento: BMI ridotto a 24,1 kg/m<sup>2</sup>, miglioramento dei profili lipidico e glicemico. Tuttavia, l’ultima valutazione (luglio 2025) indica una condizione di pre-diabete (HbA1c 5,4%, glicemia 108 mg/dl). **Discussione / Conclusioni** Questo caso sottolinea come un’educazione alimentare precoce e continuativa, unita a un approccio responsivo allo svezzamento, sia fondamentale per prevenire difficoltà nella gestione dietetica in età adulta. Le abitudini instaurate nell’infanzia si rivelano determinanti anche in presenza di terapie che consentono maggiore flessibilità alimentare.

---

ID: 55 - I LIVELLI PLASMATICI DELLE VITAMINE B2 E B6 IN BAMBINI AFFETTI DA PKU: IL RUOLO DELL’INTEGRAZIONE CON SOSTITUTI PROTEICI

Vito Di Tullio<sup>1</sup>, Aurora Ronco<sup>2</sup>, Maria Tolomeo<sup>2</sup>, Piero Leone<sup>2</sup>, Rosa Carella<sup>1</sup>, Donatella De Giovanni<sup>1</sup>, Maria Barile<sup>2</sup>, Simonetta Simonetti<sup>3</sup>, Albina Tummolo<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche e Genetiche, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, Policlinico di Bari, <sup>2</sup> Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica, Università degli Studi di Bari "Aldo Moro", <sup>3</sup> UOSD Screening Neonatale e Patologia Clinica, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII, Policlinico di Bari

INTRODUZIONE

I pazienti affetti da PKU vengono sottoposti a dieta ipoproteica e all’assunzione di supplementazioni aminoacidiche, che veicolano micronutrienti non assunti con gli alimenti naturali. Le evidenze sui valori plasmatici di alcune vitamine del gruppo B in questo gruppo di pazienti sono scarse. Lo scopo dello studio è quello di valutare i livelli plasmatici di vitamine B2 e B6 in bambini affetti da PKU sottoposti a dietoterapia e confrontarli con controlli sani pediatrici.

MATERIALI E METODI

È stato condotto uno studio prospettico caso-controllo su un campione di 34 bambini con analisi della concentrazione plasmatica delle vitamine B2 e B6, mediante tecnica HPLC. Per la vitamina B2, sono stati analizzati anche i cofattori FAD e FMD, sempre mediante tecnica HPLC. I pazienti PKU (14) sono stati suddivisi in tre gruppi: gruppo 1, 4 pazienti con buona aderenza alla supplementazione e scarsa aderenza alla dietoterapia; gruppo 2, 6 pazienti con buona aderenza alla supplementazione e alla dietoterapia; gruppo 3, 4 pazienti con scarsa aderenza alla dietoterapia e alla supplementazione. I risultati sono stati confrontati con quelli di 20 soggetti sani coetanei.

RISULTATI

Lo studio ha incluso 14 pazienti affetti da PKU classica (10 femmine e 4 maschi) con età media 9 anni, e 20 controlli sani (11 femmine e 9 maschi) con età media 9 anni, tutti in età compresa tra 0-18 anni. I livelli plasmatici di B6 sono risultati significativamente più elevati rispetto ai controlli (22±7,2 ng/ml) nel gruppo 1 (34,5±8,8 ng/ml) (p=0,005), nel gruppo 2 (48,4±33,1 ng/ml) (p=0,002) e nel gruppo 3 (30±7,5 ng/ml) (p=0,05). I livelli di B2 sono risultati indosabili in 19 soggetti esaminati, mentre l’analisi dei cofattori (FAD e FMD) non ha mostrato differenze significative tra i 3 gruppi PKU e il gruppo controllo.

CONCLUSIONI

I livelli di B6 risultano significativamente più elevati nella popolazione affetta da PKU che assume regolarmente sostituti proteici rispetto a quelli che non li assumono. I livelli di B2 risultano sovrapponibili tra PKU e controlli. Questi dati confermano il ruolo determinante nello status vitaminico dei pazienti PKU della supplementazione di vitamina B6 mediante miscele aminoacidiche, con valori che superano il range di normalità. Confermano il maggiore ruolo diagnostico dei cofattori della vitamina B2 rispetto alla vitamina in sé e sottolineano la necessità di studi ulteriori per la valutazione degli effetti clinici di eventuali ipersupplementazioni.

ID: 64 - Una formula a rilascio prolungato ha un impatto positivo sulle fluttuazioni mattutine della fenilalanina nei pazienti con fenilchetonuria (PKU) classica.

Ottavia Ferrigni<sup>1</sup>, Anne Daly<sup>2</sup>, Sharon Evans<sup>2</sup>, Anita MacDonald<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Nutrisens Italia S.B.R.L., <sup>2</sup> Birmingham Women’s and Children’s Hospital

**Introduzione:** Le fluttuazioni della concentrazione ematica di fenilalanina (Phe) possono rappresentare un determinante rilevante dell’esito intellettivo nei pazienti affetti da fenilchetonuria (PKU) classica, trattati precocemente e in maniera continuativa. Esiste una relazione consolidata tra QI e livelli di Phe ematica, associata a un deficit nella sintesi dei neurotrasmettitori. L’obiettivo dello studio è stato valutare se un sostituto proteico a rilascio prolungato potesse favorire un miglior controllo metabolico durante il digiuno notturno nei pazienti con PKU.



**Metodi:** È stato condotto uno studio controllato, randomizzato, in cross-over, a due bracci, su 16 bambini di età compresa tra 7 e 15 anni, affetti da PKU classica. I pazienti hanno ricevuto una formula a rilascio prolungato (PKU GOLIKE, Nutrisens Italia) come ultima dose giornaliera, confrontata con la terapia standard (una miscela di aminoacidi liberi – AA) per un periodo di 7 giorni.

**Risultati:** Dopo 7 giorni, nel gruppo trattato con la formula a rilascio prolungato si è osservata una riduzione statisticamente significativa dei livelli di Phe ematica (-17,8%; p = 0,0484 rispetto al basale), mentre nel gruppo AA si è verificato un aumento (27,6%; p = 0,0063 rispetto al basale); la differenza tra i due gruppi è risultata statisticamente significativa (p = 0,0002). È stato inoltre riscontrato un incremento significativo della tirosina (Tyr) ematica (33,8%; p = 0,0008), con una differenza significativa rispetto al gruppo AA alla fine del periodo di trattamento (p = 0,0113).

**Conclusioni:** I risultati evidenziano che un sostituto proteico a rilascio prolungato migliora il controllo metabolico notturno, contribuendo a un migliore equilibrio dei livelli di Phe e Tyr al risveglio, in particolare nei pazienti con PKU più difficili da gestire.

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 69 - IDENTIFICAZIONE DELLA CARENZA DI COBALAMINA ATTRAVERSO LO SCREENING NEONATALE: RISULTATI METABOLICI NEONATALI E STATO NUTRIZIONALE MATERNO IN UNA COORTE ITALIANA**

Veronica Maria Tagi<sup>1</sup>, Martina Tosi<sup>2</sup>, Chiara Montanari<sup>1</sup>, Simona Ferraro<sup>3</sup>, Alessandra Bosetti<sup>3</sup>, Eleonora Bonaventura<sup>4</sup>, Fabio Bruschi<sup>5</sup>, Diego De Zan<sup>3</sup>, Giulia Fiore<sup>1</sup>, Matteo Domenico Marsiglia<sup>6</sup>, Elisa Borghi<sup>6</sup>, Cristina Cereda<sup>7</sup>, Gianvincenzo Zuccotti<sup>1</sup>, Elvira Verduci<sup>8</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia; Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia., <sup>2</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia; Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia, <sup>3</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>4</sup> COALA (Centro per la Diagnosi e il Trattamento delle Leucodistrofie), Unità di Neurologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia; Unità di Neurologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>5</sup> Dipartimento di Scienze Biomediche e Cliniche, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia; COALA (Centro per la Diagnosi e il Trattamento delle Leucodistrofie), Unità di Neurologia Pediatrica, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>6</sup> Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia, <sup>7</sup> Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia; Centro di Genomica Funzionale e Malattie Rare, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia, <sup>8</sup> Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano, Milano, Italia; Unità Semplice Malattie Metaboliche, Dipartimento di Pediatria, Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano, Italia

Introduzione: In gravidanza i fabbisogni nutrizionali aumentano e carenze possono influenzare esiti materni e neonatali. La vitamina B12, essenziale per lo sviluppo neurologico fetale, può risultare carente per assunzione inadeguata, malassorbimento o diete restrittive. I generi produttori di butirrato, legati al microbiota (phylum Firmicutes), sono più presenti nei soggetti con elevata assunzione di B12. Questo studio ha valutato lo stato nutrizionale delle madri di neonati con carenza di vitamina B12, identificata tramite livelli elevati di acido metilmalonico e/o omocisteina allo screening neonatale. Metodi: Dal 2021 al 2024, 107 diadi madre-neonato con biomarcatori alterati del metabolismo della cobalamina sono state valutate presso l’Unità Malattie Metaboliche dell’Ospedale Buzzi. Madri e neonati hanno effettuato valutazioni cliniche, biochimiche e dietetiche. L’apporto materno in gravidanza è stato analizzato con MetadietaVR e confrontato con valori EFSA. I neonati hanno ricevuto vitamina B12i.m. e acido folico orale, raccomandato anche per le madri. È in corso la caratterizzazione del microbiota intestinale tramite sequenziamento delle regioni V3–V4 del gene 16S (Illumina), con campioni pre- e post-trattamento. Risultati: Il 47% della coorte era di origine asiatica. La vitamina B12 plasmatica materna media era di 240 pg/ml; le madri supplementate mostravano livelli più alti (255,5±113vs.231,2±104pg/ml). Nei neonati, i livelli medi erano 175,76 pg/ml (DS±75,32). Il 62% era allattato esclusivamente al seno, il 10% con formula e il 28% in modo misto. A 12 mesi non si sono osservate problematiche neurologiche o di crescita; il follow-up a 24 mesi è in corso. Il 71% delle madri era onnivoro, il 16% latte-vegetariano, il 12% latte-ovo-vegetariano e l’1% vegano. Il 90% ha assunto integratori: il 70,7% acido folico, il 68,7% ferro, il 15% vitamina B12. Nel 74% la carenza era dovuta a scarso apporto dietetico; solo l’11% raggiungeva i livelli EFSA con la sola dieta. Tra le madri che soddisfacevano il fabbisogno con dieta e integratori, il 95% era onnivoro. Il costo medio per caso è stato di €3.578,60. L’analisi del microbiota è in corso. Conclusione: La carenza di B12 in gravidanza è frequente, anche tra le onnivore. Lo screening neonatale consente diagnosi precoce, ma la prevenzione richiede monitoraggio prenatale. Servono strategie di salute pubblica e miglioramenti nella misurazione di B12 in gravidanza.

**ID: 72 - Ipervitaminosi B12 nei pazienti con fenilchetonuria (PKU): evidenze preliminari su apporti dietetici e livelli plasmatici**

**Valentina Rovelli**<sup>1</sup>, Graziella Cefalo<sup>1</sup>, Francesca Giudice<sup>2</sup>, Anna Grazia Stefanelli<sup>1</sup>, Sabrina Paci<sup>1</sup>, Raed Selmi<sup>1</sup>, Alice Re Dionigi<sup>1</sup>, Annalisa Finizii<sup>1</sup>, Juri Zuvadelli<sup>1</sup>, Giuseppe Banderali<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Dipartimento della Donna e Materno Infantile, Ospedale San Paolo, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano, <sup>2</sup> Università degli Studi di Milano

**Introduzione** La dietoterapia della PKU comporta la restrizione dell’apporto di fenilalanina e, quindi di proteine naturali e di micronutrienti come la vitamina B12. La maggior parte dei sostituti proteici è quindi integrata con B12 in quantità adeguate a coprire i fabbisogni. La letteratura si concentra principalmente sulla prevenzione delle carenze, mentre i potenziali rischi da eccesso risultano poco esplorati, sebbene alcune evidenze suggeriscano possibili effetti avversi da ipervitaminosi. Obiettivo dello studio è valutare il rischio di eccesso di vitamina B12 analizzando apporti dietetici e livelli plasmatici nei soggetti affetti **Metodi** Sono stati inclusi soggetti affetti da PKU (età 1-35 anni, mediana 8 a.) confrontati con un gruppo di controllo affetto da iperfenilalaninemia non in dietoterapia (HPA), abbinati per età e sesso. Per ciascun soggetto sono stati rilevati intake dietetico di vitamina B12, confrontati con i LARN per età e tra i due gruppi, e relativi livelli plasmatici. Esclusi soggetti supplementari con vitamine. **Risultati** Sono stati raccolti i dati di 139 pazienti (52% F), di cui 70 PKU e 69 HPA. Gli apporti dietetici di vitamina B12 non differivano significativamente tra i due gruppi in tutte le fasce d’età ( $p > 0.05$ ) e risultavano sostanzialmente in linea con i livelli raccomandati per età. Tuttavia, i livelli plasmatici risultavano significativamente più elevati nel gruppo PKU vs HPA (1056 vs 558;  $p < 0.05$ ). Nel gruppo di soggetti affetti da PKU il 70% mostrava valori oltre il range di normalità, rispetto al 7% nel gruppo HPA; il 2% dei soggetti HPA mostrava valori subottimali. Nei pazienti PKU non è emersa una correlazione tra intake e valori plasmatici, al contrario si è osservata un correlazione negativa tra valori plasmatici di B12 ed età, con valori di B12 più elevati in età pediatrica (1-14 a.) **Conclusioni** I dati preliminari indicano valori plasmatici elevati di vitamina B12 nella popolazione PKU, soprattutto in età pediatrica, nonostante apporti dietetici non superiori ai fabbisogni. Tra le possibili cause si ipotizzano l’aderenza all’assunzione dei sostituti proteici in più momenti della giornata, una diversa biodisponibilità o alterazioni del microbiota intestinale. Considerati i potenziali effetti avversi dell’eccesso di B12, questi risultati sollecitano una riflessione non solo sulla prevenzione delle carenze, ma anche sull’adeguatezza complessiva dell’apporto vitaminico nella dieta del paziente PKU

**ID: 73 - Esclusione di polioli e edulcoranti nell’ intolleranza ereditaria al fruttosio: una revisione sull’appropriatezza delle restrizioni**

**Giulia Bruni**<sup>1</sup>, Valentina Pierattini<sup>1</sup>, Annalisa Finizii<sup>2</sup>, Juri Zuvadelli <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Unità Professionale di Dietetica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> Dipartimento della Donna e Materno Infantile, Ospedale San Paolo, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano

**Introduzione** L’ intolleranza ereditaria al fruttosio (HFI) è una patologia causata dal deficit dell’enzima aldolasi B che causa l’accumulo intracellulare di fruttosio-1-fosfato determinando tossicità cellulare, danni epatici e renali, e gravi alterazioni metaboliche sistemiche. La gestione dietetica richiede l’esclusione di fruttosio, saccarosio e sorbitolo. Tuttavia, la “sicurezza” di alcuni zuccheri o dolcificanti (mannitolo, isomalto, maltitolo, eritritolo, mannosio, xilitolo, glicosidi steviolici, sucralosio) rimane controversa. Questo lavoro valuta criticamente il potenziale impatto di tali molecole sul metabolismo del fruttosio-1-fosfato. **Metodi** È stata condotta una revisione narrativa della letteratura, con approccio a cascata. **Risultati** Il mannitolo, seppur assorbito in misura limitata (~25%), potrebbe essere parzialmente convertito (7-10%) in fruttosio, anche se la via metabolica non è nota; per questo è prudentiale limitarne l’assunzione nell’HFI. Isomalto e maltitolo (assorbiti rispettivamente per circa il 10% e il 40%) possono liberare sorbitolo a livello intestinale, contribuendo potenzialmente al carico epatico di fruttosio. L’eritritolo, assorbito quasi completamente (~90%) e non metabolizzato, viene escreto immodificato per via urinaria, risultando sicuro. Il mannosio, una volta fosforilato a mannosio-6-fosfato, confluisce nella glicolisi come fruttosio-6-fosfato, suggerendo un profilo di sicurezza, pur in assenza di dati clinici specifici. Lo xilitolo, assorbito per il 50%, può essere parzialmente metabolizzato a xilosio-5-fosfato e successivamente a fruttosio-6-fosfato, senza coinvolgere il metabolismo del fruttosio-1-fosfato. Glicosidi steviolici e sucralosio non subiscono trasformazioni in metaboliti coinvolti nel metabolismo del fruttosio-1-fosfato, ma

va considerata la possibile presenza di contaminanti nei prodotti commerciali. **Conclusioni** La dieta per l’HFI prevede l’esclusione di questi composti che possono incrementare il carico epatico di fruttosio. Dolcificanti come eritritolo e alcuni edulcoranti di sintesi non nutritivi rappresentano alternative potenzialmente sicure. Questa revisione teorica, basata su evidenze biochimiche e farmacocinetiche in assenza di dati clinici sistematici, evidenzia l’urgenza e la necessità di studi clinici che esplorino in modo strutturato la tolleranza a questi composti nella HFI, al fine di ottimizzare le raccomandazioni dietetiche bilanciando sicurezza e qualità di vita.

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 81 - Apporto proteico nel primo anno di vita: effetti su crescita e controllo metabolico nella PKU**

**Juri Zuvadelli**<sup>1</sup>, Valentina Rovelli<sup>1</sup>, Sabrina Paci<sup>1</sup>, Elisabetta Salvatici<sup>1</sup>, Raed Selmi<sup>1</sup>, Annalisa Finizii<sup>1</sup>, Alice Re Dionigi<sup>1</sup>, Elvira Verduci<sup>2</sup>, Graziella Cefalo<sup>1</sup>, Giuseppe Banderali<sup>1</sup>

<sup>1</sup> S.C. Pediatria - Dipartimento della Donna e Materno Infantile, Ospedale San Paolo, ASST Santi Paolo e Carlo, Milano, <sup>2</sup> Unità malattie metaboliche Dipartimento di Pediatria Ospedale dei Bambini Vittore Buzzi, Milano

**Introduzione** La dietoterapia della fenilchetonuria (PKU) nel neonato prevede l’introduzione di formule amminoacidiche prive di fenilalanina, associate a latte materno o latte in formula. Le formule specifiche disponibili differiscono per caratteristiche fra cui la concentrazione di proteine equivalenti. Non esistono indicazioni univoche sull’apporto proteico ottimale nella PKU nella prima infanzia, né sul suo impatto su crescita e controllo metabolico. La letteratura suggerisce la necessità di un apporto proteico superiore rispetto alla popolazione generale per compensare la minore qualità proteica, ma non è noto se in questa casistica ciò aumenti il rischio di sovrappeso. Questo studio retrospettivo valuta l’impatto di formule specifiche con apporto di proteine equivalenti più elevato (HP) o più basso (LP) su parametri antropometrici e controllo della fenilalanina (Phe) ematica. **Metodi** Sono stati analizzati retrospettivamente i dati di bambini con PKU diagnosticati allo SNE tra 2012 e 2021. Sono stati raccolti e confrontati i dati dietetici, antropometrici e biochimici (Phe da DBS) all’introduzione della dieta ed a 3, 6, 9, 12 e 24 mesi. I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi in base alla formula utilizzata nel primo anno: HP (2.9 g/100 kcal) e LP (~2.0 g/100 kcal). **Risultati** Sono stati inclusi 38 pazienti (19F), con Phe plasmatica pre-trattamento media di  $1298.9 \pm 726 \mu\text{mol/l}$  e inizio dieta a  $13 \pm 3$  giorni. Il gruppo HP (n=17) ha ricevuto un apporto proteico medio significativamente superiore rispetto al gruppo LP (n=21) nel primo anno (2.5 vs 2.2 g/kg/die; p=0.0002), a fronte di un apporto calorico simile (106 vs 108 kcal/kg/die). I livelli medi di Phe ematica erano sovrapponibili (200.2 vs 200.0  $\mu\text{mol/l}$ ), ma la variabilità era significativamente inferiore nel gruppo HP (coeff. di variazione 0.51 vs 0.71; p=0.001). A 2 anni, il gruppo HP mostrava un Weight-for-Length z-score significativamente più elevato (0.85 vs 0.23; p=0.04). **Conclusioni** Le formule a maggiore contenuto proteico sembrano associarsi a maggiore stabilità della Phe ematica, ma potrebbero aumentare il rischio di sovrappeso già entro i 2 anni. Questi dati preliminari necessitano di conferma con un numero maggiore di pazienti e con follow-up a lungo termine e confermano la necessità di un’attenta valutazione dell’apporto proteico nel primo anno di vita

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 117 - Comportamento alimentare nei pazienti pediatrici in terapia dietetica per malattie metaboliche ereditarie: studio osservazionale in un centro di riferimento regionale**

**Alice Dianin**<sup>1</sup>, Pamela Massa<sup>1</sup>, Aurora Favaro<sup>1</sup>, Michele Piazza<sup>2</sup>, Irene Cunial<sup>1</sup>, Davide Mattei<sup>1</sup>, Livia Rinaldi<sup>3</sup>, Gaetano Cantalupo<sup>3</sup>, Giorgio Piacentini<sup>2</sup>, Laura Rubert<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centro Regionale per lo Screening Neonatale, la Diagnosi e il Trattamento delle Malattie Metaboliche Ereditarie, U.O.C. Pediatria C, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona, Italia, <sup>2</sup> U.O.C. Pediatria C, Dipartimento di Scienze Chirurgiche, Odontostomatologiche e Materno-Infantili, Università di Verona, Verona, Italia., <sup>3</sup> Centro per la Ricerca sull’Epilessia in Età Pediatrica (CREP); U.O.C. Neuropsichiatria Infantile, Azienda Ospedaliera Universitaria di Verona, Italia; Sezione di Biomedicina Innovativa, Dipartimento di Ingegneria per la Medicina di Innovazione, Università di Verona

**Introduzione:** Molte malattie metaboliche ereditarie (MME) richiedono terapie dietetiche con limitazioni diverse su alimenti o modalità di alimentazione. La letteratura indica un rischio di disturbi della nutrizione e dell’alimentazione in bambini con patologie croniche che necessitano di diete, suggerendo che quest’ultime possano essere un fattore

predisponente. Questo studio indaga il comportamento alimentare di pazienti con MME in dietoterapia, valutando la presenza di disturbi alimentari.

**Metodi:** Studio osservazionale trasversale condotto nel 2025 su pazienti 8-18 anni, affetti da MME in terapia dietetica privativa (alimenti vietati) o limitante (limitate porzioni o digiuno controllato) afferenti presso il centro di riferimento MME di Verona. Sono stati utilizzati tre strumenti: Scale SAFA (ansia, somatici e ipocondria, depressione, ossessivo-compulsivo, disturbi alimentari psicogeni); questionari Neofobia e DietQualityQuestionnaire.

**Risultati:** Sono stati inclusi 27 pazienti (età 10,5 anni  $\diamond\diamond 3,2$ ); 59% maschi. 5 aminoacidopatie; 12 FAODs; 7 difetti dei carboidrati; 3 acidurie organiche. 67% con diagnosi da SNE. 74% a rischio di scompenso metabolico. L'85,2% ha iniziato la dieta tra 0 e 3 anni. 33% sovrappeso/obeso, 55,6% neofobico, 63% presenta delle alterazioni alle Scale SAFA. Sottoscale disturbi alimentari psicogeni: anormale in 5 pazienti (11%) con tendenze bulimia (3), anoressia (1), accettazione corpo (1), anoressiaaccettazione corpo (1). Scarsa aderenza alla dieta nel 26%, con consumo di alimenti vietati nelle 24 ore precedenti. La maggior parte dei pazienti aveva bassa varietà alimentare (DDS mediana 4; range 0-10). I gruppi alimentari consumati erano inferiori a quelli prescritti dalla dieta personale (mediana 34%, range 4-65%). Nel sottogruppo con diete limitanti (52%), lo score di dieta sana per la prevenzione delle noncommunicable diseases è medio (GDR mediana 9; range 0-18).

**Discussione e conclusioni:** L'elevata prevalenza di neofobia, la scarsa varietà alimentare e la tendenza all'autorestrizione, suggeriscono un potenziale impatto sul rapporto con il cibo e rischio nutrizionale, senza differenze significative tra pazienti metabolici in terapia dietetica. Tali risultati rendono necessari interventi di screening psicologici e nutrizionali nelle tappe di sviluppo, mirati a promuovere un'adequata relazione con il cibo e una buona qualità alimentare per la prevenzione delle noncommunicable diseases in età adulta.

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 128 - Apporti dietetici e livelli plasmatici di vitamina B12 in una coorte di pazienti pediatrici affetti da fenilchetonuria**

Giulia Bruni<sup>1</sup>, Giacomo Menci<sup>2</sup>, Giusi Maria Scaturro<sup>3</sup>, Valentina Pierattini<sup>1</sup>, Elena Procopio<sup>3</sup>

<sup>1</sup> UP Dietetica, AOU Meyer IRCCS, Firenze, <sup>2</sup> Università degli Studi di Firenze, Facoltà di Scienze della Salute Umana, Corso di laurea in Dietistica, <sup>3</sup> SOC Malattie Metaboliche e Muscolari Ereditarie, AOU Meyer IRCCS, Firenze

**Introduzione:** La fenilchetonuria (PKU) è una rara malattia metabolica ereditaria che richiede una rigorosa dietoterapia. In alcune fenotipi, tale regime è molto restrittivo e necessita di integrazione con sostituti proteici privi di fenilalanina (PHE), con conseguente rischio di carenze o eccessi di micronutrienti essenziali. Questi vengono assunti prevalentemente con i sostituti proteici o con gli integratori multivitaminici. Questo studio valuta gli apporti dietetici e i livelli sierici di vitamina B12 (B12) in pazienti pediatrici con PKU, esaminando l'adequatezza, gli squilibri (inclusa l'ipervitaminosi) e l'impatto delle diverse fonti di assunzione sui livelli sierici. **Metodi:** Analisi retrospettiva su 38 pazienti (età 2-18 anni) seguiti presso l'AOU Meyer IRCCS di Firenze. I dati raccolti includevano età, sesso, parametri antropometrici, apporto di B12 da miscele aminoacidiche, integratori ed alimenti naturali consentiti, livelli sierici di cobalamina e altri parametri biochimici. Le analisi statistiche hanno incluso confronti tra gruppi stratificati per fonte di assunzione, età e tolleranza alla PHE, nonché correlazioni tra variabili nutrizionali e biochimiche. **Risultati:** È stata rilevata una frequente condizione di ipervitaminosi: oltre il 60% dei pazienti presentava livelli sierici >1000 pg/mL e più del 25% >2000 pg/mL. Tali valori non mostravano una correlazione statisticamente significativa con l'apporto totale di B12, suggerendo il ruolo di altri fattori, come la biodisponibilità e la modalità di somministrazione. È emersa una chiara associazione con la fonte: i pazienti che assumevano B12 esclusivamente da miscele aminoacidiche mostravano concentrazioni sieriche significativamente più alte rispetto a chi la assumeva da integratori. **Conclusioni:** L'apporto di B12 tramite miscele aminoacidiche, pur garantendo uno stato adeguato, può condurre a livelli sierici elevati, indipendentemente dalla quantità assunta. L'assenza di relazione con l'apporto totale suggerisce che forma e biodisponibilità della vitamina influenzino significativamente lo stato cobalaminico. I risultati sottolineano l'importanza del monitoraggio biochimico per prevenire squilibri, suggerendo la necessità di riconsiderare l'approccio alla supplementazione, specialmente in relazione alle miscele aminoacidiche, e aprendo nuove prospettive di ricerca sulla biodisponibilità e composizione dei sostituti proteici per ottimizzare la supplementazione nei pazienti con PKU.

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 137 - Lo stile alimentare di bambini e giovani adulti affetti da PKU dopo liberalizzazione della dietoterapia con l’uso di sapropterina: quanto aderiscono alla dieta mediterranea**

Albina Tummolo<sup>1</sup>, Mariagrazia Tocci<sup>1</sup>, Rosa Carella<sup>1</sup>, Giulia Paterno<sup>1</sup>, Giada De Ruvo<sup>1</sup>, Vito Di Tullio<sup>1</sup>, Donatella De Giovanni<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche e Genetiche Rare, Ospedale Pediatrico Giovanni XXIII

**Introduzione**

La dieta mediterranea (DM) è un modello nutrizionale ispirato allo stile alimentare tradizionale dei paesi dell’area Mediterranea, associato a un rischio ridotto di malattie cardiovascolari. La fenilchetonuria (PKU) vede come trattamento principale un regime dietetico che riprende molti aspetti della DM, proponendo un maggiore consumo di proteine vegetali e un basso contenuto di proteine animali.

**Metodi**

Abbiamo condotto uno studio trasversale su bambini e giovani adulti affetti da PKU, che hanno liberalizzato la dieta con l’utilizzo della sapropterina, e su soggetti sani confrontabili per sesso ed età. Sono stati utilizzati tre questionari: KIDMED (Mediterranean Diet Quality Index) per bambini con età compresa tra 2 e 17 anni, e PREDIMED (PREvencion con DIeta MEDiterranea) per soggetti di età superiore a 17 anni. Entrambi restituiscono uno score di aderenza alla DM classificabile come: scarsa, intermedia, alta. Per la fascia di età >17 anni, è stato sviluppato un questionario ad hoc (Interesting Fact about PKU-Adults (IFA-PKU)) per valutare le motivazioni psicosociali associate alle scelte alimentari, le pratiche alimentari e lo stile di vita dei soggetti PKU.

**Risultati**

La maggior parte dei bambini PKU, età mediana 8aa (range 4-12), F 54%, ha un’aderenza intermedia alla DM, nel 25% dei casi una scarsa aderenza, statisticamente più elevata rispetto ai controlli (14%). Anche i giovani adulti PKU, età mediana 23aa (range 18-34), F 43%, hanno presentato maggiore percentuale di aderenza intermedia alla DM (81% vs 65%). In questo gruppo, nessun soggetto ha presentato elevata aderenza alla DM, a differenza del gruppo controllo (0% vs 18%). I pazienti PKU sia bambini che adulti, consumano più verdura e frutta rispetto ai pari, e meno frutta secca e legumi. I bambini PKU consumano più dolci e zuccheri semplici rispetto ai coetanei (p= 0,008); gli adulti consumano più carni rosse (p= 0,002) e maggior quantità di condimenti (p=0,002).

**Conclusione**

Sia bambini che giovani adulti PKU pur presentando un’aderenza intermedia alla DM, hanno mostrato preferenze alimentari statisticamente diverse rispetto ai pari: i bambini verso i dolciumi, gli adulti verso alimenti grassi. I risultati di questo studio possono permettere una maggiore focalizzazione dell’educazione alimentare dopo la liberalizzazione della dieta, che dovrebbe essere tesa a ridurre gli squilibri nutrizionali, probabile retaggio della precedente limitazione all’assunzione di proteine

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 144 - Impatto della dieta libera sul profilo vitaminico e lipidico nei pazienti con Fenilchetonuria trattati con Pegvaliase**

Christian Loro<sup>1</sup>, Chiara Cazzorla<sup>1</sup>, Andrea Puma<sup>1</sup>, Elena Porcù<sup>1</sup>, Giacomo Gaiga<sup>1</sup>, Alessandro Burlina<sup>2</sup>, Alberto Burlina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> UOC Malattie Metaboliche Ereditarie, Azienda Ospedale Università di Padova, <sup>2</sup> Struttura complessa di Neurologia, Ospedale San Bassiano , Bassano del Grappa (VI)

Introduzione: La fenilchetonuria (PKU) è una malattia metabolica rara trattata sin dai primi giorni di vita con una dieta ipoproteica arricchita con miscele aminoacidiche . L’introduzione della terapia di riduzione del substrato (Pegvaliase) ha consentito in alcuni pazienti la completa liberalizzazione della dieta.

Obiettivi: Abbiamo analizzato le modificazioni nei parametri biochimici (omocisteina, folati, vitamina B12 e profilo lipido) e nella composizione della dieta (grassi saturi, carboidrati semplici, vitamina B12 assunta) in pazienti adulti con PKU sottoposti a liberalizzazione dietetica dopo trattamento con Pegvaliase.

Metodi: Cinque pazienti adulti con PKU classica (età media 31 ± 9 anni) sono stati valutati al basale (T0) e sei mesi dalla liberalizzazione (T2). Le variabili sono state analizzate tramite t-test per campioni appaiati e regressione lineare (significatività p<0.05).

**Risultati:** I folati plasmatici si sono ridotti significativamente da  $19,18 \pm 8,63$  a  $7,50 \pm 3,87$   $\mu\text{g/L}$  ( $p = 0.025$ ), mentre l'omocisteina è aumentata da  $8,65 \pm 1,96$  a  $10,44 \pm 2,18$   $\mu\text{mol/L}$  ( $p = 0.110$ ). I livelli plasmatici di vitamina B12 si sono ridotti da  $620,8 \pm 365,2$  a  $458,4 \pm 142,8$   $\text{ng/L}$  ( $p = 0.213$ ), nonostante un intake dietetico stabile ( $t_0$ :  $3,78 \pm 1,92$  vs  $t_2$ :  $3,98 \pm 2,16$   $\mu\text{g/die}$ ;  $p = 0.821$ ), suggerendo un possibile disallineamento tra apporto per os e disponibilità sistemica. Il colesterolo totale è aumentato da  $3,59 \pm 0,81$  a  $4,14 \pm 0,69$   $\text{mmol/L}$  ( $p = 0.078$ ), mentre i trigliceridi sono diminuiti da  $0,79 \pm 0,32$  a  $0,56 \pm 0,16$   $\text{mmol/L}$  ( $p = 0.098$ ). La riduzione dell'apporto di glucidi semplici da 17,7% a 13,7% ( $p = 0.114$ ) è risultata significativamente correlata alla riduzione dei trigliceridi ( $r = -0.948$ ;  $p = 0.014$ ), indicando un potenziale beneficio metabolico.

**Conclusioni:** La liberalizzazione della dieta in pazienti con PKU trattati con Pegvaliase si associa a una significativa deplezione dei folati plasmatici e a una discrepanza tra intake e livelli sierici di vitamina B12, con potenziale rischio per l'equilibrio metabolico dell'omocisteina. La composizione qualitativa della dieta, in particolare la riduzione dell'apporto di carboidrati, appare influenzare favorevolmente i livelli di trigliceridi. Questi risultati sottolineano la necessità di un monitoraggio nutrizionale continuativo, anche nella fase post liberalizzazione della dieta, prestando maggiore attenzione alla biodisponibilità dei micronutrienti e alla qualità della dieta.

TOPIC: 5 - La dietetica nelle malattie metaboliche ereditarie

**ID: 148 - Effetti sull'andamento dei BCAA di un paziente MSUD in dieta autoregolata** (L'abstract non partecipa alla selezione per le CO)

roberta pretese<sup>1</sup>, cristina Bonfanti<sup>1</sup>, viola Crescitelli<sup>1</sup>, Martha Caterina Faraguna<sup>1</sup>, Anna Commone<sup>2</sup>, Serena Gasperini<sup>1</sup>

<sup>1</sup> SS Malattie Metaboliche Ereditarie, clinica pediatrica, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza, <sup>2</sup> Centro Malattie Rare, Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori, Monza

**Background:** le opzioni terapeutiche attuali per la leucinosi (MSUD) sono il trapianto epatico oppure una dieta strettamente ipoproteica; la dieta prevede un apporto limitato di leucina da alimenti di origine naturale a cui si associa un'integrazione di miscele amminoacidiche prive di amminoacidi ramificati (BCAA) che soddisfano il fabbisogno proteico giornaliero. Per le MSUD classiche l'apporto di leucina proposto giornalmente è solitamente fisso e viene ridotto in caso di intercorrenze o di riscontro di valori elevati di leucina plasmatica ai controlli periodici. La rigidità della dieta ha un forte impatto sulla qualità di vita dei pazienti e sui loro caregivers. **Metodi:** abbiamo valutato l'andamento di 7 anni degli amminoacidi ramificati di un paziente affetto da MSUD forma classica in dieta "convenzionale" con un apporto di leucina di 350 mg/die, con l'andamento di 7 anni dello stesso paziente in dieta "autoregolata". Nella dieta autoregolata il paziente segue uno schema fisso composto da una parte calorica aproteica e proteine di sintesi da miscela amminoacidica priva di BCAA, a cui aggiunge seguendo il proprio appetito una quota di leucina da verdura oppure piccole porzioni di yogurt, legumi, snack dolci o gelato, tutti in porzione variabile e non pesata. La parte calorica considerata aproteica è composta da alimenti aproteici del commercio, frutta, succo di frutta, bevanda aproteica, olio extravergine d'oliva. In caso di inappetenza non aggiunge la quota di leucina. Il paziente testa i BCAA plasmatici circa 1 volta al mese. Prosegue con l'integrazione di valina ed isoleucina stabilita. **Risultati:** L'andamento dei BCAA nei 7 anni di dieta convenzionale e dei 7 anni di dieta autoregolata sono sovrapponibili. Il paziente dichiara un miglioramento notevole della propria qualità di vita e della propria autonomia personale con una riduzione dell'impegno di pesare gli alimenti e di scegliere se e quanto assumere alimenti che contengono leucina. **Conclusione:** una dieta autoregolata è possibile per i pazienti MSUD e garantisce un aumento della compliance e dell'aderenza dietetica, soprattutto per il paziente adolescente/adulto. Non è applicabile a tutti i pazienti e serve un controllo dei BCAA plasmatici frequente.