

ABSTRACT

*VIII Congresso Annuale SIMMESN
Roma, 29.30 Novembre e 1 Dicembre 2017*

Effetto di EPI-743 sul danno visivo in pazienti con difetto di Cobalamina C: uno studio randomizzato in doppio cieco controllato con placebo

Martinelli D¹, Diodato D¹, Ricci D⁵, Falsini B³, Iarossi G², Olivieri G¹, Ceravolo F¹, Gambardella M⁵, Ferrantini G⁵, Donati A⁴, Menni F⁶, Mercuri E⁵, Dionisi Vici C¹

¹U.O.C Pat Metab Osp Bambino Gesù IRCCS, Roma, ²U.O.C Oculistica Osp Bambino Gesù IRCCS, Roma, ³Ist Oftalmologia, Univ Catt Sacro Cuore, Roma, ⁴Mal Metabol e Musc Ereditarie Osp. Meyer, Firenze, ⁵Ist Neuropsich Inf Univ Catt Sacro Cuore, Roma, ⁶U.O Pediat Fond Ca' Granda Osp Maggiore, Milano

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Il difetto di Cobalamina C (CblC) è il più comune errore genetico del metabolismo della cobalamina. Nonostante la terapia standard l'outcome a lungo termine nei pazienti ad esordio precoce è sfavorevole, con progressivo danno visivo e neurologico. Si ipotizza che un'alterazione dello stato redox contribuisca alla patogenesi. EPI-743 è un farmaco antiossidante sperimentale sviluppato per malattie dello stato redox. Abbiamo quindi valutato gli effetti di EPI-743 sul danno visivo e neurologico in pazienti (pz) con difetto di CblC.

METODI / PAZIENTI: 30 pz con difetto di CblC (età 2-22 anni), 17 con maculopatia, 13 senza maculopatia, sono stati arruolati in un trial randomizzato in doppio cieco e assegnati al trattamento di 6 mesi con EPI-743 o placebo. Dopo 6 mesi tutti i pz sono stati inseriti nel braccio del trattamento per altri 6 mesi. I pz sono stati inoltre valutati 6 mesi prima e 6 mesi dopo la fine del trial, per confrontare i risultati con la storia naturale individuale. Endpoint primario: miglioramento del 20% della acuità visiva. Endpoint secondari: miglioramento degli esami elettrofisiologici (PEV flicker) e/o della funzione neurologica.

RISULTATI: EPI-743 ha causato miglioramento ($p < 0.05$) dell'acuità visiva nel 37% dei pz. La giovane età (< 4 anni) e l'assenza di maculopatia sono stati i fattori predittivi di risposta. Si è osservato un incremento significativo dell'ampiezza dei PEV, soprattutto nei pz senza maculopatia ($p = 0.03$). Non vi sono state modifiche della funzione neurologica. 5/30 pz sono stati esclusi dallo studio in quanto non valutabili durante le visite di controllo, 1 pz è stato perso al follow-up.

DISCUSSIONE: EPI-743 ha migliorato alcuni aspetti della funzione visiva in pz con difetto di CblC di età inferiore a 4 anni senza maculopatia. Questi risultati saranno confermati con uno studio multicentrico su una coorte di pz più ampia e omogenea.

Spettro fenotipico nelle macrodelezioni del mtDNA (s. di Pearson/Kearns-Sayre): studio retrospettivo su 17 pazienti

Diodato D^{1,2}, Martinelli D¹, Olivieri G¹, Catteruccia M², Taurisano R¹, Boenzi S¹, Rizzo C¹, Semeraro M¹, Carozzo R², Torraco A², Verrigni D², Maiorana A¹, Longo D³, Deodato F¹, Cappa M⁴, Bertini E², Dionisi-Vici C¹

¹Div Metabolism, OPBG, Roma, ²Neuromuscular Unit, OPBG, Roma, ³Radiology Unit, OPBG, Roma, ⁴Endocrinology Unit, OPBG, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La macrodelezione del mtDNA è il primo difetto genetico associato a malattia mitocondriale nell'uomo. Tale difetto insorge in maniera sporadica verosimilmente da un alterato meccanismo di replicazione o riparazione del mtDNA, e causa tre quadri sindromici, i quali rappresentano un continuum fenotipico: la sindrome di Pearson-Marow (PMS), la sindrome di Kearns-Sayre (KSS) e l'Oftalmoplegia Esterna Progressiva (PEO).

METODI / PAZIENTI: Descriviamo 17 pazienti pediatrici osservati presso l'Ospedale Bambino Gesù, 7 con PMS e 10 con KSS.

RISULTATI: PMS: 7/7 sintomi ematologici (3/7 anemia; 4/7 insufficienza midollare trilineare), 1/7 sottoposto a trapianto di midollo, 4/7 deceduti; 2/7 esordio con insufficienza epatica acuta. KSS: 9/10 bassa statura, sintomi neurologici e cardiologici; 7/10 disturbi psichiatrici. La risonanza magnetica cerebrale ha mostrato, oltre al pattern tipico della KSS, lesioni midollari in 4/17 pazienti. Disturbi endocrini: metabolismo glucidico 1 PMS/3 KSS, ipoparatiroidismo 2 PMS/2 KSS,

iposurrenalismo 10/13 pazienti totali. La *delezione comune* è stata riscontrata in 1/7 PWS e 4/10 KSS.

DISCUSSIONE: Lo studio di questa casistica, la più ampia afferente ad un singolo centro pediatrico, oltre a confermare gli aspetti tipici delle macrodelezioni del mtDNA, evidenzia alcune novità fenotipiche quali la presenza di lesioni della corda midollare e l'alta frequenza di insufficienza surrenalica subclinica.

Le modifiche nutrizionali e biochimiche post-trapianto di fegato nei pazienti metabolici

Liguori A¹, Maiorana A¹, Bernabei S², Liccardo D⁹, Basso S⁹, Candusso M⁹, Cotugno G¹, Grimaldi C⁴, Martinelli D¹, Caviglia S³, Goffredo B⁵, Rizzo C⁵, Semeraro M⁵, Cairoli S⁵, Donati A⁷, Parenti G⁶, Biasucci G⁸, Spada M⁴, Torre G⁹, Dionisi Vici C¹

¹UO Pat Met, Osp Pediatrico Bambino Gesù, Roma, ²UO Nutr Art, Osp Ped Bambino Gesù, Roma, ³UO Psic Clin, Osp Ped Bambino Gesù, Roma, ⁴UO Ch Epat-biliare, Osp Ped Bambino Gesù, Roma, ⁵Lab Bioc Metab, Osp Ped Bambino Gesù, Roma, ⁶UO Malattie Metaboliche, Osp Federico II, Napoli, ⁷Mal Met Musc Ered, Dip Neuroscie, Meyer, Firenze, ⁸UO Ped Neonat Osp Guglielmo da Saliceto, Piacenza, ⁹UO Epat Gastr Nutr, Osp Ped Bambino Gesù, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Il trapianto di fegato (LTx) è un'opzione terapeutica efficace in diverse malattie metaboliche collegate al metabolismo degli aminoacidi. Mentre in alcune si raggiunge la quasi completa remissione, in altre l'obiettivo è quello di prolungare la sopravvivenza, migliorare l'evoluzione clinica e la qualità della vita. Abbiamo valutato l'impatto del LTx sull'evoluzione di malattia mediante la stima delle variazioni della tolleranza proteica, dei valori biochimici e dell'andamento clinico.

METODI / PAZIENTI:

Sono stati valutati 21 pazienti sottoposti a LTx presso la nostra struttura dal 2009 ad oggi: 6 UCD (3 ASA, 2 OTC, 1 CPS), 5 HT1, 3 MMA, 2 PA, 5 MSUD. Sono stati analizzati i dati nutrizionali e i parametri biochimici specifici delle singole malattie pre e post-LTx.

RISULTATI:

20 su 21 pazienti sono in dieta normoproteica al follow-up; la tolleranza proteica è significativamente aumentata nei pazienti UCD (da 0,6 a 2,4g/kg, p=0,004) e nei pazienti MSUD (da 0,3g/kg a 1,3 g/kg, p=0,003), raggiungendo e a volte superando l'RDA a 3 mesi dal LTx. Anche i pazienti MMA/PA hanno raggiunto l'RDA proteico in 3 mesi (da 1g/kg a 1,3g/kg, p=0,17). Sono risultati significativamente ridotti i seguenti biomarcatori plasmatici: MMA (p=0,0001) nei pazienti MMA e leucina (p=0,0008)/alloisoleucina (p=0,0001) nei pazienti MSUD a 6 mesi dal LTx. Abbiamo osservato in 2 pazienti (MMA e MSUD) 3 episodi di scompenso nei 18 mesi di follow-up.

DISCUSSIONE:

La tolleranza proteica si è normalizzata secondo RDA in tutti i pazienti a soli tre mesi dal LTx, ad eccezione di un paziente MSUD che necessita di dieta moderatamente ipoproteica e miscela aminoacidica. Parallelamente è stato ottenuto un miglioramento biochimico della qualità di vita e dell'evoluzione clinica con riduzione/scomparsa degli episodi di scompenso. La terapia specifica è stata sospesa in tutti i pazienti, ad eccezione della carnitina nelle organico acidurie.

Dosaggio dei lisosfingolipidi su spot di sangue mediante LC-MS/MS: nuovi biomarker di sfingolipidosi

Polo G¹, Burlina A², Colucci F¹, Rubert L¹, Pascarella A¹, Cazzorla C¹, Burlina A¹

¹Div Inh Metab Dis, Univ Hosp, Padova, ²Neurology Unit, San Bassiano Hosp, Bassano del Grappa

INTRODUZIONE/BACKGROUND: I lisosfingolipidi, le forme N-deacetilate degli sfingolipidi, sono stati identificati come biomarcatori di diverse sfingolipidosi, come le malattie di Gaucher(GD), Fabry(FD), Niemann-Pick(NP) e GM1 e GM2 gangliosidosi(GM1 e GM2)(Polo et al, CCLM 2017). Presentiamo un nuovo test LC-MS/MS per la quantificazione su spot di sangue (DBS) dei seguenti lisosfingolipidi: Esosilsfingosine(Psicosina+Glucosilsfingosina)(HexSph), globotriaosilsfingosina(LysoGb3), lisosfingomielina(LysoSM) e lisosfingomielina-509(LysoSM509), lisoganglioside GM1(LysoGM1) e lisoganglioside GM2(LysoGM2).

METODI: DBS di controlli sani e pazienti con sfingolipidosi(FD, GD e NP tipo A/B/C) sono stati

raccolti e conservati a -20°C prima dell'analisi. I lisosfingolipidi sono stati estratti da 3 mm di DBS con una miscela di MeOH:ACN:H₂O e standard interni (LysoSMd7 e HexSphd5). La separazione cromatografica è stata eseguita usando una colonna C18 con gradiente di acqua e ACN 0,1% acido formico in un tempo di 4 minuti. I composti sono stati rilevati mediante ESI-MS/MS in modalità positiva.

RISULTATI: Il metodo è stato validato testando specificità, linearità, sensibilità e precisione. I coefficienti di variazione intra e inter-day sono risultati < 15% per tutti i metaboliti. I valori di riferimento sono stati determinati su controlli pediatrici e adulti ed è stato eseguito uno studio di correlazione con i campioni di plasma determinando i bias tra le due matrici. Nei pazienti, elevati livelli di lisosfingolipidi sono identificati negli affetti da GD (HexSph), FD (LysoGb3), GM1 (LysoGM1) e NP tipo A/B (LysoSM e LysoSM509). Per la NP tipo C il DBS ha dimostrato una minor sensibilità rispetto al plasma.

DISCUSSIONE: Questo metodo in LC-MS/MS permette una rapida quantificazione dei lisosfingolipidi su DBS per la diagnosi di sfingolipidosi e per il monitoraggio terapeutico. E' in corso la valutazione del test come second-tier test nello screening neonatale di FD, GD e NP A/B.

Ipoglicemia persistente in età pediatrica: contributo della NGS nella diagnosi degli errori congeniti del metabolismo

Ponzi E¹, Maiorana A¹, Lepri F², Mucciolo M², Novelli A², Sacchetti E¹, Antonetti G¹, Catesini G¹, Semeraro M¹, Dionisi-Vici C¹

¹*U.O. Pat Metab, OPBG, Roma, ²U.O. Lab Genet. Med., OPBG, Roma*

INTRODUZIONE/background: L'ipoglicemia è una rilevante causa di morbidità pediatrica e spesso è dovuta a errori congeniti del metabolismo (IEM) che si presentano con ampia eterogeneità clinica, biochimica, genetica. Abbiamo sviluppato una strategia rapida e accurata per la diagnosi molecolare di IEMs associate a ipoglicemia.

METODI / PAZIENTI: 64 pazienti con ipoglicemia persistente, valutati dal punto di vista clinico e biochimico, sono stati suddivisi in tre gruppi sulla base del sospetto diagnostico: a) singolo gene candidato (SGC, 9 pz), b) geni candidati multipli (MCG, 43 pz), c) nessun gene candidato (NH, 12 pz). I pazienti sono stati analizzati con un pannello NGS che comprende 68 geni-malattia che coprono le seguenti patologie: iperinsulinismo congenito (HI), difetti di β-ossidazione e chetogenesi (FAOD), glicogenosi (GSD) e altri difetti del metabolismo dei carboidrati, difetti di chetolisi, malattie mitocondriali

RISULTATI: Il sospetto diagnostico è stato confermato nel 78% dei casi nel gruppo SCG, nel 49% nel gruppo MCG e nel 33% nel gruppo NH (2 GSD 0, 1 HI, 1 HFI). La resa diagnostica nelle principali categorie di malattie è stata del 48% per HI, 100% per FAOD e deficit di chetogenesi, 58% per GDS e altri deficit di carboidrati (F1,6DFD e HFI), 67% malattie mitocondriali.

DISCUSSIONE: Nel 45% dei casi in cui caratteristiche cliniche/biochimiche non orientavano verso una specifica patologia, il pannello NGS ha permesso di ottenere una diagnosi rapida, superando l'eterogeneità genetica, con un migliore rapporto costo/beneficio rispetto al sequenziamento Sanger. Di particolare rilievo il riscontro di un 30% di diagnosi nella categoria NH, in pazienti con caratteristiche cliniche/biochimiche non suggestive di specifiche malattie. Possibili spiegazioni per i casi risultati negativi comprendono la presenza di mutazioni introniche/promotore o nuovi geni-malattia, per i quali altri approcci (es. studio esomico/genomico) potrebbero migliorare la resa diagnostica.

Glucosil-sfingosina (lyso-gb1) nuovo biomarker per la diagnosi e monitoraggio della malattia di Gaucher

Pascarella A¹, Rubert L¹, Polo G¹, Colucci F¹, Fasan I¹, Rossi A¹, Cazzorla C¹, Burlina A¹

¹*Div Inh Metab Dis, Univ Hosp, Padova, Padova*

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La malattia di Gaucher (GD) è una malattia d'accumulo lisosomiale causata dal deficit dell'enzima β-glucocerebrosidasi; ne consegue l'accumulo dei metaboliti Glucosilceramide e Glucosil-sfingosina (Lyso-Gb1). La chitotriosidasi, finora utilizzata come biomarker per la GD, ha dimostrato limiti nella diagnosi e scarsi risultati nel monitoraggio terapeutico. Recentemente il Lyso-Gb1 è stato introdotto come marker ad elevata sensibilità e specificità. Lo scopo del nostro studio è stato quello di valutare l'efficacia diagnostica di tale

marker e il ruolo nel monitoraggio di pazienti sottoposti a Terapia Enzimatica Sostitutiva (ERT).

METODI / PAZIENTI: Sono stati arruolati 11 pazienti GD (9 GD tipo 1, 1 tipo 2, 1 tipo 3) diagnosticati mediante dosaggio enzimatico ed analisi molecolare. Il Lyso-Gb1 plasmatico (nmol/l) è stato determinato mediante LC-MS/MS (Polo et al, CCLM 2017). Nei pazienti in ERT da più di 36 mesi (ERT>36), il Lyso-Gb1 è stato determinato prima dell'infusione del farmaco, in 4 pazienti alla diagnosi e dopo 12 e 24 mesi di ERT.

RISULTATI: Nei 4 pazienti alla diagnosi il valore di Lyso-Gb1 è stato di 442.5 nmol/L (range 649.9-338.5, vn 1.12-3.00). A 12 mesi dall'inizio della ERT è stata osservata una riduzione del 72% (media 124.1 nmol/L, range 83.5-233.2) e a 24 mesi del 82% (media 77.9 nmol/L, range 18-218) di Lyso-Gb1. Nei 7 pazienti in ERT>36 il valore di Lyso-Gb1 è stato di media 52.4 nmol/l (range 23.7-113.4). In 2 pazienti si è osservato una riduzione di Lyso-Gb1 dell'83% e del 65% con l'aumento della dose di farmaco rispettivamente di 30 unità e 8 unità proKg.

DISCUSSIONE: Il nostro studio conferma il ruolo Lyso-Gb1 come marcatore specifico di malattia di Gaucher e come possibile marker di monitoraggio terapeutico.

Biomarkers liquorali nei disturbi del movimento ad esordio infantile

Mastrangelo M¹, Commone A¹, Nardecchia F¹, Leuzzi V¹, Carducci C²

¹dip.Neuroscienze Umane Univ. La Sapienza, Roma, ²dip. Medicina Sperimentale La Sapienza, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Nonostante l'affermarsi delle tecniche di NGS per la diagnosi dei disturbi del movimento (DM), lo studio del liquor è tuttora il gold standard per la diagnosi delle malattie genético-metaboliche causa di DM. Presentiamo i dati ottenuti dal nostro laboratorio su liquor di bambini con DM seguiti presso il nostro centro.

METODI / PAZIENTI: Sono stati analizzati 171 campioni di liquor da 147 pazienti (pz) con DM a etiologia sconosciuta al momento del prelievo. Di questi, 18 con DM isolato e 129 sindromico (associato a ritardo mentale, epilessia ecc.). Sono stati analizzati i metaboliti delle amine biogene e le pterine. Di 72 pz erano disponibili anche i folati. In 69/147 pz è stata raggiunta una diagnosi definitiva.

RISULTATI: 52 pz presentavano alterazioni significative delle amine biogene; 18 con deficit primari: TH (5), DHPR (2), PTPS (4), AADC (3), DATd (1), SR (1), GTP-CH (2); 15 con disturbi secondari: Lesch Nyhan (1), Rett (1), KMT2B (1), PRKRA (1), Canavan (1), ac. glutarica (1), SPG11 (1), GLUT1 (1), s. di leigh (2), Cockayne (1), del17p13.3 (1), GNAO1 (1), SYNJ1 (1), AP1S2 (1) e 19 senza diagnosi. In 43/72 pz erano presenti alterazioni della MTHF liquorale. I livelli di MTHF erano bassi in 19 pz: senza diagnosi (12), PTPS (1), DHPR (1), Menkes (1), AP1S2 (1), SPG11 (1), GNAO1 (1), kcnh1 (1) ed aumentati in 24 pz: senza diagnosi (11), CMV congenito (1), Rett (1), PKU (2), Cockayne (1), Lesch Nyhan (1), DHDDS (1), TH (1), DHPR (1), Bickerstaff (1), GNAO1 (1), GLUT1 (1), ADCY5 (1). 11 pz non presentavano alterazioni liquorali Rett (1), CMV congenito (1), LMC (1), Opsoclono mioclono S (1), PLAG6A2 (1), senza diagnosi (6).

DISCUSSIONE: Il nostro studio evidenzia come circa il 10% dei pz con MD è affetto da un'alterazione metabolica primitiva potenzialmente trattabile. Circa il 8% mostra alterazioni verosimilmente secondarie. Un'alterazione dei folati liquorali occorre in numerose malattie metabolico/degenerative.

Aumento dello stress ossidativo nella malattia di Pompe. Un nuovo target terapeutico?

Tarallo A^{1,2}, Damiano C¹, Minopoli N¹, Coletta M¹, Porto C¹, Rossi B², Monti D³, Parenti G^{1,2}

¹Dip Sc Med Traslaz, Univ Federico II, Napoli, ²TIGEM, Pozzuoli (Na), ³Dip Scienze chimiche, Univ Federico II, Napoli

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La malattia di Pompe (MP), o Glicogenosi II, è una miopatia metabolica ereditaria causata dal deficit di alfa-glucosidasi acida (GAA). Nella MP tipiche anomalie istologiche sono l'accumulo intralisosomiale di glicogeno e il blocco dell'autofagia con conseguente eccesso di materiale autofagico. E' noto che l'autofagia rimuove dalle cellule specie reattive dell'ossigeno (ROS), mitocondri e proteine danneggiate. E' ipotizzabile che le alterazioni della via autofagica osservate nella MP contribuiscano a determinare stress cellulare e ossidativo che può risultare ulteriormente deleterio per muscoli e cuore.

METODI / PAZIENTI:

Abbiamo valutato in fibroblasti di pazienti con MP e nei tessuti del modello murino MP il livello di stress ossidativo e il suo effetto sulla efficacia della terapia enzimatica sostitutiva (ERT) con GAA ricombinante umana (rhGAA), ad oggi l'unico approccio farmacologico per la MP.

RISULTATI:

Saggi biochimici hanno mostrato elevati livelli di ROS e di perossidazione dei lipidi in fibroblasti MP e in alcuni organi del topo MP (cuore, quadricipite, gastrocnemio e diaframma) rispetto ai relativi controlli; negli stessi campioni abbiamo anche riscontrato ridotti livelli di glutatione e alterazione di pathways dello stress (p-ERK, pP38MAPK, Hsp27) e dell'autofagia (LC3, Beclin1). Inducendo aumento di stress nelle cellule (mediante starvation o trattamento con arsenito di sodio) abbiamo riscontrato una ridotta efficacia della ERT, rispetto alle cellule non trattate. Utilizzando farmaci che modulano l'autofagia o con effetti antiossidanti abbiamo ottenuto un'attenuazione dei marcatori alterati e una migliore internalizzazione della rhGAA.

DISCUSSIONE:

È ragionevole ipotizzare che queste anomalie secondarie contribuiscano ad aggravare le manifestazioni cliniche e a limitare l'efficacia della ERT; esse rappresentano potenziali bersagli terapeutici allo scopo di migliorare i danni cellulari e coadiuvare l'effetto della ERT.

Pattern clinico e biochimico associato con la mutazione c.347g > a (p.⋅arg116gln) del gene pnp0

Mastrangelo M¹, Di Salvo M³, Nogues I⁴, Tolve M², Paiardini A⁵, Carducci C², Mei D⁶, Montomoli M⁶, Tramonti A⁷, Guerrini R⁶, Contestabile R³, Leuzzi V¹

¹Neur Infant Sap Univ Roma, Roma, ²Med Sperim Sap Univ Roma, Roma, ³Dip Sc Bioc Sap Univ Roma, Roma, ⁴Biol Amb For CNR Roma, Roma, ⁵Biol Biotech Sap Univ Roma, Roma, ⁶Neur Ped Univ Firenze., Firenze, ⁷Biol Pat Mol CNR Roma, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Recenti studi hanno contribuito ad espandere il fenotipo del deficit di piridossal-5-fosfato ossidasi (PNPO) oltre il classico quadro dell'encefalopatia neonatale severa responsiva al solo piridossal-5-fosfato (PLP).

METODI / PAZIENTI:

Abbiamo raccolto dati clinici e biochimici per caratterizzare gli effetti della mutazione c.347G > A (p.Arg116Gln) del gene PNPO. La proteina mutante Arg116Gln è stata espressa come proteina ricombinante e caratterizzata rispetto alle sue caratteristiche strutturali, cinetiche, di termo stabilità e di capacità di legare il cofattore (FMN) e il prodotto (PLP). Abbiamo revisionato i dati clinici di 3 pazienti epilettici con questa mutazione.

RISULTATI:

La mutazione c.347G > A (p.Arg116Gln) non altera la struttura complessiva dell'enzima mentre la sua efficienza catalitica è solo leggermente influenzata, la sua stabilità termica è ridotta, la sua capacità di legare il FMN e di trasferire PLP agli enzimi di cui esso è dipendente sono anche esse ridotte. I tre pazienti epilettici esaminati hanno presentato crisi ad esordio tra 8 mesi e 3 anni a semeiologia variabile con varie tipologie di anomalie epilettiformi e rallentamento dell'attività di base all'EEG. Le crisi focali motorie e le crisi mioclonico-astatiche hanno rappresentato nuove tipologie di crisi mai associate in precedenza al deficit di PNPO. 2/3 pazienti presentavano ritardo delle acquisizioni psicomotorie. Tutti e 3 i pazienti sono stati trattati con piridossina con miglioramento del pattern EEG in Ciascuno di essi e con risoluzione delle crisi in uno di essi.

DISCUSSIONE:

I dati riportati supportano la patogenicità della mutazione c.347G > A (p.Arg116Gln) del deficit di PNPO. L'esordio più tardivo ed il fenotipo epilettico più lieve costituiscono elementi nuovi dati fenotipici per questa patologia.

Funzioni esecutive e funzioni adattive: PKU vs Autismo

Manti F¹, Trimarco B¹, Nardecchia F¹, De Leo S³, Melogno S¹, Meledandri G², Testa M¹, Penge R¹, Leuzzi V¹

¹Sapienza University, Roma, ²ASL ROMA1 UOSD Emerging Diseases, Roma, ³Policlinico Umberto I, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Le Funzioni Esecutive (FE) rappresentano un insieme di processi neurocognitivi che regolano il funzionamento adattivo, emotivo e sociale. In letteratura è ampiamente discusso il ruolo chiave delle FE nei soggetti affetti da disturbo dello spettro autistico (ASD) e da fenilchetonuria (PKU). L'obiettivo principale del lavoro è quello di valutare il rapporto tra l'emergenza delle disfunzioni esecutive, il profilo adattivo e gli aspetti emotivi in soggetti ASD e soggetti PKU, trattati alla nascita, al fine di caratterizzare fenotipi clinici specifici.

METODI / PAZIENTI: Sono stati inclusi 21 soggetti ASD ad alto funzionamento, 15 soggetti PKU e 14 soggetti di controllo (range 7-14 anni), comparabili per età e QI. Hanno effettuato una valutazione neurocognitiva, adattiva ed emotiva attraverso l'utilizzo di strumenti standardizzati (WISC-IV; Nepsy-II; ABAS-II; CBCL).

RISULTATI: Il profilo cognitivo di tutti i soggetti inclusi si colloca nel range di normalità. I soggetti ASD e quelli PKU presentano simili disfunzioni esecutive rispetto al campione di controllo. Dal confronto tra gruppi emergono i seguenti risultati: Nepsy-II: Inibizione, $p=.041$; Fluenza Grafica, $p=.002$; Switching, $p=.005$; Set di Risposte, $p=.005$. I soggetti ASD presentano difficoltà emotive (CBCL: Ansioso-depressiva, $p=.001$; Ritiro, $p=.000$; Problemi Sociali, $p=.006$; Problemi Internalizzanti, $p=.007$; Problemi Esternalizzanti, $p=.014$; Problemi Totali, $p=.000$) ed adattive (ABAS-II: Dominio Concettuale, $p=.004$; Dominio Sociale, $p=.000$; Dominio Pratico, $p=.003$; Dominio Adattivo Generale, $p=.001$).

DISCUSSIONE: Nonostante i deficit nelle FE siano simili tra i due gruppi clinici, i soggetti ASD manifestano difficoltà adattive e problematiche emotive mentre i soggetti PKU utilizzano strategie adattive più efficaci e funzionali nella vita quotidiana. Ciò supporta l'esistenza di una relativa indipendenza tra deficit nelle FE e funzionamento adattivo ed emotivo nei campioni clinici considerati.

Diagnosi differenziale delle forme ultra-rare di malattia perossisomiale

Semeraro M¹, Rizzo C¹, Boenzi S¹, Martinelli D¹, Wanders D², Ferdinandusse S², Ponzi E³, Catesini G¹, Sacchetti E¹, Novelli A⁴, Dionisi-Vici C¹

¹Div Metab Dis, Bambino Gesù' Child Hosp, Roma, ²Gen Med Instit, Catholic Univ, Roma, ³Gen Med Lab, Bambino Gesù' Child Hosp, Roma, ⁴Metab Gen Dis Lab, Amsterdam Univ, Amsterdam

INTRODUZIONE/BACKGROUND: È stato recentemente descritto in 3 pazienti un nuovo disordine perossisomiale (CADD5), dovuto a delezione di geni contigui con perdita di *BCAP31* e *ABCD1* localizzati in Xq28. Un successivo paziente presentava anche perdita di *SLC6A8* (CADD5-2). Descriviamo un secondo paziente CADD5-2 e proponiamo un algoritmo diagnostico per la diagnosi differenziale di forme ultra-rare di malattia perossisomiale che integra differenti piattaforme omiche.

METODI/PAZIENTI: Lattante di 6 mesi deceduto con ipotonia, iposomia, dismorfismi, colestasi, ipotiroidismo, epatosplenomegalia, genitali ambigui, insufficienza surrenalica, diabete neonatale, lesioni dei gangli della base e leucoencefalopatia alla RM. Indagini diagnostiche: LC-MS/MS multiplex per dosaggio contemporaneo di VLCFA, acidi fitanico, pristanico, di/tri-idrossicolestanoico, docosaesaenoico (Semeraro CCA2016); LC-MS/MS per analisi di acilcarnitine plasmatiche (Rizzo PedRes2003); RM encefalo spettroscopica (RMS); immunoblot su fibroblasti.

RISULTATI: La LC-MS/MS multiplex ha mostrato aumento isolato dei VLCFA (C26: $6.49 \mu\text{mol/L}$, $\text{vn}0.01-0.9$; C26/C22: 0.11 , $\text{vn}0.006-0.026$) con normali valori degli altri metaboliti; l'analisi delle acilcarnitine ($\mu\text{mol/L}$) ha evidenziato aumento delle frazioni dicarbossiliche C14 (0.04 , $\text{vn} < 0.03$), C16 (0.07 , $\text{vn} < 0.05$) e C18 (0.11 , $\text{vn} < 0.03$) e della C26 monocarbossilica (0.72 , $\text{vn} < 0.03$). La RMS ha mostrato netta riduzione del picco della creatina. Lo studio su fibroblasti mostrava alterazione del metabolismo dei VLCFA, normale reazione della catalasi e assenza della proteina BAP31.

DISCUSSIONE: L'aumento combinato dei VLCFA e della C26 acilcarnitina ha ristretto il sospetto diagnostico a 3 malattie perossisomiali: ABCD5, ACOX, CADD5. La RMS ha permesso la diagnosi di CADD5-2 confermata dall'esoma clinico. Questo approccio che integra differenti piattaforme omiche targeted, compresa la RMS, facilita la diagnosi delle forme ultra-rare di malattia perossisomiale basandosi su un nuovo algoritmo.

Ruolo dei recettori metabotropici del glutammato nell'alterazione cognitiva in un modello animale di fenilchetonuria

Nardecchia F^{1,2}, Orlando R², Iacovelli L², Colamartino M³, Fiori E³, Leuzzi V¹, Piccinin S^{2,4}, Nistico R⁴, Puglisi Allegra S³, Pascucci T^{3,6}, Nicoletti F^{2,5}

¹Dip di Neuroscienze, Sapienza Univ Roma, Roma, ²Dip Fisiol e Farmacol, Sapienza Univ Rom, Roma, ³Dip Psicologia, Sapienza Univ Roma, Roma, ⁴Dip Biologia, Univ Tor Vergata, Roma, ⁵IRCCS Neuromed, Pozzili, ⁶IRCCS Fond Santa Lucia, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:La patogenesi della Fenilchetonuria (PKU) causa prevenibile di disabilità intellettiva (DI) rimane tuttora sconosciuta. Scopo del lavoro è stato lo studio dei recettori metabotropici di gruppo-I del glutammato (mGlu) in topi Pah^{enu2} (ENU2), modello animale di PKU che riproduce la genetica, la biochimica e la neurobiologia della patologia umana.

METODI/RISULTATI:Nei topi ENU2, nell'ippocampo e striato (ma non corteccia prefrontale), vi è un' aumentata espressione dei recettori mGlu5 senza variazione nel trascritto; mentre non vi sono variazioni di espressione del recettore mGlu1. L'analisi di espressione è stata estesa alle proteine Homer che fungono da ponte tra i recettori mGlu1/mGlu5 e proteine effettrici. Nell'ippocampo dei topi ENU2 vi è una significativa riduzione delle isoforme lunghe di Homer e ridotta associazione con i recettori mGlu5 (analisi di Co-Immunoprecipitazione), in assenza di variazioni dell'isoforma corta di Homer (Homer1a). L'assenza di long-term depression (LTD) mediata dai recettori mGlu5 nei topi WT (ceppo BTBR) non ha permesso lo studio della plasticità sinaptica ippocampale nei topi ENU2. Sono stati condotti esperimenti di comportamento, in particolare sono stati misurati in successione, nello stesso apparato, l'attività locomotoria, l'esplorazione dell'oggetto ed il riconoscimento spaziale (spatial novelty test) dopo aver spostato alcuni oggetti dalla posizione originale dopo trattamento farmacologico con un antagonista del recettore mGlu5. La somministrazione sistemica di MPEP (20 mg/kg, i.p.) ha determinato uno straordinario effetto: un significativo aumento del tempo speso a contatto con gli oggetti riposizionati nei topi ENU2 (ma non nei topi wild-type).

DISCUSSIONE:Questi dati suggeriscono un ruolo dei recettori mGlu5 nella fisiopatologia della DI associata alla PKU e che, anche negli animali adulti, i disturbi cognitivi possono essere migliorati attraverso l'utilizzo di farmaci che modulano questi recettori.

Renal replacement therapy in neonatal-onset inborn errors of metabolism

Pieretti S¹, Busso M¹, Peruzzi L^{1,3}, Bonaudo R^{1,3}, Pagliardini V¹, Cocchi E¹, Cogno A^{1,4}, Porta F^{1,2}, Spada M^{1,2}

¹University of Torino, Torino, ²SC Pediatria, OIRM, Torino, ³SCDO Nefrologia, Dialisi e Trapianto, OIRM, Torino, ⁴Dipartimento Anestesia, Rianimazione OIRM, Torino

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Severe inborn errors of metabolism (IEM) giving rise to acute intoxication present early after birth with progressive neurological deterioration and coma. Since clinical outcome is strictly dependent on the timing of clearance of neurotoxic metabolites, besides medical treatment, renal replacement therapy is growingly considered a suitable emergency treatment for these disorders. Here we present our 10-year experience with renal replacement therapy in neonatal-onset IEM.

METODI / PAZIENTI:

From January 1, 2007 to December 31, 2016, 12 newborns with neonatal-onset IEM (8 with urea cycle defects, 2 with methylmalonic acidemia, and 2 with maple syrup urine disease) underwent renal replacement therapy at our Department. Employed renal replacement therapy techniques included continuous venovenous hemodialysis (5 patients), continuous venovenous hemodiafiltration (5 patients), and peritoneal dialysis (1 patient). Patients' clinical condition was assessed by Glasgow Coma Scale (GCS). The time course of plasma neurotoxic metabolites before and during treatment was monitored and related to clinical outcome.

RISULTATI:

Ammonia and leucine clearance during the first 12 hours of renal replacement therapy was the main predictor of patients' survival ($p < 0.05$). During this period, survivors cleared $>90\%$ of toxic metabolites, with parallel improvement of the GCS. Renal replacement therapy technique, metabolites concentrations at onset, and GCS before treatment were not statistically linked to prognosis.

DISCUSSIONE:

Continuous renal replacement therapy is an effective emergency treatment in newborns with IEM giving rise to acute intoxication. Patients' clinical prognosis is mainly dependent on the early

biochemical response to treatment, not on pre-treatment clinical and biochemical features. These data add new insights for the optimization of the emergency management of neonatal-onset IEM.

Nuovo metodo HPLC per la determinazione dell'omocisteina nello spot di sangue: applicazioni nello screening neonatale

Santagata S¹, Di Carlo E¹, Giovanniello T¹, Carducci C¹, Leuzzi V², Angeloni A¹, Carducci C¹
¹Dip. Med Sper, Univ di Roma Sapienza, Roma, ²Dip Neurosc Um, Univ di Roma Sapienza, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: L'omocisteina (Hcy) è un marcatore per la diagnosi di diverse malattie metaboliche ereditarie come il deficit di cistationina β -sintasi (CBS), N(5,10)-metilenetetraidrofolato riduttasi e di altre proteine coinvolte nel trasporto e metabolismo della cobalamina. Queste condizioni possono essere identificate mediante lo screening neonatale esteso (SNE) perchè associate ad un'alterazione dei valori di propionilcarnitina (C3) e/o Met e l'analisi dell'Hcy nello spot di sangue essiccato su carta (DBS) può essere utilizzata per ridurre i falsi positivi. A questo scopo sono stati sviluppati diversi metodi complessi in LC-ESI-MS/MS. In questo lavoro riportiamo un nuovo metodo per la determinazione dell'Hcy in DBS mediante HPLC e rilevazione in fluorescenza

METODI: Il DBS da 6-mm di diametro viene estratto in 200 μ l di PBS con 1% (v/v) 2-mercaptoetanololo. La soluzione ottenuta, dopo filtrazione, viene caricata nell'autocampionatore e sottoposta ad una procedura automatizzata per la riduzione, metilazione dei tioli e derivatizzazione con o-ftalaldeide prima dell'iniezione in colonna. La separazione cromatografica in eluzione in gradiente avviene in 7 min. Sono stati valutati linearità, recupero, precisione, LoQ, LoD, stabilità a diverse temperature e correlazione con i valori nel plasma

RISULTATI: Il metodo sviluppato ha caratteristiche di elevata esattezza e precisione. Sono stati determinati i valori di riferimento (2.4 ± 0.7 mmol/L) analizzando 107 DBS prelevati tra 48-72 h di vita. Il metodo è stato applicato all'analisi dei campioni di 4 pazienti affetti da deficit di CblC identificati con lo SNE e un paziente affetto da deficit di CBS: i valori ottenuti di Hcy sono risultati marcatamente aumentati (44.7 ± 23.2 mmol/L)

DISCUSSIONE: Il metodo sviluppato per l'analisi dell'Hcy nel DBS è semplice e automatizzato e può essere utilizzato come test di secondo livello per lo SNE da applicare in caso di aumento di C3 e riduzione o aumento di Met

Studio del *pathway* della necroptosi in modelli cellulari umani della malattia di Gaucher

Messelodi D¹, Astolfi A², Strocchi S³, Bertuccio S¹, De Biase D³, Grifoni D³, Pession A³, Pession A^{1,2}

¹DIMEC, Università di Bologna, Bologna, ²CIRC, Università di Bologna, Bologna, ³FABIT, Università di Bologna, Bologna

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La malattia di Gaucher (GD) è un disordine monogenico caratterizzato da un ampio spettro di manifestazioni fenotipiche. Le mutazioni causative interessano il gene *GBA1*, codificante per l'enzima β -glucocerebrosidasi. Vitner e colleghi hanno mostrato come la modulazione del *pathway* della necroptosi migliori la sintomatologia sistemica e neuronale in un modello murino della malattia ipotizzandone un ruolo chiave nell'attivazione della risposta infiammatoria macrofagica e microgliale.

METODI: Il modello di studio sfrutta due linee cellulari umane: MOLM-13 (leucemia mieloide acuta) e U87-MG (glioblastoma). Il deficit metabolico è stato indotto attraverso il conduritol B epoxide (CBE), un inibitore irreversibile della β -glucocerebrosidasi. Le linee sono state trattate con CBE ad una concentrazione di 250 μ M per 3 o 6 giorni. La valutazione dell'espressione dei fattori chiave del *pathway* della necroptosi è stata condotta attraverso *RealTime* PCR. L'analisi dei livelli di espressione è stata eseguita tramite *unpaired* t test.

RISULTATI: Il livello di espressione di RIP1, chinasi che media l'innescamento della necroptosi, risulta aumentato in maniera statisticamente significativa nelle cellule trattate con CBE rispetto ai controlli. L'aumento è evidente già dopo 3 giorni nelle MOLM-13 (p-value=0.05), con un incremento dell'effetto a 6 giorni (p-value=0.02). Nelle U87-MG la differenza diventa rilevante e significativa dopo 6 giorni di trattamento (p-value=0.03).

DISCUSSIONE: Il ruolo della necroptosi nella patogenesi e nel decorso della GD è stato recentemente proposto in uno studio condotto su modello murino. Nel presente lavoro abbiamo

evidenziato come anche su linee cellulari umane Gaucher-like si osserva un'iperattivazione di questa via rispetto ai controlli. Modelli più accurati, tra cui quello delle cellule staminali pluripotenti indotte saranno utilizzati per validare queste evidenze e studiare con tecniche di *gene editing* applicazioni traslazionali.

La malattia di Gaucher: una sindrome da iperattivazione dell'Hippo pathway?

Strocchi S¹, Grifoni D¹, Messelodi D², De Biase D¹, Pession A¹, Astolfi A³, Pession A^{2,3}

¹Dip FaBiT, Univ Bologna, Bologna, ²Dip DiMeC, Univ Bologna, Bologna, ³CIRC, Univ Bologna, Bologna

INTRODUZIONE/BACKGROUND:L'Hippo pathway è una via di segnalazione che ricopre un ruolo centrale nei meccanismi di crescita e differenziamento cellulari. Nonostante sia ampiamente indagata nelle neoplasie, studi recenti hanno dimostrato come un'iperattivazione di questo pathway causi un arresto dei processi di crescita associato a morte neuronale in diverse patologie neurodegenerative. La malattia di Gaucher, causata da mutazioni nel gene GBA1 codificante per l'enzima glucocerebrosidasi acida, è la più comune sindrome da accumulo lisosomiale, e mostra uno spettro fenotipico vario, che nei casi più severi include morte neuronale.

METODI / PAZIENTI:Lo studio vuole indagare il possibile coinvolgimento dell'Hippo pathway in questa rara patologia, ricercando nuovi bersagli terapeutici che possano migliorare la prognosi dei pazienti affetti dalla forma neuronopatica. Data la conservazione funzionale dei componenti di questo pathway tra *Drosophila* e mammiferi, utilizziamo il moscerino della frutta come modello, i cui vantaggi sono molteplici in termini di costi, libertà di utilizzo, possibilità di manipolazione genetica, riproducibilità e affidabilità dei risultati.

RISULTATI:E' stato condotto uno screening a livello di trascritto e proteina di diverse molecole target e modulatori dell'Hippo pathway. Da questo si evince come in contesto mutante per GBA1 il pathway appaia compromesso, sia in tessuti periferici sia nel SNC. Importanti molecole implicate nella regolazione dei processi di proliferazione e apoptosi, quali Ciclina E e IAP1, tra gli effettori finali di questa cascata di segnalazione, mostrano infatti una netta diminuzione dei livelli di espressione rispetto ai controlli.

DISCUSSIONE:Tali risultati, seppur preliminari, schiudono la possibilità di correlare la serie fenotipica continua della malattia di Gaucher a nuovi interattori di GBA1, che potranno essere valutati come potenziali target terapeutici per le forme più gravi di questa sindrome, a ora incurabili.

Valutazione del metabolismo basale in un gruppo di pazienti affetti da argininsuccinico aciduria

Brambilla A¹, Galimberti C¹, Cancellò R², Bianchi M², Pretese R¹, Tursi S¹, Rigoldi M³, Gasperini S¹, Parini R¹

¹Malattie Metaboliche, Fondazione MBBM, Monza (MB), ²Istituto Auxologico Italiano, Milano, ³Genetica Medica, ASST San Gerardo, Monza (MB)

INTRODUZIONE/BACKGROUND:I pazienti affetti da argininsuccinicoaciduria (ASA) mostrano spesso tendenza al sovrappeso con obesità tronculare. Abbiamo voluto verificare il fabbisogno energetico dei pazienti ASA e dimostrare se le comuni equazioni utilizzate per calcolare il metabolismo basale possano stimarlo correttamente.

METODI / PAZIENTI:In 13 pazienti ASA (4 maschi e 9 femmine) abbiamo valutato pressione arteriosa (PA), dati antropometrici, esami ematochimici, composizione corporea tramite Dual X Ray Absorptiometry (DXA), metabolismo basale (MB) tramite calorimetria indiretta (MB-CI) e MB attraverso le equazioni predittive FAO e Harris Benedict (MB-S). I dati di MB-CI sono stati confrontati con i risultati ottenuti con MB-S.

RISULTATI:Un quadro di sovrappeso/obesità è stato riscontrato nel 30.8% dei pazienti, Waist Circumference to Height ratio (WChR) aumentata nel 60% e PA elevata nel 38.5% dei soggetti. Il 92% aveva ipertrigliceridemia e ridotti livelli di colesterolo HDL, il 27.3% aumentato Homeostatic Model Assessment (HOMA) index e nel 23.1% dei soggetti è stata fatta diagnosi di sindrome metabolica. MB-CI è risultato più basso rispetto a MB-S ($p < 0.05$) anche dopo correzione sui valori di massa magra ($p < 0.05$).

DISCUSSIONE: Il riscontro di PA elevata, WChR patologico, ipertrigliceridemia, insulino-

resistenza e sindrome metabolica indicano che il rischio cardiovascolare è verosimilmente elevato nella popolazione ASA. Il fabbisogno energetico dei nostri pazienti ASA è risultato più basso di quanto predetto con le equazioni FAO e Harris Benedict, che sovrastimano il MB del 15% e 17% rispettivamente. Le comuni equazioni predittive per il calcolo del fabbisogno energetico in questi pazienti sono da usare con cautela. L'uso della calorimetria indiretta è raccomandabile per la valutazione del MB in pazienti ASA poiché la prescrizione di diete con intake energetico eccessivo potrebbe aggravare il rischio cardiovascolare osservato.

Benefici della terapia steroidea nell'alfa-distroglicanopatia da mutazione del gene *GMPPB*

Gragnaniello V¹, Fecarotta S¹, Della Casa R¹, Romano A¹, Acampora E¹, Spadarella S¹, Commone A¹, Raiano E², Torella A³, Savarese M³, Andria G¹, Nigro V^{3,4}, Parenti G^{1,4}

¹Sez. di Pediatria, Univ. Federico II, Napoli, ²Sez. di Med. Fisica e Riab., Un. Federico II, Napoli,

³Sez. di Genetica Medica, Un. L. Vanvitelli, Napoli, ⁴Telethon Institute of Gen. and Medicine, Pozzuoli

INTRODUZIONE/BACKGROUND:Le α -distroglicanopatie (α -DGP) sono un gruppo di distrofie muscolari associate ad anomalie encefaliche e oculari, dovute a mutazioni di 21 geni noti coinvolti nella glicosilazione dell' α -distroglicano. Il trattamento è sintomatico. Descriviamo gli effetti della terapia steroidea (TS) in un paziente con α -DGP.

METODI/PAZIENTI:La diagnosi è stata posta in base al quadro clinico (ipotonìa, iperCKemia, cataratta congenita, epilessia, ritardo dello sviluppo psicomotorio), istologico (distrofia muscolare con alterazione dell' α -distroglicano) ed all'analisi molecolare mediante next-generation sequencing (pannello per miopatie) che ha identificato 3 mutazioni nel gene GDP mannosio pirofosforilasi B-*GMPPB* (p.Q234*, p.T153I, p.P103P). Lo sviluppo motorio, lento ma progressivo nei primi anni, ha iniziato a regredire dall'età di 8 anni. Sulla base di osservazioni della famiglia di un miglioramento della funzione motoria in occasione di TS per affezioni respiratorie, in analogia ad altre forme di distrofia muscolare, all'età di 9 anni abbiamo avviato (T0) un trial con prednisone (0,7 mg/kg/die), durato 3 mesi (T3).

RISULTATI:Nel corso della TS si è osservata una riduzione della CK (valori degli ultimi 5 anni 814-5082 U/l, T0 990 U/l-T3 324 U/l) e miglioramento degli score di funzione motoria (Vignos T0 5/10-T3 2/10; Brooke T0 3/6-T3 2/6; Motor Function Measure T0 33%-T3 61%). Dopo un mese dall'inizio del tapering della TS si è invece osservato nuovo aumento dei valori di CK (775 U/l) e perdita della deambulazione.

DISCUSSIONE:è dimostrato che la TS rallenta il declino della funzione muscolare nella distrofia muscolare di Duchenne. Il nostro paziente è, a nostra conoscenza, il primo caso di α -DGP da mutazione di *GMPPB* ad essere trattato con TS. Nonostante la limitata durata del trattamento, riteniamo i risultati incoraggianti, seppur ulteriori studi su una popolazione più ampia siano auspicabili.

Valutazione dell'ostruzione tracheale in pazienti con MPS IVA-Morquio

Taurisano R¹, Toma P², Bottero S⁴, Cetrano E³, Carotti A³, Dionisi Vici C¹, Deodato F¹

¹Patologia Metabolica, Osp Ped Bamb Gesù, Roma, ²Diagnostica Immagini, Osp Ped Bamb Gesù, Roma, ³Cardiochirurgia, Osp Ped Bamb Gesù, Roma, ⁴Chirurgia Vie Aeree, Osp Ped Bamb Gesù, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Il coinvolgimento delle vie aeree rappresenta una temibile complicanza nelle Mucopolisaccaridosi (MPS). Recenti dati di letteratura hanno dimostrato la presenza di stenosi tracheale in più della metà dei casi di MPS-IVA, fin dai primi anni di vita e inaggravante con l'età.

METODI / PAZIENTI:

Tre pazienti con MPS-IVA severa (1M/2F, età 6, 8, 14 anni) sono stati sottoposti ad angio-TC toracica. Due pz in ERT da 2 e 4 anni, la terza *naïve*.

RISULTATI:

L'angio-TC ha mostrato una stenosi tracheale da compressione *ab estrinseco* dall'arteria anonima in 2/3 pazienti: stenosi lieve (30%) nella pz di 6 anni asintomatica, stenosi severa (70%) nel pz di 14 anni con dispnea inaggravante. In quest'ultimo, l'endoscopia delle vie aeree ha mostrato impronta vascolare "pulsante" *ab estrinseco* e la spirometria un FEV1/FVC 80.4%. Dopo consulto

multidisciplinare interno ed esterno (internazionale), è stato effettuato senza complicanze intervento di reimpianto dell'arteria anonima, resezione della porzione malacica della trachea e anastomosi tracheale termino-terminale, con immediato miglioramento della sintomatologia. L'endoscopia e la TC a 3 mesi hanno mostrato miglioramento dell'ostruzione tracheale di circa il 50 % e la spirometria ha confermato il miglioramento dei volumi polmonari (FEV/FVC 93%).

DISCUSSIONE:

Il nostro studio evidenzia il frequente riscontro di anomalie tracheo-vascolari nei pazienti con MPS-IVA, secondario alla disarmonica crescita nel distretto mediastinico delle strutture ossee, cartilaginee, connettivali e vascolari nel corso degli anni. Questi dati indicano la necessità di un accurato monitoraggio della funzione respiratoria e dell'imaging toracico per effettuare tempestivamente la correzione chirurgica ove necessario. Il complesso intervento chirurgico cui è stato sottoposto il paziente più grave della nostra coorte si è dimostrato sicuro ed efficace analogamente a quanto recentemente riportato.

Studio genetico nella Glicogenosi III: identificazione del primo caso di isodisomia uniparentale e di nuove delezioni

Ponzi E¹, Maiorana A¹, Alesi V², Lepri F², Mucciolo M², Liguori A¹, Novelli A², Dionisi-Vici C¹
¹U.O. Pat Metab, OPBG, Roma, ²U.O. Lab Genet. Med., OPBG, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La glicogenosi tipo III (GSDIII) è causata da mutazioni del gene AGL e conseguente deficit di enzima deramificante. I pazienti presentano ipoglicemia da digiuno, epatomegalia, miopatia e cardiomiopatia.

METODI / PAZIENTI:

Descriviamo 3 pazienti GSDIII, caratterizzati geneticamente mediante sequenziamento Sanger e NGS; CGHarray e SNParray sono stati utilizzati per approfondimento diagnostico. Oltre alle caratteristiche cliniche tipiche della GSDIII, il Pz 1 e 3 presentavano lieve ritardo di crescita mentre il Pz 2 presentava una bassa statura severa (-3 SD), per la quale approfonditi esami endocrinologici avevano dato esito negativo.

RISULTATI:

Pz 1 apparentemente omozigote W1401X/ W1401X; Pz 2 omozigote per la variante nota c.3904insA/c.3904insA; Pz 3 delezione dei primi 4 esoni del gene AGL, in omozigosi. Poiché nei Pz 1 e 2 la segregazione familiare mostrava lo stato di eterozigote in un solo genitore, ulteriori approfondimenti hanno rivelato nel Pz 1 una delezione di 349 kb a segregazione paterna, comprendente il gene AGL, mentre nel Pz 2 è stata evidenziata una isodisomia uniparentale paterna del cr.1 (UPD1).

DISCUSSIONE:

L'utilizzo combinato di tecniche genetiche CGH e SNP array ha permesso di chiarire il contrastante risultato degli studi di segregazione familiare nei Pz 1 e 2, rilevando che l'apparente omozigosi del Pz 1 era in realtà causata da un genotipo combinato mutazione/delezione mentre nel Pz 2 l'omozigosi era causata da UPD1 paterna, spiegando il genotipo *wt* materno. Lo studio descrive il primo caso di GSDIII causato da UPD1. Per questo paziente, potrebbe essere ipotizzabile, come osservato in modelli murini, che l'overespressione del gene oncosoppressore *DIRAS3* contenuto nel cromosoma 1 paterno, possa contribuire alla severa bassa statura. Il lavoro enfatizza la necessità di effettuare sempre lo studio di segregazione parentale per la corretta identificazione del difetto genetico e la stima del rischio di ricorrenza.

Metabolismo del dolicolo tra CDGs e disfunzione lisosomiale: mutazione del gene *DHDDS* in un caso di parkinsonismo plus

Caputi C¹, Di Marzio GM¹, Galosi S¹, Martinelli S², Tartaglia M³, Leuzzi V¹
¹Dip Neurosci e Sal Ment, Univ Sapienza, Roma, ²Dip Ema Onc, Med Mol, ISS, Roma, ³Div Mal Gen Mal Rare, OPBG, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND *DHDDS* codifica per l'enzima deidrodolicolo difosfato sintasi coinvolto nella biosintesi del dolicolo, lipide chiave nella N-glicosilazione e altamente concentrato a livello di lisosomi e Golgi dove il suo ruolo risulta in gran parte non chiarito. Mutazioni recessive sono state associate a retinite pigmentosa non sindromica e ad un unico caso con coinvolgimento

multisistemico, fenotipo grave e quadro biochimico di ipoglicosilazione delle proteine. Queste condizioni sono considerate disordini della glicosilazione.

METODI / PAZIENTI Recentemente mutazioni *de novo* in eterozigosi sono state riportate in 5 soggetti con fenotipo caratterizzato da una variabile associazione di DI, epilessia, mioclono corticale e disturbo del movimento. Riportiamo in dettaglio il fenotipo di uno dei casi segnalati da Hamdan *et al.* (in press). Dopo un esordio con ritardo globale viene riferita la comparsa di mioclono corticale con interessamento segmentale e successiva generalizzazione. Un'epilessia con mioclonie palpebrali viene riportata tra i 10 e i 15 anni. Un'alternanza di fasi di iperattività e iporeattività fino alla catatonìa viene segnalata dai primi anni. Dalla tarda adolescenza la comparsa di parkinsonismo e l'accentuazione della ciclicità del quadro hanno caratterizzato la progressione di malattia. Il rilievo di inclusi cellulari alla biopsia di cute ha orientato per molto tempo la diagnosi verso una malattia lisosomiale.

RISULTATI Il sequenziamento dell'esoma ha condotto all'identificazione della variante *de novo* 632G>A(p.Arg211Gln) predetta patogenetica e presente in due casi della corte di Hamdan *et al* (in press).

DISCUSSIONE Le caratteristiche cliniche del nostro paziente ampliano lo spettro fenotipico dei disordini associati a mutazione del gene *DHDDS* sottolineando la possibilità che i deficit del metabolismo del dolicoilo possano essere alla base di sindromi neurodegenerative ad esordio precoce e lenta progressione.

Valutazione di efficacia della terapia enzimatica sostitutiva nelle Mucopolisaccaridosi: studio multicentrico nazionale

Santoro L¹, Zampini L¹, Galeazzi T¹, Padella L¹, Marchesiello R¹, Monachesi C¹, Tomanin R², Rampazzo A², Fiumara A³, Concolino D⁴, Mascaro I⁴, Volpi N⁵, Maccari F⁵, Gabrielli O¹
¹Dip Sc Cl Spec Odont UNIVPM, Ancona, ²UO Ped e Neonat Osp Macerata, Macerata, ³Dip Ped Univ Catania, Catania, ⁴Div Ped Univ Magna Graecia, Catanzaro, ⁵Dip Sc Vita, UNIMORE, Modena

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Il progetto prevedeva la valutazione di efficacia della terapia enzimatica sostitutiva (ERT) in soggetti affetti da mucopolisaccaridosi (MPSI, MPS II, MPS IV, MPS VI). Durante i tre anni di studio tutti i pazienti sono stati sottoposti a valutazioni biochimiche e cliniche periodiche.

METODI/PAZIENTI:

Sono stati arruolati 46 pazienti affetti da forme a diversa severità di MPS (9 MPS I, 16 MPS II, 14 MPS IV, 7 MPS VI), afferenti a 4 centri nazionali, con periodi di follow-up compresi tra 2 (MPS IV) e 12 anni (MPS I). I dati biochimici erano rappresentati dalla caratterizzazione dei GAG urinari. I parametri clinici riguardavano tutti gli organi ed apparati.

RISULTATI:

La popolazione comprendeva pazienti di diverse età alla diagnosi e diversi periodi di follow-up pre e post-ERT. Il trattamento ha determinato nella maggioranza dei soggetti (70%) una considerevole riduzione dell'accumulo dei GAG urinari, senza mai raggiungere la completa normalizzazione del pattern (neanche dopo lunghi periodi di follow-up post-ERT). In tutte le forme di MPS esaminate, numerosi parametri clinici hanno mostrato segni di miglioramento o stabilizzazione, tra cui l'organomegalia, l'ipertrofia ventricolare e, per alcune patologie, l'insufficienza respiratoria e le limitazioni articolari.

DISCUSSIONE:

L'analisi dei dati raccolti evidenzia un'elevata eterogeneità dell'età alla diagnosi, dovuta alla presenza di fenotipi clinici molto variabili, anche nell'ambito della medesima patologia. Simile eterogeneità nel follow-up, poiché i protocolli di monitoraggio terapeutico differiscono nelle diverse Unità Cliniche. Da ciò emerge la necessità di linee-guida quanto più possibile condivise sia per la diagnosi che per il follow-up dell'ERT, volto all'ottimizzazione e personalizzazione della terapia. Di fondamentale importanza l'identificazione di indicatori di efficacia misurabili con approcci non invasivi, ma strettamente legati al miglioramento clinico del paziente.

Falsi positivi nella caratterizzazione dei glicosaminoglicani urinari in neonati a termine: crisi genitale del neonato?

Monachesi C¹, Padella L¹, Marchesiello R¹, Catassi C¹, Gasparrini E², Volpi N⁵, Maccari F⁵, Fiumara A³, Concolino D⁴, Moricca M⁴, Zampini L¹

¹Dip Sc Cl Spec Odont UNIVPM, Ancona, ²UO Ped e Neonat Osp Macerata, Macerata, ³Dip Ped Univ Catania, Catania, ⁴Div Ped Univ Magna Graecia, Catanzaro, ⁵Dip Sc Vita, UNIMORE, Modena

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Nell'ambito di un progetto PRIN2012 era stata eseguita la valutazione qualitativa dei glicosaminoglicani (GAG) urinari in una popolazione di 900 neonati sani a termine, in 2° o 3° giornata di vita, utilizzando volumi ridotti di campione. Lo scopo del presente studio è la caratterizzazione delle bande elettroforetiche anomale evidenziate in 7 campioni di soggetti di sesso femminile.

METODI / PAZIENTI:

I 7 soggetti risultati positivi sono stati richiamati per la raccolta di un secondo campione di urine (circa 2 ml) a distanza di almeno un mese. Sono stati inoltre raccolti 6 campioni di muco vaginale da neonate con diagnosi di crisi genitale. L'identificazione del pattern dei GAG escreti è stata eseguita mediante elettroforesi su acetato di cellulosa in bario acetato mentre l'analisi strutturale tramite elettroforesi su gel di agarosio, dopo digestione con condroitinasi.

RISULTATI:

A differenza del 99% dei campioni di urine precedentemente analizzati, 7 hanno mostrato un pattern anomalo, analogo a quello evidenziato sui campioni di muco vaginale. La digestione selettiva con condroitinasi e eparinasi ha mostrato la presenza in elettroforesi di specie molecolari non appartenenti ai normali GAG urinari. Inoltre, i risultati sul secondo campione di urina hanno mostrato normalizzazione del pattern.

DISCUSSIONE:

L'analisi seguita alla digestione con enzimi specifici ha permesso di escludere la presenza di GAG patologici nei campioni di urine. Il riscontro dello stesso tipo di bande anomale nei campioni di muco di neonate con diagnosi di crisi genitale accertata e la normalizzazione del pattern dopo pochi mesi sul secondo campione di urine, ci hanno portato ad ipotizzare che le bande anomale potrebbero essere riconducibili a glicoproteine o mucine, come risposta fisiologica agli elevati livelli di estrogeni e progesterone materni trasmessi attraverso la placenta durante la gravidanza.

Un nuovo paziente con difetto dell'enzima sterolo-C-4-metil ossidasi (SC4MOL)

Sica C¹, Gelzo M¹, Lenza M¹, Procopio E³, Dello Russo A¹, Donati M³, Frisso G^{1,2}, Salvatore F¹, Corso G⁴

¹Dip MMBM, Univ Federico II, Napoli, ²CEINGE Biotecnologie Av s.c. a r.l., Napoli, ³SOC MMME, CE Neurosci, A.O.U. A. Meyer, Firenze, ⁴Dip Med Clin Sperim, Univ Foggia, Foggia

INTRODUZIONE/BACKGROUND: il colesterolo svolge un ruolo fondamentale nella fisiologia cellulare. I difetti della biosintesi del colesterolo sono disordini metabolici caratterizzati da anomalie in molti organi e tessuti. Recentemente è stato descritto il difetto dell'enzima sterolo-C-4-metil ossidasi (SC4MOL) in quattro pazienti con cataratta congenita, ritardo della crescita, microcefalia, dermatite psoriasiforme, disfunzione immunitaria e disabilità intellettiva, ereditato con trasmissione autosomica recessiva.

In questo abstract descriviamo un nuovo caso del difetto di SC4MOL.

METODI/PAZIENTI: maschio di 19 anni con cataratta congenita bilaterale insorta all'età di 8 mesi; a 4 anni mostrava ritardo dello sviluppo psicomotorio e disabilità intellettiva; a 15 anni presentava bassa statura, microcefalia, ipoplasia del cervello, obesità e disturbo del comportamento. Non è stata osservata dermatite psoriasiforme, ma solo sebo-psoriasi del cuoio capelluto. Sulla base delle manifestazioni cliniche, e la negatività delle analisi biochimiche e genetiche effettuate, è stato sospettato un possibile difetto della biosintesi del colesterolo.

RISULTATI: l'analisi degli steroli nel plasma e nelle membrane eritrocitarie mediante gascromatografia ha mostrato livelli elevati di C4-monometil- e C4-dimetil-steroli, suggerendo un difetto dell'enzima SC4MOL. Il sequenziamento del gene *SC4MOL* ha evidenziato due mutazioni missenso: c.731A>G (p.Y244C), già nota in letteratura, e c.605G>A (p.G202E), identificata per la prima volta. Entrambe le mutazioni erano assenti nel database ExAC. I genitori del paziente erano entrambi portatori eterozigoti.

DISCUSSIONE: l'integrazione delle indagini cliniche, biochimiche e genetiche hanno permesso di

raggiungere la diagnosi definitiva del difetto di SC4MOL. Inoltre, l'analisi genetica ha consentito di distinguere tra fenotipi sovrapposti e di stabilire l'esatto rischio riproduttivo.

Fenilchetonuria materna (MPKU) e outcome feto-neonatale: esperienza di un singolo centro

Paci S¹, Zuvadelli J¹, Morgano A¹, Verduci E¹, Salvatici E¹, Cefalo G¹, Banderali G¹

¹*Clin Ped, Univ Milano, AO San Paolo, Milano*

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Come noto, le pazienti affette da Fenilchetonuria (PKU) con scarso controllo metabolico-nutrizionale durante il concepimento e per tutta la durata della gravidanza espongono il nascituro al rischio di "Sindrome da PKU materna" (MPKU), embriofetopatia caratterizzata da aborto spontaneo, parto pretermine, ritardo di crescita intrauterino (IUGR), basso peso alla nascita per età gestazionale (SGA), microcefalia, ritardo psicomotorio, dismorfismi facciali, cardiopatie e malformazioni congenite, variamente associati tra loro. In Italia lo screening neonatale per PKU è obbligatorio per legge dal 1992, ma in Lombardia attivo già dagli anni '70: ne consegue un ampio numero di donne affette attualmente in età fertile.

METODI / PAZIENTI:

Descriviamo una popolazione di donne PKU in follow up presso il nostro Centro e relativa incidenza di complicanze ostetriche e neonatali.

RISULTATI:

24 donne (15 diagnosticate alla nascita, 2 dopo l'anno di vita e 7 dopo il parto) per un totale di 39 gravidanze, esitate in aborto spontaneo (15%), IUGR (3%) e parto pretermine (2%). I 33 neonati presentavano microcefalia (24%), SGA (6%), dismorfismi facciali (9%), cardiopatia (6%), labiopalatoschisi (3%), ritardo psicomotorio (18%). Le gravidanze di pazienti con [Phe] media < 240 µmol/L pre-concepimento e durante la gestazione hanno mostrato differenze statisticamente significative in termini di miglior outcome feto-neonatale, sia considerando le complicanze ostetriche in toto (p=0.010) che l'aborto spontaneo singolarmente (p=0.027), rispetto al gruppo con valori >240 µmol/L (p=0.0013).

DISCUSSIONE:

Risulta indispensabile effettuare un adeguato counselling delle pazienti PKU note durante tutto il periodo pre-adolescenziale, adolescenziale e in età adulta, così come identificare prontamente le donne non sottoposte a screening neonatale ma affette, a garanzia di salute per le generazioni future.

Risultati a 21 mesi dello studio GAUPED: prevalenza della malattia di Gaucher in pazienti pediatriche accuratamente selezionati

Morello W¹, Filocamo M², Stroppiano M², Di Rocco M³, Tovaglieri N⁴, Russo G⁵, Menni F⁷, Burnelli R⁶, Rivalta B¹, Pession A¹

¹*Oncoematologia Ped Pol. Sant'Orsola, Bologna,* ²*Centro Diagnost Genet e Bioch Mal Metab, Genova,* ³*UOSD Malattie Rare, Genova,* ⁴*Pediatria - Ospedale Niguarda, Milano,*

⁵*Oncoematologia Pediatrica, Catania,* ⁶*Oncoematologia Pediatrica, Ferrara,* ⁷*Pediatria - Fondazione IRCCS Ca'Granda, Milano*

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La Malattia di Gaucher (GD) è patologia da accumulo lisosomiale, da deficit di beta-glucocerebrosidasi (GBA), caratterizzata da spleno-epatomegalia, citopenia, ritardo crescita, coinvolgimento osseo e rischio di neoplasie. L'assenza di sintomi specifici può determinare un grave ritardo diagnostico. La terapia enzimatica sostitutiva (ERT) ha rivoluzionato la prognosi. Alcune complicanze sono irreversibili se ERT viene ritardata. Un efficace metodo di *screening* è il dosaggio GBA su *Dried Blood Spot* (DBS), il *gold standard* diagnostico è il dosaggio enzimatico su omogenato cellulare. Di Rocco et al (Ped Blood and Cancer, 2014) ha proposto algoritmo pediatrico per diagnosi precoce di GD. Nel 2015 abbiamo avviato lo studio multicentrico GAUPED per valutare la prevalenza di GD tra i bambini inviati ai centri di ematologia italiani e selezionati secondo l'algoritmo.

METODI/PAZIENTI: Paz pediatriche con spleno+epatomegalia e piastrinopenia+anemia, senza causa nota, vengono testati con DBS. I paz con DBS+ vengono testati con *gold standard*.

RISULTATI: Nei primi 21 mesi di arruolamento, sono stati raccolti 57 DBS in 21/41 centri AIEOP aderenti. In 22/57 (39%) è stato riscontrato un DBS+. Il test *gold standard* ha confermato la diagnosi in 5/22 (23%). In 5/5 l'analisi genetica ha confermato la GD. La prevalenza nella

popolazione selezionata è 8,7% (95% CI, 3-20%) pari a 5/57. Seguendo l'algoritmo, solo un paz ha effettuato aspirato midollare prima della diagnosi. 5/5 paz, età media 8 anni (2-13), hanno iniziato ERT da 12 (3-18) mesi. In 4/5 la citopenia è regredita. In 3/5 l'epato-splenomegalia si è ridotta. 1/2 paz con ritardo di crescita ha mostrato un recupero.

DISCUSSIONE: I risultati preliminari dello studio GAUPED supportano lo screening di GD in una popolazione selezionata di bambini con splenomegalia e piastrinopenia. L'algoritmo proposto consente una diagnosi precoce. ERT, già nel breve termine, risulta efficace nel controllo di GD.

Formazione di aggregati solubili come meccanismo patogenetico alternativo in pazienti affetti da PKU

Bonapace G¹, Gullace R¹, Moricca M¹, Ferraro S¹, Romano G¹, Mascaro I¹, Concolino D¹
¹Università Magna Graecia, Catanzaro

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La fenilchetonuria (PKU), malattia metabolica dovuta a mutazioni nel gene della phenylalanine hydroxylase (PAH), trasmessa con modalità autosomica recessiva, è caratterizzata da riduzione dell'attività enzimatica, conseguente accumulo tossico di L-Phe e danno neurologico in pazienti non sottoposti a trattamento dietetico. Il costo sociale della terapia e la ridotta collaborazione dei pazienti dopo il raggiungimento della maggiore età hanno spinto verso la ricerca di trattamenti alternativi.

METODI / PAZIENTI: Mediante tecniche di elettroporazione, biological assay e western blot, abbiamo studiato la formazione di aggregosomi ed il negative gain of function determinati dalla mutazione L48S che nei nostri pazienti si è dimostrata associata a un peggioramento clinico progressivo e ad una scarsa risposta al trattamento con il BH₄.

RISULTATI: HEK 293 trasformate con un vettore di espressione contenente PAHL48S hanno evidenziato la presenza di aggregati solubili associati alla riduzione di attività biologica. Il trattamento del nostro modello cellulare con 1-Deoxynojirimycin hydrochloride già descritto come induttore di HSP70 riduceva la formazione degli aggregati con conseguente recupero dell'attività biologica senza effetti tossici valutati nel nostro modello su base morfologica e biochimica.

DISCUSSIONE: Sulla base delle evidenze sperimentali, proponiamo che la nucleazione di aggregati solubili indotti dal misfolding dovuto alla L48S, nel tempo, potrebbe portare alla formazione di aggregosomi tossici in grado di determinare ulteriore perdita di attività biologica e di spiegare il progressivo peggioramento clinico osservato. La possibilità di modulare indirettamente tale processo con l'uso di induttori di Heat Shock Proteins, potrebbe aprire nuove prospettive per il trattamento delle forme di PKU non responsive al BH₄ pur dovute alla presenza di mutazioni misfolding.

EPI-743 riduce il numero delle crisi e delle ospedalizzazioni in pazienti con difetto di RARS2

Martinelli D¹, Klein M², Balestri M³, Bevivino E¹, Thoolen M², Carrozzo R⁴, Bertini E⁴, Cilio R⁵, Miller G², Dionisi-Vici C¹, Diodato D⁴

¹U.O.C Pat Metab Osp Bambino Gesù IRCCS, Roma, ²U.O Neurologia, Osp Bambino Gesù IRCCS, Roma, ³Mal Neuromuscol Osp Bambino Gesù IRCCS, Roma, ⁴BioElectron Technology Corporation, San Francisco Bay Area, ⁵Dept Neurology Pediat UC San Francisco, San Francisco

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Il difetto di RARS2 è una rara malattia neurodegenerativa caratterizzata da ipoplasia pontocerebellare, epilessia farmaco-resistente e tetraparesi spastico-distonica, dovuta a mutazioni del gene della arginil-tRNA sintetasi mitocondriale. Non esistono terapie specifiche per questa patologia. EPI-743 è una molecola antiossidante sviluppata per il trattamento delle malattie mitocondriali.

METODI / PAZIENTI: 5 pazienti (PZ) con difetto di RARS2 (3 M e 2 F, età 9-17) sono stati trattati in un trial compassionevole con EPI-743 per un periodo iniziale di 12 mesi e, in base ai risultati di sicurezza e agli effetti clinici, per altri 2 anni. Tutti i pz hanno ricevuto EPI-743 alla dose di 100 mg x3 vv/die somministrato per PEG. Endpoint: numero di stati di male epilettico, frequenza e durata della crisi, giorni di ospedalizzazione, grado di distonia (come valutata dalla MD-CRS), scale funzionali per pz mitocondriali in età pediatrica (Newcastle Pediatric Mitochondrial Scale – NPMDS – sezioni 1-3), test di qualità della vita (NPMDS 4 e PedsQL). La sicurezza è stata valutata attraverso l'analisi di eventi avversi gravi correlati al farmaco.

RISULTATI: Tutti i pz hanno presentato significativa diminuzione della frequenza di convulsioni,

in assenza di nuovi episodi di stati di male, con contestuale riduzione dei giorni medi di ospedalizzazione (52/anno vs 8/anno, $p < 0,05$). Si è osservato in tutti miglioramento di una classe alla MD-CRS. Tutti i pz hanno mostrato un apparente arresto nella progressione della malattia, indipendentemente dalla gravità di partenza, come valutato dalla NPMDS e un miglioramento significativo della qualità della vita. Non sono stati registrati eventi avversi.

DISCUSSIONE: EPI-743 ha portato ad una diminuzione della frequenza della crisi epilettiche, nonché riduzione della distonia e delle ospedalizzazioni in pazienti con difetto di RARS2. Ulteriori trial controllati sono necessari per confermare queste osservazioni.

La malattia di Fabry nelle femmine eterozigoti: ruolo prognostico dell'inattivazione del cromosoma X

Pagliardini V¹, Chiesa N¹, Giorgio E¹, Grataroli E¹, Biamino E², Sauro P³, Settanni F¹, Porta F^{1,2}, Spada M^{1,2}

¹University of Torino, Torino, ²SC Pediatria, OIRM, Torino, ³Centro screening neonatale, OIRM, Torino

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La malattia di Fabry (FD) è una patologia X-linked determinata dal difetto dell'enzima lisosomiale α -galattosidasi A. Le femmine presentano un *continuum* fenotipico che varia dall'assenza di segni e sintomi a uno sovrapponibile a quello dei maschi. Questa variabilità è, almeno in parte, attribuibile alla lionizzazione.

Abbiamo analizzato il pattern di inattivazione del cromosoma X (XCI) nelle pazienti FD per verificarne la correlazione con il fenotipo clinico (segni e sintomi) e biochimico (attività enzimatica, livelli di LysoGB3).

METODI / PAZIENTI:

Sono state arruolate 13 pazienti FD appartenenti a 8 nuclei familiari (8 mutazioni: 6 missense, 1 delezione e 1 mut del sito di splicing). In ogni paziente il XCI è stato analizzato con il test Humara, che valuta lo stato di metilazione della regione polimorfica CAG del gene Human Androgen Receptor, sia su sangue che su cellule della mucosa buccale, permettoci di distinguere il cromosoma X attivo da quello non attivo. Considerato che le copie del cromosoma X sono altamente polimorfiche nelle regioni CAG, i due alleli possono essere distinti grazie ai frammenti prodotti dall'enzima di restrizione. Le percentuali di inattivazione sono state calcolate normalizzando e confrontando i dati ottenuti dal DNA digerito e non. Il XCI è stato considerato random se la proporzione tra i due alleli era 50:50 in due o più esperimenti; moderatamente sbilanciato se 70:30; marcatamente sbilanciato se 80:20.

RISULTATI:

L'analisi ha evidenziato un pattern random, sbilanciamento moderato e marcato rispettivamente in 9, 3 e 1 pazienti. In particolare, nell'unica paziente con sbilanciamento marcato l'analisi della segregazione familiare ha consentito di rilevare una correlazione tra XCI e fenotipi clinico e biochimico.

DISCUSSIONE:

Questi dati suggeriscono come, accanto a un'accurata anamnesi familiare, il riscontro di XCI marcatamente sbilanciato in bambine FD imponga un follow-up rigoroso al fine di evitare ritardi terapeutici.

Protocollo empirico di desensibilizzazione alla terapia enzimatica sostitutiva con alfa glucosidasi ricombinante

Acampora E¹, Gragnaniello V¹, Fecarotta S¹, Spadarella S¹, Amendola M¹, Ascione S¹, Carobene A¹, Spadaro G², Strisciuglio P¹, Parenti G¹, Della Casa R¹

¹Sez. di Pediatria, Univ. Federico II, Napoli, ²Sez. Immunologia Clinica, Un. Federico II, Napoli

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La malattia di Pompe (MP) è una miopatia da accumulo di glicogeno dovuta a deficit di α -glucosidasi acida. La forma infantile classica (MP-IC), con cardiomiopatia, è il fenotipo più grave, per il quale la terapia enzimatica sostitutiva (ERT) è indispensabile, ma può determinare reazioni avverse (RA) (52% dei pazienti).

METODI/PAZIENTI: Descriviamo 2 pazienti con MP-IC, CRIM positivi (presenza di proteina nativa), che hanno avuto RA alla ERT. Il paziente 1 (P1) ha iniziato la ERT all'età di 3 mesi

secondo il protocollo standard (20 mg/kg/2 settimane); durante l'infusione 16 ha presentato rash e distress respiratorio, che si sono ripetuti nonostante premedicazione (cortisonico+antistaminico) e riduzione della velocità di infusione. Il paziente 2 (P2) ha iniziato la ERT all'età di 2 mesi, ma durante l'infusione 3 ha presentato rash, edema del volto, tachicardia e distress respiratorio (saturazione 85%). In entrambi le IgE specifiche e gli anticorpi neutralizzanti erano assenti ed entrambi hanno ricevuto protocollo di desensibilizzazione.

RISULTATI: Il farmaco è stato somministrato in microdiluizioni (fino a 0,5 mcg/ml), con maggiore durata dell'infusione (fino a 3 giorni) e premedicazione con anti H1, anti H2, acido tranexamico e cortisonico. La concentrazione e la velocità di infusione sono state poi lentamente aumentate fino a tornare al protocollo standard (in 24 mesi in P1-7mesi in P2), senza premedicazione, senza o con solo minori RA e con costante beneficio, soprattutto cardiaco.

DISCUSSIONE: I nostri casi sottolineano l'importanza della desensibilizzazione in caso di RA alla ERT in pazienti con MP, riportata finora, a nostra conoscenza, in 7 pazienti (5 bambini, 2 adulti). Il nostro protocollo ha il vantaggio, in particolare in pazienti CRIM positivi senza anticorpi neutralizzanti, di non usare farmaci immunosoppressori e di somministrare la dose piena senza interruzioni.

Gravidanza in una paziente con deficit della decarbossilasi degli aminoacidi aromatici: decorso e gestione terapeutica

Mastrangelo M¹, Riezzo S¹, Patane L², Ferrari S³, Carducci C⁴, Carducci C⁴, Mangili G³, Leuzzi V¹

¹Neur Infant Sap Univ Roma, Roma, ²OstGinOspGiovXXIII, Bergamo, ³Pat NeonatOsp Giov XXIII, Bergamo, ⁴Med Sperim Sap Univ Roma, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Il deficit della decarbossilasi degli aminoacidi aromatici (AADC) è un disturbo congenito del metabolismo delle amine biogene. Riportiamo il primo caso ad oggi noto di una gravidanza condotta in una paziente con tale patologia.

METODI / PAZIENTI:

Paziente di 27 anni, precedentemente riportata in letteratura, con eterozigosi composta per le mutazioni p.Tyr37Thrfs*5 (c.105delC) e p.F237S (c.710 T>C) sul gene DDC ed attività enzimatica dell' AAD assente¹. Quadro simil miastenico con successiva comparsa di miocloni, tremori, bradicinesia, crisi oculogire e ritardo dello sviluppo nel corso dell' età pediatrica e miglioramento durante l' adolescenza . Dopo la diagnosi (a 22 anni) introdotta terapia con rotigotina, escitalopram e piridossina con miglioramento della sintomatologia grosso motoria. Dopo un anno aggiunta selegilina. A 24 anni sostituita rotigotina con pramipexolo per discinesie parossistiche sub continue.

RISULTATI:

A 26 anni gravidanza insorta naturalmente. Veniva sospeso l' escitalopram e ridotta la posologia della selegilina senza peggioramento del quadro neurologico. Alla 31 settimana di gestazione ricovero per pre-eclampsia. Parto a termine a 38 settimane +5gg per CTG non rassicurante con nascita di un neonato LBW e SGA vitale (Apgar 8-9). Tachipnea transitoria ed ipoglicemia nelle prime 24 ore. Introdotto allattamento artificiale. Attualmente il bambino ha 5 mesi ed è in buona salute.

DISCUSSIONE:

La presenza di un deficit di AADC e l' utilizzo degli agonisti dopaminergici e degli inibitori delle MAO è compatibile con la conduzione di una gravidanza priva di significative complicazioni a breve termine in soggetti con quadro neurologico e biochimico non severo.

BIBLIOGRAFIA Leuzzi V et al. "Report of Two Never Treated Adult Sisters with Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Deficiency: A Portrait of the Natural History of the Disease or an Expanding Phenotype?" JIMD Reports 2015; 15:39-45.

Atassia congenita associata a deficit di *KCNA2*: estensione clinica dello spettro fenotipico

Di Marzio GM¹, Caputi C¹, Galosi S¹, Santorelli FM², Leuzzi V¹

¹Dip Neurosci e Sal Ment, Univ Sapienza, Roma,²Med Mol Neurogen IRCCS Stella Maris, Pisa

INTRODUZIONE/BACKGROUND Le mutazioni del gene *KCNA2* caratterizzate da un meccanismo di *gain-of-function* sono state riportate in pochi casi ed associate ad encefalopatia epilettica, atassia e compromissione cognitiva.

METODI / PAZIENTI Descriviamo l'evoluzione clinica di un nuovo paziente con follow-up di oltre 20aa. Il proposito, un maschio di 22aa, ha esordito precocemente con atassia e, all'età di 1aa, presenza di convulsioni in iperpiressia. Dai 2aa ha sviluppato epilessia con crisi polimorfe ben controllate dalla terapia. L'obiettività neurologica all'età di 2aa evidenziava importante atassia della marcia, dismetria, *titubation*, parola scandita, e nistagmo. Lo sviluppo cognitivo era borderline (IQ 76 a 4aa), con successivo peggioramento (IQ 61 a 7,5aa). La RMN a 6aa mostrava lieve atrofia cerebellare prevalentemente vermiana. Il quadro motorio si manteneva stabile sino all'età di circa 10aa, quando comparivano discinesie miocloniche segmentali, coreiche e distoniche ai quattro arti. Emergeva inoltre un'iporeflessia osteotendinea agli arti inferiori. La RMN mostrava grave atrofia cerebellare generalizzata. PESS, BAEP e PEM erano alterati o non evocabili. Un deterioramento cognitivo veniva osservato a 12aa (IQ 45). Dopo i 13aa emergeva tremore a riposo ed aggravamento del quadro atassico. In seguito a frattura accidentale del femore il paziente perdeva definitivamente la deambulazione autonoma. A 17aa si osservavano segni piramidali e deterioramento dell'eloquio e, dall'età di 21aa, allucinazioni visive complesse a carattere terrifico. La TC cranio mostrava marcata atrofia cerebellare e corticale.

RISULTATI Abbiamo identificato in NGS la mutazione *de novo* c.890G>A nel gene *KCNA2* che codifica per un canale del potassio voltaggio dipendente

DISCUSSIONE Il nostro paziente mostra un quadro clinico relativamente inedito, rispetto ai casi sinora riportati, per prevalenza dei disturbi del movimento e comparsa di deterioramento cognitivo con minore rilevanza dell'epilessia.

Caratterizzazione clinico/genetica in 2 pazienti con deficit di proteina trifunzionale e ipoparatiroidismo

Ponzi E¹, Diodato D², Maiorana A¹, Bellacchio E³, Taurisano R¹, Boenzi S¹, Semeraro M¹, Bertini E², Lepri F⁴, Dionisi-Vici C¹

¹U.O. Pat Metab, OPBG, Roma, ²U.O. Malat Musc e Neurodegen, OPBG, Roma, ³U.O. Lab di Ricerca, OPBG, Roma, ⁴U.O. Lab Genet. Med., OPBG, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La proteina trifunzionale mitocondriale (MTP) è un etero-ottamero composto da 4 subunità α , codificate da *HADHA*, con attività LCEH e LCHAD, e 4 subunità β codificate da *HADHB*, con attività di LKAT. Il deficit di LCHAD/MTP si distingue dagli altri difetti della β -ossidazione per alcune peculiari caratteristiche: neuropatia, retinopatia e ipoparatiroidismo, quest'ultimo riportato solo in 5 pazienti (Dionisi-Vici 1996; Labarthe 2006; Naiki 2014; van Vliet 2017)

METODI / PAZIENTI:

Riportiamo le caratteristiche cliniche e genetiche della paziente originariamente descritta nel 1996 e di una nuova paziente MTP, entrambe con ipoparatiroidismo. La patogenicità delle nuove varianti osservate è stata valutata mediante Protein Data Bank entry 1 WDK software.

RISULTATI:

La Pz 1, 24 anni, presenta mioglobulinuria intermittente e grave neuropatia periferica sensitivo-motoria; la Pz 2, 2 anni, diagnosticata mediante SNE, presenta episodi severi ricorrenti di rabdomiolisi. Entrambe hanno mostrato, soprattutto in occasione degli episodi di rabdomiolisi, ipocalcemia, iperfosforemia, PTH soppresso, e sono in terapia con calcitriolo e Ca carbonato. L'analisi del gene *HADHB* ha evidenziato nella Pz 1 la variante N389D in omozigosi e nella Pz 2 le nuove varianti T69I/G427E in eterozigosi composta.

DISCUSSIONE:

Entrambe le pazienti presentano ipoparatiroidismo e il follow-up a lungo termine nella pz 1 mostra l'evoluzione caratteristica del deficit LCHAD/MTP. Le varianti osservate nella pz 2 sono risultate potenzialmente patogenetiche nel modello in silico di predizione. È interessante notare come 4/6 pazienti con ipoparatiroidismo (Labarthe 2006; Naiki 2014; paziente 1) presentino mutazioni

adiacenti nelle posizioni 389-392, corrispondenti al dominio β -HADHB; anche le mutazioni della pz 2, seppur distanti da questa regione hot-spot, cadono nello stesso dominio, abrogando la funzione della proteina e impedendo la formazione dell'etero-ottamero α - β .

Risultati di 30 anni di screening neonatale per il difetto di biotinidasi in Piemonte e Valle D'Aosta

Pagliardini V¹, Celestino I¹, Pavanello E³, Guaraldo V³, Mussa A³, Sauro P³, Pagliardini S³, Porta F^{1,2}, Spada M^{1,2}

¹University of Torino, Torino, ²SC Pediatria, OIRM, Torino, ³Centro screening neonatale, OIRM, Torino

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Il deficit di biotinidasi (BTD) è un difetto ereditario del metabolismo della biotina che, se non trattato, è caratterizzato da convulsioni, disturbi respiratori, ipotonia, rash cutaneo, alopecia, perdita di udito e ritardo dello sviluppo. Presentiamo i risultati a breve e lungo termine dello screening neonatale di massa per il difetto di biotinidasi effettuato in Piemonte e Valle D'Aosta da 30 anni.

METODI / PAZIENTI:

Dal gennaio 1987 al dicembre 2016, 1.097.894 neonati sono stati sottoposti a screening neonatale per difetto di biotinidasi, con riscontro di 461 positivi al test colorimetrico semiquantitativo eseguito su spot di sangue adsorbito su carta bibula.

RISULTATI:

I neonati risultati positivi sono stati richiamati per la ripetizione del test e per il dosaggio quantitativo dell'attività biotinidasica su plasma, con riscontro di 18 pazienti affetti da difetto di biotinidasi completo (n=10) o parziale (n=8; incidenza cumulativa 1:61.000).

La mutazione missense Q456H, precedentemente descritta e frequente causa di malattia nell'etnia caucasica, è stata identificata nell'80% dei pazienti con insufficienza biotinidasica completa. In un paziente è stata identificata la nuova mutazione M399I in eterozigosi composta (M399I/Q456H).

Il complesso allelico A171T/D444H in cis è stato trovato in due pazienti con carenza di biotinidasi profonda (in omozigosi e in eterozigosi composta rispettivamente con la mutazione R211H) e in un paziente con deficit parziale di biotinidasi (in eterozigosi composta con l'allele protettivo D444H in trans).

Tutti i pazienti sono stati trattati con biotina (10-20 mg/die) con completa prevenzione della sintomatologia clinica e senza effetti collaterali.

DISCUSSIONE:

Questi risultati confermano che lo screening neonatale per il difetto di biotinidasi rappresenta un programma di prevenzione secondaria molto efficace.

Follow-up a lungo termine nel deficit di cblC: profilo biochimico e risposta alla dose escalation

Olivieri G³, Martinelli D³, Diodato D³, Boenzi S⁴, Donati A¹, Menni F², Dionisi Vici C³

¹Mal Neuromuscol e Metaboliche Osp Meyer, Firenze, ²UO Pediat Fond Ca'Granda Osp Maggiore, Milano, ³UO Pat Met Osp Bambino Gesù', IRCCS, Roma, ⁴Lab Bioch Metab Osp Bambino Gesù', IRCCS, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND

Il difetto di cobalamina C (cblC) causa acidemia metilmalonica ed omocistinuria, ed è il più frequente difetto del metabolismo della VitB12. Nonostante la comprovata efficacia terapeutica di idrossicobalamina (OH-cbl) non esistono indicazioni sulla posologia da attuare in corso di follow-up.

SCOPO DELLO STUDIO: Descrivere il profilo biochimico in una coorte di pz cblC e l'iniziale dose-escalation con OH-Cbl in un sottogruppo.

METODI /PAZIENTI Riportiamo il profilo biochimico di 4 aa di follow-up in 33 pz cblC ad esordio precoce (< 1 anno) con età mediana 7.6±6.0 aa (range 0,3-26), in trattamento con OH-Cbl i.m. (dose media 0,05±0,03 mg/kg/die), betaina (media 193±58 mg/kg/die) e carnitina (32/33 pz). Il profilo biochimico comprende i livelli plasmatici di omocisteina totale (Hcy), metionina (Met) e acido metilmalonico (MMA). In 12 pz è stata valutata la risposta all'aumento del dosaggio di OH-cbl i.m. (da 0.04±0.01 a 0.09 ± 0.03 mg/kg/die, $\Delta\%$ 144±100) sui livelli di Hcy. Riportiamo inoltre 3 pz ad esordio >1 anno, "responders" alla terapia.

RISULTATI Il profilo biochimico al follow-up a lungo termine nella coorte dei 33 pz ha mostrato i seguenti valori ($\mu\text{mol/L}$): Hcy 54.0 ± 14.5 (vn < 13); Met 26.0 ± 15.0 (vn 10-50); MMA 27.4 ± 37.7 . Nei 12 pz che hanno aumentato la dose di OH-Cbl il valore medio di Hcy dopo dose escalation è passato da $64,4 \pm 17,2$ a $50,9 \pm 17,0$ ($\Delta\%$ $-20,4 \pm 23$; $p < 0.05$). Il profilo biochimico nei 3 pz "responders" alla terapia mostrava: Hcy 13.0 ± 3.5 ; Met 35.7 ± 17.8 ; MMA 3.3 ± 2.5 .
DISCUSSIONE Esistono 2 categorie di pz cblC: i "responders", che normalizzano quasi completamente il profilo metabolico e la maggioranza dei pazienti che presentano livelli di Hcys persistentemente aumentati. L'incremento di posologia di OH-Cbl ha dimostrato di ridurre, seppur in parte, il livello di Hcys. Per ottimizzare le posologie di trattamento sono necessari studi multicentrici controllati, condotti su più coorti di pazienti.

Terapia dietetica in gravidanza nella Malattia delle Urine a Sciroppo d'Acero (Leucinosi)

Fasan I¹, Rossi A¹, Rubert L¹, Pascarella A¹, Cazzorla C¹, Burlina A¹

¹*U.O.C Malattie Metaboliche Ereditarie, Azienda Ospedaliera Università di Padova*

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Nelle donne con MSUD in gravidanza il controllo della Leucina (Leu) plasmatica può complicarsi per diversi fabbisogni proteici, emesi e catabolismo post-partum. Nei 7 casi riportati di gravidanze in donne con MSUD la stretta sorveglianza e i pronti interventi dietetici in caso di iperleucinemia risultavano in neonati sani con normale sviluppo. La tolleranza dietetica alla Leu aumentava progressivamente in gestazione più di 3 volte la pre-gravidica.

METODI/PAZIENTI: Riportiamo la gestione dietetica di una gravida con MSUD intermedia diagnosticata alla nascita (età 33; dieta: Leu 2000mg, amminoacidi-AA privi di ramificati-BCAA 40g, energia 1700 kcal; peso 50 kg). I BCAA plasmatici si dosavano su spot di sangue settimanalmente in gravidanza e giornalmente nei successivi 5 giorni dal parto. La dieta veniva adeguata nelle quote di Leu, AA ed Energia a seconda dei fabbisogni nutrizionali e dei valori di BCAA.

RISULTATI: La Leu plasmatica rimaneva nel target tranne che a 5 settimane (645 μM) per scarsa compliance dietetica, emesi e febbre, per cui si impostava una dieta con Leu 1400mg e AA 100g. Dalla 6^o settimana si aumentava gradualmente energia e Leu dietetica e si riduceva la quota di AA fino a: energia 2000kcal, Leu 2800mg e AA 60g a 30 settimane. A 38 settimane la paziente (peso +22 kg) eseguiva parto cesareo in infusione di glucosio 10% (neonato sano, peso 3040g, allattamento artificiale). Dopo il parto veniva ridotta la Leu dietetica a 500 mg. Al quarto giorno con un apporto di Leu 1400mg (AA 63g) la Leu plasmatica saliva a 345 μM per cui veniva ridotta la Leu dietetica a 900mg con rientro dei valori. La paziente è ora a 60 giorni dal parto e sta aumentando la Leu dietetica di 125mg/settimana per tornare all'apporto pre-gravidico.

DISCUSSIONE: Si conferma che uno stretto monitoraggio della gravida con MSUD e pronti interventi dietetici possono portare a buon controllo della Leu plasmatica e soddisfacente peso e sviluppo del neonato.

Eterozigosi in 2 geni coinvolti nel metabolismo energetico: effetto sinergistico?

Teofoli F¹, Ion Popa F¹, Vincenzi M¹, Camostrini N¹, Pasini A¹, Maines E², Bordugo A¹, Tucci S³, Camilot M¹

¹*Azienda Ospedaliera Universitaria, Verona,* ²*U. Pediatria Osp. Santa Chiara, Trento,* ³*Friburgo University, Friburgo*

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La maggior parte degli errori congeniti del metabolismo è ereditata con modalità autosomica recessiva. Tuttavia, in letteratura, sono riportati pazienti eterozigoti per mutazioni causative in 2 o più geni coinvolti nello stesso pathway metabolico [Vockley J et al., 2000].

METODI / PAZIENTI: Mediante screening neonatale è stato identificato un neonato con profilo suggestivo di deficit della deidrogenasi di AcilCoa a catena media.

RISULTATI: L'analisi neonatale ha evidenziato aumento significativo delle acilcarnitine a catena media e lieve delle acilcarnitine a 12 atomi di carbonio. Su plasma, oltre alle acilcarnitine a catena media, si sono mantenute alterate le acilcarnitine a catena più lunga (C12, C12:1 e C14:1). L'attività enzimatica leucocitaria residuale è risultata del 35% rispetto ai controlli. L'analisi molecolare del gene ACADM ha portato all'identificazione di una variante nucleotidica (NM_000016.5:c.31-

1G>A) in eterozigosi sul sito accettore di splicing del primo introne, non ancora descritta. L'effetto fenotipico, valutato con software predittivi è risultato patogenetico. Sulla base del fenotipo biochimico e considerando che l'enzima MCAD è FAD dipendente, abbiamo eseguito l'analisi molecolare del gene ETFDH con identificazione della mutazione in eterozigosi p.Arg175His, destabilizzante il sito di legame con il FAD [Yuka Yotsumoto et al., 2008]. Entrambe le mutazioni sono state ereditate dal padre e trasmesse alla sorella e segregano con il profilo biochimico alterato. DISCUSSIONE: Parker et al (2000) hanno descritto un complesso formato da MCAD, ETF, ETF-Q0, CoQ e il Complesso III. Sulla base di queste osservazioni, si può ipotizzare che il fenotipo biochimico osservato sia determinato da un effetto sinergistico delle 2 mutazioni in eterozigosi identificate nei geni ACADM ed ETFDH.

Studio retrospettivo sul trattamento a lungo termine dei difetti del ciclo dell'urea

Cotugno G¹, Ranucci G¹, Goffredo B¹, Bernabei S¹, Martinelli D¹, Bevivino E¹, Liguori A¹, Sacchetti E¹, Catesini G¹, Antonetti G¹, Cairoli S¹, Vitale A¹, Dionisi Vici C¹
¹UOC Pat Metab Bambino Gesù IRCCS, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Il trattamento a lungo termine dei difetti del ciclo dell'urea (UCD) si basa su una dieta ipoproteica (LPD), aminoacidi essenziali (AA), arginina (Arg) e/o citrullina (Cit) e farmaci scavengers (benzoato-NaBz e fenilbutirrato-NaPB); in alcuni casi è indicato il trapianto di fegato (LT).

METODI/PAZIENTI: Riportiamo i dati relativi al regime dietetico ipoproteico (g/kg/die) e terapeutico (mg/kg/die) in 60 pazienti affetti da UCD e LPI, attualmente in follow-up presso il nostro centro (età mediana 17 anni, range 1-49): CPS 1 pz; OTC 18 pz (8M/10F, 2 diagnosi via NBS); ASS 10 pz (4 diagnosi via NBS); ASL 14 pz (2 diagnosi via NBS); ARGD, 1 pz; HHH 8 pz; LPI 8 pz.

RISULTATI: Tutti i 6 pz sottoposti a LT sono in dieta libera e assumono immunosoppressione esclusiva. All'ultima valutazione ammoniemia mediana 46 µg/dL, range 10-135; glutammina mediana 945 µmol/L, range 594-1295. Nessuna correlazione tra intake proteico e valori di ammonio (p:0.49; R:0.01) e glutammina (p:0.25; R:0.03).

Di seguito i risultati relativi alle singole patologie:

CPS: 1/1 LT.

OTC: 2/18 LT; 15/16 LPD (0.7 + 0.4), 2/16 AA. Maschi: Arg 6/7 (112 + 54); Na-Bz 2/7 (69 + 25). Femmine: Arg 8/9 (155 + 54); Cit 3/9 (167 + 58); Na-Bz 8/9 (185 + 30); NaPB 3/9 (177 + 50).

ASS: 9/10 LPD (0.8+0.5), 2/10 AA, Arg 10/10 (137+57); Na-Bz 6/10 (113+28); 2/10 Na-FB (90+13).

ASL: 3/14 LT; 10/11 LPD (0.8+0.4); Arg 9/11 (147+54); Na-Bz 7/11 (161+ 61); NaPB 4/11 (159+ 62).

ARGD: LPD (0.85); AA; NaBz (62).

HHH: 8/8 LPD (1.0+0.4), Arg 6/8 (122+61); Cit 2/8 (122 + 12); Na-Bz 2/8 (144+78).

LPI: 6/8 LPD (1.0+0.3); Cit 8/8 (82+19); Na-Bz 4/8 (114+67).

DISCUSSIONE: Questo studio dimostra come il trattamento degli UCD vada settato sulle caratteristiche individuali del paziente, valutate con accurato monitoraggio clinico/biochimico. Nel follow-up a lungo termine, le linee guida debbono fornire il riferimento soprattutto in relazione ai dosaggi massimi dei farmaci in relazione alle varie patologie.

Due nuovi casi di deficit di Tirosina Idrossilasi: un ampliamento dello spettro fenotipico

Manti F¹, De Angelis M¹, Fava G¹, Pollini L¹, Presicci A², Serra M², Margari L², Carducci C³, Carducci C³, Leuzzi V¹
¹DAI Neuroscienze Sal Ment, Univ Sapienza, Roma, ²Dip Scienze Med Base, Neurosc, Uni Bari, Bari, ³Dip Med Sperim, Uni Sapienza, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND

Il deficit di tirosina idrossilasi (distonia dopa-responsiva autosomica recessiva) causa deplezione cerebrale di dopamina. Lo spettro fenotipico di questa rara condizione è ampio ed include forme encefalopatiche ad esordio precoce e distonia-parkinsonismi ad esordio più tardivo.

METODI/PAZIENTI

Presentiamo due pazienti con diversa espressione della malattia. K.M. é una bambina di 12 mesi: a

4 mesi esordiva con epilessia generalizzata, ipertermia sine causa, assenza di acquisizioni psicomotorie. Alla prima osservazione presentava un quadro aposturale, marcata ipocinesia e posture distoniche degli AASS, disfagia. F.L. un ragazzo di 15 anni con normale sviluppo neurologico e cognitivo sino all'età di 12, quando emergevano disturbi del comportamento, tremore dell'arto superiore sinistro, rinolalia e disartria. All'obiettività clinica il paziente mostrava una sindrome rigido ipocinetica con ipomimia, discinesie oro-facciali, disfagia, crisi oculogire, flapping tremor, troclea bilaterale a carico degli AASS e atteggiamento distonico degli AAI, quadro comportamentale da deficit frontale.

RISULTATI DISCUSSIONE

Lo studio del liquor mostrava riduzione dell'acido omovanillico (K.M. 47.24 mmol/L v.n. 302-845; F.L. 92.29 mmol/L v.n.148-434) e del rapporto HVA/5HIAA (K.M. 0.3; F.L: 0.69 v.n. 1.50-3.50).Entrambi i pazienti sono stati trattati con L-dopa/carbidopa. K.M. mostrava un miglioramento dell'ipocinesia, del controllo posturale (controllo del capo dopo due settimane), della deglutizione, e dell'interazione sociale. Tollera una posologia di 2.25/0,62 mg/kg/die, un dosaggio maggiore ha causato discinesie buccali di tipo coreico.F.L. ha presentato immediata scomparsa del tremore con fluttuazioni diurne dei sintomi motori che hanno richiesto un incremento della posologia sino a 6,6/1,7 mg/kg/die, l'associazione di pramipexolo (0,27 mg/die) e selegilina (15 mg/die). Sul piano comportamentale residua una sindrome ansiosa con tratti ossessivo-compulsivi.

Sostituti proteici a base di aminoacidi vs glicomacropetide: accettabilità e palatabilità in pazienti fenilchetonurici

Proserpio C², Banderali G¹, Zuvadelli J¹, Paci S¹, Scala I³, Parenti G⁴, Lassandro C¹, Re Dionigi A¹, Strisciuglio P⁴, Pagliarini E², Verduci E¹

¹Osp San Paolo, DISS - Univ Studi Milano, Milano, ²DeFENS - Univ Studi Milano, Milano, ³Dip Att Int Pediatria, AOU Federico II, Napoli, ⁴Dip Sci Med Trasl - Univ Federico II, Napoli

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Il trattamento della fenilchetonuria (PKU) prevede una dieta a basso e controllato apporto di fenilalanina (Phe). Lo scarso gradimento delle miscele aminoacidiche rappresenta un punto critico per la compliance. Lo scopo di questo studio è stato valutare proprietà sensoriali e gradimento di miscele di aminoacidi sintetici e formule a base di glicomacropetide (GMP), proteina con basso contenuto di Phe, per selezionare le formulazioni più gradite.

METODI / PAZIENTI:53 pazienti PKU (età: 7-55 anni) hanno valutato in un'unica seduta 8 campioni: 4 miscele di aminoacidi sintetici e 4 formule a base di GMP (Glytactin), aromatizzate con i medesimi aromi (neutro, cioccolato, pomodoro, fragola), e con apporto di proteine equivalenti pari a 5 g/100 ml. Per ciascun campione è stato chiesto di indicare quali descrittori, tra quelli proposti, caratterizzassero le formulazioni (CATA questionnaire) e il gradimento (scala lineare 100mm per adulti; scala figurata a 7 punti per bambini).

RISULTATI: La Phe ematica media (DS) era di 256,7 (71,2) e di 501,6 (268,1) mmol/L nei soggetti di età inferiore e superiore a 12 anni, rispettivamente. Differenze significative sono state riscontrate tra i campioni per il gradimento (F: 28.06; $p < 0.001$). I campioni di GMP aromatizzati con cioccolato e fragola, descritti come dolci, con gusto e odore delicato e naturale, sono risultati i più graditi. I campioni a base di aminoacidi sintetici sono risultati i meno graditi. I campioni al flavor pomodoro, descritti come salati, acidi, dal colore artificiale, con gusto e odore forte, hanno ottenuto i punteggi più bassi.

DISCUSSIONE:Dai risultati di questo studio emerge che le formule a base di GMP godono di una maggiore accettabilità rispetto alle miscele aminoacidiche. Diversi alimenti e bevande, utilizzando prevalentemente gli aromi di cioccolato e fragola, potrebbero essere sviluppati partendo dal GMP per migliorare la compliance al trattamento dietetico dall'età scolare in poi.

Studio dei fattori che influenzano i livelli di tsh neonatale allo screening: analisi del programma della Regione Abruzzo

Semeraro D¹, Di Dalmazi G¹, Verrocchio S¹, Carlucci M¹, Giuliani C¹, Napolitano G¹, Bucci I¹
¹Endocrinologia CeSIMeT Univ G D'Annunzio, Chieti

INTRODUZIONE/BACKGROUND:I livelli di TSH neonatale (nTSH) allo screening dell'Ipotiroidismo Congenito risentono di numerosi fattori: materni, individuali, ambientali e legati

al protocollo. In questo studio abbiamo analizzato i dati dello screening della Regione Abruzzo, periodo 2011-2016, con lo scopo di valutare i fattori in grado di influenzare i livelli di nTSH. METODI / PAZIENTI: Il protocollo del laboratorio di riferimento regionale prevede il dosaggio di TSH su spot con metodo automatizzato fluoroimmuno metrico a tempo risolto (AutoDELTA, Perkin Elmer). Per ciascun neonato sono stati collezionati i dati anagrafici e clinici disponibili sul cartoncino di prelievo e l'analisi è stata concentrata, in particolare, su: livelli di TSH, sesso, data e luogo nascita. Sono stati esclusi dallo studio i neonati con dati incompleti e i positivi. I livelli di nTSH sono stati analizzati usando un modello di regressione lineare multipla con software Stata, versione 15. La variabile dipendente, nTSH, è stata espressa su scala logaritmica per approssimare la distribuzione normale.

RISULTATI: Il campione era costituito da 60.818 neonati, 29.064 femmine (47,8%) e 31.754 maschi (52,2%). I livelli di nTSH erano più alti nei maschi rispetto alle femmine ($B=1,1$; 95% CI 1,09 - 1,12; $p < 0.001$). I nati in estate e in autunno avevano livelli di nTSH rispettivamente del 13% ($B=0,87$; 95% CI 0,86 - 0,89; $p < 0.001$) e del 3% ($B=0,97$; 95% CI 0,95 - 0,98; $p < 0.001$) inferiori rispetto ai nati in inverno. Valori di TSH significativamente più elevati si riscontravano nei nati nella provincia di Chieti, dove si registrava la maggiore percentuale di neonati con TSH >5 mU/l.

DISCUSSIONE: Lo studio ha dimostrato che i neonati di sesso maschile e i nati in inverno, hanno livelli di nTSH maggiori; a riguardo i dati in letteratura sono contrastanti. Il differente apporto iodico potrebbe spiegare il riscontro di livelli più elevati di TSH nei nati nella provincia di Chieti rispetto alle altre province abruzzesi.

Analisi molecolare dei geni implicati nelle mucopolisaccaridosi: valutazione della casistica di uno studio multicentrico

Zanetti A¹, Rigon L¹, D'Avanzo F¹, Salvalaio M¹, Legnini E¹, Rampazzo A¹, Zampini L², Concolino D³, Fiumara A⁴, Volpi N⁵, Gabrielli O², Scarpa M¹, Tomanin R¹

¹Dip. Salute Donna e Bambino, Univ Padova, Padova, ²Cl Ped Dip Sc Clin Spec Odontost, UnivPM, Ancona, ³Dip Pediatria, Univ Catanzaro, Catanzaro, ⁴Dip Med Clin e Speriment, Univ Catania, Catania, ⁵Dip Scienze della Vita, UniMORE, Modena

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Nell'ambito di un Progetto PRIN, sono state rivalutate le diagnosi molecolari dei pazienti arruolati nello studio, per un totale di 60 soggetti, affetti da diverse forme di MPS.

METODI / PAZIENTI: I dati genetici dei singoli pazienti, resi disponibili dalle diverse Unità Cliniche, sono stati ri-analizzati. Le varianti sono state ri-annotate secondo l'annotazione HGVS corrente.

RISULTATI: La diagnosi molecolare è risultata disponibile per 50 dei 60 pazienti. Per i 10 pazienti non caratterizzati era disponibile l'analisi enzimatica, sulla quale si era basata la formulazione della diagnosi di malattia. Sono state identificate 86 varianti causanti patologia (55 diverse). Il 70% erano missenso, 11.6% non senso e 1 variante senso; il 9.3% erano ampie delezioni/riarrangiamenti, il 3.5% piccole delezioni/inserzioni, il 4.6% varianti di splicing. Nove varianti non erano riportate in letteratura. Una spiccata disomogeneità nell'annotazione delle varianti è risultata evidente; ciò è imputabile al fatto che l'analisi genetica di molti pazienti risale a periodi storici diversi, in cui erano in vigore regole di annotazione differenti. Tale aspetto potrebbe causare difficoltà nell'interpretazione delle varianti, con inevitabili ricadute sulla consulenza genetica.

DISCUSSIONE: Lo studio evidenzia la necessità di completare la diagnosi molecolare nei pazienti MPS già diagnosticati in passato con procedure di tipo biochimico. Emerge poi la necessità di aggiornare periodicamente l'annotazione delle varianti e di depositarle presso database dedicati (LOVD, ClinVar, ecc.) in modo da renderle disponibili alla comunità scientifica. È necessario, inoltre, stabilire un percorso diagnostico-molecolare condiviso, che preveda anche la ricerca delle varianti nei genitori, per facilitare la diagnosi e consentire di identificare anche le varianti *de novo*, che richiedono un diverso percorso di consulenza.

Ricerca in parte finanziata con fondi PRIN 2012

Genotipo complesso alla base di una acidemia malonica ad esordio neonatale

Meli C¹, Iacobacci R¹, Messina M¹, Raudino F¹, Arena A¹, Pittala A¹, Arcidiacono A¹, Fiumara A¹, Tolve M², Bernardini L³, Pizzuti A², Angeloni A², Carducci C²

INTRODUZIONE/BACKGROUND: l'aciduria malonica è una malattia metabolica rara descritta in meno di 20 pazienti, dovuta al deficit di malonil-CoA carbossilasi. La diagnosi può essere oggi effettuata mediante lo screening neonatale esteso con il rilievo di elevati tassi di malonilcarnitina. **METODI / PAZIENTI:** analisi acidi organici urinari (GC/MS); sequenziamento gene MLYCD e GCH array nel seguente caso clinico: neonata nata a termine con parto eutocico; in prima giornata di vita iporeattività, difficoltà alla suzione e cianosi. ECG evidenzia segni di ischemia miocardica con aumento degli enzimi miocardici. Trasferita presso UTIC per grave compromissione dello stato generale. Dimessa all'età di 1 mese con diagnosi di ipertrofia miocardica. All'età di 18 mesi viene condotta presso PS pediatrico per grave compromissione dello stato generale e ipoglicemia (17 mg/dl).

RISULTATI: è stata posta diagnosi di acidemia malonica. La prima analisi molecolare effettuata tramite sequenziamento del gene MLYCD ha evidenziato una mutazione missenso (c.1283C>T (p.Ala428Val) in apparente omozigosi: Il risultato non è stato confermato dalla segregazione familiare, risultando solo il padre portatore della mutazione riscontrata. E' stato quindi condotto uno studio con GCH array. Il test ha rilevato una grossa delezione di circa 3 Mb comprendente il gene MLYCD ed evidenziato quindi, un genotipo molto più complesso alla base della malattia. Viene iniziato trattamento dietetico povero in grassi e ricco in carboidrati con integrazione di carnitina. Il follow-up a 5 anni mostra un normale sviluppo neurologico ed un buon controllo metabolico.

DISCUSSIONE: nel caso descritto non né stato eseguito lo screening dato il trasferimento della neonata prima delle 48 ore di vita. L'indagine molecolare di conferma è necessaria per tutte le patologie dello SNE in quanto può mettere in evidenza come in questo caso genotipi complessi che sicuramente possono influenzare l'outcome della malattia.

Coinvolgimento epatico nei disordini del ciclo dell'urea nel medio-lungo termine

Ranucci G¹, Cotugno G¹, Goffredo B¹, Olivieri G¹, Bernabei S¹, Liguori A¹, Dionisi Vici C¹
¹UOC Pat Metab Bambino Gesù IRCCS, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: L'aumento della sopravvivenza dei pazienti con difetti del ciclo dell'urea (UCD) ha portato all'osservazione di nuove manifestazioni cliniche a sviluppo tardivo. Malgrado le testimonianze storiche di coinvolgimento epatico negli UCD, le informazioni e la loro descrizione sono spesso frammentarie e/o aneddotiche, soprattutto nel lungo termine.

METODI / PAZIENTI: Sono stati arruolati 47 pazienti affetti da UCD, età mediana all'ultima osservazione 21 anni (range 3-49), in follow-up attivo da 13 anni, range 2-35. I parametri raccolti sono stati analizzati comparativamente nei gruppi di osservazione in base al disordine specifico: OTC, ASS, ASL, sindrome HHH, intolleranza alle proteine con lisinuria-LPI

RISULTATI: Le transaminasi (AST; ALT) risultavano significativamente più elevate nei pazienti con ASL e LPI (p: 0.02 e p 0.01, rispettivamente). In aggiunta, i pazienti con ASL mostravano livelli significativamente più elevati di trigliceridi (p< 0.01) ed acido urico (p< 0.01) rispetto a tutti gli altri UCD. Come atteso, i pazienti con LPI mostravano livelli significativamente più elevati di ferritina (p< 0.01) ed LDH (p< 0.01) e i livelli di ferritina correlavano con il livelli di AST(p:0.03). I pazienti con HHH mostravano livelli più elevati di acidi biliari sierici di rispetto agli altri gruppi (23.2+9.0 vs. 4.0+1.4 mcmmol/L, p < 0.01). I valori di alfa-fetoproteina era significativamente maggiori nei pazienti HHH rispetto ai soggetti ASL (37,5+12 vs. 2.9+1.0 ng/ml, p< 0.01), in assenza di lesioni focali epatiche con caratteristiche di malignità.

DISCUSSIONE: I pazienti con ASL, HHH e LPI presentano, rispetto agli altri UCDs, nel follow-up lungo termine segni di malattia epatica cronica. I pazienti ASL mostrano inoltre un profilo biochimico caratteristico di sindrome metabolica. Nei soggetti con LPI l'epatopatia sembra correlarsi al quadro infiammatorio legato all'attivazione macrofagica.

ChIC e paraparesi spastica in età adolescenziale

Nardecchia F¹, Pollini L¹, Presicci A², Simone M², Margari L², Tolve M³, Carducci C³, Carducci C³, Leuzzi V¹

¹DAI Neuroscienze Sal Ment, Univ Sapienza, Roma, ²Dip Scienze Med Base, Neurosc, Uni Bari, Bari, ³Dip Med Sperim, Uni Sapienza, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

L'acidemia metilmalonica con omocistinuria da deficit di CblC è un raro disturbo autosomico recessivo del ciclo di rimetilazione cobalamino-dipendente, con esordio e spettro di sintomi variabili.

METODI/PAZIENTI:

Riportiamo il caso di un ragazzo di 16 anni che, alla nascita, presentava esiti di fetopatia rubeolica (micro-oftalmia, microcefalia e cisti aracnoidea), con normale sviluppo intellettuale. A 14 anni si manifestavano calo del visus, parestesie degli AII e progressivo calo del rendimento scolastico. Giunto alla nostra attenzione a due anni dall'esordio dei sintomi, il paziente presentava una grave paraparesi spastica, non più compatibile con deambulazione autonoma, atteggiamento distonico agli AASS; grave rallentamento ideo-motorio.

RISULTATI:

Veniva rilevata cardiomiopatia dilatativa e proteinuria con microalbuminuria. Visus: 2-3/10; fondo dell'occhio: papilla pallida temporalmente; ERG: nella norma; PEV-pattern: non evocabili. Gli esami di imaging cerebrale e del midollo (RM) non mostravano alterazioni specifiche (modesta atrofia cerebellare). Gli esami metabolici evidenziavano iperomocisteinemia (162 $\mu\text{mol/L}$ vn=4,7-11,3), ipometioninemia (23 $\mu\text{mol/L}$ vn=26-38) ed acidemia metilmalonica (5555 mmol/mol creatina vn=0,4-23). L'indagine genetica confermava la diagnosi di CblC. Iniziava quindi trattamento specifico (idrossicobalamina, betaina, levocarnitina, acido folinico) e sintomatico (baclofene), con netto miglioramento del quadro metabolico raggiungendo i target terapeutici dopo pochi giorni. Al follow-up il visus raggiungeva i 7/10 e, dopo qualche mese, il paziente riportava un incremento nelle performance scolastiche, con parziale recupero della deambulazione autonoma. Permangono invariati gli altri sintomi.

DISCUSSIONE:

Questo caso suggerisce di inserire la ricerca della CblC nella diagnosi differenziale delle paraparesi spastiche autosomiche recessive ad esordio giovanile.

Neuropatia ottica di Leber plus con buona risposta terapeutica

Nardecchia F¹, Fava G¹, Poratti E¹, Dimiccoli P¹, Plateroti R², Leuzzi V¹

¹DAI Neurosc e Sal Ment Univ Sapienza, Roma, ²DAI Testa Collo Oftalm, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La neuropatia ottica ereditaria di Leber (LHON) è una malattia mitocondriale a trasmissione matrilineare, penetranza incompleta, insorgenza tra i 15 e i 35 anni, caratterizzata da deficit binoculare del visus, acuto/subacuto, simultaneo o sequenziale. L'esordio in età infantile è raro. Circa il 20% dei casi è causato in Europa da mutazione T14484C del gene *MT-ND6*. Segnaliamo un nuovo caso con presentazione sindromica.

METODI / PAZIENTI:

D.C. è un ragazzo di 22 anni seguito dai 4 anni per disabilità intellettiva di grado medio, epilessia parziale, lieve emiparesi destra, tremore posturale degli arti superiori ed exotropia. A 19 anni ha presentato progressiva diminuzione del visus nell'arco di due mesi, prima di OD e a distanza di qualche mese di OS. Visus finale: 1/60 (OO). Esame oftalmologico: pallore papillare e tortuosità dei vasi; aumento dello spessore dei nn ottici (diametro 4.96 mm) all'ecografia bulbare; assenza di risposta ai PEV pattern e risposta di ampiezza ridotta ai PEV flash; OCT ripetutamente nella norma. L'analisi genetica confermava mutazione 14484T>C del gene *MT-ND6*, con segregazione materna (madre e sorella gemella, asintomatiche). Dopo 5 mesi dall'esordio dei sintomi, iniziava terapia con Idebenone al dosaggio di 900 mg/die.

RISULTATI:

Dopo 18 mesi di terapia si registrava un significativo recupero del visus (2/10), mantenutosi stabile in seguito, e normalizzazione dei diametri del n. ottico.

DISCUSSIONE:

Né la disabilità intellettiva né l'epilessia appartengono allo spettro fenotipico della LHON. La mutazione T14484C del gene *MT-ND6* manifesta una prognosi migliore delle altre due mutazioni ricorrenti nella popolazione europea. Infine il nostro caso suggerisce una relativa responsività alla terapia con idebenone anche dopo molti mesi dall'esordio.

Deficit secondario di B12 nella popolazione indiana Sikh del Lazio identificato allo Screening neonatale esteso (SNE)

Giovanniello T¹, Nardecchia F², Carducci C¹, Tolve M¹, Artiola C¹, Santagata S¹, Leuzzi V², Angeloni A¹, Carducci C¹

¹Dip Med Sper, Univ La Sapienza, Roma, ²Dip Neurosci Um, Univ La Sapienza, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Un aumento della propionilcarnitina (C3) e dell'acido metilmalonico (MMA) allo SNE può evidenziare, un deficit secondario di vit. B12.

La B12 è un elemento importante nello sviluppo del SNC, un deficit può manifestarsi in modo aspecifico nel tempo, per questo è necessario monitorare e supplementare chi ne abbia carenza.

METODI / PAZIENTI:

Nel Centro Screening di Roma Policlinico Umberto I dal 2014 abbiamo rilevato 18 neonati con deficit di vit. B12, di questi il 66% (12) appartiene alla popolazione Indiana di religione Sikh.

Questa religione impone di seguire una dieta vegetariana, in alcuni casi vegana. Le comunità Sikh provengono dal Punjab indiano e nel Lazio, soprattutto nell'Agropontino, sono circa 30.000. I 12 neonati positivi allo SNE (C3 e MMA) erano tutti figli di donne vegetariano-vegane, non supplementate con B12 durante la gravidanza. Sui neonati e sulle loro madri sono state dosate B12, omocisteina (Hcy), MMA urinario.

RISULTATI:

Nei neonati il valore medio rispettivamente di B12 e Hcy è risultato pari a 112 pg/ml (v.r.177-802 pg/ml) e 33µmol/L (v.r.4.7-11.3µmol/L) rispettivamente. I valori di B12 materno erano al di sotto o ai limiti bassi di riferimento, con un lieve aumento di Hcy per 4 di esse, ma tutte presentavano un' aumentata escrezione di MMA. In tutti i casi, l'integrazione di B12 ha mostrato una rapida riduzione dei valori di Hcy e la normalizzazione dei valori di MMA e di B12.

DISCUSSIONE:

L'eterogeneità di popolazione allo screening neonatale in Italia è un dato consolidato, ma l'evidenza di un gruppo etnico specifico con tale deficit secondario, mette in luce un importante risultato raggiunto dal programma di screening neonatale, sottolineando l'importanza di sensibilizzare i centri nascita ed i consultori pubblici ad eseguire, quando necessario, un'integrazione della vit. B12, al fine di evitare una carenza che potrebbe essere nociva per la formazione del feto e, successivamente, per la crescita del bambino.

Deficit secondario di carnitina nei neonati prematuri: esperienza di un centro regionale dopo l'avvento dello screening metabolico esteso

Morandi G¹, Rodella G¹, Maines E¹, Gugelmo G¹, Dianin A¹, Rigotti E¹, Vedovato S³, Carlini V³, Vincenzi M⁴, Camilot M⁴, Teofoli F⁴, Biban P², Lauriola S², Bordugo A¹

¹Dipartimento di Pediatria, Verona, ²Terapia intensiva neonatale, Verona, ³Terapia intensiva neonatale, Vicenza, ⁴Centro Malattie Metaboliche Neonatali, Verona

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Il deficit sistemico primitivo di carnitina (CSDP) si può presentare con un quadro di cardiomiopatia, ipoglicemia, ipertransaminasemia, iperammoniemia e viene ricercato su dried blood spot (DBS) presso il Centro Regionale di Verona dal 2014. Abbiamo invece analizzato i prematuri (età gestazionale –EG– < 37 settimane) con deficit di carnitina secondario, riscontrati da allora tramite lo screening esteso.

METODI / PAZIENTI: Lo studio ha analizzato le variabili materne e neonatali dei prematuri positivi allo screening per deficit di carnitina, nati a Verona e Vicenza dal 2014 al 2016, confrontandoli con un gruppo di prematuri normali allo screening e comparando i soggetti supplementati (50 mg/kg/die di carnitina per bocca/ev) e non.

RISULTATI: Dei 1271 prematuri sottoposti a screening, 30 hanno presentato il deficit (C0 < 6,35, < 8,96 e < 11,76 mmol/L al I, II, III DBS). Prevalenza del 2,3%. EG media: 25,73 ±1,83 settimane. Il deficit si è presentato non al I ma al II e al III DBS (a 15 e 30 giorni di vita). Dal confronto con 32 neonati di EG sovrapponibile senza deficit, è emerso che i neonati deficitari avevano un periodo di digiuno e di nutrizione parenterale totale (TPN) più prolungati (p < 0,05). Dei 30 affetti, 23 sono stati supplementati, 7 no. In media anche i valori del gruppo non trattato si sono normalizzati al DBS eseguito 50 giorni dal III DBS. Nessuno dei due gruppi ha presentato epatopatia, cardiomiopatia, alterazioni EEG nel primo anno di vita.

DISCUSSIONE: Il deficit di carnitina dei prematuri sembra secondario alla prematurità moderata-

estrema. Non pare legato ad affezioni materno-placentari, bensì all'imaturità dei sistemi enzimatici del prematuro sottoposto a un periodo prolungato di digiuno e di TPN. Il deficit è transitorio e, a prescindere dal trattamento, non sembra implicare problemi nel primo anno di vita. E' necessario uno studio multicentrico comparativo.

Dieta chetogenica e stato nutrizionale: analisi di un gruppo di pazienti con deficit del trasportatore GLUT1

Cipriani A¹, Banci E¹, Marini C², Belli F¹, Bruni G¹

¹Dietetica Professionale AOU Meyer, Firenze, ²Clinica neurologica ped, AOU Meyer, Firenze

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La dieta chetogenica, regime alimentare capace di indurre uno stato di chetosi cronica, è la prima scelta di trattamento per la Sindrome da deficit del trasportatore Glut-1.

METODI/PAZIENTI: Questo studio si propone di valutare gli effetti della dieta chetogenica sullo stato nutrizionale di nove pazienti, affetti da Deficit del trasportatore Glut-1, durante un follow-up di 24 mesi. L'età media dei pazienti all'inizio della dieta è 9 anni e 9 mesi. I pazienti sono stati trattati con dieta chetogenica classica integrata con vitamine e minerali per raggiungere i fabbisogni per età. I parametri monitorati sono stati: il Body Mass Index ed alcuni esami ematici quali proteine totali, azotemia, vitamina D, colesterolo e trigliceridi.

RISULTATI: Analizzando il BMI vediamo come i pazienti che inizialmente si collocavano in percentili relativi a condizioni di obesità e sovrappeso, abbiano raggiunto una condizione di normopeso. I valori ematici di proteine totali e di azotemia si mantengono al di sopra del valore minimo di riferimento per tutta la durata del follow-up. Otto pazienti su nove hanno raggiunto o mantenuto livelli adeguati di Vitamina D nel sangue per tutto il periodo di trattamento. Per quanto riguarda la colesterolemia solo un paziente mostra un innalzamento rispetto ai valori di partenza, mentre due soggetti che partivano da valori elevati hanno mostrato una riduzione alla fine del periodo di follow-up. L'andamento dei trigliceridi mostra che otto pazienti su nove mantengono livelli nella norma per tutto il periodo di follow-up ed il nono paziente, con ipertrigliceridemia ad inizio dieta, ha raggiunto livelli in range dopo sei mesi dall'inizio della dieta.

DISCUSSIONE: Questo studio mette in evidenza come la dieta chetogenica, sebbene sbilanciata nell'apporto di macronutrienti e micronutrienti, se ben monitorata e supplementata da un dietista esperto, permetta di mantenere un buono stato nutrizionale e in alcuni casi migliorarlo.

Screening neonate esteso (SNE): 10 anni di esperienza della Regione Campania

Albano L^{1,2}, Crisci D^{1,2}, Di Tommaso S^{1,2}, Fisco M^{1,2}, Gallo G^{1,2}, Pecce R^{1,2}, Villani G^{1,2}, Salvatore F^{1,2}, Ruoppolo M^{1,2}

¹DMMBM, Univ. Napoli Federico II, Napoli, ²CEINGE Biotecnologie Avanzate scarl, Napoli

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Lo screening neonatale esteso definisce i programmi di medicina preventiva¹, attivati nei primi giorni di vita, aventi per obiettivo la selezione precoce ed il tempestivo trattamento di neonati ad alto rischio di patologie congenite del metabolismo, caratterizzate da mortalità precoce e/o morbilità severa dei soggetti affetti.

METODI: Il processo per lo screening neonatale ha inizio con la raccolta del campione di sangue prelevato dal tallone del neonato tra le 48 e le 72 ore di vita. Nei neonati sottoposti a screening neonatale esteso nella Regione Campania è stato eseguito il dosaggio di aminoacidi ed acilcarnitine su spot di sangue essiccato mediante spettrometria di massa tandem².

RISULTATI: Nel corso della nostra esperienza sono stati sottoposti a screening neonatale esteso 70067 neonati provenienti da 32 centri nascita della Regione Campania. Sono stati identificati 24 neonati affetti da malattie metaboliche ereditarie e 8 deficit di origine materna. L'incidenza complessiva stimata è pari a 1:2190 nati. Il valore predittivo positivo del test si attesta ad un complessivo 96,7%, la specificità al 98,57% e la sensibilità al 100%. Si riportano i risultati relativi all'anno 2016, in cui, su un totale di 14212 nati, i casi positivi identificati sono stati 6: 2 difetti di 3-metilcrotonil-CoA carbossilasi, 1 di citrullinemia tipo I, 1 di ipermetioninemia, 1 di iperornitinemia, 1 di MMA.

DISCUSSIONE: I dati riportati mettono in evidenza che, pur trattandosi di patologie singolarmente rare, nel loro insieme mostrano un'incidenza relativamente alta. L'implementazione dello screening neonatale esteso sul territorio nazionale rappresenta dunque un'importante opportunità per

aumentare i benefici legati ai programmi di screening neonatale di massa.

1.Scolamiero E et al Mol. BioSyst 2015; 11:1525-35 doi:10.1039/c4mb00729h

2.Catanzano F et al J Inherit metab dis 2010; 33:91-4

Eventi ischemici cerebrali nelle acidurie organiche: il ruolo della terapia antiossidante

Spadarella S¹, Gragnaniello V¹, Acampora E¹, Romano A¹, Della Casa R¹, D'Amico A², Zuppaldi C¹, Parenti G¹, Fecarotta S¹

¹Dip. di Pediatria Univ. Federico II, Napoli, ²Dip. di Radiologia Univ. Federico II, Napoli

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La metilmalonico aciduria (MMA) e la propionico aciduria (PA) sono difetti del metabolismo caratterizzati da episodi di scompenso acuto con acidosi e iperammoniemia. I pazienti con MMA possono presentare danno ischemico dei gangli della base con stress ossidativo, associato a un deficit di glutazione.

METODI / PAZIENTI:

L.L., affetto da MMA da mutazione del gene Metilmalocil-CoA Mutasi, a 9 anni ha presentato acidosi metabolica con alterazione del sensorio e della deambulazione, disartria e movimenti afinalistici, in assenza di iperammoniemia. L'EEG mostrava anomalie irritative diffuse, la RMN edema citotossico acuto/subacuto in sede pallidale bilaterale. D.V., affetto da PA da mutazione del gene PCCA, a 13 anni ha presentato disartria e difficoltà nella deambulazione. Gli esami di laboratorio mostravano ammonio 106 umol/l, lattato urinario 435 mmol/mol creatinina. La RMN evidenziava edema intramielinico dei lobi cerebrali e alterazione di segnale da pregresso danno al putamen. Entrambi i pazienti, in aggiunta alla terapia codificata nello scompenso metabolico acuto, hanno praticato un cocktail di antiossidanti (vitamina C, glutazione e Nacetilcisteina) e D.V. ha iniziato trattamento con carbamilglutammato, coenzima Q e vitamine del gruppo B.

RISULTATI:

Il paziente con PA ha presentato ischemia dei gangli della base, finora descritta solo nella MMA. Entrambi hanno mostrato pronta risposta alla terapia, con miglioramento in circa 10 giorni, sospensione dei farmaci dello scompenso acuto e prosieguo del cocktail antiossidante.

DISCUSSIONE:

I casi da noi descritti sottolineano il rischio di coinvolgimento dei gangli della base non solo nella MMA, ma anche nella PA e dunque l'importanza di un monitoraggio neuroradiologico. La patogenesi potrebbe essere legata a stress ossidativo e ad alterazioni della funzione mitocondriale, in presenza di accumulo intracellulare di acidi organici, e pertanto beneficiare di terapia con cocktail vitaminico mitocondriale.

Valutazione della qualità di vita (qdv) nei pazienti adulti affetti da fenilchetonuria in trattamento con Inaa

Cazzorla C¹, Massa P¹, Rossi A¹, Fasan I¹, Rubert L¹, Pascarella A¹, Polo G¹, Burlina A², Burlina A¹

¹Div Inh Metab Dis, Univ Hosp., Padova, ²Neurology Unit, San Bassiano Hosp., Bassano del Grappa

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La terapia d'elezione per la Fenilchetonuria classica (PKU) è una dieta ristretta in Fenilalanina (Phe). È stato riportato che l'aderenza alla dieta diminuisce con l'età adulta per le difficoltà nell'assunzione delle miscele aminoacidiche prive di Phe (mAA). Tali difficoltà incidono sulla QdV dei pazienti. Nuovi trattamenti sono stati recentemente proposti, tra cui l'uso di miscele a base di aminoacidi neutri (LNAA). L'obiettivo dello studio è stata la valutazione della QdV e dell'aderenza in pazienti adulti con differenti regimi dietetici.

METODI: Valutazione della QdV come misura del peso di una scarsa aderenza sul benessere percepito. Per tale valutazione è stato utilizzato il PKU-QOL, primo questionario specifico per la PKU. 18 pazienti adulti affetti da PKU classica in terapia con mAA (18-40 anni; i valori di Phe negli ultimi 6 mesi variano tra 413-1316µM, Tirosina (Tyr) 31-95µM, Phe/Tyr 7-29). In 10 pazienti con difficoltà ad assumere le miscele sono stati introdotti LNAA in microgranuli. Abbiamo valutato la QdV in 8 pazienti con mAA e in 10 con LNAA a tempo 0 (T0) e dopo 6 mesi; monitoraggio di Phe e Tyr a T0 e nei 6 mesi di terapia.

RISULTATI: I valori medi di Phe non sono cambiati significativamente nei due gruppi (mAA pre

706µM post 730µM, LNAA pre 840 post 901) ma i valori medi di Tyr sono aumentati nel gruppo LNAA (pre 66µM post 78µM, p< 0.01). Nel gruppo LNAA c'è una diminuzione del rapporto Phe/Tyr (pre 14 post 12, p< 0.01) e si nota aumento dei campioni inviati, indice di miglioramento dell'aderenza. La valutazione del PKU-QOL ha evidenziato: nel gruppo mAA più aggressività, percezione di gusto peggiore, difficoltà di assunzione di mAA; nel gruppo LNAA riduzione di aggressività, liti familiari, difficoltà di assunzione e di pensieri ricorrenti sul cibo. DISCUSSIONE: L'utilizzo di LNAA sembra indicato nei pazienti nei quali l'assunzione di mAA comporta un peggioramento della QdV e dell'aderenza terapeutica.

Un caso da screening neonatale di aciduria malonica e metilmalonica combinata da mutazione di ACSF3

Baronio F¹, Ortolano R¹, Bettocchi I¹, Righetti F², Morrone A³, Pession A¹, Cassio A¹
¹Screen Neo, AOU S.Orsola-M, Univ Bologna, Bologna, ²Lab Screen Neo, AOU S.Orsola-Malpighi, Bologna, ³Lab Bio Mol Cel, NEUROFARBA, Univ Firenze, Firenze

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La aciduria combinata malonica (MA) e metilmalonica (MMA) (CMAMMA) da mutazione di *ACSF3* è una condizione autosomica recessiva con fenotipo eterogeneo, in genere benigno e caratterizzata da propionilcarnitina (C3) plasmatica normale, MA incostante e ridotta rispetto alla MMA. Sono stati ad oggi descritti 11 soggetti. Riportiamo il caso di una paziente (pz) evidenziata allo screening neonatale (SN).

METODI/PAZIENTI: femmina, genitori 2° cugini, cingalesi. Allo screening neonatale: C3: 4.33 µmol/l (borderline), con MMA positivo su spot ematico. Sono nella norma C3, aminoacidogramma, ammonio, omocisteina, folati e vitamina B12 plasmatici; acido metilmalonico urinario: 311 mM/M CreU. Inizia trattamento con idrossicobalamina 1 g im, senza risultati. L'analisi molecolare dei geni *cblA*, *cblB* è negativa, *MUT* presenta una mutazione c. 890C>T in eterozigosi. La pz è rimasta sempre (follow-up 2.5 anni) asintomatica e con MMA fra 43-759 mM/M CreU; dall'età di 7 mesi una scarsa e incostante escrezione urinaria di MA (range 3-16 mM/M CreU) induce il sospetto di CMAMMA da mutazione di *ACSF3*. L'analisi molecolare evidenzia mutazione in omozigosi c.1470G>C p.(Glu490Asp) e conferma il sospetto clinico. Attualmente la pz segue dieta a contenuto controllato di proteine e l-carnitina, la crescita e lo sviluppo neuropsicomotorio sono normali, è asintomatica.

DISCUSSIONE: il nostro report conferma che è necessario considerare la CMAMMA fra le cause a decorso asintomatico di MMA: la presenza incostante di MA ha indirizzato la diagnosi. La maggioranza dei casi riportati ha decorso benigno in età pediatrica, tuttavia sono descritti due casi di encefalopatia scatenata da trigger infettivi e ritardo psicomotorio in una pz Pakistana di 10 anni con genotipo analogo alla nostra. Sembra pertanto necessario un lungo follow-up per valutare la storia naturale della CMAMMA e lo screening neonatale potrebbe contribuire ad identificare nuovi casi.

Genotipo complesso in famiglia con SCAD

Meli C¹, Iacobacci R¹, Giuffrida F¹, Messina M¹, Raudino F¹, Arena A¹, Pittala A¹, Arcidiacono A¹, Fiumara A¹, Caciotti A², Morrone A²
¹Div Metab Dis, Policlinico, Catania, ²Lab Biol Mol, AOU Meyer, Firenze

INTRODUZIONE/BACKGROUND: il difetto congenito di "Short-Chain Acyl CoA dehydrogenasi" (SCAD) è una malattia metabolica ereditaria inserita nel pannello di patologie evidenziabili con screening neonatale esteso (SNE), causata da mutazioni del gene codificante ACADS. Il fenotipo clinico è eterogeneo con forme asintomatiche o con quadri di grave scompenso metabolico sin dal periodo neonatale. Il marcatore biochimico che permette la diagnosi con SNE è l'accumulo di butirrilcarnitina (C4).

METODI/PAZIENTI: analisi acidi organici urinari (GC/MS); sequenziamento del gene ACADS in una neonata con valori elevati di C4 (1.06 mM/l, cut-off= 0.55 mM/l) allo SNE.

RISULTATI: l'analisi degli acidi organici (GC/MS) urinari ha evidenziato nella neonata una notevole escrezione urinaria di acido etilmalonico. Il sequenziamento del gene ACADS ha evidenziato una variante nucleotidica nota c.625G>A in omozigosi ed una nuova variante nucleotidica c.301G>A allo stato di eterozigosi. Questa nuova variante comporta la sostituzione pAla101Thr dannosa per la proteina. Sono state inoltre identificate allo stadio di omozigosi altre

varianti nucleotidiche nell'esone 3 e nell'esone 8. L'analisi molecolare nei genitori ha evidenziato nel padre uno stato di eterozigote per la variante c.625G>A e c.301G>A, mentre nella madre, è stato evidenziato una condizione di omozigosi per la variante c.625G>. La ricerca di acido etilmalonico nei genitori è risultata assente.

DISCUSSIONE: la SCAD è una delle più comuni patologie congenite della β -ossidazione degli acidi grassi. Il fenotipo clinico è estremamente eterogeneo, da asintomatico a quadri di ritardo dello sviluppo neurologico ed epilessia. Nel nostro caso gli accertamenti di secondo livello e le indagini molecolari hanno confermato la diagnosi di SCAD. Il follow-up ad un anno mostra un normale sviluppo neurologico con persistenza di aciduria etilmalonica. Il fenotipo clinico dei genitori, seppur con genotipo complesso, è normale.

Studio della composizione corporea in pazienti con malattia di Pompe infantile

Taurisano R¹, Liguori A¹, Ranucci G¹, Dionisi Vici C¹, Deodato F¹

¹*Patologia Metabolica, Osp Ped Bamb Gesu, Roma*

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La malattia di Pompe (PD) è una patologia lisosomiale con frequente riscontro di debolezza muscolare, inadeguato intake di nutrienti e conseguente malnutrizione. Attualmente non sono disponibili studi sulla composizione corporea in pazienti con PD infantile (IPD), mentre esistono dati nei casi *late-onset*.

METODI / PAZIENTI:

Abbiamo valutato la composizione corporea in 8 pz con IPD (4 F/4 M; range età 18 mesi-16 anni); 5 fenotipo classico (4/5 non deambulanti e in ventilazione assistita), 3 non classico (3/3 deambulanti, 1 in ventilazione non invasiva). Tutti trattati con ERT e regime dietetico iperproteico. Sono stati rilevati peso, altezza e indice di massa corporea (BMI) ed eseguita bioimpedenzometria nei pazienti di età >5 anni [(BIA)-BIA101[®], Akern], focalizzando la valutazione su massa magra (FFM) e massa grassa (FM). Sottopeso severo BMI z-score < -3, moderato >-3/≤ -2, lieve >-2/>-1.

RISULTATI:

Cinque pz erano normopeso (BMI z score ≥ -1) e 3 sottopeso (1 severo, 1 moderato, 1 lieve). Nei pazienti sottoposti a BIA, 1/6 presentava normali parametri auxologici e bioimpedenzometrici (13 aa, IPD non classica trattata precocemente senza segni miopatici), 4/6 presentavano normale BMI, di cui 3/4 FM aumentata (2 fenotipo classico non deambulanti, 1 non classico deambulazione anserina). Due pz con IPD classica sottopeso (1 moderato, 1 severo) presentavano valori FM inferiori alla norma.

DISCUSSIONE:

La BIA è una metodica non invasiva per lo studio della composizione corporea, validata in età pediatrica oltre i 5 anni e applicata in altre patologie muscolari, con il limite della mancanza di valori normali nella prima infanzia. I risultati di questo studio pediatrico sono in linea con quanto descritto nella PD adulta, confermando la discrepanza tra BMI e FM. Il BMI come singolo parametro non risulta essere un buon indicatore dello stato nutrizionale, in quanto può sottostimare l'aumento della FM da sostituzione adiposa muscolare.

Un caso di pku materna diagnosticata alla 32° settimana di gravidanza

Bruni V², Votino C³, Ferraro S¹, Falvo F¹, Ceravolo M¹, Sestito S¹, Gullace R¹, Concolino D¹

¹*UO Pediatria Università Magna Graecia, Catanzaro, ²Genetica Medica Università Magna Graecia, Catanzaro, ³UOC Medicina fetale Ospedale di Venere, Bari*

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La PKU materna è una patologia emergente che può comportare ripetuti aborti spontanei, parto pretermine e un'importante embriopatia caratterizzata da ritardo di crescita intrauterino (IUGR), microcefalia, ritardo psicomotorio/mentale, dismorfismi facciali e cardiopatie

METODI / PAZIENTI: Presentiamo il caso di una donna di 31 anni, gravida alla 32° settimana di gestazione, con anomalie fetali come IUGR e microcefalia riscontrate ecograficamente. Durante il counselling la paziente riferisce 4 precedenti interruzioni spontanee di gravidanza e per tale ragione aveva effettuato cell-free-Dna risultato nella norma. Nulla di rilevante è emerso dall'anamnesi familiare e dalla ricostruzione dell'albero genealogico. Lo sviluppo cognitivo e l'esame obiettivo appariva nella norma ad eccezione di lievi tremori e colorito chiaro di cute e capelli

RISULTATI: Sulla base dell'età, dei segni clinici e delle malformazioni fetali, si è sospettata una PKU materna, successivamente confermata dagli elevati livelli di phe ematica (24 mg/dl)
DISCUSSIONE: Il nostro caso dimostra come ad oggi, nonostante l'introduzione dello screening neonatale, il riscontro di anomalie fetali come IUGR e la microcefalia possono essere espressione clinica di un disordine metabolico materno come una PKU misconosciuta. Le conseguenze della PKU materna sono irreversibili quindi è di fondamentale importanza per le donne con diagnosi di PKU mantenere i livelli di fenilalanina nel range di normalità durante il corso della gravidanza e ancor prima del concepimento.

Amminoacidi a lento rilascio nella fenilchetonuria : valutazione del controllo metabolico in un gruppo di pazienti in dietoterapia

Ferraro S¹, Mascaro I¹, Pizzini D¹, Moricca M T¹, Sestito S¹, Roppa K¹, Gullace R¹, Concolino D¹

¹UO Pediatria Università Magna Graecia, Catanzaro

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La fenilchetonuria (PKU) è un difetto congenito del metabolismo degli amminoacidi, in cui i livelli di fenilalanina nel sangue sono estremamente elevati a causa dell'alterato funzionamento dell'enzima fenilalanina idrossilasi (PAH). Il gold standard del trattamento è basato su una dietoterapia che mantiene i livelli di fenilalanina in un range di sicurezza (2-4 mg/d) . Di recente sono stati introdotti nuovi approcci terapeutici tra cui gli amminoacidi neutri ed in particolare quelli a lento rilascio (LNAA).

METODI / PAZIENTI:

L'obiettivo è stato quello di valutare la riduzione dei livelli di fenilalanina ematica dopo somministrazione di LNAA. Abbiamo arruolato 10 pazienti di età superiore a 13 anni, i quali sono stati sottoposti, una volta a settimana per quattro settimane, a test da carico di Phe (phe dietetica aumentata di 250 mg/die nella prima e seconda settimana, di 500 mg/die nella terza e quarta settimana) ed alla somministrazione di LNAA (0.5 gr/kg) con successiva valutazione del profilo di Phe dopo carico e della risposta al trattamento

RISULTATI:

La terapia con LNAA è stata ben tollerata e non ha presentato nessun effetto indesiderato . Il risultato ottenuto ha permesso di apportare nella terapia dietetica di questi pazienti un aumento minimo di 250 mg/phe/die

DISCUSSIONE:

In conclusione gli LNAA forniscono un valido supplemento dietetico per controbilanciare un carico di phe o abbassarne i valori plasmatici tra le 12-24 ore evitando così un picco che potrebbe portare a fenomeni di accumulo ed accelerazione della degenerazione neuronale

Malattia di Gaucher: variabilità clinica intrafamiliare in tre sorelle affette da malattia di Gaucher tipo I

Falvo F¹, Scozzafava C¹, Roppa K¹, Bruni V², Bonapace G¹, Moricca M T¹, Gullace R¹, Concolino D¹

¹UO Pediatria Università Magna Graecia, Catanzaro, ²Genetica Medica Università Magna Graecia, Catanzaro

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Sebbene l'eterogeneità clinica della malattia di Gaucher (mG) sia stata più volte descritta ed attribuita a ben dimostrate correlazioni genotipo-fenotipo, riportiamo i casi di tre sorelle (pz1, pz2, pz3), di 27, 23 e 13 anni affette da mG tipo I con estrema variabilità intrafamiliare del fenotipo clinico, biochimico e della risposta alla terapia

METODI / PAZIENTI:

L'esordio della malattia, più precoce (5 anni) e più grave nella pz2, caratterizzato da importante epatosplenomegalia, anemia, piastrinopenia e dolori ossei, aveva condotto alla diagnosi, all'avvio della terapia enzimatica sostitutiva (TES) con imiglucerasi e al successivo studio familiare. Nella pz1 la conferma diagnostica è stata effettuata all'età di 9 anni, quando, per lievi alterazioni ematologiche associate a modesta epatosplenomegalia, la paziente iniziava TES. Nella pz3 l'avvio della TES è stato effettuato all'età di 11 anni per la comparsa di deboli alterazioni ematologiche

RISULTATI:

In seguito all'inizio della TES, per tutte e tre le pazienti si è assistito ad un miglioramento dell'epatosplenomegalia, dei valori di emoglobina e conta piastrinica. La DEXA si è mantenuta nei limiti della norma per le pz 1 e 3, mentre un miglioramento della mineralizzazione ossea ed una lieve riduzione dei dolori ossei si è registrato per la pz2 in seguito allo switch a velaglucerasi. Ciò nonostante i valori di chitotriosidasi erano rimasti elevati in questa paziente nonostante una perfetta aderenza terapeutica

DISCUSSIONE:

I casi clinici sopra descritti dimostrano una estrema variabilità intrafamiliarità di espressione clinica della mG. Inoltre, la discordanza tra l'incremento di mineralizzazione ossea associato al lieve miglioramento della sintomatologia dolorosa e la persistenza di elevati valori di chitotriosidasi nella paziente con fenotipo più grave, impongono riflessioni circa l'attendibilità di tale marker biochimico come strumento di monitoraggio della risposta terapeutica nella mG

Una nuova variante di *SLC2A1* associata a sindrome da deficit di GLUT1

Conte G¹, Di Marzio G¹, De Leo S², Magnani M³, Guerrini R⁴, Leuzzi V¹

¹Dip Neuroscienze, NPI, Univ La Sapienza, Roma, ²Dip. Med Clinica, Serv Nutriz Clin, Univ La Sapienza, Roma, ³Dip Scienze Biomolecolari, Univ Carlo Bo, Urbino, ⁴Dip Neurosc, Lab Neurogen, Os Ped Meyer, Firenze

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

Riportiamo un paziente con epilessia mioclonica associata a variante mai descritta del gene *SLC2A1*, responsabile della sindrome da deficit di GLUT1, trasportatore emato-liquorale del glucosio. Clinicamente si distinguono 2 macrofenotipi e delle forme intermedie: la forma severa con encefalopatia epilettica ad esordio nella I infanzia, microcefalia secondaria, ritardo psicomotorio; la forma lieve con disturbi del movimento (atassia, distonia) indotti dall'esercizio fisico.

METODI / PAZIENTI:

Bambino di 10a6m di origine polacca adottato, diagnosi di epilessia mioclonica ad esordio dal II anno di vita. Storia di ritardo globale di sviluppo con instabilità attentiva e comportamenti oppositivi. Circonferenza cranica < 10° pc, QI ai limiti della norma. All'EON difficoltà di coordinazione motoria e marcia astenica con peggioramento a digiuno della frequenza delle crisi e del quadro neurologico generale.

RISULTATI:

EEG seriati: anom. parossistiche diffuse a tipo P-O/PP-O atipiche in sequenza, molto attive e correlate clinicamente. MRS-RMN negativa. Ipoglicorrachia (41 mg/dl) con rapporto glicemia/glicorrachia=0.42. Sequenziamento *SLC2A1*: variante in eterozigosi a significato incerto c.631C>T (p.(Pro211Ser)), predetta come patogenetica. Data l'irreperibilità dei genitori biologici per studio di segregazione, effettuato test di uptake 3-O-metil-D-glucosio sui GR, con riduzione della velocità di intake del 10-20%.

DISCUSSIONE:

Scarso controllo delle crisi con le diverse terapie AE. Alla diagnosi (9a), introduzione della dieta chetogena con significativo miglioramento di vigilanza e attenzione con riduzione della frequenza delle crisi. Tale efficacia, raggiunta nel I trimestre di dietoterapia, non ha mostrato analoghi effetti a lungo termine. È possibile ipotizzare che la dieta chetogena, specie se introdotta tardivamente, non sia un trattamento a vita della GLUT1-DS, considerati anche gli effetti avversi e l'impatto sulla qualità di vita.

Il deficit di Biotinidasi. Dallo screening alla clinica. Esperienza di un Centro Regionale

Rodella G¹, Di Giovanni C², Bordugo A³, Rigotti E³, Dianin A³, Gugelmo G¹, Monge I³, Pasini A⁴, Campostrini N⁴, Ionpopa F⁴, Teofoli F⁴, Camilot M⁴, Vincenzi M⁴

¹UOS Malattie Metab Ered Univ Verona, Verona, ²UOC Ped Osp Donna Bambino AOUI Verona, Verona, ³UOS Malattie Metab Ered AOUI Verona, Verona, ⁴Cent Reg Screen Mal Metab e End AOUI VR, Verona

INTRODUZIONE/BACKGROUND: Il Centro Regionale screening neonatali, diagnosi e cura delle malattie metaboliche ed endocrinologiche congenite di Verona, esegue lo screening neonatale per deficit di biotinidasi. Dal 2014 viene eseguita anche l'analisi molecolare del gene *BTD* (locus

3p25.1 – RefSeq: NM_000060.3). Presentiamo i risultati dello screening per deficit di biotinidasi eseguito dal 2014 al 2016 sui neonati della Regione Veneto e della Regione Friuli.

METODI / PAZIENTI: L'attività enzimatica è stata analizzata con metodo colorimetrico non quantitativo fino a dicembre 2014 mentre in seguito con reazione enzimatica e immunofluorescenza (GSP Neonatal Biotinidase Kit, Perkin Elmer). Se primo prelievo capillare essiccato su carta (dried blood spot, DBS) risulta alterato viene richiesto secondo DBS ed eventuale dosaggio attività enzimatica su siero e analisi gene BTD nel neonato e nei genitori

RISULTATI: Screenati 116.121 bambini con 202 richiamati per secondo DBS, e 19 per dosaggio su siero. Confermati 15 deficit di cui 4 totali e 11 parziali. Incidenza di 1/9.096 con falsi positivi 0.2%. Sono in carico a Verona 12 pazienti, 11 deficit parziali e 1 totale. Conclusa in tutti l'indagine genetica. Terapia con biotina 5-20 mg/die e follow-up clinico annuale. Tutti asintomatici.

DISCUSSIONE: La mutazione più frequente è c.1330G>C (p.Asp444His), presente in eterozigosi composta in tutti i deficit parziali. Non segnalate nei database internazionali le mutazioni c.508G>A (p.Val170Met) in omozigosi associata a deficit totale e c.237C>T (p.Pro73Leu) in eterozigosi composta in un deficit parziale. In 2 pazienti, con due mutazioni in eterozigosi, l'attività enzimatica su siero risultava inizialmente nella norma, ma in seguito si evidenziava il deficit parziale. Il dosaggio dell'attività enzimatica e l'analisi molecolare, risultano entrambe molto utili nella diagnosi e terapia del deficit di biotinidasi in pazienti asintomatici identificati con lo screening neonatale.

L'accrescimento staturale ponderale non è compromesso nei pazienti affetti da fenilchetonuria (PKU)

Baronio F¹, Bettocchi I¹, Romano A¹, Ortolano R¹, Sarma M², Vitali A², Caletti T³, Pession A¹, Cassio A¹

¹Screen Neo, AOU S.Orsola-M, Univ Bologna, Bologna, ²Lab Screen Neo, AOU S.Orsola-Malpighi, Bologna, ³M Met Diet, AOU S.Orsola-M, Univ Bologna, Bologna

INTRODUZIONE/BACKGROUND: i pazienti affetti da PKU in dietoterapia possono mostrare un accrescimento non ottimale ed obesità. Scopo del nostro studio retrospettivo longitudinale è valutare il rapporto fra terapia dietetica e outcome accrescitivo a lungo termine in un gruppo di pazienti affetti da PKU.

METODI / PAZIENTI: abbiamo valutato altezza, peso BMI, espressi in SDS, l'apporto nutrizionale e calorico di 40 pazienti (24 maschi e 16 femmine) consecutivi, diagnosticati mediante screening neonatale, sottoposti a regime dietetico (dieta ipo/aproteica con integratori aminoacidici) e seguiti presso il Centro regionale di Screening neonatale e malattie metaboliche dell'Emilia Romagna per un follow up medio di 19 anni. I pazienti sono sempre stati in buon controllo metabolico e sono stati suddivisi in 3 gruppi in base alla tolleranza alla fenilalanina (Phe): iperPhe (gruppo 1), PKU mild (gruppo 2), PKU severa (gruppo 3). 25/40 casi hanno raggiunto la statura finale.

RISULTATI: l'apporto di proteine naturali e fenilalanina è risultato maggiore nel gruppo 1, ma sovrapponibile nei gruppi 2 e 3 e nei due sessi. L'apporto calorico presenta un trend negativo negli anni, sovrapponibile nei 3 gruppi e nei due sessi; solo nel gruppo 3 è maggiore in pubertà (p< 0.05). Non vi sono differenze significative entro i 3 gruppi per quanto riguarda l'accrescimento; l'80% dei soggetti ha raggiunto la statura finale entro la target parentale. Nessun paziente è mai risultato obeso durante il follow up. Solo all'età di 8 anni le femmine con PKU classica risultano di peso superiore rispetto ai maschi (p< 0.05).

DISCUSSIONE: i nostri risultati sembrano suggerire che il trattamento dietetico per PKU a cui sono stati sottoposti i pazienti inclusi nel nostro studio non ha compromesso un normale accrescimento staturale ponderale.

Sindrome di Zellweger e immunità: un caso di sepsi fulminante

Righi B¹, Cingolani G¹, Lucaccioni L², Torelli P², Berardi A², Ferrari F², Iughetti L¹, Torcetta F²

¹Scuola di Spec in Pediatria, UNIMORE, Modena, ²UO Neonat, Policlinico di Modena, UNIMORE, Modena

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La Sindrome di Zellweger è una forma severa di uno spettro di disordini ad eredità autosomica recessiva dovuti alla mutazione di un gruppo di geni coinvolti

nella biosintesi e nella funzione dei perossisomi. L'accumulo nel plasma e nei tessuti di acidi grassi a lunga catena (VLCFA) e di altri metaboliti porta a manifestazioni cliniche, laboratoristiche e strumentali caratteristiche. Presentiamo un caso di sepsi da Gram negativo in neonato con sospetta Sindrome di Zellweger.

METODI/PAZIENTI/CASE REPORT: Nato a termine da taglio cesareo elettivo per presentazione podalica, piccolo per età gestazionale. Alla nascita severa ipotonia, minima motilità spontanea e dismorfismi multipli. All'ecografia cerebrale ampliamento dei ventricoli laterali e del III ventricolo, riduzione delle circonvoluzioni cerebrali e scarsa girazione insulare. Agli esami ematici leucopenia, all'ecografia renale cisti renali. In terza giornata di vita sospetta inalazione e ipercapnia per cui presentava un rapido peggioramento delle condizioni generali con severa acidosi metabolica, severa leucopenia e neutropenia. Emocoltura positiva per Escherichia Coli. Nonostante la pronta terapia di supporto e la somministrazione di antibiotici ad ampio spettro un fulmineo peggioramento delle condizioni cliniche portava al decesso. Ricerche su materiali ematici e biologici post mortem confermavano un quadro indicativo di Sindrome di Zellweger.

RISULTATI/DISCUSSIONE: Recenti studi hanno evidenziato un coinvolgimento dei perossisomi nel processo di fagocitosi e nella modulazione dei segnali dell'immunità innata. Proprio quest'ultimo aspetto potrebbe spiegare una sepsi così rapidamente fatale nel nostro neonato, che presentava alterazioni fenotipiche compatibili con la Sindrome. Il decorso fulmineo non ha consentito una valutazione mirata dell'immunità. In attesa di caratterizzazione molecolare completa, gli accertamenti post-mortem (VLCFA) hanno confermato il sospetto diagnostico.

Presentazione atipica di neuropatia ottica di leber

Di Maggio C¹, Nardecchia F¹, Carrozzo R³, Pucci C¹, Mattiucci C⁴, Varrasso G⁴, De Negri A², Plateroti R⁵, Torracco A³, Bertini E³, Leuzzi V¹, Moramarco A⁵

¹DAI Neurosc e Sal Ment, Univ Sapienza, Roma, ²UOC Oculistica, Osp San Cam Forl, Roma, ³Un Mal Musc e Neurodeg, OPBG, Roma, ⁴DAI Mat Infant e Sc Urol, Univ Sapienza, Roma, ⁵DAI Testa Collo, Oftalm, Univ Sapienza, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La neuropatia ottica ereditaria di Leber (LHON) è una malattia mitocondriale a trasmissione matrilineare, a penetranza incompleta e insorgenza tra i 15 e i 35 anni, caratterizzata da deficit binoculare del visus, acuto/subacuto, simultaneo o sequenziale. L'esordio in età infantile è raro.

METODI / PAZIENTI: Segnaliamo un bambino di 12 anni che ha manifestato in pieno benessere un deficit acuto del visus (OD 4/10, OS 6/10) e concomitante congiuntivite di ndd. Nonna e cugino sulla linea materna con pregressa neuropatia ottica di ndd, in un caso regredita spontaneamente. Il bambino ha sofferto di epilessia idiopatica, in remissione dall'età di 11 anni. L'esame neuro-oftalmologico all'esordio mostrava assenza di deficit pupillare afferente; FOO: papille ottiche diffusamente rilevate, teleangectasie presenti tra le fibre ispessite, vasi venosi congesti, piccole emorragie lungo le fibre del polo superiore (OD) e al polo infero-temporale (OS). Ishihara alterato. Scotoma centrocecale bilateralmente. OCT: ispessimento dello strato delle fibre nervose e del nervo ottico bilateralmente, riduzione dello strato delle cellule ganglionari asimmetrico (OD>OS). Fluorangiografia: tenue diffusione papillare nelle fasi tardive, modesto turgore diffuso dei vasi venosi, papilla ottica a margini sfumati, congestione dei grossi vasi, rete capillare accentuata ed ectasica. PEV Pattern: latenza aumentata, in OD a basse frequenze, in OS a medie frequenze. Nella norma: RMN encefalo (mdc), PEV Flash, ERG, CSF (pressione liquorale, esame chimico-fisico, Ab antiacquaporina4 e anti-MOG), sierologia per EBV, CMV, HSV1-2, Morbillo, VZV, Borrelia.

RISULTATI: La diagnosi è stata effettuata mediante sequenziamento con metodo Sanger che ha evidenziato la mutazione T14484C nel gene *MT-ND6* in omoplasmia.

DISCUSSIONE: Questo caso è peculiare per la presentazione atipica con un(o) (pseudo)edema papillare che può essere causa di ritardo diagnostico e terapeutico.

Variabilità nella morbilità del deficit di CBS: evoluzione paucisintomatica in un adulto non trattato

Nardecchia F¹, Greco C¹, De Leo S³, Martinelli M¹, Chinni E², Grandone E², Carducci C⁴, Leuzzi V¹

¹Dai Neurosci e Sal Ment, Univ Sapienza, Roma, ²Ather Throm Unit Ir, Irccs Casa Soll Sof, San

INTRODUZIONE/BACKGROUND:L'omocistinuria classica è un disordine autosomico recessivo del catabolismo della metionina dovuto a mutazioni del gene *CBS*, che codifica per l'enzima cistationina-beta-sintetasi, responsabile di una malattia multisistemica coinvolgente occhio, scheletro, sistema nervoso e vasi. Si riconosce una forma piridossina-responsiva con fenotipo attenuato ed una non responsiva associata ad un quadro clinico più grave. La principale causa di mortalità e morbilità deriva da eventi tromboembolici acuti.

METODI/PAZIENTI:Presentiamo R.A., 42 anni, che a 6 anni a seguito del riscontro di sublussazione del cristallino bilateralmente ed osteoporosi diffusa, effettuava approfondimenti diagnostici in altra struttura con riscontro di valori di iperomocistinemia (H-Hcy) ed ipermetioninemia (H-Met). Si somministrava terapia con piridossina (300 mg/die) ed acido folico (5 mg/die) che il paziente assumeva sino all'età attuale.

RISULTATI:Ad una recente revisione diagnostica, presso il nostro centro, il paziente mostrava funzionamento cognitivo e adattivo adeguati, lieve accentuazione del tremore fisiologico e incertezza nelle prove di equilibrio. Le indagini biochimiche rilevavano valori elevati di Hcy sino a 723 $\mu\text{mol/L}$ (v.n 3-13) e Met tra 700 e 754 $\mu\text{mol/L}$ (v.n 26-38). Lo studio del gene *CBS* confermava la diagnosi (transizione in omozigosi c.1126G>A). Si modificava il trattamento: piridossina (600 mg/die), acido folico (400 $\mu\text{g/die}$), acido ascorbico (1 g/die), idrossicobalamina (1000 $\mu\text{g/sett p.o.}$) e betaina (30 g/die). Non è stato possibile instaurare una dieta povera di metionina né normoproteica per scarsa compliance. Dopo quattro settimane dall'inizio della terapia il valore di Hcy era pari a 64.2 $\mu\text{mol/L}$, quello di Met 1032.6 $\mu\text{mol/L}$.

DISCUSSIONE:Tale quadro suggerisce l'occorrenza di fattori individuali modificatori del fenotipo, a carattere protettivo in questo caso, la cui individuazione può avere rilevanza ai fini del trattamento.

Deficit congenito del trasportatore della creatina (Cr) cerebrale: riscontro di una nuova mutazione

Olivieri I², Tinelli F¹, Moro F¹, Alessandri' M¹, Battini R¹

¹IRCCS Stella Maris, Pisa, ²Univ. di Pisa, Pisa

INTRODUZIONE/BACKGROUND:I deficit di Cr sono causati da 3 difetti metabolici: 2 relativi alla sintesi di Cr (deficit enzimi AGAT e GAMT) ed 1 al trasportatore (CRTR). Il deficit di CRTR, legato a mutazione del gene *SLC6A8* (Xq28), rappresenta la II causa più frequente di disabilità intellettiva X linked. Il rapporto Cr/Crn viene utilizzato come I marker diagnostico ed è generalmente aumentato da 2 a 10 volte. Il difetto di CRTR determina un fenotipo clinico caratterizzato da disabilità intellettiva, disturbo del linguaggio, episodi critici nel 50% dei casi, ipoplasia della parte centrale del volto e, talvolta, bassa statura. Le mutazioni più comuni, identificate fino ad oggi, sono mutazioni missense (31%) o delezioni di 1 singolo aminoacido (3bp, 24%); le meno frequenti sono: mutazioni frameshift, nonsense, errori di congiunzione e "translation initiation site mutation".

METODI / PAZIENTI: Bambino di 9 anni con disprassia verbale, disabilità intellettiva di grado medio, iperattività, labilità attentiva, disturbo del movimento agli arti superiori. Riferita assenza di linguaggio nello zio materno.

RISULTATI:Dosaggio Cr e acido guanidinoacetico plasmatici (nella norma) e urinari (Cr/Crn 2.12, v.r. < 1)

RM encefalo e spettroscopia: alla spettroscopia (1H-MRS) non rilevabile il segnale della Cr a 3.02 ppm nella sostanza bianca e sua estrema riduzione nella sostanza grigia. Reperto confermato nell'acquisizione del segnale 31P-MRS dove si evidenzia picco a 0 ppm attribuibile a Fosfocreatina in concentrazioni nettamente inferiori rispetto ai dati normativi.

Analisi gene *SLC6A8* su sangue: delezione di 11 nucleotidi in emizigosi in posizione c.736_746del nella regione codificante del gene *SCL6A8*.

DISCUSSIONE:Primo caso descritto compatibile con deficit congenito del CRTR da delezione di 11 nucleotidi in emizigosi in posizione c.736_746del nella regione codificante del gene *SCL6A8*. Tale variante determina infatti l'introduzione di un codone di stop precoce (p.Val246Cysfs*47).

INTRODUZIONE/BACKGROUND:In questo lavoro abbiamo analizzato i dati dello screening della Fenilchetonuria nella Regione Abruzzo nel periodo 2011-2016 con lo scopo di definire la prevalenza dell'iperfenilalaninemia (HPA); valutare la distribuzione dei valori di Fenilalanina (Phe); identificare l'eventuale influenza di fattori sul valore della Phe allo screening.

METODI / PAZIENTI:Il protocollo prevede la determinazione della Phe su spot con metodo fluorimetrico. Il prelievo è effettuato tra la 48^a ora e la 4^a giornata di vita; un re-test è previsto in caso di dimissione precoce e in 15^a e 30^a giornata per categorie speciali di neonati. Sono stati analizzati i dati del periodo 2011-2016: esaminati, richiamati, positivi, diagnosi confermate, distribuzione dei valori di Phe nei neonati a termine normopeso, correlazione con peso e giorno del prelievo. L'analisi statistica è stata effettuata con software STATA 10 utilizzando test di Pearson, T-test e MannWhitney.

RISULTATI:Sono stati sottoposti a screening 66.863 neonati. 273 neonati sono stati richiamati, in 15 è stata confermata la diagnosi di HPA: 1 deficit di BH4, 8 HPA III, 4 HPA II, 2 HPA I (dati forniti dal Centro di riferimento clinico di Fano). La prevalenza di HPA è di 1 caso su 4.457 esaminati. L'analisi della distribuzione dei valori di Phe nella popolazione ha mostrato una media di 0.8±0,2 mg/dl. I valori di Phe sono risultati significativamente più elevati nei neonati con prelievo prima della seconda giornata e inversamente correlati al peso alla nascita.

DISCUSSIONE:La prevalenza di HPA nella regione è in accordo con la media nazionale. La correlazione inversa tra peso e valori di Phe è imputabile all'inclusione, nei basso peso, di neonati prematuri. Il prelievo precoce non sembra incidere sul rischio di falsi negativi. I dati confermano la necessità di periodica valutazione della distribuzione della Phe per individuare il cut-off appropriato e migliorare la sensibilità del programma.

Leucodistrofia metacromatica: un caso di pubertà precoce

Nardecchia F¹, Poratti E¹, Dimiccoli P¹, Di Maggio C¹, Commone A¹, Pucci C¹, Leuzzi V¹
¹DAI Neurosc e Sal Ment, Univ Sapienza, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: La leucodistrofia metacromatica è una malattia lisosomiale, autosomica recessiva, caratterizzata

dall'accumulo di solfatidi a livello della mielina del sistema nervoso e, in minor quantità, nei tessuti a funzione escretoria, tra cui reni, fegato e cistifellea. E' stato descritto, inoltre, coinvolgimento di tipo deficitario dell'ipofisi anteriore, surreni, testicoli, ovaie ed endometrio.

METODI / PAZIENTI:Il caso presentato è una bambina di 7,6 anni con esordio tipico intorno ai 2,6 anni, caratterizzato

da rapida regressione psicomotoria e ipotono. La RMN dell'encefalo mostrava diffusa e marcata iperintensità di segnale della

sostanza bianca biemisferica sovratentoriale, con coinvolgimento del corpo calloso. Il dosaggio dell'attività dell'arilsulfatasi A rivelava una riduzione del 91% e l'indagine genetica una eterozigosi composta per [p.Tyr201Cys] e [p.Leu428Pro] nel gene ARSA. A 6 mesi dalla diagnosi comparsa di episodi critici polimorfi. Intorno ai 4 anni osservato telarca

bilaterale isolato e incremento della lanuggine corporea, con successiva comparsa di pubarca.

RISULTATI:Il GnRH test evidenziava un'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi- gonadi, definendo un quadro di

pubertà precoce centrale. L'ecografia pelvica mostrava alcuni follicoli bilaterali con diametro di 3 mm. L'Rx polso evidenziava un'età ossea avanzata rispetto a quella cronologica, con uno scarto superiore ad un anno. La progressione del quadro neurologico ha determinato un quadro di tetraparesi spastico-distonica, assenza di linguaggio e residuo ed incostante contatto di sguardo. Assume terapia antiepilettica con crisi plurisettimanali e trattamento ormonale con analoghi del GnRH.

DISCUSSIONE:A differenza del riscontro di ipofunzionamento dell'asse ipotalamo-ipofisi- gonadi descritto nelle

leucodistrofie e consensuale al processo degenerativo, si segnala in questo caso l'iperattivazione dell'asse, finora non descritta in letteratura.

Deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena corta (SCADD) e Riboflavina: risposta di un paziente al trattamento

Tolve M¹, Giovanniello T¹, Carducci C¹, Nardecchia F², Artiola C¹, D'Amici S¹, Leuzzi V², Angeloni A¹, Carducci C³

¹Dip Med Sper, Univ La Sapienza, Roma, ²Dip Neurosci Um, Univ La Sapienza, Roma, ³Dip Med Sper, Univ La Sapienza, Roma

INTRODUZIONE/BACKGROUND: SCADD è un difetto congenito dell'ossidazione degli acidi grassi, caratterizzato da segni clinici variabili, con aumento della concentrazione di butirilcarnitina (C4) e dell'escrezione urinaria di acido etilmalonico (EMA). Tale patologia è inclusa nel pannello dello SNE. L'utilizzo di Riboflavina, precursore del FAD è un trattamento possibile.

METODI / PAZIENTI: Riportiamo il caso di un bambino (30m), nato a termine da fecondazione eterologa. Allo SNE presentava un aumento di C4. Le indagini di conferma mostravano un' aumentata escrezione di EMA. Durante il follow-up il bimbo non è stato sintomatico e le tappe dello sviluppo sono state finora adeguate, nonostante le concentrazioni costantemente elevate dei biomarcatori. Dai 18 mesi ha assunto Riboflavina 10mg/kg/die, in due cicli di 10 settimane

RISULTATI: Durante i cicli di assunzione di Riboflavina le concentrazioni di EMA e C4 si sono sostanzialmente ridotte. I controlli effettuati dopo la sospensione del farmaco hanno evidenziato una concentrazione dei metaboliti sovrapponibile a quella precedente alla terapia. L'analisi del gene ACADS ha evidenziato tre varianti potenzialmente patogenetiche: p.Arg272Cys, p.Arg234Trp e p.Gly78Arg. Gli aminoacidi Arg234 e Arg272 sono coinvolti rispettivamente nel legame del FAD e dell'acil-CoA all'interno del sito attivo. La Gly78 è situata all'inizio di un loop che conferisce mobilità ad un dominio della proteina. La mutagenesi in silico ha mostrato che la p.Arg272Cys e la p.Arg234Trp, riducono le interazioni con il CoA ed il FAD, con cambiamento conformazionale del sito attivo. La p.Gly78Arg crea ingombro sterico limitante la mobilità del loop

DISCUSSIONE:

Nonostante i dati epidemiologici indichino questa condizione come benigna, non si può escludere un esordio tardivo. Lo studio bioinformatico delle varianti può confermare l'azione stabilizzante dei cofattori e la loro azione nel trattamento, influenzando così sulla prognosi a lungo termine.

Sindrome iperinsulinismo-iperammoniemia: descrizione di un caso clinico

Grisolia M¹, Romano G¹, Bonapace G¹, Sestito S¹, Ceravolo M¹, Scozzafava C¹, Ferraro S¹, Concolino D¹

¹UO Pediatria Università Magna Graecia, Catanzaro

INTRODUZIONE/BACKGROUND:

La sindrome da iperinsulinismo/iperammoniemia (HI/HA) causata da mutazione con guadagno di funzione del gene GLUD1, è tra le più comuni cause di iperinsulinismo congenito. E' caratterizzata da episodi ricorrenti di ipoglicemia ed iperammoniemia persistente lieve-moderata in assenza di sintomi da iperammoniemia. Vi è un' aumentata incidenza di crisi epilettiche, spesso assenze, non associate ad ipoglicemia. Alcuni bambini affetti presentano ritardo dello sviluppo psicomotorio e disturbi comportamentali.

METODI / PAZIENTI:

Presentiamo il caso di una piccola paziente di 6 anni, che all'età di 16 mesi, in seguito a 3 episodi critici esorditi con crisi di assenza, spesso non a digiuno, effettuava EEG che mostrava anomalie epilettiformi intercritiche diffuse e RMN encefalo risultatanegativa. La piccola iniziava terapia con acido valproico, sospesa per intolleranza al farmaco. All'età di 21 mesi episodio critico caratterizzato da ipertono, revulsione oculare, cianosi, vomito. Posta sotto monitoraggio, sono stati documentati diversi episodi di ipoglicemia. Al test del digiuno si evidenziava iperinsulinismo ed iperammoniemia. Acidi organici urinari, acilcarnitine, clinitest ed aminoacidemia nella norma. Posta diagnosi di HI/HA, veniva intrapreso regime dietetico ipoproteico, a ridotto contenuto di leucina, associato a terapia con Diazossido (5mg/kg/die).

RISULTATI:

Grazie ad una perfetta aderenza dietetica e terapeutica, oggi la piccola presenta uno sviluppo psicomotorio e dei parametri di crescita adeguati per l'età e nessun episodio critico si è più ripresentato. Buono il controllo metabolico eccetto che per iperammoniemia lieve-moderata asintomatica.

DISCUSSIONE:

Il caso da noi descritto dimostra come l'associazione tra la storia clinica e le anomalie metaboliche evidenziate dai test di laboratorio possono supportare la diagnosi di tale condizione con il conseguente avvio tempestivo di un approccio terapeutico adeguato.