

Tozzi G¹, Olivieri G¹, Boenzi S¹, Lepri F², Novelli A², Rizzo C¹, Giovanniello T³, Di Michele S⁴, Carducci C³, Pieragostino D⁵, Dionisi-Vici C¹

¹U.O.C. e Unità di Ricerca Malattie Metaboliche; ²Genetica Medica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù IRCCS-Roma; ³Medicina Sperimentale, Università La Sapienza, Roma; ⁴Pediatria Medica, Ospedale Spirito Santo, Pescara; ⁵Università G. d'Annunzio, Chieti

Introduzione

Il deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena media (MCAD) e il difetto di acil-CoA deidrogenasi a catena lunga (VLCAD) sono malattie autosomiche recessive e rappresentano le forme più comuni dei difetti della β -ossidazione degli acidi grassi. Entrambe le patologie sono malattie inserite nel pannello dello screening neonatale esteso (SNE) e, in caso di esito positivo allo SNE, è necessario avviare il percorso di conferma diagnostica basato su indagini biochimiche, dosaggio delle acilcarnitine su plasma e degli acidi organici urinari, studio funzionale dell'attività enzimatica residua e indagine genetica per la ricerca delle mutazioni. L'uso combinato di questi test permette di stabilire la severità clinica della malattia e il trattamento a lungo termine.

Metodi & Pazienti

L'attività enzimatica, determinata mediante HPLC-UV^{1,2}, misura il rate di ossidazione dell'octanoil-CoA (deficit di MCAD) e del palmitoil-CoA (deficit di VLCAD), confrontando l'area dei prodotti della reazione [C8:1-CoA e C8:OH-CoA (deficit MCAD); C16:1-CoA e C16:OH-CoA (deficit VLCAD)] con l'area dei substrati precursori [C8:0-CoA (MCAD); C16:0-CoA (VLCAD)].

L'attività enzimatica è stata valutata sui linfociti di:

- soggetti di controllo
- soggetti positivi allo SNE per
 - ✓ MCAD (n.2)
 - ✓ VLCAD (n.7)
- 2 pazienti con diagnosi clinica di VLCAD

Risultati

- **MCAD (tabella 1)**
 - ✓ AE 0%, forma severa (1 SNE)
 - ✓ AE 50%, eterozigote (1 SNE)
- **VLCAD (tabella 2)**
 - ✓ AE 0%-3.4%, forma severa (3 SNE, 2 diagnosi clinica)
 - ✓ AE 14%-21%, forma mild (3 SNE),
 - ✓ AE 50%, eterozigote (1 SNE)

Le Figure 1 e 2 illustrano il profilo cromatografico nei controlli e in soggetti con deficit di MCAD e VLCAD.

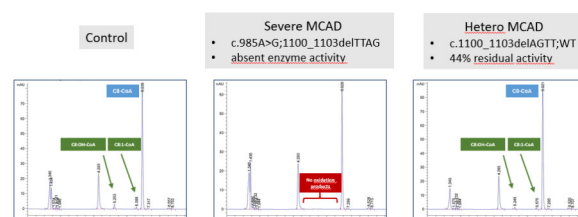


Figura 1

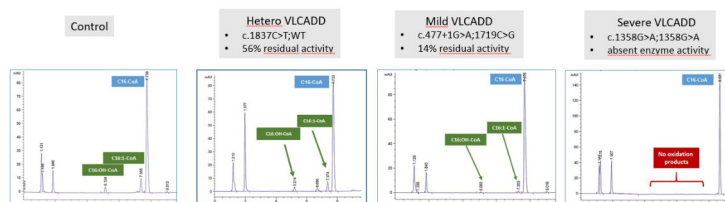


Figura 2

	Pt.1	Het. 1
Genotipo	c.1100_1103delAGTT / 1666_1668delAAG	c.1100_1103delAGTT / WT
% attività MCAD	0	52

Tabella 1

	Pt.1	Pt. 2	Pt. 3	Pt. 4	Pt. 5	Pt. 6	Pt. 7	Pt. 8	Het. 1
Genotipo	c.887_888delCT / 1666_1668delAAG	c.1358G>A / 1358G>A	c.1004A>C / 1004A>C	c.753-2A>C / 500_1502delCC T	c.520G>A / 1049G>C	C.477+1G>A / 1719C>G	c.829_830delGAG / 1700G>A	c.848T>C / 1500_1502delCC T	c.1837C>T / WT
% attività VLCAD	0	0	0	2.6	3.4	11	18	21	56

Tabella 2

Conclusioni

La conferma diagnostica ottenuta combinando il dato funzionale dell'attività enzimatica al risultato dell'esame genetico ha permesso di definire il fenotipo clinico dei soggetti positivi allo SNE per deficit di MCAD e VLCAD, discriminando i pazienti affetti da forma severa rispetto a quelli con forma mild, e ha evidenziato un'elevata attività enzimatica residua nei 2 soggetti eterozigoti (1 MCAD, 1 VLCAD) risultati positivi allo SNE. Lo studio funzionale è risultato inoltre molto utile per validare la patogenicità di nuove varianti.

Un recente studio comparativo³ ha mostrato un aumento dell'incidenza dei deficit di β -ossidazione con l'introduzione dello SNE, sollevando il dubbio che una parte rilevante dei casi identificati possano essere affetti da forme lievi (non-sintomatiche) di malattia rispetto a quelli con forma severa (sintomatica).

Questi nuovi scenari svelati dall'introduzione dello SNE, che comprendono anche la possibilità che vengano intercettati soggetti eterozigoti, portatori sani, per il deficit di MCAD e di VLCAD, rende indispensabile un approfondito percorso di conferma diagnostica (Figura 3) che differenzi i pazienti con forma severa, rispetto a quelli con forma lieve da individui portatori sani, per evitare l'overtreatment di una parte rilevante di individui e indirizzare al percorso di cura i soli soggetti che ne abbiano una reale necessità.

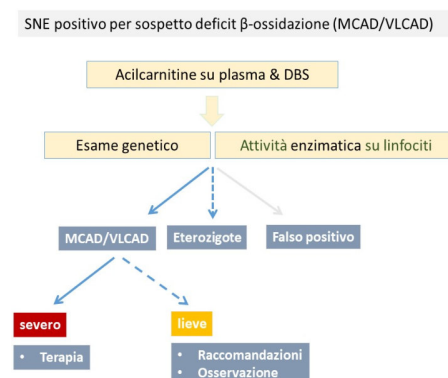


Figura 3

Bibliografia

1. Tucci S. et al. Genotype and residual enzyme activity in medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency: are predictions possible? J Inher Metab Dis 2021;44:1-10
2. Hesse J. et al. The diagnostic challenge in very-long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency (VLCADD). J Inher Metab Dis 2018;41:1169-78
3. Marsden D. et al. Impact of newborn screening on the reported incidence and clinical outcomes associated with medium- and long-chain fatty acid oxidation disorders. Genet Med 2021;23:816-29