



ASSEGNO DI RICERCA

“Screening neonatale allargato per le malattie metaboliche ereditarie. Valutazione dei casi diagnosticati. Ruolo della tipizzazione genetica nella conferma diagnostica e nella correlazione genotipo-fenotipo”

Dott.ssa Giulia Rodella

Relazione attività di ricerca dal 01/05/2020 al 30/04/2021

Le Malattie Metaboliche Ereditarie (MME)

Le Malattie Metaboliche Ereditarie (MME) comprendono un gruppo fenotipicamente e geneticamente eterogeneo di disturbi causati da un enzima difettoso, cofattore o trasportatore in una via metabolica, che porta a malfunzionamento metabolico e / o accumulo di metaboliti intermedi tossici. Questo gruppo di disturbi comprende disordini degli aminoacidi, difetti del ciclo dell'urea, acidemie organiche, difetti dell'ossidazione degli acidi grassi, disordini mitocondriali, disordini del metabolismo dei carboidrati, disordini perossisomali, disturbi del metabolismo delle purine e della pirimidine, disordini neurotrasmettitori, disturbi del trasporto e dei minerali, mucopolisaccaridosi, mucopolipidosi, colesterolo e disturbi del metabolismo dei lipidi neurali, disturbi della memoria lipidica, disturbi lisosomiali e altri difetti vari. Le MME possono presentarsi a qualsiasi età, dallo stadio fetale all'età avanzata. Possono influenzare qualsiasi tipo di cellula, o organo, o possono verificarsi in combinazioni. Le presentazioni cliniche sono proteiforme e spesso non specifiche. Le MME sono singolarmente rare, ma sono comuni come gruppo. Molte di queste sono suscettibili di un intervento dietetico e rispondono all'integrazione di metaboliti carenti, alla prevenzione dello stress metabolico e alla rimozione di metaboliti tossici. Inoltre, le MME non trattate, possono essere altamente dannose, con conseguenti gravi disabilità e decessi.

Lo Screening Neonatale Esteso (SNE) delle MME mediante spettrometria di massa tandem

Nell'ultimo decennio, grazie all'avvento della spettrometria di massa tandem, lo Screening Neonatale Esteso (SNE) è diventato una strategia obbligatoria di salute pubblica in molti paesi. La tecnologia consente la rilevazione simultanea ed economica di oltre 40 diversi disordini metabolici in un singolo campione di sangue su cartoncino lasciato essiccare, “dried blood spot” (DBS), con costi contenuti e con una precisione analitica elevata. Gli effetti negativi dei risultati falsamente positivi sono da non trascurare, ma possono essere contenuti grazie all'aumento e al miglioramento della precisione del risultato, un buon grado di comunicazione ed un buon supporto psicologico.

La Next Generation Sequencing (NGS) e lo SNE



L'avvento delle tecnologie molecolari (NGS) ha reso l'approccio genomico tecnicamente fattibile. La possibilità di eseguire programmi di SNE usando un approccio genomico è stato oggetto di discussione dal 2006. Alcuni autori hanno ipotizzato che il sequenziamento dell'intero genoma poteva essere utilizzato come servizio di routine nei programmi di SNE. È probabile che il costo di condurre SNE usando un approccio genomico diventerà più ragionevole, e questo metodo potrebbe identificare più patologie che attualmente non possono esserlo con le tecnologie odierne. Insieme alle informazioni farmacogenetiche, ciò rappresenterebbe una nuova fase nell'era della medicina personalizzata. In teoria, potrebbe anche minimizzare i falsi negativi causati dalla compensazione fisiologica, e quando non richiede un particolare tempo di campionamento, i risultati, e quindi il trattamento, possono essere dati in tempi più brevi. Tuttavia, numerosi problemi etici e tecnici devono ancora essere risolti, molti dei quali hanno generato un dibattito. Le principali questioni riguardano la decisione delle condizioni da segnalare, le relative soglie di segnalazione, i carichi psicosociali causati dalle condizioni di segnalazione con implicazioni cliniche incerte e la conservazione, la protezione e l'utilizzo della grande quantità di informazioni genetiche generate. Altre preoccupazioni riguardano la potenziale violazione dell'autonomia dell'individuo testato se vengono scoperti anche alcuni disordini a insorgenza tardiva. Tecnicamente ci sono anche difficoltà inerenti all'interpretazione di varianti non classificate, la necessità di analisi e interpretazioni veloci, l'importanza di prestazioni analitiche accettabili e la quantità limitata di DNA disponibile dai neonati.

Esperienza del Centro Regionale per lo Screening, la Diagnosi e la Terapia delle Malattie Metaboliche Congenite ed Endocrinologiche.

Secondo la legge del 19 agosto 2016 n. 169 e DGR 1308/13, lo screening metabolico allargato nel Centro Regionale per lo Screening, la Diagnosi e la Terapia delle Malattie Metaboliche Congenite ed Endocrinologiche indaga un pannello di 45 malattie metaboliche ereditarie, in particolare:

Malattie Metaboliche Ereditarie oggetto di Screening Neonatale Allargato

1. Malattie Metabolismo Aminoacidi

- Fenilchetonuria/Iperfenilalanemia (PKU/H-PHE)
- Malattia delle Urine a Sciroppo d'Acero (MSUD)
- Tirosinemia tipo 1 e II (TYR 1 e 2)
- Citrullinemia (CIT I e II)
- Argininemia (ARG)
- Acidemia Argininsuccinica (ASA)
- Omocistinuria (CBS)
- Omocistinuria (MTHFR severo)

2. Malattie del Metabolismo degli Acidi Organici

- Deficit beta-chetotilasi (BKT)



- Acidemia 3-idrossi-3 metil glutarica (HMG)
- Deficit di 2-Metilbutiril-CoA deidrogenasi (2MBG)
- Aciduria Malonica (MAL)
- Acidemia Glutarica tipo I (GA 1)
- Acidemia Isovalerica (IVA)
- Acidemia Propionica (PA)
- Acidemia Metilmalaonica (MMA)
- Deficit di Cobalamina (A,B,C,D)
- Deficit di 3-idrossi-3 Metilglutaril CoA liasi (HMG)
- Deficit di 3 metil Crotonil CoA carbossilasi (3MCC)

3. Malattie del Metabolismo degli acidi grassi

- Deficit Trasportatore Carnitina (CUD)
- Deficit Carnitina Palmitoil Transferasi I (CPTI)
- Deficit Carnitina Palmitoil Transferasi II (CPT II)
- Deficit Carnitina-Acilocarnitina Traslocasi (CACT)
- Deficit dell'acil CoA deidrogenasi a Catena Media (MCAD)
- Deficit dell'acil CoA a Catena Lunga (VLCAD)
- Deficit dell'idrossi acil CoA a Catena Lunga (LCHAD)
- Deficit Multiplo di Acil CoA Deidrogenasi (GA II)
- Deficit di 3 Idrossi-Acil-CoA deidrogenasi a catena media/corta (M/SHAD)
- Deficit di Proteina Trifunzionale Mitocondriale

4. Galattosemia

5. Difetto di Biotinidasi

Malattie metaboliche ereditarie che potrebbero essere identificate perché in diagnosi differenziale con le patologie indicate nel pannello principale, ma che non sono obiettivo primario dello screening:



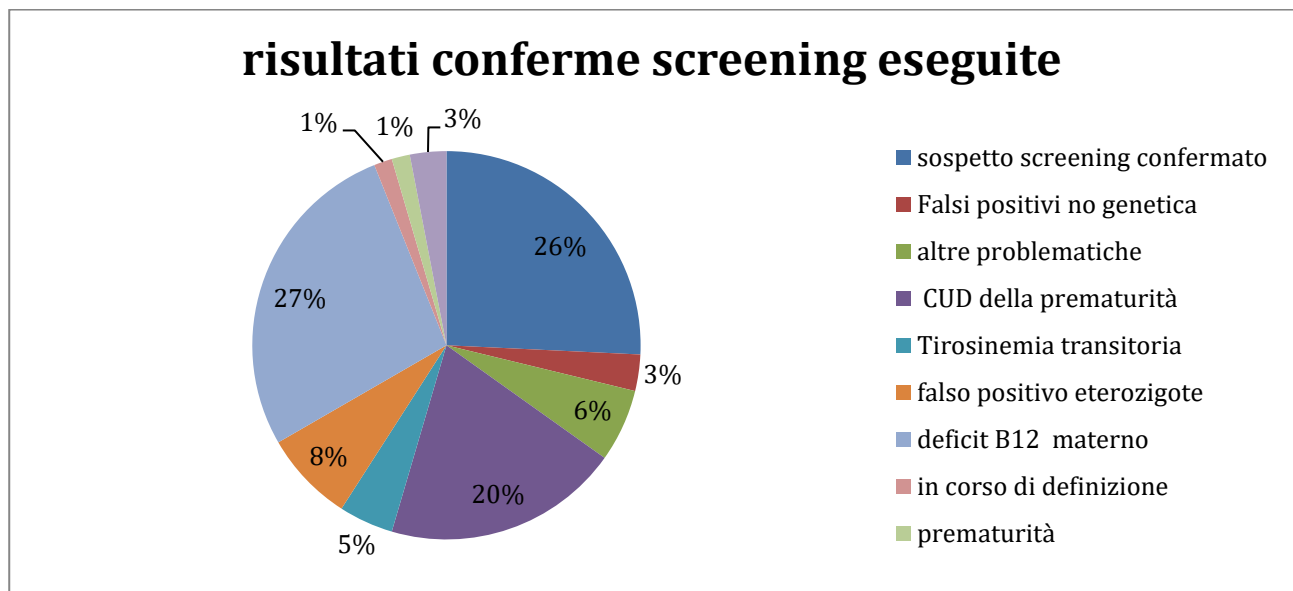
- ✓ Tirosinemia tipo III Il marcatore, la tirosina alta, è lo stesso della tirosinemia tipo I e II
- ✓ Deficit di glicina N Metiltransferasi (GNMT) Il marcatore, la metionina, è lo stesso della omocistinuria
- ✓ Deficit di Metionina Adenosil transferasi (MAT) Il marcatore, la metionina, è lo stesso della omocistinuria
- ✓ Deficit di S Adenosilomocisteina idrolasi (SAHH) il marcatore, la metionina, è lo stesso della omocistinuria
- ✓ Deficit di 3 Metil crotonil Co A Carbossilasi (3-MCC) rientra nel nostro pannello principale, marcatore C5OH
- ✓ Deficit di 2 Metil 3 idrossibutiril CoA deidrogenasi (2M3HBA) il marcatore C5OH è lo stesso del deficit multiplo di carbossilasi (3MCC)
- ✓ Deficit di Isobutiril CoA Deidrogenasi (IBG) il marcatore C4 è lo stesso della GAI
- ✓ Deficit di Acil CoA a catena corta (SCAD) il marcatore C4 è lo stesso della GAI

Lo screening neonatale per malattie metaboliche ereditarie nella regione Veneto è affidato a due laboratori: il laboratorio dell'UOC di Malattie Metaboliche Ereditarie di Padova per i nati nelle province di Venezia, Belluno, Treviso, Padova e il Centro di Riferimento Regionale per gli screening neonatali, la diagnosi e cura delle malattie metaboliche ed endocrinologiche congenite di Verona per i nati nelle province di Rovigo, Vicenza e Verona. Inoltre il laboratorio dell'UOC di Malattie Metaboliche Ereditarie di Padova esegue lo screening neonatale anche per i neonati della provincia autonoma di Trento e della Regione Friuli Venezia Giulia; mentre il Centro di Riferimento Regionale per gli screening neonatali, la diagnosi e cura delle malattie metaboliche ed endocrinologiche congenite di Verona esegue lo screening neonatale anche per i neonati della provincia autonoma di Bolzano.

Di seguito viene discussa l'analisi dei dati raccolti riguardanti i neonati sottoposti a screening neonatale per Malattie Metaboliche Ereditarie dal 01.05.2020 al 01.04.2021 e presi in carico presso il Centro di Verona per verificare le alterazioni riscontrate.



Risultati screening neonatale presi in carico dal centro MME di Verona dal 01.05.2020 al 01.04.2021



Dal 01 maggio 2020 al 01 aprile 2021 sono stati presi in carico per effettuare accertamenti diagnostici in seguito a DBS dello screening neonatale alterato dal centro di Verona 66 bambini mentre 2 sono stati presi in carico dal centro di Padova.

Tra i pazienti con screening neonatale alterato presi in carico dal centro clinico 48 non avevano una malattia metabolica ereditaria.

Di questi le 2 cause più frequenti sono il deficit di carnitina del prematuro e il deficit di B12 materno.

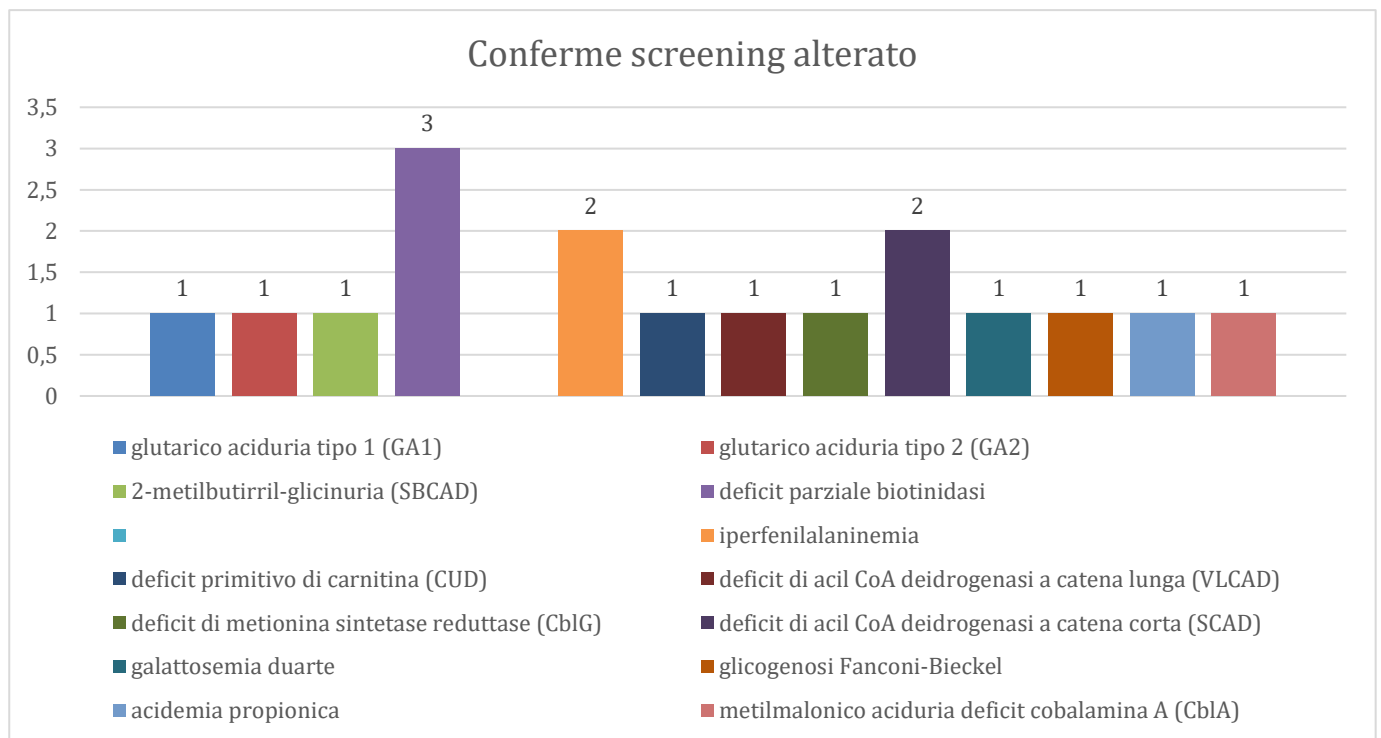
Il sospetto diagnostico di tali difetti è stato confermato, oltre che dal dato della importante prematurità, nel caso del deficit di carnitina del prematuro, mediante riverifica del dosaggio della carnitina libera dopo 15 giorni dall'inizio di supplementazione con 50 mg/kg/die di carnitina e ad un mese dalla sospensione della terapia dopo che il neonato è giunto a termine; nel caso dei difetti di B12 materno, con dosaggio della vitamina B12, omocisteina plasmatica e acido metilmalonico su DBS al richiamo e dopo 15 giorni dalla somministrazione intramuscolo di 1 mg di Neocytamen.



In 17 di questi neonati il sospetto dello screening è stato confermato tramite dosaggio del metabolita di riferimento su plasma o siero, urine e analisi molecolare (8 sono ancora in corso).

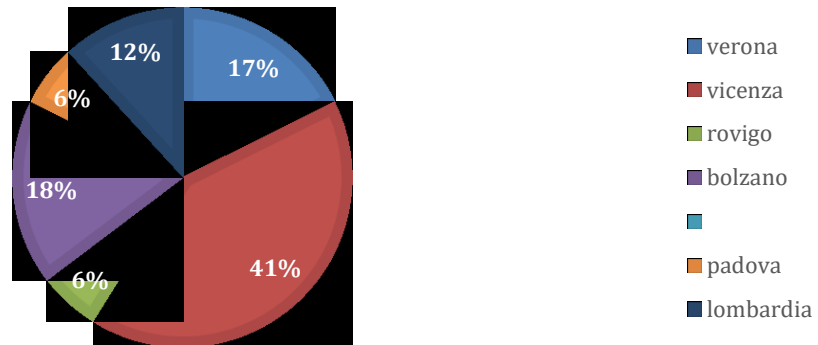
Tra le malattie metaboliche ereditarie identificate mediante lo screening neonatale la più frequente è il deficit parziale di biotinidasi. Patologia per la quale al momento non c'è una linea comune per quanto riguarda il dosaggio della terapia e le tempistiche del follow-up.

A seguire ci sono l'iperfenilalaninemia e il difetto di SCAD. Queste 3 patologie sono caratterizzate da fenotipi molto lievi che non necessitano di importanti interventi terapeutici. A dimostrazione che il programma di screening permette di identificare pazienti che beneficiano di un intervento precoce che permette di prevenire importanti complicanze; ma anche fenotipi lievi per i quali è importante fare attenzione a non incorrere nel rischio di overtreatment.





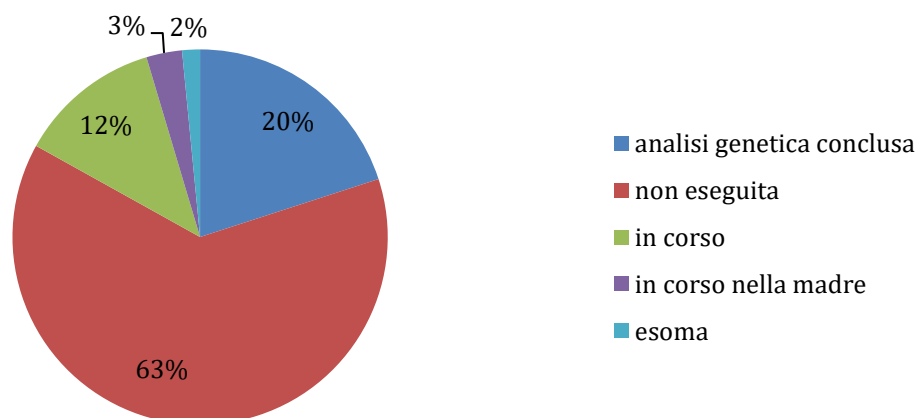
DISTRIBUZIONE GEOGRAFICA DELLE MALATTIE METABOLICHE CONFERMATE



Dal grafico emerge che il centro clinico ha preso in carico anche neonati che avevano eseguito lo screening fuori regione Veneto perché nati in Lombardia. La presenza di casi provenienti da Venezia è perché Verona copre tutta la Regione Veneto per lo screening della biotinidasi. L'analisi genetica ha permesso di spiegare in modo definitivo il dato dello screening in 13 neonati; permettendo di confermare geneticamente 9 neonati affetti da malattia metabolica ereditaria e 4 portatori sani. Inoltre, in 2 casi, lo screening alterato del neonato ha portato a sospettare una malattia metabolica ereditaria nella madre con analisi genetica ancora in corso.

Analisi molecolari eseguite nei pazienti presi in carico per screening neonatale alterato:

analisi molecolare





Mutazioni e patologie dei neonati con screening confermato e analisi molecolare conclusa:

ID	Patologia	gene	mutazioni	letteratura
PZ1	glutarico aciduria tipo 1	GCDH	c.680G>C, p.Arg227Pro	Krista Viau et al, Mol Genet Metab, 2012
			c.1218C>A, p.Asn406Lys	nessuna pubblicazione
PZ2	sospetta glutarico aciduria tipo 2	ETFDH	c.1488C>T p.Pro483Leu in omozigosi	Cornelius N et al, Human molecular genetics, 2012
PZ3	Iperfenilalaninemia	PAH	c.653G>T, p.Gly218Val	Jeannesson-Thivisol et al. Orphanet Journal of Rare Diseases, 2015
			c.898G>T p.Ala300Ser	Shen N et al, Molecular genetics and metabolism 2016
PZ4	VLCAD	ACADVL	c.604C>G, p.Leu202Val	nessuna pubblicazione
			c.1096C>T, p.Arg366Cys	Evans M et al, Molecular genetics and metabolism, 2016
PZ5	CblG	MTR	c.461_462del, p. Ser154Cysfs*11	nessuna pubblicazione
			c.3518C>T, p.Pro1173Leu	Wong et al Genetics in medicine 2016
PZ6	Galattosemia Duarte	GALT	p.Leu74Valfs c.220_221delCT	Kozak et al, Hum Mutat 1999
			p.Asn314Asp c.940A>G	Suzuki et al. Hum Genet, 2001
PZ7	glicogenosi Fanconi-Bieckel	SLC2A2	c.952G>A, p.Gly318Arg in omozigosi	Sanaa Sharari et al, Int J Mol Sci, 2020
PZ8	Acidemia propionica	PCCA	c.1118T>A, p.Met373Lys in omozigosi	Richards et al, Biochimica et Biophysica Acta, 1999
PZ9	CblA	MMAA	c.445_448del, p.Ser149Glyfs11	Maines E et al, JIMD reports, 2017
			c.733+1G>A	Maines E et al, JIMD reports, 2017

Tra i 9 pazienti affetti da malattia metabolica ereditaria l'analisi molecolare ha identificato 2 mutazioni a carico dei geni GCDH, PAH, ACADVL, MTR, GALT, MMAA, 1 a carico dei geni ETFDH, SLC2A2 e PCCA.

Le mutazioni c.1218C>A, p.Asn406Lys a carico del gene GCDH; c.604C>G, p.Leu202Val a carico del gene ACADVL e c.461_462del, p. Ser154Cysfs*11 a carico del gene MTR non sono risultate già descritte nella letteratura scientifica; mentre tutte le altre sono già state riportate. Questo dato ha permesso di dare alcune informazioni importanti riguardanti la correlazione genotipo-fenotipo e la presa in carico.

- Il paziente con mutazioni a carico del gene GALT non hanno necessitato di intraprendere una dieta a ridotto contenuto di galattosio perché portatori della variante Duarte in eterozigosi composta, che assicura una attività enzimatica sufficiente a mantenere buoni valori di galattosio; ma è stato deciso di seguirli con controllo annuale.
- Il valore patogenetico della mutazione c.604C>G, p.Leu202Val a carico del gene ACADVL è stato verificato mediante il dosaggio dell'attività enzimatica di VLCAD pari al 16%. Tale attività superiore al 10% come suggerito dalla letteratura potrebbe essere indicativo di una forma tardiva.
- La mutazione c.1448C>T p.Pro483Leu in omozigosi a carico del gene ETFDH già riscontrata nella sorella della paziente affetta da Glutarico aciduria tipo 2 è responsiva



alla riboflavina; la conoscenza di tale dato ha permesso di iniziare tempestivamente la terapia permettendo anche di mantenere l'allattamento materno.

- Il riscontro delle mutazioni a carico del gene MTR ha permesso di indirizzare in modo più preciso la terapia del paziente aumentando il dosaggio della betaina e passando dalla somministrazione intramuscolo a quella orale della vitamina B12, con minore impatto psicologico sulla famiglia e miglioramento della compliance.
- La sindrome di Fanconi Bieckel non presenta un metabolita specifico rilevabile tramite screening; tuttavia, il dato dello screening che mostrava un aumento del galattosio, ha portato precocemente all'attenzione del personale medico il neonato, aiutando nell'indirizzare il sospetto diagnostico, che successivamente è stato confermato dall'analisi molecolare.

La diagnosi precoce mediante screening del paziente con acidemia propionica ha permesso di intervenire precocemente con la terapia farmacologica e dietetica e anche di programmare prima dello svezzamento l'intervento per posizionamento PEG.

E' stato inoltre possibile proporre uno studio sperimentale che ha lo scopo di modificare il microbiota intestinale mediante l'uso di probiotici e metronidazolo al fine di diminuire la produzione di acido propionico a livello intestinale.

In Europa/Italia verrà realizzato un database per raccogliere i dati di tutti i bambini, i ragazzi e gli adulti affetti da malattie metaboliche ereditarie (progetto registro U-IMD); anche l'Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata di Verona parteciperà alla costruzione di questo database.

Pertanto, i dati raccolti grazie a questo assegno saranno utilizzati anche per partecipare a questo progetto.

Come dimostrato dalla letteratura più recente e confermato dai dati sopra la genetica molecolare e la figura professionale del genetista clinico stanno assumendo un ruolo sempre più importante nel campo della diagnostica di queste e di altre patologie rare.

In un prossimo futuro è probabile che grazie alla diminuzione dei costi e dei tempi dell'analisi molecolare, mediante l'utilizzo della nuova tecnologia NGS; lo screening genetico sostituisca o preceda lo screening biochimico. Inoltre, l'utilizzo combinato della genomica e della metabolomica potrà essere utilizzato come mezzo per un nuovo modo di fare ricerca che, partendo dallo studio delle malattie rare, possa identificare nuovi marcatori o molecole da utilizzare nel campo della salute pubblica.

Il lavoro di raccolta dati svolto grazie a questo assegno di ricerca ha permesso la partecipazione con Poster e/o presentazioni orali a congressi nazionali e internazionali:

- Biotinidasi deficiency. From neonatal screening to clinical. Experience of a Regional Center (SIMMESN Roma 2017)
- Galactosemia with a happy ending: importance of neonatal screening (Unforgettable cases in outpatient pediatrics services Vicenza 2018)
- Our experience in the molecular characterization of patients with hyperphenylalaninemia with focusing onto the characterisation of a new intronic variant as a disease causing mutation (SSIEM 2018)
- Mild variant of MSUD detected by newborn screening or benign form? (SSIEM Atene 2018)



- A case of Hypervalinemia and hyperleucine-isoleucinemia due to branched chain aminoacids aminotransferase gene mutation(BCAT2) highlights the challenges in newborn screening practices and gives important clinical insights in the pathway of branched chain aminoacids metabolism (SSIEM Atene 2018)
- Synergistic heterozygosity in fatty acids oxidation disorders detected with expanded newborn screening (SIGU Catania 2018)
- Long-term clinical characterization of a case of CDG type IIB (SIMMESN Catania 2018)
- Role of narrative medicine in the therapeutic relationship: the experience of a center of Hereditary Metabolic Diseases (SIMMESN Catania 2018)
- Role of nutrition in patients with early-onset mitochondrial diseases (SIMMESN Catania 2018)
- Glycomal profile of the serum proteins in a patient with the enzyme Glucosidase I deficiency (MOGS.CDG) (SIMMESN Catania 2018)
- Impact of expanded newborn screening on diagnosis and treatment of mitochondrial fatty acid oxidation disorders. A Centre experience. (SSIEM Rotterdam 2019)
- Treatment of Congenital Cobalamin Disorders with in situ subcutaneous device: reducing pain and improving compliance (SSIEM Rotterdam 2019)
- Lo screening neonatale allargato e il deficit di biotinidasi. Luci e ombre. Esperienza di un Centro Regionale. (SIMMESN 2019)
- Iperinsulinismo congenito da eterozigosi sinergica dei geni HADH e HNF1A in due fratelli: il ruolo della eterozigosi sinergica in forme ultra-rare di disturbi della regolazione insulinica. (SIMMESN 2019)
- Glutarico aciduria tipo 2 associata a Diabete mellito tipo I: connessioni fisiopatologiche e difficoltà terapeutiche (SIMMESN 2019)
- Il ruolo del ragionamento clinico nell'era dello screening neonatale allargato: l'importanza del metabolic network (SIMMESN 2019)
- Congenital hyperinsulinism caused by heterogenous genetic mutations in two brothers (SIGU 2019)
- Clinical complexity and genetic heterogeneity of mitochondrial disorders: a difficult genotype-phenotype correlation (SIGU 2020)

Alcuni dei dati raccolti grazie all'assegno di ricerca hanno permesso la realizzazione di alcuni articoli scientifici:

1. "Diagnosis, genetic characterization and clinical follow up of mitochondrial fatty acid oxidation disorders in the new era of expanded newborn screening: A single centre experience." *Molecular Genetics and Metabolism Reports* Volume 24, September 2020, 100632.
2. "Genotype and residual enzyme activity in medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency: Are predictions possible?" *Journal of inherited metabolic disease* 2021 Feb 13. doi: 10.1002/jimd.12368
3. Newborn Screening for biotinidase deficiency. Lights and shadows: the experience of a Regional Centre è in corso di sottomissione a *Frontiers in Pediatrics*



Bibliografia:

- ✓ Cornelius N et al, Molecular mechanisms of riboflavin responsiveness in patients with ETF-QO variations and multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency. *Hum Mol Genet.* 2012 Aug 1;21(15):3435-48. doi: 10.1093/hmg/dds175. Epub 2012 May 18.
- ✓ Francescatto L. et al. Newborn screening and the era of medical genomics *Seminars in Perinatology* 39 (2015)617 – 622
- ✓ Friedman et al. Genomic newborn screening: public health policy considerations and recommendations *BMC Medical Genomics* (2017) 10:9
- ✓ Howard H C et al Whole-genome sequencing in newborn screening? A statement on the continued importance of targeted approaches in newborn screening programmes *European Journal of Human Genetics* (2015) 23, 1593–1600
- ✓ Huemer M et al Guidelines for diagnosis and management of the cobalamin-related remethylation disorders cblC, cblD, cblE, cblF, cblG, cblJ and MTHFR deficiency *J Inherit Metab Dis* 2017 Jan;40(1):21-48. doi: 10.1007/s10545-016-9991-4
- ✓ Jeannesson-Thivisol et al Genotype-phenotype associations in French patients with phenylketonuria and importance of genotype for full assessment of tetrahydrobiopterin responsiveness. *Orphanet J Rare Dis.* 2015 Dec 15;10:158. doi: 10.1186/s13023-015-0375-x.
- ✓ Mak CM et al Inborn errors of metabolism and expanded newborn screening: review and update *Crit Rev Clin Lab Sci*, 2013; 50(6): 142–162
- ✓ Maines E Vitamin B 12 Administration by Subcutaneous Catheter Device in a Cobalamin A (cblA) Patient *JIMD Rep.* 2017;35:29-31. doi: 10.1007/8904_2016_20
- ✓ Peduto A et al A novel mutation in the GLUT2 gene in a patient with Fanconi-Bickel syndrome detected by neonatal screening for galactosaemia. *J Inherit Metab Dis.* 2004;27(2):279-80. doi: 10.1023/b:boli.0000028841.00833.f4
- ✓ Sanaa Sharari Fanconi–Bickel Syndrome: A Review of the Mechanisms that Lead to Dysglycaemia *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 6286; doi:10.3390/ijms21176286
- ✓ Smon A. et al. Next generation sequencing as a follow-up test in an expanded newborn screening programme *Clin Biochem.* 2018 Feb; 52:48-55
- ✓ Suzuki M et al. Large-scale molecular screening for galactosemia alleles in a pan-ethnic population. *Hum Genet* 2001, 109:210-215
- ✓ Swango KL et al Partial biotinidase deficiency is usually due to the D444H mutation in the biotinidase gene. *Human Genetics* (1998) 102:571-575
- ✓ Trbunsek M et al Galactosemia: deletion in the 5' upstream region of the GALT gene reduces promoter efficiency. *Hum Genet* 2001, 109:210-215
- ✓ Trunzo R et al Phenylalanine hydroxylase deficiency in south Italy: Genotype-phenotype correlations, identification of a novel mutant PAH allele and prediction of BH4 responsiveness. *Clinica Chimica Acta* 450 (2015) 51–55
- ✓ Viggiano E. et al. Clinical and molecular spectra in galactosemic patients from neonatal screening in northeastern Italy: structural and functional characterization of new variations in the galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GALT) gene. *Gene.* 2015 Apr 1;559(2):112-8. doi: 10.1016/j.gene.2015.01.013. Epub 2015 Jan 13.
- ✓ Yubero D et al Targeted Next Generation Sequencing in Patients with Inborn Errors of Metabolism *PLOS ONE* DOI:10.1371/journal.pone.0156359 May 31, 2016
- ✓ Yuval E. Landau et al Genomics in Newborn Screening *The Journal of Pediatrics* Vol. 164, No. 1 _ January 2014
- ✓ Welling L. et al. International clinical guideline for the management of classical galactosemia: diagnosis, treatment, and follow-up. *J Inherit Metab Dis.* 2017 Mar;40(2):171-176. doi: 10.1007/s10545-016-9990-5. Epub 2016 Nov 17.



UNIVERSITÀ
di VERONA

Dipartimento
di **SCIENZE CHIRURGICHE
ODONTOSTOMATOLOGICHE
E MATERNO-INFANTILI**

- ✓ Wong D et al Outcomes of four patients with homocysteine remethylation disorders detected by newborn screening Genet Med. 2016 Feb;18(2):162-7. doi: 10.1038/gim.2015.45.

Verona, 09 aprile 2021
Dott.ssa Giulia Rodella