

Basi molecolari delle malattie genetiche lisosomiali e perossisomiali

PAOLO DURAND

RESUMEN: Actualmente se conocen más de 30 enfermedades lisosomales. La responsabilidad del diagnóstico inicial corresponde al médico de familia. La variación de síntomas clínicos y de fenotipos es muy amplia. La mayoría presentan manifestaciones neurológicas progresivas. Algunos fenotipos especiales, como los de las mucopolisacaridosis, mucolipidosis, síndrome de Zellweger, etc., permiten su orientación diagnóstica. Este artículo resume los conocimientos actuales sobre las enfermedades lisosomales. PALABRAS CLAVE: ENFERMEDADES LISOSOMALES. ENFERMEDADES PEROXISOMALES.

THE MOLECULAR BASIS OF LYSOSOMAL AND PEROXISOMAL GENETIC DISEASES (SUMMARY): Molecular basis of lysosomal and peroxisomal diseases are at this moment well known. The responsibility of initial diagnosis falls to the family physician. The variation of the clinic symptoms and phenotypes is very large. Most patients show progressive neurological manifestation. Some special phenotypes, such as mucopolysaccharidoses, mucolipidoses and Zellweger's syndrome allow their diagnostic orientation. This article summarizes the present knowledge about these diseases. KEY WORDS: LYSOSOMAL DISEASES. PEROXISOMAL DISEASES.

I notevoli progressi compiuti negli ultimi anni nell'individuazione delle malattie genetiche lisosomiali e perossisomiali hanno reso indispensabile una familiarizzazione con esse. Non vi   dubbio, infatti, che la reponsabilit  della iniziale individuazione di queste malattie spetti al pediatra di famiglia.

Il numero delle varie situazioni cliniche, descritte negli ultimi anni,   servito a riconoscere l'ampio spettro di sintomi clinici e di fenotipi, che vanno dalle forme gravi a quelle lievi delle malattie in questione.

La maggioranza dei pazienti affetti da queste malattie presenta progressive e gravi manifestazioni a carico del sistema ner-

voso centrale, quali ritardo mentale fino alla demenza, turbe del tono muscolare, della postura e della motilit  volontaria, movimenti automatici, mioclonie e convulsioni.

Altri segni, derivanti dall'esame obiettivo, possono indirizzare il clinico verso una diagnosi orientativa di queste malattie.   il caso della caratteristiche dismorfiche presenti in alcune malattie lisosomiali, quali le mucopolisaccaridosi, le glicoproteinosi, le mucolipidosi ed in alcune malattie perossisomiali, quali la sindrome di Zellweger e l'adrenoleucodistrofia neonatale.

L'individuazione delle malattie lisosomiali e perossisomiali non solo ha permes-

so di identificare malattie prima inclassificabili e di fornire una maggiore conoscenza dei normali processi metabolici, ma contribuito a nuove e fondamentali conoscenze nell'ambito della moderna biologia medica.

L'articolo non vuole prendere in considerazione l'intero argomento delle malattie lisosomiali e perossisomiali, ma intende riassumerne la attuali conoscenze e ricordare che vi è un significativo numero di pazienti affetti da esse che ancor oggi non vengono diagnosticali.

MALATTIE LISOSOMIALI

Attualmente si conoscono più di 30 malattie lisosomiali. Osservazioni pionieristiche si ebbero più di 100 anni fa; la maggior parte di queste fonti di informazione riguardavano acute osservazioni cliniche ed anatomo-patologiche di pazienti affetti da malattie prima ignote e che sono ormai divenute classiche. Nel 1965 Hers introdusse il concetto di malattie genetiche lisosomiali. Durante gli ultimi 20 anni sono stati descritti nuovi gruppi di affezioni lisosomiali e variazioni cliniche e biochimiche delle stesse e sono stati condotti studi sistematici per la loro definizione molecolare.

Le malattie lisosomiali da accumulo derivano da mutazioni di geni che codificano specifici enzimi, e, mentre la maggior parte di esse viene ereditata in modo

autosomico recessivo, alcune sono legate al cromosoma X. I principali gruppi di malattie lisosomiali da accumulo sono schematizzati nella tabella 1. Le recenti ricerche sono state indirizzate verso la individuazione di correlazioni fra eterogeneità cliniche, biochimiche, enzimatiche e genetiche.

Sono noti 5 differenti gruppi di anomalie dell'attività lisosomiale.

Il primo gruppo è caratterizzato da incapacità a produrre glicoproteine enzimatiche individuabili immunologicamente. Nel secondo viene sintetizzato un enzima cataliticamente inattivo. Nel terzo l'enzima è cataliticamente attivo, ma non è segregato nei lisosomi. Un quarto gruppo di malattie lisosomiali è dovuto a difetto nella produzione di un attivatore o protettore di specifici enzimi lisosomiali.

Infine alcune di queste malattie sono causate da trasporto difettoso di determinati metaboliti attraverso la membrana lisosomiale. Esempi di ciascuna di questi gruppi di malattie da difetti nel ciclo vitale degli enzimi lisosomiali sono tutti ben documentati. Per esempio, le cellule dei pazienti affetti da mucopolidosi II (I-cell) e III (polidistrofia pseudo Hurler) presentano una difettosa attività della N-acetilglucosaminil-fosfotransferasi, cui consegue una incapacità, da parte delle cellule stesse, di sintetizzare il marcatore di riconoscimento di quasi tutti gli enzimi lisosomiali, il mannosio-6-fosfato (M-6-P). Ne consegue che gli enzimi, appena sintetizzati,

TABLA I. MALATTIE DA ACCUMULO LISOSOMIALE
(CASSIFICAZIONE A SECONDA DEL MATERIALE ACCUMULATO)

| |
|--|
| — Glicoproteinosi |
| — Glicosfingolipidosi |
| — Mucopolisaccaridosi |
| — Mucolipidosi |
| — Vario (m. di Wolman e m. da accumulo di esteri del colesterolo, Glicogenosi tipo II, Ciostinosi, m. di Salla, m. da accumulo di Vit. B12). |

non si legano ai ricettori M-6-P, non entrano nei lisosomi, non svolgono la loro funzione e vengono escreti nei liquidi extracellulari. Ma, mentre i fibroblasti dei pazienti affetti da mucopolipidosi II hanno livelli non identificabili di attività della N-acetilglucosammina-6-fosforotransferasi, quelli affetti da mucopolipidosi III, hanno un'attività residua del 10-20 %, il che si raccorda con il loro decorso clinico benigno.

Inoltre, mentre i fibroblasti di un gruppo di pazienti affetti da mucopolipidosi III presentano un difetto nella fosforilazione degli enzimi lisosomiali, quelli di un altro gruppo di pazienti affetti dalla stessa malattia mostrano una normale attività fosforilante. È probabile che nei pazienti di questo secondo gruppo sia difettosa la funzione di riconoscimento della fosforotransferasi.

Oltre ai summenzionati difetti, in cinque membri di una famiglia libanese con enzimi lisosomiali notevolmente elevati nei liquidi extracellulari, come nella mucopolipidosi II e III, è stata dimostrata una riduzione del 50 % della fosfodiester glicosidasi, enzima che normalmente rimuove i residui di N-acetilglucosamina dagli enzimi lisosomiali ed espone il marcatore di riconoscimento M-6-P.

Questi soggetti apparentemente normali sembrerebbero essere eterozigoti per il deficit di fosfodiester glicosidasi; è probabile che gli omozigoti per un tale difetto sviluppino malattie simili alle mucopolipidosi II o III. Per un certo numero di enzimi lisosomiali che degradano i glicosfingolipidi è necessaria la presenza di attivatori proteici.

Alcuni pazienti affetti da malattie lisosomiali da accumulo, quale una variante della sulfatidosi e una variante AB della gangliosidosi GM2, mostrano normale sintesi e maturazione dei rispettivi enzimi idrolizzanti, arilsulfatasi e beta-esosaminidasi, che però non sono in grado di fun-

zionare per mancanza ereditaria delle specifiche proteine attivatrici.

I pazienti affetti da galattosialidosi presentano un altro difetto, espresso a livello lisosomiale, e cioè la mancanza di una proteina «protettrice» per la β -galattosidasi, che normalmente funziona da subunità della neuraminidasi.

Recentemente è stato dimostrato che talune malattie lisosomiali, quali la cistinosis, la malattia da accumulo di vitamina B12 e la malattia di Salla, presentano turbe del trasporto attraverso la membrana lisosomiale rispettivamente di cistina, cobalamina ed acido sialico.

Tutte le malattie lisosomiali possono essere diagnosticate nel secondo e nel primo trimestre di gravidanza. Nel nostro Istituto durante gli ultimi 10 anni sono state monitorizzate 191 gravidanze a rischio per 33 differenti malattie metaboliche, 149 nel secondo trimestre, 42 nel primo. Dei 191, 150 sono bambini normali e 41 i feti affetti.

Il recente sviluppo della genetica molecolare riveste particolare interesse anche per le malattie lisosomiali, perchè permette di individuare le esatte mutazioni genetiche e per programmare l'eventuale futura terapia genetica. Sono stati clonati alcuni enzimi lisosomiali e l'attivatore proteico della cerebroside solfatasi. Nel nostro Laboratorio di Genetica Molecolare stiamo analizzando il DNA genomico e l'mRNA, estratti dai fibroblasti e/o dai linfoblasti di 7 dei nostri pazienti affetti da fucosidosi. I primi risultati mostrano che in uno dei pazienti e nei genitori sono presenti rispetto agli altri casi differenti mutazioni al «locus» della alfa-L-fucosidasi.

Inoltre la ridotta lunghezza del trascritto di uno dei pazienti suggerisce una delezione del DNA o un incorretto «splicing» dell'mRNA precursore della alfa-L-fucosidasi.

MALATTIE PEROSSISOMIALI

Le malattie perossisomiali sono state individuate recentemente. Grazie a questi recenti sviluppi malattie prima inclassificabili trovano diagnosi precise e possibili misure di prevenzione, poiché gran parte di esse possono essere diagnosticate in epoca prenatale. Nel 1954 Y. A. G. Rhodin scoprì degli organuli subcellulari che sino a poco tempo fa si riteneva avessero un ruolo limitato nel metabolismo cellulare.

De Duve e coll. (1960-1969) dimostrano che questi organuli avevano un ruolo essenziale in alcuni processi metabolici e per enfatizzarne la proprietà perossidasi-che e catalitiche diedero loro il termine di «perossisomi». Lo studio di malattie genetiche nelle quali è coinvolta la morfologia perossisomiale ha profondamente contribuito alla individuazione del ruolo fisiologico di questi organuli ed a dimostrare che la loro disfunzione può avere gravi conseguenze cliniche. Oggi sappiamo che sono 40 gli enzimi localizzati nei perossisomi e che ad essi sono attribuite determinate funzioni cellulari quali: il catabolismo degli acidi grassi a catena molto lunga; la biosintesi di etero-fosfolipidi; la biosintesi di acidi biliari; il catabolismo di acido pipecolico, di acidi dicarbossilici e di acido fitanico e l'ossidazione di polamine.

La storia delle malattie perossisomiali ebbe inizio molti anni fa con la descrizione della adrenoleucodistrofia da parte di Siemerling e Creutzfeldt (1923) e di altre malattie quali la Refsum (1946) e la Zellweger (1964), che a tutt'oggi portano gli eponimi dei rispettivi scopritori.

Nel 1973 Goldfischer e coll. dimostravano che nel fegato e nei reni dei pazienti affetti da sindrome di Zellweger i perossisomi erano assenti. Nel 1984 una serie di studi effettuati in pazienti affetti da sindrome di Zellweger dimostrò che in essi

vi era accumulo di acidi grassi a lunghissima catena, di acido pipecolico e di derivati del metabolismo intermedio degli acidi biliari, sostanze cioè che vengono metabolizzate da enzimi perossisomiali.

Le più recenti ricerche hanno fatto notevolmente progredire le nostre conoscenze delle malattie perossisomiali. Esse vengono ereditate in modo autosomico recessivo ad accezione della adrenoleucodistrofia, che è legata al cromosoma X.

Tre sono i gruppi di malattie perossisomiali noti.

Il Gruppo I, caratterizzato da assenza completa di perossisomi nei tessuti e da turbe di tutte le normali attività perossisomiali, comprende la sindrome cerebropatato-renale di Zellweger, la forma infantile della malattia di Refsum e l'adrenoleucodistrofia neonatale.

Il Gruppo II, caratterizzato da abnormi strutture e da dificienza di solamente una delle funzioni perossisomiali; per ora in questo gruppo viene inclusa una sola malattia, la condrodipiasia punctata tipo rizomelico.

Il Gruppo III è caratterizzato da una normale struttura perossisomiale e da deficit di una sola delle funzioni. In questo gruppo vengono incluse l'acatalasemia, la malattia di Refsum tipo adulto, l'adrenoleucodistrofia legata all'X e il deficit di acil-CoAossidasi.

Accanto a pazienti affetti dalla classica malattia di Zellweger sono stati osservati pazienti che presentavano varianti o pseudo forme di malattia di Zellweger. Rimane da stabilire se malattie genetiche quali la ipoplasia duttare intraepatica con aumento dell'acido triidrossiprostanoico e la xantomatosi cerebrotendinea possano far parte delle malattie perossisomiali.

Il sospetto diagnostico deve essere confermato mediante alcuni esami biochimici quali l'accumulo nel plasma e nei fibro-

blasti in coltura di acidi grassi a catena molto lunga, di acido pipecolico, di acido fitanico e di metaboliti degli acidi biliari; la notevole riduzione degli eteri fosfolipidi, la ridotta attività della diidrossiacetone fosfato aciltransferasi ed una alterata biosintesi del plasmalogeno de novo; una abnorme localizzazione intracellulare di catalasi. Uno o più dei suddetti esemi vengono ormai utilizzati per la diagnosi prenatale.

Da rilevare che nonostante siano state individuate le suddette anomalie biochimiche, sono tutt'ora ignoti i difetti primari che determinano la maggior delle malattie perossisomiali.

Lo studio delle malattie lisosomiali e perossisomiali ha contribuito non solamente a valorizzare il ruolo fisiologico di questi organelli, ma a farci rendere conto della complessità dei meccanismi che regolano la genesi, la maturazione ed il traffico delle glicoproteine enzimatiche lisosomiali; delle drammatiche deviazioni della morfogenesi e dello sviluppo che si verificano in seguito a mutazioni genetiche e alle conseguenti perturbazioni nell'omeostasi metabolica. Purtroppo le attuali conoscenze non hanno creato le condizioni per attivare trattamenti efficaci, ma hanno permesso di offrire, alle famiglie ed ai gruppi etnici a rischio, degli efficaci mezzi di prevenzione.

BIBLIOGRAFIA ESENCIAL

1. ALEXANDER, D.; DEEB, M.; TALJ, F.: *Heterozygosity for phosphodiester glycosidase deficiency: a novel human mutation of lysosomal enzyme processing*. Hum. Genet., 1986; 73: 63-59.
2. BOWEN, P.; LEE, C. S. N.; ZELLWEGER, H.; LINDENBERG, R.: *A familial syndrome of multiple congenital defects*. Bull. Johns Hopkins Hosp., 1964; 114: 402-414.
3. DE DUVE, C.: *Microbodies in the living cell*. Sci. Am., 1983; 248: 78-84.
4. DURAND, P.: *Il controllo delle malattie genetiche del metabolismo: modelli e prospettive future*. Riv. Ital. Pediat., 1986; 12: 1-7.
5. DURAND, P.: *Recent progress on lysosomal diseases*. Workshop «The fourth Int. Congr. Inborn. Errors of Metabolism». Enzyme, in press.
6. DURAND, P.; O'BRIEN, J.: *Genetic errors of glycoprotein metabolism*. Edi-Ermes, Milano, Springer-Verlag Berlin, 1982.
7. GOLDFISHER, S.; REDDY, J. K.: *Peroxisomes (microbodies) in cell pathology*. Int. Rev. Exp. Pathol., 1984; 26: 45-84.
8. KORNFIELD, S.: *Trafficking of lysosomal enzymes in normal and disease state*. J. Clin. Invest., 1986; 77: 1-61.
9. MOSER, H. W.: *Peroxisomal disorders*. J. Pediat., 1986; 108: 89-91.
10. RENLUND, M.; TIETZE, F.; GAHLA, W. A.: *Defective sialic acid agram from isolated fibroblasts lysosomes of patients with Salla disease*. Science, 1986; 232: 759-762.
11. SCHUNTGENS, R. B. H.; HEYMANS, H. S. A.; WANDERS, R. J. A., v.d. BOSCH, H.; TAGER, J. M.: *Peroxisomal disorders: a newly recognized group of genetic diseases*. Eur. J. Pediat., 1986; 144: 430-440.
12. TOLPERT, N. E.: *Metabolic pathways in peroxisomes and glyoxysomes*. Ann. Rev. Biochem., 1981; 50: 133-157.