

REVIEW

IL DIFETTO DI LIPASI ACIDA LISOSOMIALE

Lysosomal acid lipase deficiency

ORNELLA GUARDAMAGNA¹, PAOLA CAGLIERO¹, RENATO BONARDI²¹Dipartimento di Scienze della Sanità Pubblica e Pediatriche, Università degli Studi di Torino;²Gruppo di Studio Malattie Epatiche-HELPS, Università degli Studi di Torino

SUMMARY

Lysosomal acid lipase deficiency (LALD) is a rare autosomal recessive disorder related to LIPA gene mutations. The prevalence is 1:40.000 to 1:300.000 and the clinical onset age ranges from infancy (Wolman disease, WD) to childhood or adulthood (Cholesteryl Ester Storage Disease, CESD). The presentation is furthermore variable as WD is life threatening by one year of age while CESD shows a milder picture.

The latter is mainly characterized by dyslipidemia, liver enlargement, steatohepatitis, liver fibrosis and cirrhosis. Since CESD shares a common phenotype with some dyslipidemias and liver diseases, it can be misdiagnosed. Further limiting factors for a correct and timely diagnosis are represented by poor diagnostic and therapeutic tools available up to now.

These drawbacks have been partially overcome by the development of a rapid screening test of enzyme activity and the enzyme replacement therapy, now under phase III trial evaluation. This review provides a summary of main topics related to state of the art of LAL deficiency.

Keywords: *Lysosomal acid lipase deficiency, LIPA gene, dyslipidemia, children.*

Introduzione

Il difetto di lipasi acida lisosomiale (LALD) (MIM 278000) è un disordine raro, geneticamente trasmesso con modalità autosomica recessiva, caratterizzato dalla mancata o ridotta idrolisi degli esteri del colesterolo e dei trigliceridi nei lisosomi.

L'identificazione del gene LIPA, che codifica per l'enzima lipasi acida lisosomiale (LAL), ha consentito di riconoscere nel difetto di LAL la causa comune a due patologie un tempo ritenute distinte (1). Si tratta della malattia di Wolman (WD) e della malattia da accumulo degli esteri di

colesterolo (Cholesteryl Ester Storage Disease, CESD).

Tali disordini si manifestano con fenotipi distinti: grave e precoce nel primo caso, attenuato ma variabile nel secondo che risulta compatibile con la vita anche in età avanzata.

Fisiopatologia

In condizioni fisiologiche il colesterolo esterificato, trasportato dalle LDL, viene internalizzato dalle cellule, grazie all'interazione delle LDL con il recettore specifico (LDLR). Nei lisosomi il colesterolo esterificato viene idrolizzato a colesterolo libero ed acidi grassi, per azione dell'enzima LAL. Questo enzima opera anche l'idrolisi dei trigliceridi in acidi grassi e glicerolo (*Figura 1*). La disponibilità di colesterolo libero e

Indirizzo per la corrispondenza

Ornella Guardamagna, MD

Department of Pediatrics

University of Torino

Piazza Polonia, 94 - Torino

e-mail:ornella.guardamagna@unito.it

di acidi grassi nel citoplasma regola l'omeostasi lipidica (1). Tale processo è reso possibile dall'espressione di geni, di recettori cellulari e dall'attivazione di proteine di trasporto. Un ruolo importante è svolto da fattori di trascrizione SREBPs (Sterol Regulatory Element Binding Proteins, proteine capaci di legarsi a sequenze specifiche in geni bersaglio che controllano l'omeostasi del colesterolo e degli acidi grassi). L'attività di uno di tali fattori (SREBP-2)

è dipendente dalla disponibilità di colesterolo libero presente nella cellula; quando il colesterolo libero è in difetto, SREBP-2 è attivato e stimola l'espressione del gene del recettore LDL e dell'enzima HMGCoA Reduttasi (enzima chiave nella sintesi del colesterolo). Il fattore SREBP-2 viene inattivato quando la cellula si trova in eccesso di colesterolo libero (2).

Il colesterolo libero reso disponibile per idrolisi degli esteri del colesterolo da parte della LAL, in eccesso rispetto alle esigenze cellulari, viene quindi riesterificato per azione dell'enzima aciltransferasi (ACAT). Analogo meccanismo interviene nel ridurre o controllare la sintesi degli acidi grassi per azione di SREBP1(2). Mediante tali meccanismi di feed-back la cellula invia segnali di carenza o di eccesso di substrato garantendo un adeguato contenuto cellulare di colesterolo e trigliceridi.

In condizioni patologiche, cioè in carenza di attività LAL, tali meccanismi sono alterati: ne esita accumulo lisosomiale di colesterolo esterificato e di trigliceridi e, quale diretta conseguenza, la ridotta disponibilità cellulare di colesterolo libero e di acidi grassi. A tale condizione seguono meccanismi compensatori che includono:

1. Una maggiore endocitosi di LDL colesterolo (LDL-C);
2. L'incremento della sintesi endogena di colesterolo.

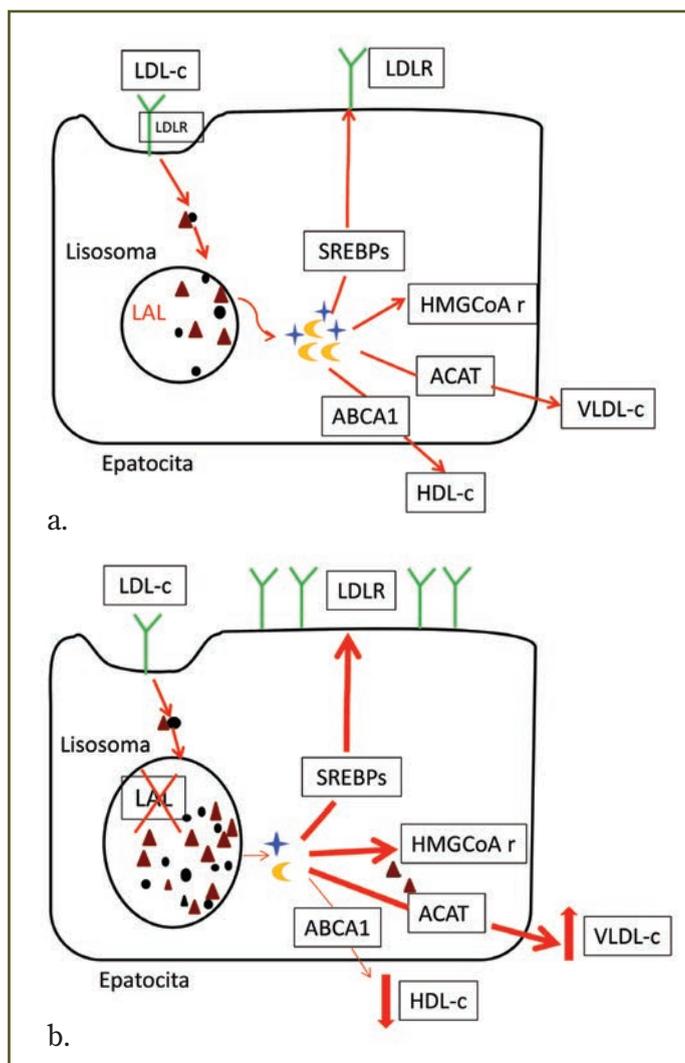


Figura 1 - Metabolismo intracellulare del colesterolo in condizioni fisiologiche (a) e nei difetti di lipasi acida lisosomiale (b).

Nel fegato tali processi rendono disponibili substrati utili alla sintesi di lipoproteine a bassissima densità (VLDL) che vengono immesse in circolo. Un'ulteriore alterazione metabolica, dimostrata in vitro nelle cellule con difetto di LAL, è rappresentata da una ridotta capacità di queste cellule di sintetizzare la proteina ABCA1. Questa proteina è un trasportatore di membrana che svolge un ruolo chiave nel facilitare l'efflusso di colesterolo dalla membrana

Tabella 1 - Prevalenza della mutazione LIPA c.894G>A e degli omozigoti LALD.

Numero di soggetti esaminati	Etnia	Frequenza allelica % LIPA c.894G>A	Frequenza eterozigote LIPA c.894G>A	Frequenza stimata omozigoti LAL	Referenza
2.089 1.480	USA Caucasici Ispanici	0,17 0,17	1:298 1:296	1:128.000 1:126.000	Scott 2013
2.023 13.194	EU-Caucasici Germania Olanda	0,25 0,17	1:202	1:59.000	Muntoni 2007 Stitzel 2014
1.000	Asiatici	0,05	1:1000	1:1.400.000	Scott 2013

plasmatica ad un accettore extracellulare rappresentato dalla apolipoproteina A-1. Tale processo porta alla formazione di HDL nascenti. La ridotta disponibilità di ABCA1 sarebbe causa di ridotta produzione di lipoproteine ad alta densità (HDL) ed infine della minore concentrazione ematica di HDL-C osservata nei pazienti con CESD(3).

Epidemiologia

Il difetto di LAL è un difetto raro e i dati di prevalenza, seppur scarsi, sembrano dimostrare una variabilità in relazione alle diverse etnie. La maggiore consistenza di risultati è riferibile a studi condotti sulla popolazione caucasica che dimostrano una maggiore prevalenza del difetto in tali popolazioni rispetto a quella asiatica o afro-americana (Tabella 1). Tali studi, basati sull'analisi genetica, hanno evidenziato la ricorrenza della mutazione c.894C>A del gene LIPA, che risulta presente nel 50-70% dei pazienti di origine europea. Un'indagine condotta in 2023 soggetti in Germania ha dimostrato una frequenza allelica della mutazione c.894C>T dello 0,25%; pertanto la stima del numero di omozigoti, secondo la legge di Hardy-Weinberg, indicherebbe una prevalenza di circa 1:42.000 (4). I risultati emersi da un recente studio condotto sulla popolazione olandese, su un campio-

ne di 13.194 soggetti, confermano il risultato precedente e dimostrano una frequenza allelica pari allo 0.16% (5); analogo risultato è quello riferito a 2089 soggetti della popolazione di New York e Dallas (Dallas Heart Study), comprendenti sia soggetti di etnia caucasica che ispanica, che indica una frequenza allelica dello 0,17%. In tale caso la stima media di prevalenza dell'omozigote è ritenuta di 1:128.000 con una variabilità compresa tra 1:90.000 e 1: 170.000 (6). Tali dati sono verosimilmente suscettibili di variazioni in futuro: è necessario infatti considerare la possibilità che mutazioni differenti siano rappresentate nelle etnie indicate ad assente o bassa prevalenza di c.894C>A; pertanto solo l'effettuazione di studi di genotipizzazione potrebbero fornire dati certi in tali popolazioni.

Genetica

Il gene LIPA è localizzato sul cromosoma 10q23.2, si estende per 45Kb, contiene 10 esoni (7) e codifica un mRNA di circa 2.6Kb. Il gene LIPA origina 2 trascritti di 2.669 e 2.654 nucleotidi che codificano per una sola proteina di 399 aminoacidi che mostra elevata analogia con la lipasi gastrica (8). A tutt'ora sono state individuate oltre 40 mutazioni del gene che provocano una perdita di funzione con conseguenze differenti sul piano clinico e variamente

correlate ai fenotipi WD o CESD (9-14). La mutazione più comune è la variante c.894G>A, una sostituzione di una base all'estremità 3' terminale (posizione -1) dell'esone 8 (14). Questa mutazione non determina una sostituzione aminoacidica ma interferisce, data la sua posizione, con il processo di splicing del mRNA. Lo splicing alterato porta ad un mRNA maturo privo dell'esone 8 (Exon 8 Splice Junction Mutation, E8SJM), che codifica per una proteina LAL con una delezione in trama di 24 aminoacidi, priva di funzione. Tuttavia, nonostante la presenza della mutazione, si ha la formazione di una piccola quantità di mRNA normale che consente la disponibilità di una attività residua dell'enzima LAL sufficiente ad evitare il quadro grave del deficit enzimatico completo quale osservato nella malattia di Wolman (15).

L'ereditarietà di LALD è recessiva e la malattia si manifesta nel soggetto omozigote o eterozigote composto (rispettivamente in coloro che presentano la stessa mutazione o due mutazioni differenti sui due alleli del gene LIPA). La condizione di omozigote per la mutazione E8SJM, presente in circa il 50-70% dei pazienti affetti da LALD, è stata correlata ad epatopatia ed iperlipemia mista (incremento di CT, TG e decremento di HDL-C) (14).

Il fenotipo dell'eterozigote è dubbio e i dati disponibili carenti. Sulla base delle evidenze che identificano la mutazione E8SJM come più frequente, e che ipotizzano un incremento dei lipidi sierici nell'eterozigote (16), è stato condotto uno studio sulla popolazione di etnia caucasico-europea esteso a 13.194 soggetti.

I risultati dello studio non hanno individuato alcuna correlazione tra profilo lipidico e stato di eterozigosi per la mutazione E8SJM. E' stata altresì esclusa ogni correlazione con la coronaropatia o l'infarto miocardico (5).

Diagnosi

In presenza di sospetto di LALD, che emerge sia occasionalmente a seguito di indagini di routine o per la presenza di segni e sintomi, la diagnosi si avvale preliminarmente della valutazione dell'attività enzimatica residua e della ricerca di mutazioni del gene LIPA (17).

Le indagini strumentali sono utili per definire il quadro evolutivo della malattia e documentarne l'andamento.

Clinica

Il quadro clinico del difetto di LAL si distingue nei due fenotipi WD e CESD. La WD è di pertinenza pediatrica, ha un esordio dei sintomi tipico nelle prime settimane di vita ed è causa di decesso entro l'anno di vita. La gravità è dovuta all'assenza di attività enzimatica residua LAL; le manifestazioni cliniche sono riferibili principalmente a disturbi gastrointestinali ed epatici. Il lattante presenta ritardata crescita, difficoltà di alimentazione talora accompagnata da diarrea, un quadro di distensione addominale, epatomegalia fortemente ingrossante anche associata a splenomegalia e ad ittero, cui si accompagna un rapido decadimento generale che precede l'exitus. Il quadro biochimico evidenzia anemia, incremento di transaminasi seguito dalla compromissione dei marcatori di funzionalità epatica; il quadro lipidico evidenzia iperlipemia. Le indagini radiologiche dell'addome individuano calcificazioni surrenali, mentre l'esame del midollo e del fegato evidenziano le infiltrazioni lipidiche. Si tratta di un disordine sistemico pertanto sono potenzialmente colpiti anche polmoni, muscoli, endotelio vascolare e tessuto linfatico (18).

Il fenotipo più comunemente osservato nell'ambito del difetto di LAL, noto come CESD o difetto di lipasi acida, riguarda

Tabella 2 - Principali alterazioni patologiche nel difetto di LAL.

Segni-sintomi		Biochimica	Mutazioni lipa	Istologia
Apparato vascolare	stroke, CHD, aneurisma xantelasma	aumento di : colesterolo trigliceridi riduzione HDL-C	E8SJM (50-70% casi) nella popolazione caucasica. Note oltre 40 mutazioni	
Fegato Milza	epatomegalia ittero-colestasi splenomegalia	aumento di: transaminasi bilirubina		Steatosi microvescicolare cell kupffer e macrofagi ingranditi Fibrosi portale Cirrosi micronodulare
Intestino	diarrea vomito dolore addominale malassorbimento ritardo crescita			Edema mucosa intestinale Foam cells duodeno, intestino Lipodistrofia mesenterica
Sangue	ecchimosi	anemia piastrinopenia		Vacuolizzazione midollo osseo
Ghiandole surrenali	calcificazioni surrenali			

bambini, adulti e soggetti in età avanzata (Tabella 2). Va tuttavia rilevato che l'analisi retrospettiva dei casi ad oggi descritti individua segni e sintomi presenti sin dall'età pediatrica in circa l'85% dei casi (19).

Caratteristiche comuni e spesso associate riguardano il metabolismo lipidico e la funzionalità epatica. In particolare il primo ed isolato segno clinico può essere rappresentato da epatomegalia e steatosi.

L'andamento, variabilmente progressivo, conduce alla fibrosi quindi alla cirrosi ed all'insufficienza epatica.

Possono essere presenti tipiche lesioni cutanee puntiformi.

Può coesistere splenomegalia ed altre manifestazioni, non infrequenti soprattutto nel bambino, costituite da disturbi gastrointestinali (dolore addominale, vomito e diarrea) presenti in circa il 30% dei casi. Sono descritte inoltre disfunzione biliare e colestasi.

Dislipidemia e aterosclerosi

Nell'adulto e eccezionalmente nel bambino (20) sono presenti segni di aterosclero-

si con xantelasma, arco corneale e malattia cardiovascolare precoce (13, 19, 21-24).

Il profilo lipidico che si osserva in pazienti LAL è paragonabile a quello rilevato in pazienti affetti da ipercolesterolemia familiare o da iperlipemia combinata familiare (Tabella 3).

Elevati livelli di LDL-C e ridotti livelli di HDL-C, come rilevato in pazienti LALD, costituiscono un fattore di rischio cardiovascolare e potrebbero contribuire a spiegare il quadro degenerativo vascolare la cui fisiopatologia non è tuttavia chiarita e per la quale sono necessari approfondimenti atti a definire il ruolo di LAL nell'aterosclerosi.

Biochimica

Le indagini biochimiche individuano più comunemente un aumento anche lieve delle transaminasi, talora limitato alla alanino-aminotransferasi (ALT), le alterazioni del metabolismo lipidico, caratterizzate da incremento della colesterolemia totale ed LDL con riduzione dei livelli di HDL-C.

All'ipercolesterolemia si associa spesso anche ipertrigliceridemia.

Anemia o piastrinopenia sono altresì segni precoci ed è descritto l'interessamento muscolare (25).

L'attività enzimatica è dosabile su leucociti e fibroblasti.

Tale metodo è tuttora meno utilizzato sia per la procedura laboriosa che per la disponibilità all'utilizzo di un test rapido di screening su gocce di sangue essiccato (Dried Blood Spot, DBS test) (26) che vanta alcuni pregi:

1. La facilità di esecuzione che richiede la raccolta di 4 gocce di sangue assorbite su carta bibula ed essiccate (circa 50µl di sangue intero). Il campione può quindi essere spedito al laboratorio di riferimento a temperatura ambiente per essere analizzato;
2. Un metodo di dosaggio enzimatico rapido e sicuro; esso consente di distinguere non solo il soggetto sano dal soggetto omozigote/eterozigote composto (paziente) ma anche il soggetto sano dall'eterozigote (soggetto portatore del difetto);
3. la stabilità del campione, che è buona; tuttavia è possibile una riduzione del 15% di attività dopo 7 giorni a temperatura ambiente. La conservazione del campione di sangue blottato in congelatore a -20°C permette di mantenere l'87% di attività dopo 100 giorni dall'effettuazione del prelievo.

Il metodo utilizza un substrato fluorimetrico (4-metilumbrelliferil palmitato) ed un forte inibitore di LAL, Lalistat 2 (Chemical Tools, South Bend, IN, USA).

L'attività LAL viene stimata per sottrazione dall'attività della lipasi totale di quella ottenuta dopo addizione dell'inibitore specifico. Valori inferiori al 3% non permettono di distinguere WD da CESD.

Analisi molecolare

La ricerca di mutazioni del gene LIPA costituisce un test di basilare importanza per confermare o escludere il sospetto diagnostico. Nella pratica è utile procedere con la ricerca della mutazione più frequente (mutazione E8SJM) nel caso di popolazione caucasica, quindi, in caso di negatività di questa ricerca, effettuare il sequenziamento completo del gene (18).

Biopsia epatica

L'esame macroscopico del fegato evidenzia l'aspetto giallo lucente dell'organo, mentre l'istopatologia mostra il quadro di steatosi microvescicolare con cellule di Kupffer e macrofagi ipertrofici poiché infarciti di esteri di colesterolo e trigliceridi. Caratteristica è inoltre la presenza di cristalli di esteri di colesterolo e trigliceridi, alterazioni specifiche del difetto da attribuire all'accumulo nei lisosomi di esteri di colesterolo e trigliceridi. La biopsia epatica permette di individuare il danno in tutte le sue fasi evolutive, dalla steatosi microvescicolare alla fibrosi degli spazi portali e perilobulari e alla cirrosi micronodulare (27).

Strumentale

Lo studio del fegato si avvale oltreché dell'esame ecografico, con il quale si evidenziano epatomegalia e steatosi, dell'impiego del fibroscan, metodo utile a individuare la presenza di fibrosi epatica. Il più recente utilizzo della risonanza magnetica spettroscopica fornisce dati accurati circa il contenuto lipidico del fegato e, non essendo invasivo, costituisce una valida alternativa alla biopsia epatica soprattutto nel monitoraggio del paziente in corso di terapia (28).

Diagnosi differenziale

La deficienza di LAL (LALD) può essere facilmente confusa con quella di altre pa-

tologie comuni (inerenti il metabolismo lipidico o i disordini epatici) o altre malattie metaboliche rare. Le prime comprendono soprattutto l'ipercolesterolemia familiare e l'iperlipemia combinata familiare (29,30) (Tabella 3).

Purtuttavia un attento esame dell'albero genealogico e dell'ereditarietà offrono un parametro importante per distinguere i difetti. Tra le ipercolesterolemie la diagnosi differenziale va posta principalmente con le forme recessive di ipercolesterolemia, quali i difetti della proteina adattatrice del LDL recettore (LDL-Receptor Adaptor Protein 1, LDLRAP1) e la sitosterolemia. Inoltre l'osservazione dei livelli di HDL-C, generalmente inferiori nei difetti di LAL

rispetto alle altre forme di ipercolesterolemia dominante e recessiva, costituiscono un parametro utile ai fini differenziali (17,29).

In merito ai marcatori di funzionalità epatica l'incremento anche isolato delle transaminasi, eventualmente associato ad epatomegalia e steatosi può indurre il più comune e legittimo sospetto di NAFLD o di NASH. Tali patologie sono frequenti, in genere associate all'obesità addominale o al sovrappeso; dunque anche la CESD richiede un approfondimento dei segni e sintomi abitualmente associati a NAFLD e NASH. Non va poi trascurata la diagnosi di epatiti virali che rappresentano una causa frequente di steatosi e incremento di en-

Tabella 3 - Principali alterazioni patologiche nel difetto di LAL.

	LAL-D	FH	FCH
TC Adulti	≥320 mg/dL (≥8.3 mmol/L)	≥330 mg/dL (≥8.5 mmol/L)	≥290 mg/dL (≥7.5 mmol/L)
Bambini	≥280 mg/dL (≥7.2 mmol/L)	≥260 mg/dL (≥6.7 mmol/L)	≥220 mg/dL (≥5.7 mmol/L)
LDL-C Adulti	≥230 mg/dL (≥6.0 mmol/L)	≥250 mg/dL (≥6.4 mmol/L)	≥190 mg/dL (≥4.9 mmol/L)
Bambini	≥210 mg/dL (≥5.4 mmol/L)	≥190 mg/dL (≥4.9 mmol/L)	≥150 mg/dL (≥3.9 mmol/L)
HDL-C Uomo	≤35 mg/dL (≤0.9 mmol/L)	≥40 mg/dL (≥1.0 mmol/L)	≤45 mg/dL (≤1.1 mmol/L)
Donna	≤35 mg/dL (≤0.9 mmol/L)	≥50 mg/dL (≥1.3 mmol/L)	≤50 mg/dL (≤1.3 mmol/L)
Bambino	≤30 mg/dL (≤0.8 mmol/L)	≥45 mg/dL (≥1.2 mmol/L)	≤45 mg/dL (≤1.1 mmol/L)
Trigliceridi Adulti	≥190 mg/dL (≥2.0 mmol/L)	≤150 mg/dL (≤1.7 mmol/L)	≥200 mg/dL (≥2.2 mmol/L)
Bambini	≥140 mg/dL (≥1.6 mmol/L)	≤100 mg/dL (≤1.1 mmol/L)	≥160 mg/dL (≥1.8 mmol/L)

ApoB, apolipoproteina B; DBS, dried blood spot; FCH, iperlipemia combinata familiare; FH, ipercolesterolemia familiare; HDL-C, colesterolo in lipoproteine ad alta densità; LAL-D, difetto lipasi acida lisosomiale; LDL-C, colesterolo in lipoproteine a bassa densità; LDLR, recettore LDL-C. (Ref. 14, 29-30, 46-49).

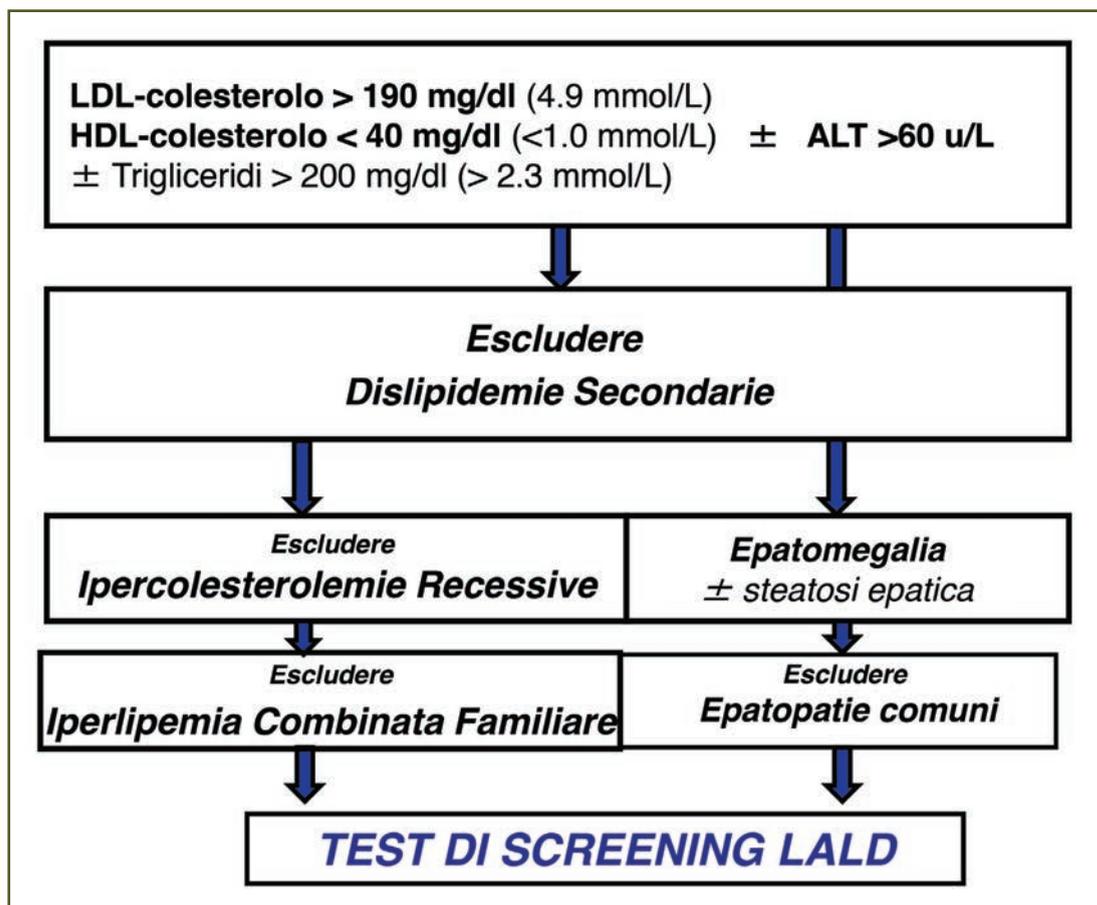


Figura 2 - Screening dei difetti di lipasi acida lisosomiale: Principali parametri biochimici alterati in pazienti LALD e patologie correlate. Nel bambino i livelli di lipidi vanno riferiti al 95°percentile (Guardamagna O, Cagliero P, Abello F. Management of inherited atherogenic dyslipidemias in children. Ther Apher Dial 2013;17:150e61).

zimi epatici anche in soggetti di normale peso (19).

Nelle condizioni sopra segnalate sia nel bambino che nell'adulto, quando la diagnosi non è certa e ancor più quando coesistono incremento dei lipidi plasmatici e transaminasi con steatosi, può essere utile effettuare il test di screening per LALD (Figura 2).

Terapia

Le possibilità di trattamento del WD sono state di scarsissimo successo e limitate

a tentativi di trapianto di midollo osseo senza modificare in modo significativo la prognosi infausta del paziente. Per quanto riguarda i pazienti CESD, in assenza di un trattamento eziologico che ripristini la funzione della LAL, sino ad ora il trattamento è indirizzato principalmente al controllo dell'ipercolesterolemia con impiego di ipocolesterolemizzanti orali quali statine ed ezetimibe.

L'esperienza anche in questo ambito è modesta sia per il campione di soggetti trattati che per i risultati ottenuti; inoltre le esperienze cliniche sono difficilmente parago-

nabili per le differenze legate al singolo paziente (età di diagnosi, quadro clinico, terapia effettuata etc).

Statine: l'utilizzo di inibitori della idrossimetil glutaryl Coenzima A (HMG-CoA) reductasi è controverso. La somministrazione di statina riduce la sintesi endogena del colesterolo epatico e favorisce una maggiore captazione delle LDL da parte degli stessi recettori: nei pazienti con difetto LAL tale meccanismo potrebbe evitare addirittura in un incremento dell'accumulo di esteri del colesterolo nell'epatocita.

Nell'esperienza clinica dei 18 casi di CESD sottoposti a trattamento, per lo più con lovastatina, si è purtuttavia verificato un decremento della colesterolemia totale ed LDL nella maggior parte dei soggetti (21,31-40). E' stato inoltre dimostrato che in tali soggetti non vi era una maggiore espressione dell'mRNA dell'LDLR, dunque del numero dei recettori delle LDL.

Pertanto è stata ipotizzata una minore produzione di VLDL da parte del fegato cui conseguirebbe la riduzione di LDL.

Tale presupposto spiegherebbe altresì il minor accumulo di esteri del colesterolo nel lisosoma dunque la riduzione dell'epatomegalia come dimostrato in 9/18 casi (32-40).

In 2/9 casi responsivi al trattamento con statine è stata dimostrata la riduzione del contenuto di esteri del colesterolo, misurata su biopsia epatica, pari al 13 e 26% rispettivamente.

Un ulteriore paziente sottoposto a terapia combinata con statine ed ezetimibe ha presentato la regressione completa dell'epatomegalia dopo un anno di trattamento (40). L'esperienza di terapia con ezetimibe, utilizzato in monoterapia, ha altresì prodotto una riduzione del 20% di LDL-C ed ha favorito la stabilizzazione delle transaminasi in due soggetti in età pediatrica e adolescenziale dopo 4 anni di terapia (41).

Trapianto epatico

Tale approccio è stato condotto in un numero molto limitato di soggetti, benchè con successo, ma per i quali i risultati a distanza datano ad un massimo di cinque anni (19,42,43).

Nuove prospettive terapeutiche

Sono rappresentate dalla terapia enzimatica sostitutiva come già sperimentato con successo in altre patologie lisosomiali.

L'impiego di LAL ricombinante umana purificata (SBC-102; Synageva Bio-Pharma Corporation, Lexington, Massachusetts, USA), Sebalipase-alfa, questo il termine comunemente impiegato per indicare l'enzima ricombinante, ha dimostrato efficacia e tollerabilità prima nell'animale (44) quindi nell'uomo in trial di fase I/II (45).

La somministrazione endovenosa per la durata di 4 settimane (oltre alle statine) ha permesso di ridurre le transaminasi e tale effetto si è dimostrato efficace a due settimane dall'ultima infusione.

Inoltre il proseguimento dell'infusione sino a 3 mesi con frequenza settimanale ha permesso inoltre di ridurre la colesterolemia totale, LDL e la trigliceridemia favorendo un pur modesto incremento del HDL-C.

Analogamente a quanto osservato nella prima fase del trial le transaminasi si sono ridotte significativamente.

Attualmente è in corso uno studio di fase III, esteso anche a pazienti pediatrici, con l'obiettivo di valutare tollerabilità ed efficacia di Sebalipase-alfa su una popolazione più numerosa per confermare tali risultati preliminari.

Conclusioni

Il difetto di LAL costituisce una patologia che, escluso il fenotipo WD, si presenta in modo subdolo, con sintomi e segni comuni

ad altre patologie di frequente riscontro, e che può manifestarsi clinicamente in età diverse.

Tali caratteristiche, associate alla indisponibilità sino ad epoca recente di tecniche di diagnosi certe e di facile applicazione, ha reso difficile la possibilità di diagnosi e la consapevolezza dei medici nei confronti della malattia.

A ciò ha certamente contribuito anche la mancanza di un trattamento risolutivo per il quale oggi si aprono prospettive nuove e promettenti.

La malattia può esordire in età differenti, evolvere imprevedibilmente ma è possibile che un attento approccio diagnostico, orientato al rilievo di segni anche modesti, favorisca una diagnosi precoce consentendo in un prossimo futuro una prognosi migliore.

Glossario

ABCA1: proteina di trasporto (ATP binding cassette A1).

ACAT: acil-colesterolo aciltransferasi.

DBS: dried blood spot, test rapido di screening su gocce di sangue essiccato.

E8SJM: Exon 8 Splice Junction Mutation. Mutazione del gene LIPA che produce un mRNA maturo privo dell'esone 8.

HMG-CoA r: Idrossi-Metil-Glutaryl-Coenzima A reductasi.

LALD: difetto di lipasi acida lisosomiale, disordine raro caratterizzato dalla mancata o ridotta idrolisi degli esteri del colesterolo e dei trigliceridi nei lisosomi.

LAL: enzima lipasi acida lisosomiale.

LDLR: LDL recettore.

SREBPs: Sterol Regulatory Element Binding Proteins, fattori di trascrizione che si legano a sequenze specifiche in geni bersaglio che controllano l'omeostasi del colesterolo e degli acidi grassi.

RIASSUNTO

Il difetto di lipasi acida lisosomiale (LALD) è una patologia rara, geneticamente trasmessa con modalità autosomica recessiva e causata da mutazioni del gene codificante LIPA.

La prevalenza del difetto varia tra 1:40.000 e 1:300.000 e la presentazione clinica può manifestarsi sia nel lattante (malattia di Wolman, WD) che nel bambino o nell'adulto (malattia da accumulo degli esteri di colesterolo, CESD). I sintomi variano con il fenotipo che nella Malattia di Wolman provoca il decesso nel primo anno di vita mentre la malattia da accumulo degli esteri di colesterolo presenta un quadro clinico meno grave.

Quest'ultima è caratterizzata principalmente da dislipidemia, epatomegalia, steatoepatite, fibrosi e cirrosi.

I segni e sintomi descritti rendono talora difficile la diagnosi che può essere confusa con altri disordini comuni. La mancanza inoltre di tecniche diagnostiche di facile applicazione e di una terapia risolutiva hanno rappresentato sino ad ora fattori limitanti nell'individuazione precoce e corretta dei pazienti. Tale carenza è in parte superata dall'attuale disponibilità di un test rapido di screening e dalla prospettiva della terapia enzimatica sostitutiva, per la quale è in corso un trial di fase III.

Questa rassegna fornisce le più recenti acquisizioni inerenti i diversi temi riguardanti tale patologia.

Parole chiave: *Difetto di Lipasi acida lisosomiale, Gene LIPA, dislipidemia, bambini.*

Bibliografia

1. Assmann G, Seedorf U. Acid lipase deficiency: Wolman disease and cholesteryl ester storage disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al (eds.). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* (vol 3, 8th ed.). New York, McGraw-Hill Inc. 2001; 3551-3572.
2. Jeon TI, Osborne TF. SREBPs: metabolic integrators in physiology and metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2012; 23: 65-72.
3. Bowden KL, Bilbey NJ, Bilawchuk LM et al. Lysosomal acid lipase deficiency impairs regulation of ABCA1 gene and formation of high density lipoproteins in cholesteryl ester storage disease. *J Biol Chem.* 2011; 286: 30624-30635.
4. Muntoni S, Wiebusch H, Jansen-Rust M, et al. Prevalence of cholesteryl ester storage dis-

- ease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007; 27: 1866-1868.
5. Stitzel NO, Fouchier SW, Sjouke B et al. Exome sequencing and directed clinical phenotyping diagnose cholesterol ester storage disease presenting as autosomal recessive hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2013; 33: 2909-2914.
 6. Scott SA, Liu B, Nazarenko I, et al. Frequency of the cholesteryl ester storage disease common LIPA E8SJM mutation (c.894G>A) in various racial and ethnic groups. *Hepatology.* 2013; 58(3): 958-65.
 7. Anderson RA, Rao N, Byrum RS, et al. In situ localization of the genetic locus encoding the lysosomal acid lipase/cholesteryl esterase (LIPA) deficient in Wolman disease to chromosome 10q23.2-q23.3. *Genomics.* 1993; 15: 245-247.
 8. Aslanidis C, Klima H, Lackner KJ, et al. Genomic organization of the human lysosomal acid lipase gene (LIPA). *Genomics.* 1994; 20: 329-331.
 9. Anderson RA, Byrum RS, Coates PM, Sando GN. Mutations at the lysosomal acid cholesteryl ester hydrolase gene locus in Wolman disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1994; 91: 2718-2722.
 10. Pagani F, Garcia R, Pariyath R, et al. Expression of lysosomal acid lipase mutants detected in three patients with cholesteryl ester storage disease. *Hum Mol Genet.* 1996; 5: 1611-1617.
 11. Anderson RA, Bryson GM, Parks Js. Lysosomal acid lipase mutations that determine phenotype in Wolman and cholesterol ester storage disease. *Mol Genet Metab.* 1999; 68: 333-345.
 12. Lohse P, Maas S, Lohse P, et al. Molecular defects underlying Wolman disease appear to be more heterogeneous than those resulting in cholesteryl ester storage disease. *J Lipid Res.* 1999; 40: 221-228.
 13. Pisciotto L, Fresa R, Bellocchio A, et al. Cholesteryl Ester Storage Disease (CESD) due to novel mutations in the LIPA gene. *Mol Genet Metab.* 2009; 97: 143-148.
 14. Fasano T, Pisciotto L, Bocchi L, et al. Lysosomal lipase deficiency: molecular characterization of eleven patients with Wolman or cholesteryl ester storage disease. *Mol Genet Metab.* 2012; 105: 450-456.
 15. Muntoni S, Wiebusch H, Funke H, et al. Homozygosity for a splice junction mutation in exon 8 of the gene encoding lysosomal acid lipase in a Spanish kindred with cholesterol ester storage disease (CESD). *Hum Genet.* 1995; 95: 491-494.
 16. Muntoni S, Wiebusch H, Jansen-Rust M, et al. Heterozygosity for lysosomal acid lipase E8SJM mutation and serum lipid concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013; 23: 732-736.
 17. Reiner Z, Guardamagna O, Nair D, et al. Lysosomal acid lipase deficiency - An under-recognized cause of dyslipidaemia and liver dysfunction. *Atherosclerosis.* 2014; 235: 21-30.
 18. Grabowski GA, Charnas L, Du H. Lysosomal acid lipase deficiencies: the Wolman disease/cholesteryl ester storage disease spectrum. In: Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, Kinzler KW, Antonarakis SE, Ballabio A, editors. *Scriver's online metabolic and molecular bases of inherited disease.* McGraw Hill; [accessed 28.10.13] http://www.ommbid.com/OMMBID/the_online_metabolic_and_molecular_bases_of_inherited_disease/b/abstract/part16/ch142.
 19. Bernstein DL, Hulkova H, Bialer MG, et al. Cholesteryl ester storage disease: review of the findings in 135 reported patients with an underdiagnosed disease. *J Hepatol.* 2013; 58: 1230-1243.
 20. Beaudet AL, Ferry GD, Nichols Jr BL, Rosenberg HS, et al. Cholesterol ester storage disease: clinical, biochemical, and pathological studies. *J Pediatr.* 1997; 90: 910-914
 21. Gasche C, Aslanidis C, Kain R, et al. A novel variant of lysosomal acid lipase in cholesteryl ester storage disease associated with mild phenotype and improvement on lovastatin. *J Hepatol.* 1997; 27: 744-750.
 22. Elleder M, Chlumska A, Hyanek J, et al. Subclinical course of cholesteryl ester storage disease in an adult with hypercholesterolemia, accelerated atherosclerosis, and liver cancer. *J Hepatol.* 2000; 32: 528-534.
 23. Elleder M, Chlumska A, Ledvinova J, et al. Testis: a novel storage site in human cholesteryl ester storage disease. Autopsy report of an adult case with a longstanding subclinical course complicated by accelerated atherosclerosis and liver carcinoma. *Virchows Arch.* 2000; 436: 82-87.
 24. Yatsu FM, Hagemenas FC, Manaugh LC, et al. Cholesteryl ester hydrolase activity in human symptomatic atherosclerosis. *Lipids.* 1980; 15: 1019-1022.
 25. Navarro C, Fernandez JM, Dominguez C, et al. Muscle involvement in cholesterol ester storage disease. *Neurology.* 1992; 42: 1120-1121.
 26. Hamilton J, Jones I, Srivastava R, et al. A new method for the measurement of lysosomal acid lipase in dried blood spots using the inhibitor Lalistat 2. *Clin Chim Acta.* 2012; 413: 1207-1210.
 27. Hulkova H, Elleder M. Distinctive histopathological features that support a diagnosis of cholesterol ester storage disease in liver biopsy

- specimens. *Histopathology*. 2012; 60: 1107-1113.
28. Thelwall PE, Smith FE, Leavitt MC et al. Hepatic cholesteryl ester accumulation in lysosomal acid lipase deficiency: non-invasive identification and treatment monitoring by magnetic resonance. *J Hepatol*. 2013; 59: 543-549.
 29. Fouchier SW, Defesche JC. Lysosomal acid lipase A and the hypercholesterolaemic phenotype. *Curr Opin Lipidol* 2013; 24: 332e8.
 30. Zhang B, Porto AF. Cholesteryl ester storage disease: protean presentations of lysosomal acid lipase deficiency. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013; 56: 682-685.
 31. Ginsberg HN, Le NA, Short MP, et al. Suppression of apolipoprotein B production during treatment of cholesteryl ester storage disease with lovastatin. Implications for regulation of apolipoprotein B synthesis. *J Clin Invest*. 1987; 80: 1692-1697.
 32. Levy R, Ostlund RE Jr, Schonfeld G, et al. Cholesteryl ester storage disease: complex molecular effects of chronic lovastatin therapy. *J Lipid Res*. 1992; 33: 1005-1015.
 33. Tarantino MD, McNamara DJ, Granstrom P, et al. Lovastatin therapy for cholesterol ester storage disease in two sisters. *J Pediatr*. 1991; 118: 131-135.
 34. Iverson SA, Cairns SR, Ward CP, et al. Asymptomatic cholesteryl ester storage disease in an adult controlled with simvastatin. *Ann Clin Biochem*. 1997; 3: 433-436.
 35. Glueck CJ, Lichtenstein P, Tracy T, et al. Safety and efficacy of treatment of pediatric cholesteryl ester storage disease with lovastatin. *Pediatr Res*. 1992; 32: 559-565.
 36. Rassoul F, Richter V, Lohse P, et al. Long-term administration of the HMG-CoA reductase inhibitor lovastatin in two patients with cholesteryl ester storage disease. *Int J Clin Pharmacol Ther*. 2001; 39: 199-204.
 37. Leone L, Ippoliti PF, Antonicelli R. Use of simvastatin plus cholestyramine in the treatment of lysosomal acid lipase deficiency. *J Pediatr*. 1991; 119: 1008-1009.
 38. McCoy E, Yokoyama S. Treatment of cholesteryl ester storage disease with combined cholestyramine and lovastatin. *Ann N Y Acad Sci*. 1991; 623: 453-454.
 39. Yokoyama S, McCoy E. Long-term treatment of a homozygous cholesteryl ester storage disease with combined cholestyramine and lovastatin. *J Inher Metab Dis*. 1992; 15: 291-292.
 40. Tadiboyina VT, Liu DM, Miskie BA, et al. Treatment of dyslipidemia with lovastatin and ezetimibe in an adolescent with cholesterol ester storage disease. *Lipids Health Dis*. 2005; 4: 26-31.
 41. Abello F, Guardamagna O, Baracco V, Bonardi R. The treatment of colesteryl storage disease (CESD) by ezetimibe monotherapy. *Atheroscler Suppl*. 2010; 11: 28.
 42. Ferry GD, Whisennand HH, Finegold MJ, et al. Liver transplantation for cholesteryl ester storage disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1991; 12: 376-378.
 43. Ambler GK, Hoare M, Brais R, et al. Orthotopic liver transplantation in an adult with cholesterol ester storage disease. *JIMD Rep*. 2013; 8: 41-46.
 44. Leavitt M, Burt AD, Hu W, et al. Recombinant lysosomal acid lipase normalized liver weight, transaminases and histopathological abnormalities in an in vivo model of cholesterol storage ester disease [abstract]. *J Hepatol* 2011; 54 (Supplement 1): S358.
 45. Balwani M, Breen C, Enns GM, et al. Clinical effect and safety profile of recombinant human lysosomal acid lipase in patients with cholesteryl ester storage disease. *Hepatology*. 2013; 58: 950-957.
 46. Bertolini S, Pisciotto L, Rabacchi C, et al. Spectrum of mutations and phenotypic expression in patients with autosomal dominant hypercholesterolemia identified in Italy. *Atherosclerosis*. 2013; 227: 342-348.
 47. Guardamagna O, Restagno G, Rolfo E, et al. The type of LDLR gene mutation predicts cardiovascular risk in children with familial hypercholesterolemia. *J Pediatr*. 2009; 155: 199-204.
 48. van der Graaf A, Avis HJ, Kusters DM, et al. Molecular basis of autosomal dominant hypercholesterolemia: assessment in a large cohort of hypercholesterolemic children. *Circulation*. 2011; 123: 1167-1173.
 49. Cortner JA, Coates PM, Gallagher PR. Prevalence and expression of familial combined hyperlipidemia in childhood. *J Pediatr*. 1990; 116: 514-519.