

**MECCANISMI DI MALATTIA**

# IL TRATTAMENTO DEI DIFETTI GENETICI E ACQUISITI DI LIPASI ACIDA LISOSOMIALE

## The treatment of primary and secondary lysosomal acid lipase deficiency

LIVIA PISCIOTTA<sup>1,2</sup>, ANDREA PASTA<sup>1</sup>, MONICA GOMARASCHI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Dipartimento di Medicina Interna, Università di Genova;

<sup>2</sup>Policlinico San Martino, Genova;

<sup>3</sup>Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano

### SUMMARY

Lysosomal acid lipase (LAL) is responsible for the hydrolysis of cholesteryl esters and triglycerides, that reach the lysosomal compartment through the endocytosis of lipoproteins, or from the cytosol through the autophagic process. When LAL activity is lacking, cholesteryl esters and triglycerides accumulate in the body, causing severe pathologic manifestations, especially in the liver, spleen and hematopoietic cells, in the presence of atherogenic dyslipidemia.

Two forms of genetic LAL deficiency (LAL-D) have been described: Wolman disease, the severe and fulminant type, and cholesteryl ester storage disease, a milder and late form. In addition, acquired LAL-D has been described in some pathologic conditions, as NAFLD and other advanced hepatopathies.

To date, a guideline for the management of genetic LAL-D is not available, but early diagnosis and treatment is essential. Pharmacological management has been recently transformed by the availability of a recombinant human LAL for enzyme replacement therapy, which has been shown effective and safe in patients with genetic LAL-D. In addition, monitoring and management of associated complications is indicated. Regarding acquired LAL-D, dedicated studies are needed to clarify the relationship between LAL-D and NAFLD and, in particular, the possible prognostic role of LAL activity in NAFLD progression.

**Keywords:** *Lysosomal acid lipase; pharmacological treatment; dyslipidemia; steatosis.*

### Il deficit di lipasi acida lisosomiale

La lipasi acida lisosomiale (LAL) è l'enzima responsabile dell'idrolisi di esteri del colesterolo e trigliceridi che giungono al compartimento lisosomiale in seguito all'endocitosi delle lipoproteine circolanti o dal citosol per attivazione del processo autofagico. I prodotti della reazione cata-

#### Indirizzo per la corrispondenza

Monica Gomaraschi  
Centro Enrica Grossi Paoletti, Dipartimento  
di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari,  
Università degli Studi di Milano  
E-mail: monica.gomaraschi@unimi.it

lizzata da LAL, colesterolo non esterificato e acidi grassi, sono veicolati al citosol, dove regolano la propria biosintesi e il loro metabolismo (1). Riduzioni dell'attività di LAL possono essere causate da mutazioni geniche o essere secondarie ad altre condizioni fisiopatologiche. Nel deficit di LAL (LAL-D) si assiste ad un accumulo intralisosomiale di esteri del colesterolo e trigliceridi. Poiché l'enzima ha espressione ubiquitaria, l'eccessivo accumulo di lipidi può localizzarsi in qualsiasi organo, tuttavia i più colpiti risultano essere il fegato, la milza e il sistema ematopoietico, in particolare i macrofagi (2). Inoltre, il mancato rilascio di colesterolo non esterificato e acidi grassi nel citosol altera il metabolismo lipidico sia a livello cellulare che sistemico (1). L'obiettivo di questa rassegna è fornire un quadro generale sui possibili approcci terapeutici nei pazienti affetti da LAL-D su base congenita o acquisita.

#### *Forme congenite*

L'enzima LAL è codificato dal gene *LIPA* sul cromosoma 10; ad oggi sono state de-

scritte più di 100 mutazioni che riducono l'attività di LAL. Il deficit genetico di LAL è una patologia autosomica recessiva molto rara. Allo stato attuale dell'arte, ne esistono due forme principali: una più severa ad esordio precoce e fulminante, la malattia di Wolman (*Wolman disease*, WD), e un'altra più moderata e tardiva, la malattia da accumulo degli esteri del colesterolo (*cholesterol ester storage disease*, CESD) (3).

Nella malattia di Wolman, l'attività di LAL è pressoché assente (<1% rispetto al normale). I pazienti mostrano manifestazioni cliniche dopo la nascita, spesso entro 2-4 mesi, a causa dell'accumulo massivo di CE e TG negli organi viscerali e la conseguente insufficienza multiorgano conduce al decesso entro il primo anno di vita (4). Invece, i soggetti affetti da CESD presentano un'attività LAL residua (circa 4-12%) che si riflette in una sintomatologia più modesta e tardiva, con comparsa variabile dei sintomi dall'infanzia all'età adulta. Infatti, la maggioranza dei casi descritti in letteratura presenta insorgenza dei sintomi e conseguente diagnosi nei primi 5-10 anni di vita ed è rappresentativa delle forme più severe di CESD (5). Tuttavia, nelle forme più lievi, la diagnosi può avvenire in modo casuale nell'età adulta. Dal punto di vista biochimico, i pazienti CESD presentano un aumento delle transaminasi e una dislipidemia spesso mista, associata a ridotti livelli di colesterolo HDL. Il quadro clinico è caratterizzato da epatosplenomegalia, steatosi microvescicolare, malassorbimento ed aterosclerosi accelerata (5). Differentemente dalla malattia di Wolman, la prognosi dei pazienti con CESD è decisamente migliore e, al momento, non è stato completamente chiarito se vi sia una reale diminuzione dell'aspettativa di vita per questi pazienti (2). Il decesso avviene generalmente per progressione della malattia epatica o per

#### **Elenco degli argomenti trattati**

- Il deficit di lipasi acida lisosomiale (LAL-D) è una malattia autosomica recessiva responsabile dell'accumulo intralisosomiale di esteri di colesterolo e trigliceridi in tutto l'organismo, ma in particolare a livello di fegato, milza e sistema emopoietico.
- La forma più severa di LAL-D è fatale nei primi mesi di vita. La forma meno severa è compatibile con l'età adulta ed è caratterizzata da steatosi microvescicolare a rapida evoluzione e dislipidemia mista.
- Il trattamento del deficit genetico di LAL è ancora una problematica aperta. Oggi è disponibile una terapia enzimatica sostitutiva, che deve essere associata al controllo delle complicanze.
- Forme acquisite di LAL-D sono state descritte nei pazienti affetti da NAFLD. Lo studio delle possibili implicazioni terapeutiche di questa scoperta è una sfida attualmente aperta per la ricerca biomedica.

malattia cardiovascolare su base ischemica. La velocità di progressione della steatosi epatica a fibrosi e cirrosi nei pazienti CESD sembra più rapida rispetto ad altre patologie epatiche croniche, quali steatosi non-alcolica (NAFLD) o epatite C; infatti, l'intervallo medio tra la prima manifestazione clinica di CESD e l'insorgenza di fibrosi o cirrosi è stato stimato in 3.1 anni (6). Similmente, diversi studi hanno evidenziato valori di ispessimento medio-intimale carotideo (cIMT, indice di aterosclerosi preclinica) più elevati nei pazienti CESD rispetto a soggetti sani di paragonabile sesso ed età (7).

La splenomegalia e la possibile alterazione a livello midollare causata dal deficit di LAL possono causare anemia, trombocitopenia e alterazioni dell'emostasi, anche se in misura meno frequente rispetto ad altre malattie da accumulo lisosomiale quali Gaucher e Niemann-Pick (8). Inoltre, sono state descritte alterazioni a livello gastrointestinale quali diarrea, vomito, dolori addominali, steatorrea e possibili segni di malassorbimento (8). Infine, la dislipidemia può comportare deposizione di lipidi a livello dei vasi renali con alterazione della funzionalità renale.

#### *Forme acquisite*

Recentemente, numerosi studi si sono soffermati su condizioni fisiopatologiche che possono essere associate a moderate riduzioni dell'attività di LAL. In particolare, recenti evidenze hanno chiaramente dimostrato che i pazienti con NAFLD generalmente presentano riduzioni dell'attività LAL anche superiori al 50% (9-15). Tale riduzione sembra peculiare della NAFLD. Infatti, studi su casistiche italiane hanno dimostrato come l'attività LAL sia inferiore nella NAFLD rispetto a malattia epatica da HCV e nella cirrosi criptogenetica rispetto alle cirrosi ad eziologia nota.

È possibile ipotizzare una base metabolica per l'associazione tra LAL-D e NAFLD. La riduzione dell'attività di LAL, compromettendo il rilascio di colesterolo e acidi grassi liberi nel citosol, causa l'attivazione dei fattori di trascrizione della famiglia *sterol regulatory element-binding protein* (SREBP) con conseguente stimolazione della lipogenesi (16). Tale effetto supporta l'aumento degli acidi grassi intracellulari ed altre alterazioni metaboliche alla base dello sviluppo e della progressione della NAFLD (17). D'altra parte, l'accumulo citosolico di acidi grassi e trigliceridi tipico della NAFLD può causare una inibizione da prodotto dell'attività di LAL, poiché gli acidi grassi sembrano muoversi tra lisosoma e citosol per semplice diffusione (9,18). In accordo con tale ipotesi, la stimolazione del catabolismo degli acidi grassi mediante attivazione dei recettori della famiglia *peroxisome proliferator-activated receptors* (PPAR) di tipo  $\alpha$  ripristina l'attività di LAL *in vitro* ed *in vivo* (9).

### **Il trattamento del difetto congenito di LAL**

#### *Analisi storica degli approcci terapeutici*

Per quanto riguarda la più grave WD, fin dalla sua scoperta ad opera di Wolman Moshe tra il 1956 e il 1961 (19) sono stati valutati numerosi approcci terapeutici che sono risultati fallimentari nella maggior parte dei casi. Tra la scoperta della patologia e gli anni '70 sono state valutate varie strategie di intervento basate sull'utilizzo di terapie sintomatiche come la colestiramina, D-tiroxina, clofibrato, corticosteroidi e farmaci depressori dell'attività gastrointestinale, associate ad un'alimentazione arricchita in acidi grassi a media catena. Il successo di questi approcci è stato alterno e, in definitiva, poco soddisfacente (20). Nel 1972, al fine di fornire una

dieta semplificata che potesse attenuare le manifestazioni gastrointestinali ed epatiche, è stato valutato un approccio basato su un regime alimentare a basso contenuto di fibre seguito da nutrizione parenterale, anch'esso fallimentare (20). Successivamente, negli anni '80 furono applicati vari regimi dietetici finalizzati a ridurre l'accumulo progressivo di lipidi a livello epatico e perciò basati sulla restrizione di esteri idrofobici, come il latte materno. Tuttavia, i miglioramenti registrati furono limitati al breve termine, senza influenzare la sopravvivenza complessiva dei neonati affetti (21). A partire dagli anni '90, diversi neonati affetti da WD sono stati sottoposti a trapianto di cellule staminali emopoietiche; sebbene siano stati documentati miglioramenti dell'epatopatia in alcuni pazienti, sono stati riportati numerosi casi di fallimento terapeutico e importanti effetti collaterali, anche mortali (22).

In pazienti affetti da CESD, la forma di LAL-D ad insorgenza più tardiva, fino alla metà degli anni 2000 i trattamenti sono stati principalmente mirati alla gestione della dislipidemia e, in minor misura, dell'epatopatia. Pertanto, questi pazienti sono stati sottoposti a diete a basso contenuto di grassi associate a varie terapie farmacologiche ipolipemizzanti, quali statine, ezetimibe e colestiramina. Seppur in assenza di studi controllati, si può affermare che tale approccio ha un effetto variabile sul controllo della dislipidemia, ma generalmente non è in grado di influenzare l'epatopatia (2, 23). In questo ambito, studi più approfonditi sarebbero necessari per chiarire il ruolo di ezetimibe. Valutazioni condotte nel modello animale di LAL-D hanno evidenziato una riduzione dell'accumulo epatico ed intestinale di lipidi in seguito al trattamento con ezetimibe (24). Inoltre, in tre pazienti affetti da CESD il trattamento a lungo termine con

ezetimibe ha causato una riduzione delle transaminasi; tuttavia, non è stata effettuata una valutazione strumentale della steatosi epatica (25). L'uso degli inibitori di PCSK9 nei pazienti con deficit di LAL non è stato ad oggi documentato. Infine, sono stati descritti miglioramenti del profilo lipidico e dei parametri epatici in pazienti CESD in cui il trapianto di fegato si è reso necessario ad un'età media di 16 anni, a causa della rapida progressione dell'epatopatia; tuttavia, il trapianto non ha effetto sulle conseguenze sistemiche della carenza enzimatica (2, 26-29).

#### *La terapia enzimatica sostitutiva con sebelipasi alfa*

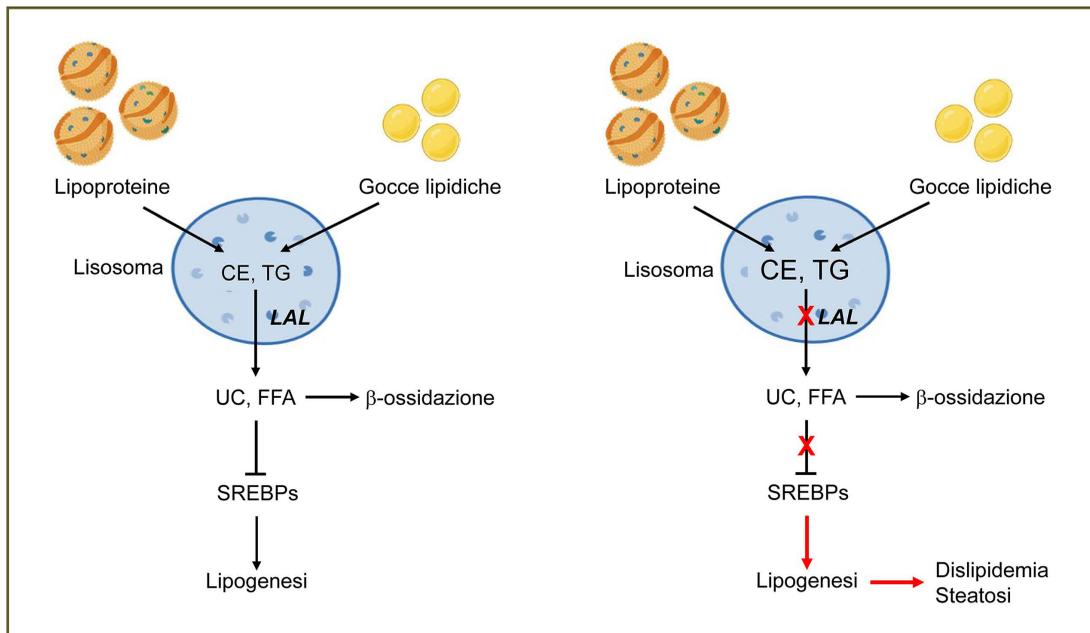
A partire dal 2010, il trattamento del deficit genetico di LAL è stato rivoluzionato dallo sviluppo di una proteina umana ricombinante, che è oggi disponibile per la terapia enzimatica sostitutiva di pazienti affetti da deficit completi e parziali di LAL in vari Paesi (30). Sebelipasi alfa è una proteina LAL ricombinante umana espressa nell'albume di galline transgeniche (31). La proteina è glicosilata; in particolare, la presenza di residui di mannosio-6-fosfato ne garantisce la captazione da parte di molti tipi cellulari, inclusi epatociti e macrofagi, ed il corretto trasporto nel compartimento lisosomiale. Attualmente, l'efficacia di questo enzima ricombinante è stata valutata su oltre 100 soggetti affetti da WD o CESD, di cui circa la metà in età pediatrica (32-37).

Per quanto riguarda i neonati affetti da WD, sebelipasi alfa è stata testata in 9 pazienti e la loro sopravvivenza è stata paragonata al decorso di una coorte storica 21 neonati con le medesime caratteristiche, nessuno dei quali sopravvissuto oltre gli 8 mesi di vita (34). Tra i casi trattati con sebelipasi alfa, 6 pazienti hanno raggiunto i 12 mesi di vita, 5 dei quali hanno succes-

sivamente superato i 24 mesi. Inoltre, la sopravvivenza è associata al miglioramento di numerosi parametri, quali crescita ponderale, anemia, transaminasi, livelli di albumina e linfadenopatia, evidente fin dalle prime settimane di trattamento ai dosaggi più bassi.

Tra gli studi che hanno valutato l'effetto di sebelipasi alfa nei pazienti affetti da CESD, il più significativo è lo studio di fase 3 multicentrico, randomizzato e in doppio cieco ARISE (Acid Lipase Replacement Investigating Safety and Efficacy) (35). Sono stati arruolati 66 pazienti CESD di età superiore a 4 anni, che sono stati trattati per 20 settimane con placebo o con infusioni di sebelipasi alfa alla dose di 1 mg/kg ogni

due settimane. La fase in doppio cieco è stata seguita da un periodo di estensione in aperto, in cui tutti i pazienti sono stati trattati con il farmaco. L'obiettivo primario dello studio era la normalizzazione dei livelli di alanina aminotransferasi, raggiunto nel 31% dei pazienti trattati con sebelipasi alfa rispetto al 5% dei pazienti trattati con placebo. Inoltre, sebelipasi alfa ha causato un significativo miglioramento di altri parametri biochimici, quali LDL- e HDL-colesterolo, trigliceridi e aspartato aminotransferasi. Per quanto riguarda l'epatopatia, il trattamento con sebelipasi alfa ha ridotto del 32% il contenuto di grasso epatico, e in un sottogruppo di 20 pazienti è stata anche riscontrata una riduzione



**Figura 1 - Ruolo di LAL nel metabolismo lipidico cellulare.** La lipasi acida lisosomiale (LAL) è responsabile dell'idrolisi di esteri del colesterolo (CE) e trigliceridi (TG) nel compartimento lisosomiale. I lipidi possono giungere nel lisosoma per endocitosi delle lipoproteine circolanti o per trasporto delle gocce lipidiche citoplasmatiche durante l'attivazione del processo autofagico. I prodotti della reazione di idrolisi, colesterolo non esterificato (UC) e acidi grassi liberi (FFA), vengono rilasciati nel citosol dove inibiscono l'attivazione dei fattori di trascrizione della famiglia *sterol regulatory element-binding proteins* (SREBPs). Nel pannello a destra, il deficit di LAL causa un accumulo di CE e TG nel compartimento lisosomiale. Inoltre, il mancato rilascio di UC e FFA nel citosol causa la traslocazione nucleare di SREBPs e l'attivazione della lipogenesi. Immagine parzialmente elaborata con *BioRender*.

del grado di fibrosi dopo un anno di trattamento (38). Non sono ad oggi disponibili dati sull'efficacia del trattamento a lungo termine con sebelipasi alfa in termini di prevenzione dell'arteriosclerosi e delle relative complicanze cardiovascolari.

Il farmaco ha mostrato un buon profilo di tollerabilità; solo nel 3% dei pazienti si sono manifestate reazioni significative in seguito all'infusione per anafilassi o ipersensibilità (34, 35, 39). I segni e sintomi hanno incluso fastidio al torace, iniezione congiuntivale, dispnea, esantema pruriginoso ed eruzione generalizzata, iperemia, lieve edema delle palpebre, rinorrea, grave sofferenza respiratoria, tachicardia, tachipnea e orticaria. Non sono state registrate reazioni avverse letali. Lo sviluppo di anticorpi diretti contro la proteina ricombinante è stato evidenziato nel 14% dei pazienti CESD nell'ambito dello studio ARISE entro 3 mesi dall'inizio della terapia, per poi ridursi nel proseguo della stessa (35, 39). La presenza di anticorpi non è risultata correlata all'efficacia del trattamento o all'insorgenza di eventi avversi. Nello studio condotto su neonati affetti da WD, trattati una volta alla settimana con dosi di sebelipasi alfa fino a 5 mg/kg, lo sviluppo di anticorpi è stato evidenziato nel 57% dei casi (34, 39).

Sebelipasi alfa è stato approvato nel 2015 dalla European Medicines Agency (EMA) per il trattamento di pazienti di tutte le età affetti da LAL-D (39). In Italia, l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ha indicato l'infusione endovenosa di sebelipasi alfa nei neonati al dosaggio di 1 mg/kg fino ad un massimo di 3 mg/kg una volta alla settimana, e in bambini e adulti al dosaggio di 1 mg/kg a settimane alterne (40). AIFA ha inoltre inserito questo enzima ricombinante nel registro dei farmaci sottoposti a monitoraggio con specifici criteri di rimborsabilità. In particolare, la rimborsabilità è indicata per la terapia

enzimatica sostitutiva a lungo termine in pazienti affetti da deficit di LAL ad esordio precoce (entro il primo anno di vita) e a rapida progressione.

Infine, in Italia esiste un fondo nazionale istituito con la Legge n. 326 del 2003 per l'impiego a carico del SSN di farmaci orfani, al quale dal 2017 si può accedere per il trattamento con sebelipasi alfa dei pazienti affetti da CESD. La rimborsabilità attraverso questo tipo di fondo è subordinata alla preparazione di adeguata richiesta e al vaglio da parte dell'autorità competente (41).

### **Il trattamento delle forme acquisite di LAL-D**

Benché sia stata dimostrata l'associazione tra LAL-D e alcune forme di patologia epatica, in particolare la NAFLD e forme avanzate di insufficienza d'organo, il ruolo del deficit di LAL nel decorso della NAFLD non è ancora stato chiarito. Di conseguenza, anche l'effetto del ripristino dell'attività LAL non è stato valutato. Poiché le due condizioni presentano alcune alterazioni metaboliche comuni, anche gli interventi terapeutici potrebbero agire su entrambe le patologie. Ad oggi, la terapia della NAFLD prevede il trattamento dell'epatopatia affiancato alla gestione delle comorbilità metaboliche che possono essere presenti. Il principale approccio per la gestione della NAFLD è la modifica dello stile di vita, finalizzata alla correzione della sedentarietà e al controllo del peso corporeo. Le linee guida AASLD (42) raccomandano un regime dietetico ipocalorico, ipoglicidico (in particolare povero di fruttosio) e ipolipidico, oppure, in alternativa, la dieta mediterranea isocalorica. Tuttavia, per ottenere un'efficace remissione della steatoepatite (NASH) è indispensabile ottenere un calo ponderale di almeno il 7%. L'effetto della correzione dello stile di vita

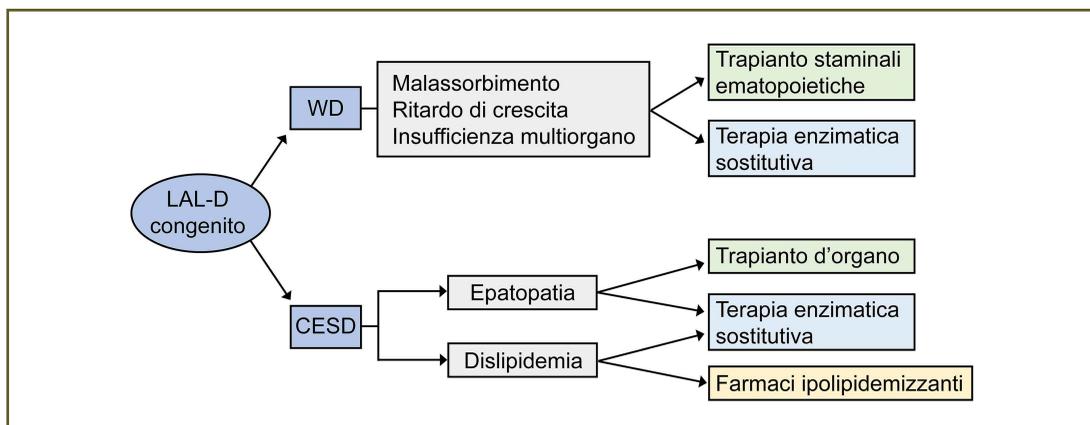
sull'attività LAL nel paziente con NAFLD non è ad oggi noto.

Nonostante i numerosi studi clinici condotti negli ultimi anni, non è ancora disponibile un trattamento farmacologico specifico per la NAFLD. In particolare, molti farmaci utilizzati per trattare le comorbilità associate, quali ipoglicemizzanti e ipolipidemizzanti, sono in fase di valutazione sulla base di evidenze di un possibile effetto diretto sulla patologia (42). L'attenzione è rivolta soprattutto ai pazienti con diagnosi istologica di NASH e fibrosi. Al momento, le molecole che hanno come bersaglio il metabolismo lipidico e glucidico, quali gli agonisti dei recettori PPAR, stanno mostrando i risultati più promettenti. Ad esempio, l'agonista di PPAR $\gamma$  pioglitazone, farmaco ipoglicemizzante della famiglia dei tiazolidinedioni, ha migliorato il profilo istologico in pazienti diabetici e non con biopsia positiva per NASH (43, 44). Anche l'agonista misto  $\alpha/\delta$  elafibranor è attualmente in fase 3 di spe-

rimentazione clinica in pazienti con NASH (NCT02704403, 45). Per quanto riguarda l'effetto di questi farmaci sull'attività di LAL, studi pilota suggeriscono che il trattamento con il classico agonista di PPAR $\alpha$  fenofibrato si associ ad un aumento significativo dell'attività LAL in pazienti con NAFLD o con dislipidemia mista (9,46). Infine, anche l'acido obeticolico, analogo semi-sintetico degli acidi biliari in grado di attivare i recettori FXR (*farnesoid X receptors*), è in fase 3 di sperimentazione per il trattamento di pazienti con NASH (NCT02548351, 47).

#### Conclusioni e prospettive future

Ad oggi non esiste una linea guida per il trattamento del deficit genetico di LAL. È tuttavia certo che anche per il paziente affetto da CESD sono necessari una diagnosi e un approccio terapeutico precoci per rallentare la comparsa dei sintomi e la progressione della patologia (2). Per quanto concerne la forma più grave, l'approccio



**Figura 2** - Principali opzioni terapeutiche per il difetto congenito di LAL.

Nella forma più grave, Wolman Disease (WD), i neonati affetti presentano malassorbimento, ritardo di crescita e alterazione funzionale di diversi organi, che conducono al decesso per insufficienza multiorgano nei primi mesi di vita. Le opzioni terapeutiche disponibili includono la terapia enzimatica sostitutiva ed il trapianto con cellule staminali ematopoietiche. Nella forma meno severa, Cholesteryl Ester Storage Disease (CESD), i pazienti presentano steatosi microvescicolare a rapida evoluzione e dislipidemia. La dislipidemia può essere gestita con l'uso di farmaci ipolipidemizzanti. Il trapianto di fegato si rende necessario quando l'epatopatia sfocia in insufficienza d'organo. La terapia enzimatica sostitutiva permette di controllare sia la dislipidemia che l'accumulo di grasso epatico.

dietetico non migliora complessivamente la prognosi infausta ed il trapianto di cellule staminali emopoietiche è stato usato con risultati contrastanti. La terapia enzimatica sostitutiva è cruciale e ben tollerata. Tuttavia, esistono ancora delle problematiche legate sia alla variabilità interindividuale nella risposta clinica registrata negli studi di intervento, sia agli altissimi costi della terapia a lungo termine, che ne minano significativamente l'accessibilità a

livello globale (48). Da parte di alcuni autori è stato ipotizzato l'utilizzo della terapia enzimatica sostitutiva come trattamento ponte per il seguente trapianto di cellule staminali emopoietiche (2). Nel paziente CESD la terapia enzimatica sostitutiva genera miglioramenti significativi del profilo biochimico e clinico. Parallelamente è indicato il controllo delle complicanze, quali l'insufficienza surrenalica mediante la somministrazione di corticosteroidi e

### Glossario

**Autofagia:** processo finemente regolato utilizzato dalle cellule per la degradazione di componenti cellulari non necessari o alterati. È caratterizzato dalla formazione di una vescicola a doppia membrana, l'autofagosoma, che si fonde con il lisosoma, sede della degradazione.

**Cellule staminali ematopoietiche:** cellule non differenziate pluripotenti da cui si originano le cellule del sangue e del sistema immunitario. In caso di difetti genetici, il trapianto da un donatore sano compatibile garantisce nel paziente ricevente la produzione di cellule del sistema ematopoietico prive dell'alterazione genica.

**Endocitosi delle lipoproteine:** processo di captazione cellulare delle lipoproteine circolanti mediato principalmente dai recettori della famiglia *LDL-receptor*. Il complesso lipoproteina-recettore viene internalizzato e veicolato al lisosoma per la degradazione nei componenti basilari quali aminoacidi, colesterolo non esterificato e acidi grassi.

**Farmaco orfano:** farmaco utilizzato per la diagnosi, la prevenzione o il trattamento di una malattia rara. La designazione di farmaco orfano da parte delle Agenzie Regolatorie consente di accedere ad incentivi economici e ad una procedura di approvazione dedicata.

**Gocce lipidiche:** depositi citosolici di acidi grassi e colesterolo sotto forma di lipidi neutri. Per soddisfare le necessità energetiche della cellula, le gocce lipidiche vengono idrolizzate direttamente nel citosol da lipasi neutre, oppure sono veicolate al lisosoma per attivazione del processo autofagico.

**Linfoistiocitosi emofagocitica:** malattia rara e potenzialmente fatale ad insorgenza infantile, caratteriz-

zata dalla iperattivazione di istiociti e linfociti. Può essere congenita oppure secondaria ad altre patologie, quali il deficit di LAL.

**Lisosoma:** organello cellulare con funzione digestiva dei componenti macromolecolari cellulari. È formato da una membrana a doppio strato lipidico che delimita un ambiente acido contenente una serie di idrolasi quali proteasi, nucleasi, lipasi e glicosidasi. Si forma per gemmazione dall'apparato di Golgi.

**Non-Alcoholic Fatty Liver Disease:** condizione caratterizzata dall'accumulo eccessivo di lipidi a livello epatico non causato dall'assunzione di alcool. Sotto il termine NAFLD si raccoglie uno spettro di patologie: dalla semplice steatosi, alla sua evoluzione a steatoepatite (NASH) e fibrosi. La NASH può sfociare in complicazioni quali cirrosi, carcinoma epatico e malattie cardiovascolari.

**Peroxisome proliferator-activated receptors:** famiglia di recettori nucleari che agisce da fattore di trascrizione per numerosi geni coinvolti nel metabolismo di lipidi e carboidrati. I recettori PPAR si distinguono in tre isoforme ( $\alpha$ ,  $\delta$  e  $\gamma$ ), caratterizzate da una differente espressione tissutale e dal diverso spettro di geni modulati. I recettori PPAR $\alpha$  sono il bersaglio molecolare dei fibrati, farmaci ipotrigliceridemizzanti, mentre i recettori PPAR $\gamma$  sono il bersaglio molecolare dei tiazolidinedioni, farmaci ipoglicemizzanti.

**Sterol regulatory element-binding proteins:** famiglia di fattori di trascrizione composta da due geni (SREBF1 e SREBF2) codificanti tre diverse proteine: SREBP1a, SREBP1c e SREBP2. Regolano la trascrizione di geni coinvolti nella biosintesi e captazione di lipidi e lipoproteine.

mineralcorticoidi ed il malassorbimento con il supporto nutrizionale (2,48). Infine, è poco noto l'impatto del deficit genetico di LAL su altri organi e sistemi. Ad esempio, studi nel modello animale LAL<sup>-/-</sup> hanno evidenziato alterazioni significative del sistema immunitario; in accordo, casi di linfocitopenia emofagocitica secondaria (HLH) sono stati descritti in pazienti affetti da WD (1). Saranno pertanto necessari studi approfonditi per evidenziare ulteriori alterazioni nei pazienti affetti da LAL-D per un migliore monitoraggio del paziente e del conseguente intervento terapeutico.

Per quanto riguarda il deficit acquisito di LAL nel paziente con NAFLD, sono certamente necessari ulteriori studi dedicati a rafforzare le conoscenze sulla complessa interazione tra le due condizioni. Innanzitutto, sarà necessario valutare il possibile ruolo dell'attività di LAL quale predittore della progressione della NAFLD. Inoltre, nonostante la correzione del deficit enzimatico tramite terapia sostitutiva con sebelipasi alfa permetta il miglioramento dell'epatopatia associata al deficit genetico

di LAL (35), ad oggi non esistono studi che valutino l'effetto del miglioramento della NAFLD sull'attività di LAL e viceversa. A tale proposito, è stata recentemente proposta la possibilità di utilizzare sebelipasi alfa come opzione terapeutica in pazienti con NAFLD/NASH e concomitante riduzione secondaria di LAL (49). Tuttavia, l'elevato costo della terapia enzimatica sostitutiva rappresenta un limite rilevante all'ipotesi applicativa di questa terapia in pazienti con deficit non congeniti di LAL. Inoltre, in campioni di tessuto epatico di pazienti con NAFLD è stata evidenziata una riduzione dell'attività ma non dell'espressione di LAL, a suggerire interventi mirati a rimuovere i fattori limitanti l'attività enzimatica (9). A tal riguardo, sarà interessante approfondire il ruolo del sistema PPAR, grazie alla disponibilità di numerosi agonisti sia specifici per le diverse isoforme, sia misti (50). Dato il suo ruolo centrale nel metabolismo energetico cellulare, il sistema PPAR potrebbe rappresentare il bersaglio ottimale per la gestione sia della NAFLD che del difetto acquisito di LAL.

#### RIASSUNTO

La lipasi acida lisosomiale (LAL) è l'enzima responsabile dell'idrolisi di esteri del colesterolo e trigliceridi, che giungono al compartimento lisosomiale in seguito all'endocitosi delle lipoproteine circolanti o dal citosol per attivazione del processo autofagico. In assenza di attività LAL (LAL-D), esteri del colesterolo e trigliceridi si accumulano nell'organismo causando gravi manifestazioni patologiche a carico soprattutto di fegato, milza e sistema ematopoietico, in presenza di una caratteristica dislipidemia mista aterogena. In letteratura sono descritte due forme congenite dovute a mutazioni a carico del gene *LIPA*: la malattia di Wolman (*Wolman disease*, WD), più severa ad esordio precoce e fulminante, e la malattia da accumulo degli esteri del colesterolo (*cholesteryl ester storage disease*, CESD), forma più moderata e tardiva. Inoltre, recentemente sono state identificate forme di LAL-D secondarie ad altre condizioni patologiche, come ad esempio nei pazienti affetti da NAFLD e da altre epatopatie in stadio avanzato. Ad oggi non esiste una linea guida per il trattamento del deficit congenito di LAL, tuttavia in entrambe le forme è essenziale una diagnosi ed un trattamento precoce; quest'ultimo è stato recentemente rivoluzionato dalla disponibilità di una proteina ricombinante umana per la terapia enzimatica sostitutiva, trattamento risultato efficace e ben tollerato. Inoltre, è di fondamentale importanza il controllo delle complicanze. Per quanto concerne l'associazione tra NAFLD e LAL-D sono necessari ulteriori studi per chiarire la relazione tra queste due entità patologiche e soprattutto l'eventuale effetto prognostico dell'attività LAL sull'evoluzione dell'epatopatia nella NAFLD.

**Parole chiave:** *Lipasi acida lisosomiale; trattamento; dislipidemia; steatosi.*

### Questionario di auto-apprendimento

#### A. Nel deficit di LAL (LAL-D):

1. Si ha un accumulo intralisosomiale di esteri del colesterolo e trigliceridi esclusivamente nel fegato.
2. Si ha un accumulo intralisosomiale di esteri del colesterolo e trigliceridi in particolare in fegato, milza e sistema ematopoietico.
3. Si ha un accumulo di trigliceridi esclusivamente nel fegato.

#### B. Nei soggetti affetti da CESD:

1. L'attività della LAL è residua (circa 4-12%).
2. L'attività della LAL è pressoché assente (<1%).
3. L'attività della LAL è conservata.

#### C. La riduzione dell'attività di LAL determina:

1. Riduzione della lipogenesi.
2. Non ha effetto sulla lipogenesi.
3. Attivazione della lipogenesi.

#### D. Sebelipasi alfa:

1. È stato approvato dalla European Medicines Agency (EMA) per il trattamento di pazienti di tutte le età affetti da LAL-D.
2. Non ha ottenuto l'approvazione dalla European Medicines Agency (EMA) per il trattamento di pazienti di tutte le età affetti da LAL-D.
3. Non si è dimostrato efficace per il trattamento di pazienti di tutte le età affetti da LAL-D.

#### E. Qual è attualmente il primo approccio per la gestione del paziente con NAFLD?

1. Il trattamento farmacologico.
2. La modifica dello stile di vita, finalizzata alla correzione della sedentarietà e al controllo del peso corporeo.
3. Dieta iperlipidica e iperglicidica.

#### F. Nella malattia di Wolman, la comparsa delle manifestazioni cliniche avviene:

1. Dopo la nascita, spesso entro 2-4 mesi.
2. In età adulta.
3. Dall'infanzia all'età adulta.

Risposte corrette:

A2, B1, C3, D1, E2, F1

### Bibliografia

1. Gomaschi M, Bonacina F, Norata GD. Lysosomal Acid Lipase: From Cellular Lipid Handler to Immunometabolic Target. *Trends Pharmacol Sci.* 2019; 40: 104-115.
2. Pericleous M, Kelly C, Wang T, *et al.* Wolman's disease and cholesteryl ester storage disorder: the phenotypic spectrum of lysosomal acid lipase deficiency. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2017; 2: 670-679.
3. Fasano T, Pisciotta 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.
4. Jones SA, Valayannopoulos V, Schneider E, *et al.* Rapid progression and mortality of lysosomal acid lipase deficiency presenting in infants. *Genet Med.* 2016; 18: 452-458.
5. Bernstein DL, Hülkova 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.
6. Burton BK, Silliman N, Marulkar S. Progression of liver disease in children and adults with lysosomal acid lipase deficiency. *Curr Med Res Opin.* 2017; 33: 1211-1214.
7. Arnaboldi L, Ossoli A, Giorgio E, *et al.* LIPA gene mutations affect the composition of lipoproteins: enrichment in ACAT-derived cholesteryl esters. *Atherosclerosis.* 2020; 297: 8-15.
8. Kohli R, Ratzu V, Fiel MI, *et al.* Initial assessment and ongoing monitoring of lysosomal acid lipase deficiency in children and adults: Consensus recommendations from an international collaborative working group. *Mol Genet Metab.* 2020; 129: 59-66.
9. Gomaschi M, Fracanzani AL, Dongiovanni P, *et al.* Lipid accumulation impairs lysosomal acid lipase activity in hepatocytes: Evidence in NAFLD patients and cell cultures. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2019; 1864: 158523.
10. Baratta F, Pastori D, Del Ben M, *et al.* Reduced Lysosomal Acid Lipase Activity in Adult Patients With Non-alcoholic Fatty Liver Disease. *EBioMedicine.* 2015; 2: 750-754.
11. Tovoli F, Napoli L, Negrini G, *et al.* A Relative Deficiency of Lysosomal Acid Lipase Activity Characterizes Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2017; 18: 1134.
12. Ferri F, Mischitelli M, Tozzi G, *et al.* Reduced Lysosomal Acid Lipase Activity in Blood and Platelets Is Associated With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Clin Transl Gastroenterol.* 2020; 11: e00116.

13. Shteyer E, Villenchik R, Mahamid M, et al. Low Serum Lysosomal Acid Lipase Activity Correlates with Advanced Liver Disease. *Int J Mol Sci.* 2016; 17: 312.
14. Selvakumar PKC, Kabbany MN, Lopez R, et al. Reduced lysosomal acid lipase activity - A potential role in the pathogenesis of non alcoholic fatty liver disease in pediatric patients. *Dig Liver Dis.* 2016; 48: 909-913.
15. Vespasiani-Gentilucci U, Gallo P, Piemonte F, et al. Lysosomal Acid Lipase Activity Is Reduced Both in Cryptogenic Cirrhosis and in Cirrhosis of Known Etiology. *PLoS One.* 2016; 11: e0156113.
16. Fon Tacer K, Rozman D. Nonalcoholic Fatty liver disease: focus on lipoprotein and lipid deregulation. *J Lipids.* 2011; 2011: 783976.
17. Bessone F, Razori MV, Roma MG. Molecular pathways of nonalcoholic fatty liver disease development and progression. *Cell Mol Life Sci.* 2019; 76: 99-128.
18. Dubland JA, Francis GA. Lysosomal acid lipase: at the crossroads of normal and atherogenic cholesterol metabolism. *Front Cell Dev Biol.* 2015; 3: 3.
19. Wolman M, Sterk VV, Gatt S, et al. Primary Familial Xanthomatosis with involvement and calcification of the adrenals: Report of Two More Cases in Siblings of a Previously Described Infant. *Pediatrics.* 1961; 28: 742-757.
20. Crocker AC, Fisher JN, Filler RM. Nutritional Support, Including Intravenous Alimentation, for the Infant with Wolman's Disease. *Sphingolipids, Sphingolipidoses and Allied Disorders: Proceedings of the Symposium on Sphingolipidoses and Allied Disorders.* Springer. 1972: 661-670.
21. Meyers WF, Hoeg JM, Demosky SJ, et al. The use of parenteral hyperalimentation and elemental formula feeding in the treatment of Wolman disease. *Nutr Res.* 1985; 5: 423-429.
22. Krivit W, Peters C, Dusenbery K, et al. Wolman disease successfully treated by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 26: 567-570.
23. Pisciotta L, Tozzi G, Travaglini L, et al. Molecular and clinical characterization of a series of patients with childhood-onset lysosomal acid lipase deficiency. Retrospective investigations, follow-up and detection of two novel LIPA pathogenic variants. *Atherosclerosis.* 2017; 265: 124-132.
24. Chuang JC, Lopez AM, Turley SD. Quantitation of the rates of hepatic and intestinal cholesterol synthesis in lysosomal acid lipase-deficient mice before and during treatment with ezetimibe. *Biochem Pharmacol.* 2017; 135: 116-125.
25. Di Rocco M, Pisciotta L, Madeo A, et al. Long term substrate reduction therapy with ezetimibe alone or associated with statins in three adult patients with lysosomal acid lipase deficiency. *Orphanet J Rare Dis.* 2018; 13: 24.
26. Ferry GD, Whisennand HH, Finegold MJ, et al. Liver Transplantation for Cholesteryl Ester Storage Disease. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 1991; 12: 376-378.
27. Martínez Ibañez V, Iglesias J, Lloret J, et al. 7 years' experience with hepatic transplantation in children. *Cir Pediatr.* 1993; 6: 7-10.
28. 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.
29. Leone L, Ippoliti PF, Antonicelli R, et al. Treatment and liver transplantation for cholesterol ester storage disease. *J Pediatr.* 1995; 127: 509-510.
30. Sheridan C. FDA approves "pharmaceutical" drug from transgenic chickens. *Nat Biotechnol.* 2016; 34: 117-119.
31. Rader DJ. Lysosomal Acid Lipase Deficiency—A New Therapy for a Genetic Lipid Disease. *N Engl J Med.* 2015; 373: 1071-1073.
32. 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.
33. Valayannopoulos V, Malinova V, Honzík T, et al. Sebelipase alfa over 52 weeks reduces serum transaminases, liver volume and improves serum lipids in patients with lysosomal acid lipase deficiency. *J Hepatol.* 2014; 61: 1135-1142.
34. Jones SA, Rojas-Caro S, Quinn AG, et al. Survival in infants treated with sebelipase Alfa for lysosomal acid lipase deficiency: an open-label, multicenter, dose-escalation study. *Orphanet J Rare Dis.* 2017; 12: 25.
35. Burton BK, Balwani M, Feillet F, et al. A Phase 3 Trial of Sebelipase Alfa in Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *N Engl J Med.* 2015; 373: 1010-1020.
36. Wilson DP, Friedman M, Marulkar S, et al. Sebelipase alfa improves atherogenic biomarkers in adults and children with lysosomal acid lipase deficiency. *J Clin Lipidol.* 2018; 12: 604-614.
37. Jones SA, Plantaz D, Vara R, et al. Effect of sebelipase alfa on survival and liver function in infants with rapidly progressive lysosomal acid lipase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2015; 114: S59.
38. Goodman ZD, Burton B, Alaparthi L, et al. Change in liver fibrosis in children and adults with lysosomal acid lipase deficiency after 52 weeks of sebelipase alfa (ARISE Trial). *Hepatology.* 2016; 64(S1): 279A.

39. Kanuma. European Medicines Agency 2018; Available from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/kanuma>
40. Determina 2005/2017, Kanuma, Aifa. Available from: [https://www.aifa.gov.it/documents/20142/241028/Determina\\_2005-2017-Kanuma.pdf/f3c1cc7b-d83b-1622-5876-9fce25143fde](https://www.aifa.gov.it/documents/20142/241028/Determina_2005-2017-Kanuma.pdf/f3c1cc7b-d83b-1622-5876-9fce25143fde)
41. Il Fondo Nazionale AIFA (Fondo 5%). AIFA Agenzia Italiana del Farmaco. Available from: <http://www.agenziafarmaco.gov.it/content/il-fondo-nazionale-aifa-fondo-5>
42. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, et al. The diagnosis and management of nonalcoholic fatty liver disease: Practice guidance from the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018; 67: 328-357.
43. Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med*. 2006; 355: 2297-2307.
44. Cusi K, Orsak B, Bril F, et al. Long-Term Pioglitazone Treatment for Patients With Nonalcoholic Steatohepatitis and Prediabetes or Type 2 Diabetes Mellitus: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2016; 165: 305-315.
45. Ratziu V, Harrison SA, Francque S, et al. Elafibranor, an Agonist of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- $\alpha$  and - $\delta$ , Induces Resolution of Nonalcoholic Steatohepatitis Without Fibrosis Worsening. *Gastroenterology*. 2016; 150: 1147-1159.
46. Pavanello C, Baragetti A, Branchi A, et al. Treatment with fibrates is associated with higher LAL activity in dyslipidemic patients. *Pharmacol Res*. 2019; 147: 104362.
47. Younossi ZM, Ratziu V, Loomba R, et al. Obeticholic acid for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: interim analysis from a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet*. 2019; 394: 2184-2196.
48. Pastores GM, Hughes DA. Lysosomal Acid Lipase Deficiency: Therapeutic Options. *Drug Des Devel Ther*. 2020; 14: 591-601.
49. A-Kader HH. Lysosomal acid lipase deficiency: a form of non-obese fatty liver disease (NO-FLD). *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017; 11: 911-924.
50. Boeckmans J, Natale A, Rombaut M, et al. Anti-NASH Drug Development Hitches a Lift on PPAR Agonism. *Cells*. 2019; 9: 37.