



IL DEFICIT DI LCAT: UNA DIAGNOSI NEFROLOGICA

Giuliano Boscutti¹, Laura Calabresi², Stefano Pizzolitto³, Emanuela Boer¹, Manuela Bosco¹, Piero Luigi Mattei¹, Massimiliano Martone¹, Neva Milutinovic¹, Dorina Berbecar¹, Elisabetta Beltram¹, Guido Franceschini²

¹SOC di Nefrologia e Dialisi, ASS2 "Isontina" Ospedale S. Giovanni di Dio, Gorizia

²Centro E. Grossi Paoletti, Dipartimento di Scienze Farmacologiche dell'Università degli Studi, Milano

³SOC di Anatomia Patologica, Azienda Ospedaliero-Universitaria S. Maria della Misericordia, Udine

LCAT deficiency: a nephrological diagnosis

A genetic mendelian autosomal recessive condition of deficiency of lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) can produce two different diseases: one highly interesting nephrologic picture of complete enzymatic deficiency (lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency; OMIM ID #245900; FLD), characterized by the association of dyslipidemia, corneal opacities, anemia and progressive nephropathy; and a partial form (fish eye disease; OMIM ID #136120; FED) with dyslipidemia and progressive corneal opacities only. The diagnosis of FLD falls first of all under the competence of nephrologists, because end-stage renal disease appears to be its most severe outcome. The diagnostic suspicion is based on clinical signs (corneal opacities, more severe anemia than expected for the degree of chronic renal failure, progressive proteinuric nephropathy) combined with histology obtained by kidney biopsy (glomerulopathy evolving toward sclerosis with distinctive lipid deposition). However, the final diagnosis, starting with a finding of extremely low levels of HDL-cholesterol, requires collaboration with lipidology Centers that can perform sophisticated investigations unavailable in common laboratories.

To be heterozygous for a mutation of the LCAT gene is one of the monogenic conditions underlying primary hypoalphalipoproteinemia (OMIM ID #604091). This disease, which is characterized by levels of HDL-cholesterol below the 5th percentile of those of the examined population (<28 mg/dL for Italians), has heritability estimates between 40% and 60% and is considered to be a predisposing condition for coronary artery disease. Nevertheless, some monogenic forms, and especially those associated with LCAT deficiency, seem to break the rule, confirming once more the value of a proper diagnosis before drawing prognostic conclusions from a laboratory marker. As in many other rare illnesses, trying to discover all the existing cases will contribute to allow studies broad enough to pave the way for further therapies, in this case also fostering the production by industries of the lacking enzyme by genetic engineering.

Epidemiological studies, although done on selected populations such as hypoalphalipoproteinemia patients on dialysis and with the effective genetic tools of today, have been disappointing in elucidating the disease. Spreading the clinical knowledge of the disease and its diagnostic course among nephrologists seems to be the best choice, and this is the aim of our work.

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Renal Biopsy,
LCAT,
Lipidosis,
Nephropathy

PAROLE CHIAVE:

Biopsia renale,
LCAT,
Lipidosi,
Nefropatia

Indirizzo degli Autori:

Dr. Giuliano Boscutti
SOC di Nefrologia e Dialisi
ASS2 "Isontina"
Ospedale S. Giovanni di Dio
Via Fatebenefratelli 34
34170 Gorizia
e-mail:
giuliano.boscutti@ass2.sanita.fvg.it

INTRODUZIONE

Le malattie rare stimolano necessariamente approcci culturali altrimenti inusuali e contaminazioni tra le diverse culture mediche che spesso possono riflettersi utilmente in nuove visioni anche su problematiche affini ma più largamente diffuse.

La Lecitina-Colesterolo Acyl Transferasi è un enzima circolante legato alle lipoproteine, soprattutto HDL ma anche LDL, prodotto dal fegato e che, catalizzando la reazione di esterificazione del colesterolo libero raccolto dalle cellule periferiche, partecipa al fisiologico processo di trasformazione delle HDL nascenti (secrete dal fegato, di forma discoidale e povere di colesterolo) in HDL "mature" (di forma sferica e con un core di colesterolo esterificato), che trasportano il colesterolo al fegato per essere eliminato, infine, nell'intestino con la bile (1).

Deficit, geneticamente trasmessi secondo uno schema di eredità mendeleiana autosomico recessivo, di questo enzima possono condizionare due differenti quadri patologici (2): un *deficit* completo (sia dell'enzima presente sulle HDL che di quello presente sulle LDL) condiziona il quadro patologico maggiore (*Lecithin:Cholesterol Acyltransferase Deficiency*; OMIM ID 245900; FLD), caratterizzato dall'associazione di dislipidemia, opacità corneale, anemia e nefropatia evolutiva, mentre un deficit enzimatico parziale (solo sulle HDL) condiziona un quadro di dislipidemia e di opacità corneale isolate (*Fish-Eye Disease*; OMIM ID 136120; FED).

La dislipidemia si caratterizza, nei portatori del difetto in doppia dose (omozigoti o doppi eterozigoti), per la presenza di livelli estremamente bassi di HDL-Colesterolo e per una variabile ipertrigliceridemia; i portatori del difetto in dose singola (eterozigoti) presentano livelli di HDL-Colesterolo intermedi tra i malati e la popolazione normale, rientrando spesso nel quinto percentile inferiore della popolazione di riferimento (ipotalipoproteinemia)(2, 4).

È ancora discusso se i pazienti affetti e, ancora di più, gli eterozigoti per questi difetti, pur avendo dei livelli di HDL-Colesterolo ridotti, siano o meno esposti a un aumentato rischio cardiovascolare (5-7). L'enzima LCAT è stato valutato, in effetti, come uno dei potenziali sistemi modulabili a scopo anti-aterosclerotico (8).

I primi studi sulla *Familial LCAT Deficiency* (FLD) avevano già dimostrato come la trasfusione di sangue intero, fornendo l'enzima carente o difettivo, poteva per un periodo di giorni correggere il difetto enzimatico presente nei pazienti (2, 3). La malattia è, pertanto, da sempre candidata a una terapia sostitutiva tramite la somministrazione dell'enzima esogeno.

Identificare i pazienti affetti potrebbe avere, dunque, il significato di favorire lo sviluppo di terapie potenzialmente efficaci nell'evitare l'evoluzione verso l'insufficienza renale terminale.

La presente review ha il significato di attrarre l'attenzione dei Nefrologi su questa patologia facilitandone il percorso diagnostico: infatti, il Nefrologo, insieme all'esperto del metabolismo lipidico, sono i due medici che possono dare il massimo apporto per fare emergere questa patologia, facilitandone, così, anche la terapia.

UNA STORIA SCANDINAVA

Nel 1962, John Glomset descrive la reazione di esterificazione del colesterolo da parte della LCAT e, successivamente, in una serie di articoli, chiarisce il ruolo di questo enzima nel metabolismo delle HDL e nel sistema di trasporto inverso del colesterolo al fegato, unica via della sua eliminazione (9-11).

Nel 1966, viene ricoverata presso il Rikshospitalet di Oslo una donna di 33 anni che presenta un quadro clinico di opacità corneali grigiastre diffuse, anemia, proteinuria e dislipidemia (12).

Lo studio dell'assetto lipidico fa rilevare ipertrigliceridemia e ipercolesterolemia, con il colesterolo presente quasi tutto in forma non esterificata; lo studio elettroforetico mostra l'assenza di pre-beta e alfa lipoproteine. La biopsia renale evidenzia la presenza di cellule a citoplasma schiumoso nei glomeruli. Si dimostra l'assente attività sierica LCAT. Due sorelle della paziente mostrano lo stesso quadro clinico e laboratoristico, indicando una familiarità della forma. È questo l'atto di nascita di una nuova forma patologica, "a new inborn error of metabolism", come scrivono orgogliosamente nel titolo del lavoro Norum e Gjone, che viene indicata come *Familial LCAT Deficiency* (FLD).

A complicare ulteriormente le cose solo pochi anni dopo, nel 1979, Carlson e Philipson descrivono una nuova condizione familiare caratterizzata da massive opacità corneali e da dislipoproteinemia.

I pazienti sono un uomo e le sue tre figlie che, nel villaggio natale, per avere occhi simili a quelli del pesce lessato, vengono indicati come portatori di una "fish-eye disease"(13). I livelli di colesterolo sierico erano normali, mentre era evidente un'ipertrigliceridemia; l'assetto delle lipoproteine era, tuttavia, profondamente alterato per una severa riduzione delle lipoproteine HDL al di sotto del 10% del normale. L'attività LCAT risultava normale o poco ridotta; in realtà era presente un deficit parziale di attività: conservata sulle LDL e assente sulle HDL.

È questa la prima segnalazione di una seconda forma, ancora più rara, di patologia correlata a un deficit LCAT con espressione clinica solo oculare, che indichiamo come *Fish-Eye Disease* (FED).

Per un certo tempo le segnalazioni restavano limitate alle regioni nordiche ma, successivamente, le due patologie venivano segnalate in un numero crescente di Paesi; il primo caso italiano di FLD è stato segnalato

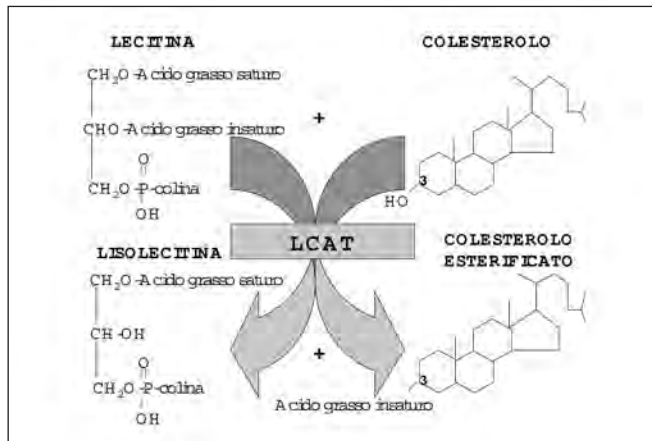


Fig. 1 - La reazione di esterificazione del colesterolo catalizzata da parte dell'enzima LCAT: essa avviene, in realtà, in due tempi; dopo essersi legato a una lipoproteina (HDL o LDL), l'enzima stacca per idrolisi l'acido grasso poliinsaturo in posizione 2 della lecitina o fosfatidilcolina (attività fosfolipasica), legandolo alla propria serina in posizione 181; quindi, l'acido grasso viene trasferito al gruppo 3-β-idrossile sull'anello A del colesterolo (attività acyltransferasica).

da Carlo Vergani nel 1983 (14).

Il gene LCAT è presente sul braccio lungo del cromosoma 16 (16q22.1); le mutazioni descritte sono, in genere, piccole, prevalentemente riguardanti singole basi, e sono "private", non ripetendosi la stessa mutazione in differenti famiglie; a tutt'oggi (HGDM; www.hgmd.cf.ac.uk, ultimo accesso il 06 gennaio 2011) sono descritte 78 mutazioni (59 missense/nonsense).

Solo recentemente sono stati segnalati polimorfismi del gene, di cui uno particolarmente interessante nella popolazione cinese con malattia coronarica e basso HDL-Colesterolo (15).

IL GENE LCAT, LA GLICOPROTEINA, LA REAZIONE ENZIMATICA E IL TRASPORTO INVERSO DEL COLESTEROLO

Il gene LCAT umano è posto sul braccio lungo del

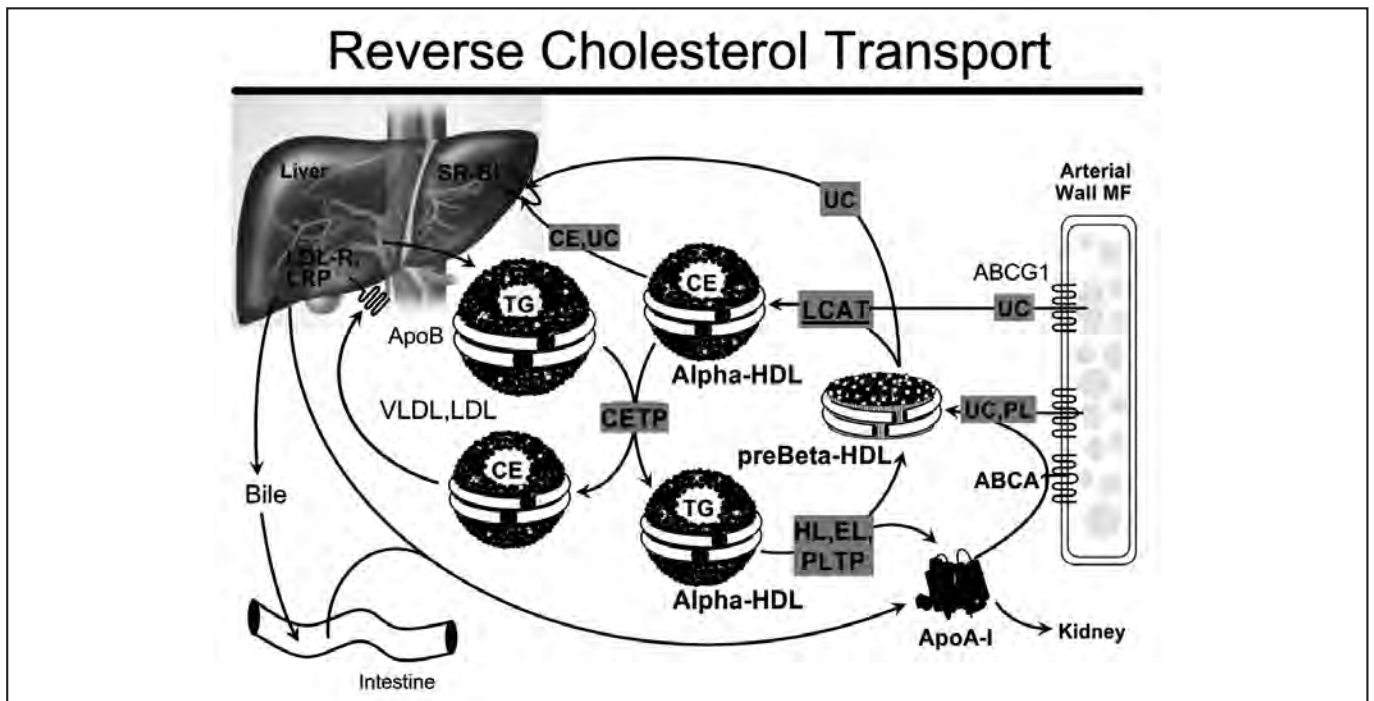


Fig. 2 - Rappresentazione schematica del sistema di trasporto inverso del colesterolo. Numerosi sono gli attori e complessi i passaggi di questo sistema anti-aterogeno di trasporto del colesterolo in eccesso dai tessuti periferici al fegato per la sua eliminazione. L'apolipoproteina A1 (ApoA1) prodotta dal fegato e dall'intestino e il cui catabolismo è renale raccoglie fosfolipidi (PL, tra cui la lecitina o fosfatidilcolina) e colesterolo libero (non-esterificato, UC) dalle cellule delle pareti vasali. Il controllore principale del processo di fuoriuscita dalle cellule periferiche di questi lipidi è l'ATP binding cassette transporter 1 (ABCA1), la cui alterazione genetica provoca la malattia di Tangier. Il legame di ApoA1 con ABCA1 sulla membrana cellulare provoca un efflusso del surplus di fosfolipidi e colesterolo libero cellulare sulla superficie delle HDL. Le pre-β-HDL discoidali native si formano in questo modo oppure dall'idrolisi di particelle ricche di trigliceridi ad opera delle lipasi (Lipasi Epatica, HL, e Lipasi Endoteliale, EL, che catalizzano l'idrolisi dei trigliceridi e dei fosfolipidi). Queste pre-β-HDL, per azione della LCAT, che esterifica il colesterolo libero presente sulla superficie rendendolo idrofobico e inducendone, così, la migrazione nel core delle particelle HDL, si trasformano in α-HDL mature e sferiche, che trasportano il colesterolo al fegato, dove viene selettivamente captato dal recettore epatico SRB1. La Cholesterol Ester Transfer Protein (CETP) trasferisce una parte di questo core di colesterolo esterificato dalle HDL circolanti alle LDL e alle VLDL circolanti, ricche di trigliceridi, in scambio con questi. Il colesterolo che raggiunge il fegato, a sua volta, viene in parte utilizzato per la sintesi delle LDL e delle VLDL, ritornando, così, verso la periferia veicolato da queste, mentre una parte viene trasformata in sali biliari e secreta con la bile; una quota giunge, così, all'eliminazione fecale, ma una quota viene anche riassorbita, rientrando, insieme ai grassi derivati dagli alimenti, nei chilomicroni. La Phospholipid Transfer Protein (PLTP) trasferisce fosfolipidi e colesterolo libero dalle lipoproteine ricche di trigliceridi alle HDL e ridistribuisce i fosfolipidi tra le particelle HDL.

Il sistema è profondamente alterato nell'IRC (47); tentativi di modularne positivamente l'attività potrebbero condurre, in futuro, a nuove terapie per ridurre la progressione delle nefropatie e/o l'incidenza di aterosclerosi.

cromosoma 16 (16q22.1) per una lunghezza di 4.5 kb; contiene 6 esoni e 5 introni per un totale di 1.5 kb di sequenza codificante (1, 8).

L'espressione del gene, principalmente epatica ma anche a livello di testicolo ed encefalo, è relativamente insensibile ai fattori esterni, anche se i fibrati ridurrebbero l'attività LCAT di un 20%, mentre l'atorvastatina la incrementerebbe (8).

La proteina matura contiene 416 aminoacidi e la sua sequenza è piuttosto conservata nelle diverse specie. La massa calcolata sulla base della sequenza aminoacidica è di 47 kDa, mentre la massa della proteina matura risulta essere di 63 kDa, essendo la differenza dovuta principalmente alla presenza di catene glucidiche (>20% della massa) legate a 4 siti di glicosilazione amino-terminali, funzionalmente importanti. La struttura terziaria risente, inoltre, della presenza di due ponti disolfuro tra le cisteine 50-74 e 313-356; il sito enzimatico è stato riconosciuto nella triade aminoacidica Ser181, Asp345 e His377 (8).

La LCAT matura viene secreta nel plasma dove circola legata per il 75% alle lipoproteine HDL che contengono principalmente l'apolipoproteina apoA-I (e che, per questo, sono indicate come α -lipoproteine), che ne è anche il principale attivatore, e, per il restante, alle LDL e ad altre lipoproteine contenenti apoB (β -lipoproteine). L'attività enzimatica LCAT è stata per questo distinta in α - e β -LCAT, a seconda se ci si riferisce all'attività enzimatica sulle HDL o sulle LDL (1, 8).

La reazione enzimatica catalizzata (Fig. 1) avviene in due tempi. Dopo essersi legata a una lipoproteina, la LCAT stacca per idrolisi l'acido grasso poliinsaturo in posizione 2 della fosfatidilcolina (attività fosfolipasica) e lo trasferisce alla serina in posizione 181; quindi, l'acido grasso viene trasferito al gruppo 3- β -idrossile sull'anello A del colesterolo (attività acyltransferasica) (8, 11).

Questa esterificazione rende il colesterolo maggiormente idrofobico e lo fa migrare dalla superficie nel core idrofobico delle HDL, trasformando le HDL native discoidali secrete dal fegato povere di lipidi (pre- β -HDL quanto a motilità elettroforetica) in HDL sferiche (α -HDL), che mediano il trasporto del colesterolo al fegato per la sua eliminazione nella bile nell'ambito di quel sistema di trasporto inverso del colesterolo dalla periferia al fegato (Fig. 2), già ben delineato da Glomset (11, 16). Le cellule periferiche ricevono, in effetti, il loro colesterolo dalle LDL e dalle VLDL e lo restituiscono al fegato attraverso il trasporto mediato dalle HDL; questo colesterolo può essere riciclato in lipoproteine nuovamente secrete nel plasma ma, in parte, viene secreto nella bile come colesterolo libero o come sali biliari. Il colesterolo escreto nella bile, quando non eliminato per questa via, viene riassorbito dall'intestino e secreto insieme a quello di provenienza alimentare nel sistema linfatico, riapparando, quindi, nel plasma come chilomi-

croni i cui *remnants*, contenenti dopo la lipolisi ancora pressoché tutto il colesterolo presente in origine, vengono rapidamente estratti dal fegato (17, 18).

TEST DI VERIFICA

1) Lecithin:Cholesterol Acyltransferase Deficiency è caratterizzata da:

- Dislipidemia, opacità corneale
- Anemia, nefropatia evolutiva
- Anemia, ipercolesterolemia
- A+B
- A+C.

2) La Fish-EyeDisease:

- È un'ittiosi
- È causata da un deficit enzimatico parziale
- È caratterizzata da IRC a insorgenza precoce
- È causa di sindrome nefrosica
- Nessuna delle precedenti.

3) Nella Familial LCAT Deficiency le alterazioni oculari sono:

- Opacità corneale che porta alla cecità
- Opacità corneale presente dall'infanzia e spesso non evidente al paziente
- Cataratta precoce
- Grave miopia con distacco di retina
- Retinopatia proliferante.

IL LABORATORIO

Per lo studio della LCAT, il Laboratorio può fornire diversi parametri utili alla diagnosi, anche se la maggior parte dei laboratori (se non dedicati particolarmente allo studio dei lipidi e delle lipoproteine) può fornire al clinico soltanto dati di sospetto.

Tipicamente i trigliceridi sono elevati, anche se con ampia variabilità anche nello stesso individuo in dosaggi ripetuti, mentre i livelli di colesterolo sono, in genere, normali; i livelli di HDL-Colesterolo sono, tuttavia, sempre severamente ridotti, estremamente nel malato (Tab. I) ma in maniera evidente anche nel portatore eterozigote (4). In effetti, queste condizioni, anche nello stato di portatore eterozigote, si caratterizzano per livelli di HDL-Colesterolo bassi e spesso al di sotto del 5° percentile inferiore della popolazione (<28 mg/dL nella popolazione italiana), entrando, così, nella diagnostica differenziale di quella condizione che viene indicata come ipoalfalipoproteinemia (19).

Se il laboratorio è in grado di dosare la apolipoproteina apoA-I, ApoA-II e ApoB, queste risultano significativamente ridotte (4).

TABELLA I - FAMILIAL LCAT DEFICIENCY: DATI CLINICI E BIOCHIMICI DEI PAZIENTI DELLA CASISTICA FRIULANA AL MOMENTO DELLA DIAGNOSI

	Famiglia 1 Paziente BL	Famiglia 2 Paziente BM	Famiglia 2 Paziente BS	Famiglia 3 Paziente PA	V.N.
Sesso/età (anni)	Femmina/46	Maschio/57	Maschio/70	Maschio/28	
Ipertensione	Sì	Sì	Sì	Sì	
Opacità corneale	Sì	Sì	Sì	Sì	
Aterosclerosi precoce	Diffusa severa	NO	NO	NO	
Creatininemia (mg/dL)	2.3	2.7	In dialisi	1.9	
Proteinuria (g/die)	2	5	-	5	
Emoglobina (g/dL)	11.8	8.2	10.0	11.3	
Colesterolo totale (mg/dL)	316	192	155	216	<200
HDL-Colesterolo (mg/dL)	12	11	2	4	30-90
Trigliceridi (mg/dL)	1470	488	718	293	<150
Colesterolo libero (mg/dL)	193	nd	99	193	-
Col. libero/Col. totale (%)	61	nd	64	89	20-35
C.E.R. (nmol/mL/h)	13	nd	0.0	0.0	30-60
LCAT activity (nmol/mL/h)	nd	nd	0.0	0.0	25-55
LCAT mass (µg/mL)	nd	nd	0.0	0.8	3.1-6.7



Fig. 3 - Tipica opacità corneale. L'addensarsi dei puntolini biancastri alla periferia della cornea simula la presenza di un arco senile. A una valutazione oculistica accurata, il processo interessa diffusamente la cornea aumentando solo di intensità alla periferia, conducendo, di solito, alla diagnosi generica di distrofia corneale.

Laboratori specializzati potranno dosare il colesterolo non esterificato (UC) che, espresso come percentuale del colesterolo totale, risulterà elevato (UC/TC; valore normale <0.28).

Per quanto riguarda l'enzima LCAT, laboratori specializzati potranno dosare la massa con una metodica immunoenzimatica; questa potrà risultare nei diversi pazienti ridotta o assente in dipendenza del difetto genetico.

Inoltre, se ne potrà valutare l'attività utilizzando come substrato le lipoproteine endogene, incubando il plasma stesso del paziente a 37 gradi e misurando

il colesterolo esterificato all'inizio e alla fine del periodo (*Cholesterol Esterification Rate* o CER, espresso in nmol/mL per ora) oppure utilizzando per l'incubazione un substrato lipoproteico esogeno standardizzato in cui incorporare il plasma in esame solo perché fornisca l'enzima presente (LCAT activity, anch'essa espressa in nmol/mL per ora) (4). Dalla valutazione di questi due parametri di attività enzimatica si potrà distinguere tra le forme di *deficit* completo (FLD), in cui entrambe le attività risultano assenti, e le forme di *deficit* parziale (FED) in cui, a fronte dell'assenza di LCAT activity, il *Cholesterol Esterification Rate* risulta conservato (normale o ridotto che sia).

FAMILIAL LCAT DEFICIENCY (FLD), LA CLINICA

Faremo riferimento essenzialmente alla forma maggiore, di interesse nefrologico per la presenza di una nefropatia evolutiva. Basti qui considerare che, nella FED, il segno clinico presente è un deposito corneale progressivo fino all'eventuale necessità di un trapianto corneale in età in genere avanzata associato a una dislipidemia indistinguibile da quella presente nella FLD, se non per quanto già evidenziato nel laboratorio.

L'OPACITÀ CORNEALE

È il segno clinico più costante (4) e suggestivo (Fig.

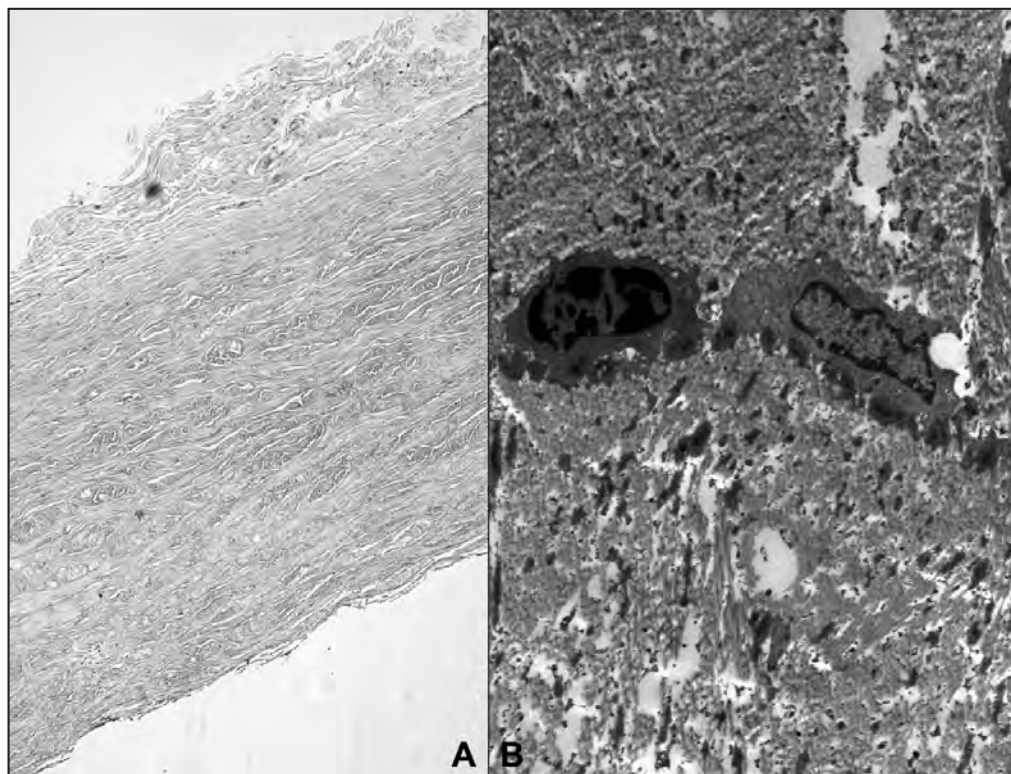


Fig. 4 - Istologia della cornea.
 a) In microscopia ottica (E&E), stroma corneale caratterizzato da fasci disorganizzati di fibrille collagene in cui si osservano alcuni cheratociti dispersi. Non presenti l'epitelio squamoso superficiale con la membrana di Bowman, né l'endotelio con la membrana di Descemet.
 b) In microscopia elettronica, cheratociti interposti tra i fasci collagene; non evidenti depositi lipidici e/o proteici tra le fibre.

3). Tuttavia, non interferendo con la visione, spesso non è evidente al paziente e tende a restare inosservato dall'ambiente circostante e anche dal medico. Si tratta di un elemento presente fin dall'infanzia e progressivo nel tempo. Classicamente, viene descritto come la presenza di fini puntolini grigiastri in tutto lo stroma corneale che, addensandosi alla periferia corneale, simulano un arco senile; se valutati da un oculista, il più delle volte vengono semplicemente ricondotti a una "distrofia corneale" senza caratteristiche di specificità. Quadri simili, tuttavia, possono essere presenti in altre condizioni come le mucopolisaccaridosi e la cistinosi, ma anche in altre dislipidemie con ipoalfalipoproteinemia come la malattia di Tangier (20, 21). I puntolini grigiastri dello stroma corneale sono costituiti da vacuoli del diametro compreso tra 5 e 200 nm, evidenti, peraltro, solo nelle sezioni criostatate e colorate con coloranti specifici per i lipidi oppure in microscopia elettronica, mentre le sezioni fissate e incluse in paraffina non consentono rilievi particolari (20); il quadro è suggestivo di un accumulo lipidico confermato anche dall'aumentato contenuto di fosfolipidi e colesterolo con una riduzione della percentuale di colesterolo esterificato.

L'istopatologia, peraltro, non appare ancora del tutto definita ed è stato segnalato recentemente anche un deposito con le caratteristiche tintoriali dell'amiloide, asso-

ciato a vacuoli contenenti mucopolisaccaridi acidi (22).

Da parte nostra, abbiamo avuto modo di allestire preparati da materiale corneale autoptico che sembrano mostrare solo una certa generica disorganizzazione dei fasci di fibre collagene e dei cheratociti (Fig. 4) senza alcuna evidenza di vacuoli nelle sezioni incluse in paraffina e con negatività per le colorazioni specifiche per l'amiloide.

Nuove tecniche di analisi morfologica della cornea *in vivo* sembrano essere promettenti per un migliore inquadramento della patologia (23) e un monitoraggio della sua evoluzione.

L'ANEMIA

Si tratta di un'anemia normocromica su base emolitica lieve da difetto intrinseco, caratterizzata anche dalla formazione di emazie a bersaglio (*target cells*) in condizioni di bassa tensione di ossigeno; la deformabilità delle emazie nei capillari è ridotta per l'alterazione della composizione della membrana dovuta a un eccesso di contenuto di colesterolo non esterificato (2). Nel midollo sono evidenti cellule schiumose e alla colorazione di Giemsa istiociti blu-mare sono presenti sia nel midollo che nella milza; l'eritropoiesi midollare sarebbe anch'essa ridotta.

Fig. 5 - Lesioni tipiche della nefropatia da deficit di LCAT in microscopia ottica.

- a) Sezione criostatata di glomerulo colorata con Oil Red O: numerose goccioline lipidiche a carico del mesangio e delle pareti capillari.
- b) Sezione istologica di glomerulo colorata con E&E: espansione delle regioni mesangiali e ispessimento delle membrane basali capillari con aspetto cribrato ("moat eaten").
- c) Sezione criostatata di glomerulo in immunofluorescenza diretta: depositi di C3 a livello del mesangio e delle pareti capillari con aspetto a punti staccati.
- d) Sezione istologica di glomerulo colorata con tricromia AFOG: marcato ispessimento delle membrane basali con aspetto cribrato.

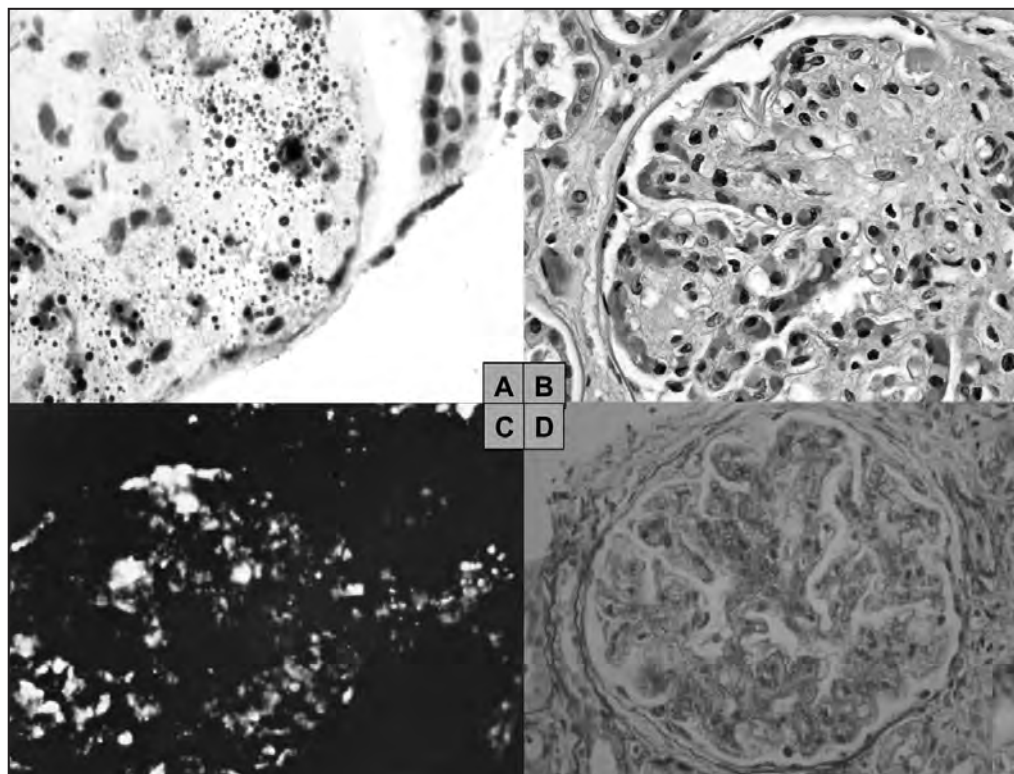
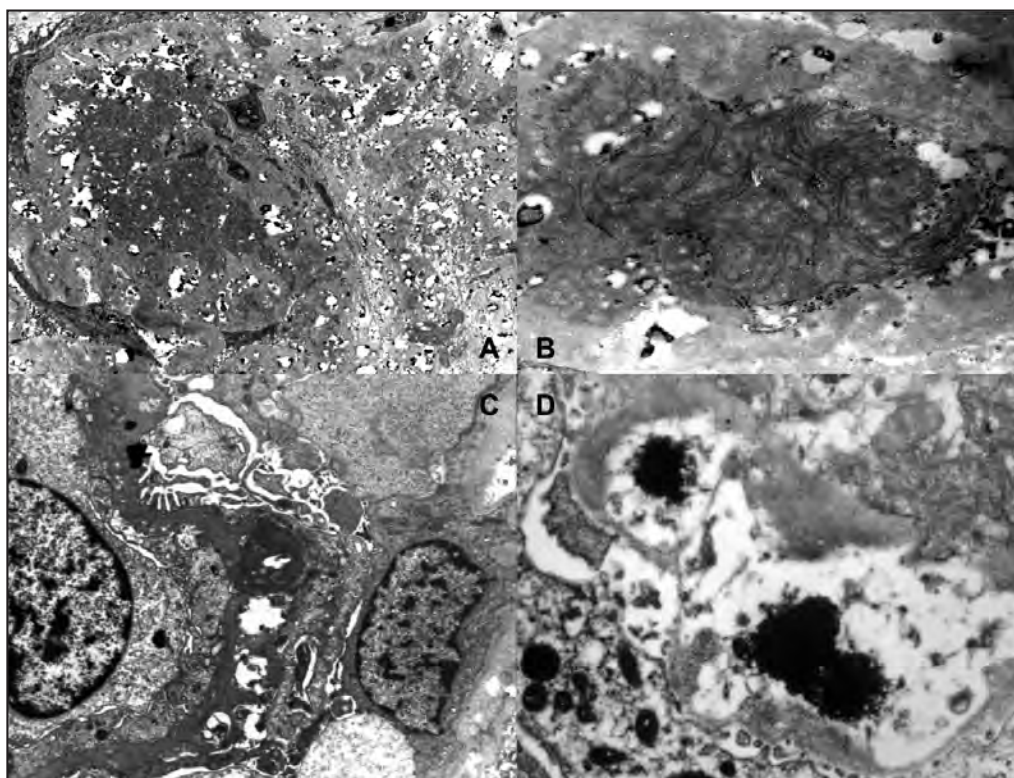


Fig. 6 - Lesioni tipiche della nefropatia da deficit di LCAT in microscopia elettronica.

- a) Espansione della matrice mesangiale con numerosi aloni elettronicamente lucenti contenenti materiale osmiofilo granulare e depositi elettronicamente densi talora strutturati con figure serpiginose fibrillari.
- b) A maggiore ingrandimento, voluminoso deposito elettronicamente denso con figure serpiginose fibrillari contornato da aloncini elettronicamente lucenti.
- c) Membrane basali capillari disomogeneamente ispessite per la presenza di depositi elettronicamente densi e di aloni chiari con materiale osmiofilo lamellare e granulare.
- d) A maggiore ingrandimento, i depositi elettronicamente lucenti con materiale osmiofilo granulare.



LA NEFROPATIA

Si tratta di una nefropatia evidente precocemente già nella 2a o 3a decade di vita ma, inizialmente, oligosintomatica per molti anni con microematuria, proteinuria e cilindruria ialina. Nella 4-5a decade di vita, la proteinuria si incrementa fino a divenire nefrosica insieme alla comparsa di ipertensione arteriosa, spesso severa, e di insufficienza renale cronica (2) evolutiva, fino alla necessità di un trattamento sostitutivo.

L'ISTOPATOLOGIA RENALE

La biopsia renale consente, in genere, un inquadramento diagnostico abbastanza preciso, orientando le indagini successive. Alla microscopia ottica, gli aspetti prevalenti sono quelli di una glomerulopatia a evoluzione sclerotica, caratterizzata da un allargamento del mesangio e da un ispessimento delle membrane basali con microvacuolizzazioni diffuse. Il materiale criostatato colorato con l'*Oil Red O* (colorante elettivo per i lipidi neutri) fa rilevare nelle stesse zone la presenza di depositi lipidici, la cui rimozione nei processi di fissazione e di inclusione spiega la microvacuolizzazione mesangiale e l'aspetto "tarmato" (*moat-eaten*) delle membrane basali (Fig. 5). L'immunofluorescenza può essere del tutto negativa ma il più delle volte, nella nostra esperienza, rivela un deposito di IgM e, soprattutto, di C3 mesangiale e capillare, talora "a cielo stellato" che, segnalato per la prima volta da Imbasciati (24), potrebbe essere il portatore di un'attivazione del complemento da parte dei lipidi depositati e avere un ruolo nella progressione del danno.

Tuttavia, sono gli aspetti in microscopia elettronica che risultano maggiormente evocativi (Fig. 6):

- 1) aloncini e lacune elettron-chiari di dimensioni variabili nel mesangio e a livello delle membrane basali contenenti materiale osmiofilo granuloso o lamellare;
- 2) allargamenti elettron-lucenti subendoteliali e subepiteliali;
- 3) goccioline lipidiche intracitoplasmatiche nelle cellule mesangiali ed endoteliali o anche libere nel mesangio;
- 4) depositi elettron-densi subepiteliali, intramembranosi o subendoteliali di aspetto strutturato per la presenza di strutture fibrillari serpigginose con vaga striatura trasversale.

ALTERAZIONI DELLE LIPOPROTEINE PLASMATICHE, LIPOPROTEINE X E IPOALFALIPOPROTEINEMIA

Al di là della dislipidemia descritta, una valutazione delle classi lipoproteiche plasmatiche fa maggiormen-

te comprendere la profonda alterazione qualitativa, oltre che quantitativa, di tutte le classi di lipoproteine presenti in questi pazienti.

L'elettroforesi su *gel* delle HDL nei pazienti omozigoti o doppi eterozigoti fa rilevare, infatti, l'assenza completa o quasi delle HDL2 e delle HDL3 (forme sferiche mature delle HDL), con un incremento delle pre- β -HDL (forme immature discoidali) (16).

Inoltre, sono presenti nel plasma di questi pazienti, così come in forme severe di ittero colestatico, lipoproteine anomale caratterizzate da un elevato contenuto di colesterolo non esterificato (il 60%) e di fosfatidilcolina (30%); queste, indicate come lipoproteine-X, sono associate alle LDL in un gradiente di densità 1019-1063 g/mL, hanno carica positiva a differenza delle altre lipoproteine e, in microscopia elettronica, appaiono come vescicole delimitate da un doppio strato del diametro di 30-70 nm (25, 26). Le proteine maggiormente rappresentate sono l'albumina nel core idrofobico e le apolipoproteine di classe C ed E sulla superficie. L'iperproduzione di queste lipoproteine deriverebbe dalle VLDL prodotte a livello epatico e dai chilomicroni di origine intestinale che, in assenza di LCAT, risulterebbero in un accumulo di colesterolo libero e fosfolipidi. Alcuni studi hanno sostanzialmente il probabile ruolo delle lipoproteine-X nella formazione dei depositi lipidici renali che preludono all'evoluzione glomerulosclerotica (27, 28), mentre altri studi hanno sottolineato il possibile ruolo dei fosfolipidi ossidati (29) da queste trasportati.

I pazienti omozigoti o doppi eterozigoti per il gene LCAT si caratterizzano per livelli di HDL-Colesterolo plasmatici estremamente bassi; i familiari portatori eterozigoti di questi difetti si caratterizzano anche essi per un livello di HDL-Colesterolo intermedio tra quello dei malati e quello della popolazione normale; sono, cioè, identificabili come ipoalfalipoproteinemie (OMIM ID #604091). Il limite inferiore per rilevare tale anomalia lipidica corrisponde al 5° percentile inferiore per la popolazione in esame che, per la popolazione italiana, corrisponde a <28 mg/dL di HDL-Colesterolo. Le cause di ipoalfalipoproteinemia (19) sono ritenute in buona parte geneticamente determinate, con un'ereditabilità stimata del 40-60%, e possono essere distinte in:

- 1) monogeniche (rare): oltre ai difetti della LCAT rientrano in questo titolo mutazioni del gene dell'apolipoproteina A-I (principale costituente proteico delle HDL) e del gene dell'*ATP binding cassette transporter A1* (ABCA1; esso media l'efflusso dalle cellule del colesterolo e dei fosfolipidi destinati alle HDL); mutazioni di questi tre geni renderebbero conto, nel loro insieme, del 16% dei casi (30);
- 2) poligeniche e multifattoriali (nella maggior parte dei casi), di cui l'esempio più frequente è la cosidd-

detta sindrome metabolica;

- 3) forme puramente ambientali, secondarie: insufficienza epatica, sepsi, malattie emato-oncologiche, malattie infiammatorie intestinali, farmaci e ormoni.

Se è vero che un'ampissima letteratura sostanzia il ruolo dell'ipercolesterolemia e di un aumento essenzialmente del colesterolo veicolato sulle LDL nel favorire il processo aterosclerotico, numerosi sono, tuttavia, anche i lavori che dimostrano un ruolo protettivo del colesterolo HDL, i cui livelli si correlano inversamente con il rischio aterogeno (31, 32). È interessante, tuttavia, segnalare come le forme di ipoalfalipoproteinemia monogeniche appaiano, in parte almeno, sottrarsi alla facile equivalenza tra bassi livelli di HDL-Colesterolo e un aumentato rischio aterosclerotico.

Un primo importante e noto esempio riguarda la variante mutata Apo A-I Milano che, a fronte della presenza di livelli molto ridotti di HDL-Colesterolo, risulta sicuramente protettiva nei pazienti portatori (33).

Il deficit di LCAT si pone, in questo senso, in maniera interlocutoria sia per quanto riguarda i malati che, e questo aspetto è perfino più interessante, per quanto riguarda i portatori eterozigoti che abbiamo visto costituire una parte sostanziale della popolazione ipoalfalipoproteinemica.

I *case reports* sono difficili da valutare da questo punto di vista ma, generalmente, si ritiene che non vi sia un rischio aumentato negli omozigoti (o doppi eterozigoti) né negli eterozigoti. Tuttavia, non mancano sporadiche segnalazioni del contrario in letteratura (34).

In una famiglia canadese (35) 2 omozigoti e 7 eterozigoti sono stati seguiti per oltre 25 anni senza che si verificasse alcun evento cardiovascolare.

Per contro, uno studio olandese che ha utilizzato lo spessore medio-intimale carotideo (IMT) come indice precoce di danno aterosclerotico per confrontare 47 eterozigoti provenienti da 5 famiglie con 58 controlli familiari sani ha mostrato un significativo maggiore spessore a carico degli eterozigoti, suggerendo, così, un danno aterosclerotico più severo in questi (36).

Lo stesso metodo è stato utilizzato in uno studio statunitense su 41 pazienti ipoalfalipoproteinemici di cui una parte era eterozigote per un deficit LCAT, confrontati con 42 controlli sani da cui non emergeva alcuna differenza significativa nell'IMT (37).

Infine, in questo ambito, viene a inserirsi l'ampio studio italiano che ha confrontato 40 soggetti portatori di mutazione LCAT (12 portatori di mutazione in doppia dose e, quindi, affetti e 28 eterozigoti) provenienti da 13 famiglie non correlate distribuite sul territorio nazionale con 80 controlli sani, sempre utilizzando l'IMT come indice precoce di danno aterosclerotico, dimostrando una correlazione inversa tra la condizione di portatore di mutazione LCAT e l'IMT, con i portatori di due alleli mutati favoriti rispetto agli eterozigoti e questi ultimi con un IMT ridotto rispetto alla popolazione normale (38).

TEST DI VERIFICA

4) Nella dislipidemia nella LCAT deficiency:

- HDL-Colesterolo è aumentato, il colesterolo è normale e i trigliceridi sono aumentati
- HDL-Colesterolo è basso (<28 mg/dL), il colesterolo è normale e i trigliceridi sono aumentati
- HDL-Colesterolo è basso (>28 mg/dL e <55 mg/dL) e i trigliceridi sono bassi
- HDL-Colesterolo è basso (<28 mg/dL) e il colesterolo è aumentato
- Tutte le precedenti.

5) Alla biopsia renale di un paziente affetto da LCAT deficiency si dimostra:

- Allargamento del mesangio alla microscopia ottica
- Membrane basali inspessite alla microscopia ottica
- Microvacuolizzazioni diffuse alla microscopia ottica
- Tutte le precedenti
- Nessuna delle precedenti.

6) La microscopia elettronica:

- Non è diagnostica
- Solo raramente è diagnostica
- Spesso è indispensabile alla diagnosi istologica
- Dimostra la fusione dei podociti
- Nessuna delle precedenti.

7) All'elettroforesi su gel delle HDL vi è:

- Assenza di HDL2 e HDL3 e aumento pre-β-HDL
- Aumento di HDL2 e riduzione di HDL3 e pre-β-HDL
- Assenza di HDL2, HDL3 e pre-β-HDL
- Nessuna delle precedenti
- Tutte le precedenti.

TERAPIA

La terapia della nefropatia da deficit di LCAT consta principalmente di quanto oggi disponibile per ritardare l'evoluzione di ogni nefropatia cronica evolutiva (stile di vita, dieta, controllo dell'ipertensione, contenimento della proteinuria, controllo delle complicanze, ecc.); quando è presente una sindrome nefrosica, la sua gestione conservativa porrà ulteriori problemi.

L'efficacia del blocco del sistema renina-angiotensina nel controllo dell'ipertensione, nella riduzione della proteinuria e, probabilmente, nel ritardare la progressione dell'insufficienza renale è sostenuta da un recente articolo (39).

Un altro recente lavoro evidenzia come la terapia

ipolipemizzante combinata con acido nicotinico e fenofibrato induca una riduzione dei livelli circolanti di lipoproteina X, associata, a sua volta, a una riduzione dell'escrezione urinaria di albumina a 12 mesi (40), senza avere un effetto sul livello delle HDL. Gli Autori imputano tale effetto alla riduzione delle VLDL e dei chilomicroni circolanti da parte di questi farmaci, a cui conseguirebbe una riduzione del *pool* dei fosfolipidi disponibili per la formazione di lipoproteine X.

Quando si arriva all'insufficienza renale terminale il trapianto renale è stato ampiamente utilizzato come terapia sostitutiva ottimale; la patologia persiste dopo il trapianto ed è nota la recidiva piuttosto rapida del deposito lipidico renale a cui conseguirebbe un'evoluzione forse anche più rapida rispetto a quanto avviene nel rene nativo (41); ciò, tuttavia, non controindica questa possibilità terapeutica.

Anche se mai effettuato finora, si può ipotizzare che un eventuale trapianto doppio, rene + *split* di fegato (magari come trapianto di fegato parziale ortotopico ausiliario), come avvenuto in altre malattie metaboliche, potrebbe "guarire" la malattia fornendo la fonte endogena dell'enzima.

Il trattamento dialitico può fare ricorso anche alla dialisi peritoneale senza timore che questa, attraverso il carico glucidico, alteri ulteriormente il quadro lipidico (42).

Nonostante fin dalle prime descrizioni del quadro sia apparso chiaramente come la somministrazione in circolo dell'enzima (ottenuta con la trasfusione di sangue) corregga il difetto (43) per un tempo misurabile in alcuni giorni, a distanza di 40 anni da tali segnalazioni e nonostante le conoscenze complete della struttura della LCAT e le tecnologie di cui disponiamo, che certo lo consentirebbero, non abbiamo a disposizione la proteina ricombinante per una terapia sostitutiva potenzialmente salvifica. Questo è essenzialmente dovuto alla rarità della malattia che rende tale farmaco poco interessante per l'industria farmaceutica; tuttavia, forse, il possibile utilizzo farmacologico dell'enzima LCAT come terapia anti-aterogena, come prefigurato da alcuni lavori (8), allargandone l'ambito di utilizzo al di fuori della specifica e rara carenza enzimatica, potrebbe renderne più appetibile la produzione.

Del tutto recentemente, un lavoro di Rousset (44) si cimenta sperimentalmente con successo sulla possibilità di produrre, estrarre e utilizzare un enzima LCAT umano ottenuto con metodica di DNA ricombinante e prodotto da cellule embrionali umane di rene (linea HEK293f) stabili in coltura e transfettate con il plasmide pCMV6-XLA/LCAT, codificante per LCAT cDNA umano. Tale enzima (rLCAT), purificato fino all'omogeneità e infuso per differenti vie di somministrazione (e.v., i.m., s.c.) *in vivo* in diversi modelli di topo *knock-out* per la LCAT, ha dimostrato la possibilità di riportarne alla norma l'assetto lipidico aumentando rapidamente

il colesterolo HDL e riducendo il colesterolo nelle VLDL e nelle Lp-X, e, *in vitro*, di aumentare l'efflusso di colesterolo verso le HDL. L'emivita dell'enzima, almeno in presenza di apolipoproteina A-1 umana, è risultata adeguata all'uso terapeutico (7.39 ± 2.1 ore), anche se più breve di quanto in precedenza ritenuto. Inoltre, cimentato *in vitro* con il plasma di pazienti con FLD, l'enzima ricombinante riconduceva alla norma l'assetto lipoproteico trasformando le lipoproteine anomale fino a riportare la loro mobilità elettroforetica a essere sovrapponibile a quella del soggetto normale.

Gli Autori, sulla base dei risultati di questi esperimenti, si spingono fino a predire che un trattamento settimanale con 10-15 mg dell'enzima LCAT così ottenuto per via sottocutanea o intramuscolare potrebbe essere adeguato a trattare un adulto di medie dimensioni con *Familial LCAT Deficiency* in un regime auto-somministrato (44).

Nell'insieme, sicuramente questi dati confortano ulteriormente la possibilità di utilizzare la LCAT ricombinante per una terapia enzimatica sostitutiva nel deficit di LCAT, ma, naturalmente, molto resta ancora da fare prima di un suo utilizzo clinico nell'uomo.

LA CASISTICA FRIULANA DI *FAMILIAL LCAT DEFICIENCY* E LO STUDIO EPIDEMIOLOGICO SULLA POPOLAZIONE DIALITICA DEL FRIULI-VENEZIA GIULIA

La provincia di Udine, parte della Regione autonoma Friuli-Venezia Giulia, si estende per 4905 Km², dalle Alpi al mare Adriatico, con una popolazione di 541000 abitanti; risulta suddivisa in 136 Comuni, tutti di piccole dimensioni (<15000 abitanti), a parte il capoluogo che, comunque, non raggiunge i 100000 abitanti e con una popolazione dispersa, avendo una densità abitativa di 110 abitanti/Km². Pur avendo avuto, nei secoli scorsi, importanti fenomeni migratori in uscita (per cui il numero dei friulani nel mondo supera quello dei residenti nella Regione), la mobilità interna è sempre stata modesta e i flussi immigratori sono un fenomeno recente.

Negli anni '90, con questo territorio come bacino di riferimento, presso la Nefrologia di Udine è stata posta la diagnosi di nefropatia da *deficit* di LCAT in 4 pazienti provenienti da 3 diverse famiglie autoctone non correlate (3, 45); non risultano casi in altri Centri della Regione.

La prima paziente venuta all'osservazione del Centro udinese era una donna; già all'età di 29 anni rilievo di ipertrigliceridemia, ipercolesterolemia e ipertensione arteriosa e, da allora, in terapia. A 45 anni episodio di angina da sforzo; gli esami effettuati facevano rilevare la presenza di proteinuria (1.4 g/die) e di insufficienza renale (creatininemia 2.3 mg/dL), con reni ecografica-

mente di dimensioni ridotte (diametro massimo 8.2 cm a sx e 8.3 cm a dx). Un esame angiografico evidenziava ateromasia aortica diffusa estesa anche alle arterie renali con stenosi all'origine e dilatazione post-stenotica dell'arteria renale sinistra. Una biopsia renale chirurgica veniva effettuata in corso di intervento di rivascularizzazione renale sinistra e deponiva per un quadro di lipidosi suggestivo per LCAT deficiency. Era riferito che un'opacità corneale era presente fin dall'infanzia e il quadro lipidico era tipico (Tab. I; Famiglia 1 Paziente BL). La diagnosi venne confermata dal gruppo di Vergani, che approfondì lo studio lipidico e dosò l'attività enzimatica. Nel successivo *follow-up* si assistette a un incremento della proteinuria fino al *range* nefrosico (4.4 g/die) e dei valori di creatinemia (3.36 mg/dL). La paziente decedette a domicilio per morte improvvisa a circa tre anni dalla prima osservazione. Non fu effettuato uno studio genetico accurato. Questa paziente appare come uno di quei casi di *deficit* di LCAT in cui sembra di poter rilevare un danno aterosclerotico precoce e accelerato.

Le due famiglie successive sono state invece accuratamente studiate dal punto di vista genetico e i pazienti sono risultati omozigoti per il proprio difetto. Abbiamo, dunque, descritto due nuovi difetti del gene LCAT, mai segnalati in precedenza (45):

- 1) esone 1 del gene; c.31delG; G867deletion; Stop-14; la delezione di una guanina nel "peptide segnale" induce la formazione di un *codon* di stop TGA con conseguente precocissimo arresto della sintesi. L'enzima è conseguentemente assente nel plasma, così come le sue attività;
- 2) esone 6 del gene; c.893 (g.3766) C>T; la sostituzione di una citosina con una timina trasforma il *codon* per la treonina (ACA) in posizione 274 della molecola enzimatica nel *codon* per l'isoleucina (ATA). Questa treonina 274 risulta altamente conservata nelle diverse specie e la sua posizione è molto vicina al sito di glicosilazione *N-linked* in posizione 272, che è noto per avere un significato funzionale. In effetti, nel probando, il livello sierico di LCAT è risultato estremamente basso e la sua attività è risultata completamente assente.

Essendo i genitori dei pazienti apparentemente non correlati, si deve pensare a un progenitore comune ancestrale, che non è stato possibile identificare, e diverso per i due *pedigree*.

I pazienti di queste due famiglie non sembrano avere un danno aterosclerotico precoce o, comunque, evidente (Tab. I); i pazienti e i loro familiari portatori eterozigoti del difetto sono confluiti nello studio italiano, che ha indagato questi aspetti (38) e dal quale è emersa una correlazione inversa tra spessore medio-intimale carotideo e stati di portatore in dose singola (eterozigote) o, ancora di più, in dose doppia (malato) di difetti del gene LCAT.

Nel tentativo di chiarire l'epidemiologia del *deficit* di

LCAT in Friuli-Venezia Giulia abbiamo, allora, recentemente (46) studiato a tappeto l'intera popolazione dialitica di questa Regione per far emergere eventuali altri casi che fossero passati indagnosticati. Tutti i Centri nefrologico-dialitici della Regione hanno partecipato allo studio; su un totale di 905 pazienti in trattamento dialitico (emodialisi e dialisi peritoneale), abbiamo selezionato i pazienti che, ai controlli routinari programmati dei singoli Centri, avevano un HDL-Colesterolo <28 mg/dL (5° percentile per la popolazione italiana). Abbiamo, così, estratto 61 pazienti (6.7%; 48 maschi e 13 femmine); in tutti, abbiamo sequenziato il gene LCAT trovando soltanto un paziente, in trattamento sostitutivo per una glomerulonefrite a depositi mesangiali di IgA istologicamente dimostrata, eterozigote per una mutazione mai descritta prima (esone 6 del gene; c1289 C>T; P406L) e, quindi, diversa anche dalle nostre precedenti. La malattia, dunque, si conferma rara anche in Friuli-Venezia Giulia.

CONCLUSIONI

Dai dati disponibili del 2008 del Registro Italiano di Dialisi e Trapianto, si ricava che il 22% dei pazienti incidenti non ha una diagnosi nefrologica; nel Registro Regionale di Dialisi e Trapianto Friuli-Venezia Giulia, nei dati del 2007 disponibili sul sito della SIN, i pazienti incidenti senza una diagnosi sono pari al 15% circa. È evidente che vi è la necessità di migliorare in genere la capacità diagnostica nefrologica, in quanto fare una diagnosi specialistica approfondita dovrebbe essere un valore in sé, di conoscenza quanto meno, ma, in prospettiva, anche un presupposto a cure più mirate e, quindi, migliori.

Per quanto riguarda le patologie rare in genere e la *Familial LCAT deficiency* in particolare, in questo contesto far emergere tutti i casi presenti ha il significato di avere casistiche sufficienti per studi e anche per stimolare la ricerca di nuovi farmaci e il conseguente investimento industriale.

I progressi dell'analisi genetica degli ultimi 15 anni hanno enormemente facilitato questo tipo di approccio; tuttavia, anche tentativi di studi epidemiologici scegliendo gruppi selezionati come quello da noi effettuato sulla popolazione dialitica del Friuli-Venezia Giulia mostrano importanti limiti (di costo, di carico di lavoro) rispetto a risultati modesti. Malgrado ciò, ancora una volta, appare comunque importante riconoscere i difetti del gene LCAT anche negli eterozigoti, per il significato che questa condizione presenta nelle ipofalipoproteinemie, condizione aterogena se presa nel suo insieme, ma variegata nel significato quando se ne distingue l'eziopatogenesi.

Allora, su questo sfondo, sembra necessario rivalutare ancora l'approccio clinico, diffondendo tra i Nefro-

logi la conoscenza di questa patologia, del percorso diagnostico necessario e della possibilità di ottenere dai Centri Specialistici quanto necessario per una cura e approfondita diagnosi.

TEST DI VERIFICA

8) La terapia della nefropatia da deficit di LCAT:

- È volta a ritardare l'evoluzione della nefropatia
- Non vi sono evidenze che il blocco del sistema renina angiotensina sia efficace
- La terapia ipolipemizzante è inefficace
- Il trapianto è controindicato per le recidive rapide
- È basata sulle trasfusioni di sangue.

9) La terapia eziologica della nefropatia nella LCAT deficiency in futuro potrebbe basarsi su:

- Immunosoppressori
- Somministrazione esogena dell'enzima prodotto con DNA ricombinante
- Trapianto di fegato
- A+B
- B+C.

10) Quale delle seguenti appare la migliore strategia per far emergere tutti i casi di nefropatia in corso di LCAT deficiency?

- Estendere le indicazioni alla biopsia renale
- Estendere a tutti i laboratori il dosaggio dell'attività dell'enzima LCAT
- Conoscere le manifestazioni cliniche e di laboratorio del deficit enzimatico
- Programmi di screening genetico in tutti i Centri Nefrologici
- Produrre nuovi metodi di laboratorio per il dosaggio dell'enzima.

RIASSUNTO

Una condizione genetica mendeleiana autosomica recessiva di deficit dell'enzima Lecitina-Colesterolo Acyl Transferasi può dare origine a due diversi quadri patologici: un quadro di maggiore interesse nefrologico di deficit enzimatico completo (Lecithin:Cholesterol Acyltransferase

Deficiency; OMIM ID #245900; FLD), caratterizzato dall'associazione di dislipidemia, opacità corneale, anemia e nefropatia evolutiva, e un quadro di deficit parziale (Fish-Eye Disease; OMIM ID #136120; FED), con presenza di sole dislipidemia e opacità corneale progressiva.

La diagnostica della FLD è, in primis, di competenza nefrologica, essendo l'insufficienza renale cronica terminale la sua più severa conseguenza. Il sospetto diagnostico si basa sulla clinica (opacità corneale, anemia sproporzionata al grado di IRC, dislipidemia, nefropatia proteinurica evolutiva) corroborata dai dati istologici ricavati dalla biopsia renale (glomerulopatia a evoluzione sclerotica con deposito lipidico caratteristico); tuttavia, la diagnosi di certezza, partendo dal dato di livelli estremamente bassi di HDL-Colesterolo, richiede poi la collaborazione di Centri per lo studio dei lipidi in grado di eseguire una diagnostica raffinata, di solito non disponibile nei comuni Laboratori.

La condizione di portatore eterozigote di mutazione del gene LCAT è una delle condizioni monogeniche che sottendono il quadro di ipoalfalipoproteinemia primitiva (OMIM ID #604091); questa, caratterizzata da livelli di HDL-Colesterolo <5° percentile della popolazione in esame (<28 mg/dL nella popolazione italiana), ha una componente ereditaria stimata tra il 40 e il 60% ed è considerata una condizione predisponente alla malattia coronarica. Tuttavia, proprio alcune forme monogeniche, e tra queste quella associata al deficit di LCAT, sembrano sfuggire alla regola generale, confermando ancora una volta l'importanza di una diagnostica precisa, prima di trarre indicazioni prognostiche generali a partire da un marker laboratoristico.

Come per molte altre patologie rare, cercare di diagnosticare tutti i casi presenti è propedeutico a consentire studi sufficientemente ampi che aprano la strada a nuove terapie, in questo caso anche favorendo, da parte dell'industria, la produzione con metodiche di ingegneria genetica dell'enzima carente.

Gli studi epidemiologici anche su popolazioni selezionate come quella dialitica con ipoalfalipoproteinemia, utilizzando i mezzi sempre più efficaci messi a disposizione dai progressi della genetica, sono stati piuttosto deludenti nel far emergere la patologia.

Diffondere la conoscenza clinica di questa malattia e del suo percorso diagnostico tra i Nefrologi appare, pertanto, l'approccio migliore, e a ciò si dedica questo lavoro.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J, Frohlich J, Assmann G, Kastelein J. The molecular pathology of lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency syndromes. *J Lipid Res* 1997; 38 (2): 191-205.
2. Norum KR, Gjone E, Glomset JA. Familial Lecithin:Cholesterol Acyltransferase deficiency, including fish eye disease. In: *Metabolic bases of inherited diseases*. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS and Valle D, editors. Mc Graw-Hill, New York 1989; 1181-94.
3. Norum KR, Gjone E. The effect of plasma transfusion on the plasma cholesterol esters in patients with familial plasma lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency. *Scand J Clin Lab Invest* 1968; 22 (4): 339-42.
4. Calabresi L, Pisciotta L, Costantin A, et al. The molecular basis of lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency syndromes: a comprehensive study of molecular and biochemical findings in 13 unrelated Italian families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25 (9): 1972-8.
5. Ayyobi AF, McGladdery SH, Chan S, John Mancini GB, Hill JS, Frohlich JJ. Lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency and risk of vascular disease: 25 year follow-up. *Atherosclerosis* 2004; 177 (2): 361-6.
6. Hovingh GK, Hutten BA, Holleboom AG, et al. Compromised LCAT function is associated with increased atherosclerosis. *Circulation* 2005; 112 (6): 879-84.
7. Miller M., Rhyne J, Hong SH, Friel G, Dolinar C, Riley W. Do mutations causing low HDL-C promote increased carotid intima-media thickness? *Clin Chim Acta* 2007; 377 (1-2): 273-5.
8. Rousset X, Vaisman B, Amar M, Sethi AA, Remaley AT. Lecithin: cholesterol acyltransferase—from biochemistry to role in cardiovascular disease. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2009; 16 (2): 163-71.
9. Glomset JA. The mechanism of the plasma cholesterol esterification reaction: plasma fatty acid transferase. *Biochim Biophys Acta* 1962; 65: 128-35.
10. Glomset JA, Janssen ET, Kennedy R, Dobbins J. Role of plasma lecithin:cholesterol acyltransferase in the metabolism of high density lipoproteins. *J Lipid Res* 1966; 7 (5): 638-48.
11. Glomset JA. The plasma lecithins:cholesterol acyltransferase reaction. *J Lipid Res* 1968; 9 (2): 155-67.
12. Norum KR, Gjone E. Familial plasma lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency. Biochemical study of a new in-born error of metabolism. *Scand J Clin Lab Invest* 1967; 20: 231-43.
13. Carlson LA, Philipson B. Fish-eye disease. A new familial condition with massive corneal opacities and dyslipoproteinaemia. *Lancet* 1979; 2 (8149): 922-4.
14. Vergani C, Catapano AL, Roma P, Giudici G. A new case of familial LCAT deficiency. *Acta Med Scand* 1983; 214 (2): 173-6.
15. Zhang K, Zhang S, Zheng K, et al. Novel P143L polymorphism of the LCAT gene is associated with dyslipidemia in Chinese patients who have coronary atherosclerotic heart disease. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 318 (1): 4-10.
16. Asztalos BF, Schaefer EJ, Horvath KV, et al. Role of LCAT in HDL remodeling: investigation of LCAT deficiency states. *J Lipid Res* 2007; 48 (3): 592-9.
17. Fielding CJ, Fielding PE. Molecular physiology of reverse cholesterol transport. *J Lipid Res* 1995; 36 (2): 211-28.
18. Hill SA, McQueen MJ. Reverse cholesterol transport—a review of the process and its clinical implications. *Clin Biochem* 1997; 30 (7): 517-25.
19. von Eckardstein A. Differential diagnosis of familial high density lipoprotein deficiency syndromes. *Atherosclerosis* 2006; 186 (2): 231-9.
20. Winder AF, Garner A, Sheridah GA, Barry P. Familial lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency. *Biochemistry of the cornea*. *J Lipid Res* 1985; 26 (3): 283-7.
21. Melles GR, de Séra JP, Eggink CA, Cruysberg JR, Binder PS. Bilateral, anterior stromal ring opacity of the cornea. *Br J Ophthalmol* 1998; 82 (5): 522-5.
22. Viestenz A, Schlötzer-Schrehardt U, Hofmann-Rummelt C, Seitz B, Kuchle M. Histopathology of corneal changes in lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency. *Cornea* 2002; 21 (8): 834-7.
23. Palmiero PM, Sbeity Z, Liebmann J, Ritch R. In vivo imaging of the cornea in a patient with lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency. *Cornea* 2009; 28 (9): 1061-4.
24. Imbasciati E, Paties C, Scarpioni L, Mihatsch MJ. Renal lesions in familial lecithin-cholesterol acyltransferase deficiency. Ultrastructural heterogeneity of glomerular changes. *Am J Nephrol* 1986; 6 (1): 66-70.
25. Forte T, Norum KR, Glomset JA, Nichols AV. Plasma lipoproteins in familial lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency: structure of low and high density lipoproteins as revealed by electron microscopy. *J Clin Invest* 1971; 50 (5): 1141-8.
26. O K, Frohlich J. Role of lecithin:cholesterol acyltransferase and apolipoprotein A-I in cholesterol esterification in lipoprotein-X in vitro. *J Lipid Res* 1995; 36 (11): 2344-54.
27. O K, Ly M, Fang DZ, Frohlich J, Choy PC. Effect of lipoprotein-X on lipid metabolism in rat kidney. *Mol Cell Biochem* 1997; 173 (1-2): 17-24.
28. Lynn EG, Choy PC, Magil A, O K. Uptake and metabolism of lipoprotein-X in mesangial cells. *Mol Cell Biochem* 1997; 175 (1-2): 187-94.
29. Jimi S, Uesugi N, Saku K, et al. Possible induction of renal dysfunction in patients with lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency by oxidized phosphatidylcholine in glomeruli. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19 (3): 794-801.
30. Cohen JC, Kiss RS, Pertsemlidis A, Marcel YL, McPherson R, Hobbs HH. Multiple rare alleles contribute to low plasma levels of HDL cholesterol. *Science* 2004; 305 (5685): 869-72.
31. Gotto AM Jr, Brinton EA. Assessing low levels of high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor in coronary heart disease: a working group report and update. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43 (5): 717-24.
32. Emerging Risk Factors Collaboration, Di Angelantonio E, Sarwar N, et al. Major lipids, apolipoproteins and risk of vascular disease. *JAMA* 2009; 302 (18): 1993-2000.
33. Sirtori CR, Calabresi L, Franceschini G, et al. Cardiovascular status of carriers of the apolipoprotein A-I(Milano) mutant: the Limone sul Garda study. *Circulation* 2001; 103 (15): 1949-54.
34. Scarpioni R, Paties C, Bergonzi G. Dramatic atherosclerotic vascular burden in a patient with familial lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23 (3): 1074.
35. Ayyobi AF, McGladdery SH, Chan S, John Mancini GB, Hill JS, Frohlich JJ. Lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency and risk of vascular disease: 25 years follow-up. *Atherosclerosis* 2004; 177 (2): 361-6.
36. Hovingh GK, Hutten BA, Holleboom AG, et al. Compromised LCAT function is associated with increased atherosclerosis. *Circulation* 2005; 112 (6): 879-84.
37. Miller M, Rhyne J, Hong SH, Friel G, Dolinar C, Riley W. Do mutations causing low HDL-C promote increased carotid intima-media thickness? *Clin Chim Acta* 2007; 377 (1-2): 273-5.
38. Calabresi L, Baldassarre D, Castelnuovo S, et al. Functional Lecithin: Cholesterol Acyltransferase Is Not Required for Efficient Atheroprotection in Humans. *Circulation* 2009.
39. Aranda P, Valdivielso P, Pisciotta L, et al. Therapeutic management of a new case of LCAT deficiency with a multifactorial long-term approach based on high doses of angiotensin II receptor blockers (ARBs). *Clin Nephrol* 2008; 69 (3): 213-8.
40. Yee MS, Pavitt DV, Richmond W, et al. Changes in lipopro-

- tein profile and urinary albumin excretion in familial LCAT deficiency with lipid lowering therapy. *Atherosclerosis* 2009; 205 (2): 528-32.
41. Panescu V, Grignon Y, Hestin D, et al. Recurrence of lecithin cholesterol acyltransferase deficiency after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12 (11): 2430-2.
 42. Weber CL, Frohlich J, Wang J, Hegele RA, Chan-Yan C. Stability of lipids on peritoneal dialysis in a patient with familial LCAT deficiency. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (7): 2084-8.
 43. Norum KR, Gjone E. The effect of plasma transfusion on the plasma cholesterol esters in patients with familial plasma lecithin: cholesterol acyltransferase deficiency. *Scand J Clin Lab Invest* 1968; 22 (4): 339-42.
 44. Rousset X, Vaisman B, Auerbach B, et al. Effect of recombinant human lecithin cholesterol acyltransferase infusion on lipoprotein metabolism in mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2010; 335 (1): 140-8.
 45. Boscutti G, Pizzolitto S, Bertolini S, et al. LCAT-Deficiency: two novel gene mutations. (abs) *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: A61.
 46. Boscutti G, Calabresi L, Boer E, et al. Screening for Lecithin-Cholesterol Acyl Transferase (LCAT) gene Mutations in Dialysis patients: an Epidemiological study. (abs) *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 432A.
 47. Vaziri ND, Navab M, Fogelman AM. HDL metabolism and activity in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2010; 6 (5): 287-96.