

**LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA**

*dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia*

LE MALATTIE NEUROMETABOLICHE SONO MALATTIE RARE/ORFANE

La loro diagnosi è complessa sul piano:

- clinico
- neuroradiologico
- biochimico
- genetico-molecolare
- neuropatologico

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La diagnosi è stata affidata per lungo tempo alla competenza del neuropatologo e confinata nei laboratori di neuropatologia

Molte malattie neurometaboliche sono ancora oggi identificate con il(i) nome(i) di chi le ha descritte la prima volta

Leigh, Alexander, Seitelberger, Canavan-van Bogaert, Pelizaeus-Merzbacher.....

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

Ruolo di:
Neuro-biochimica
Neurogenetica

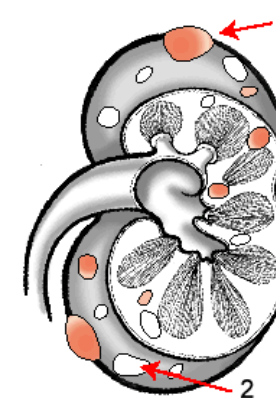


Correlazioni genotipo-fenotipo

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

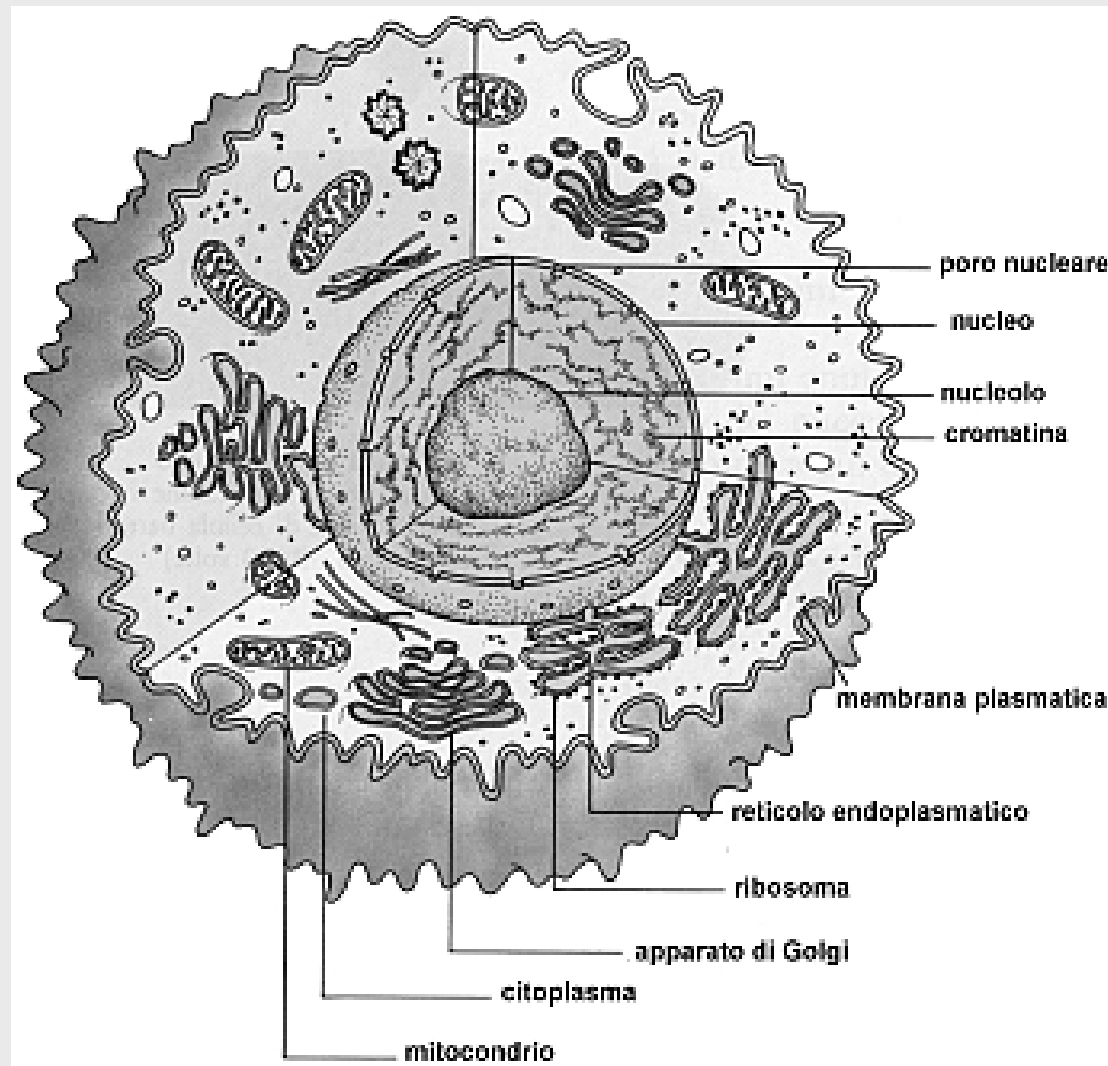
*dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia*

RITARDO MENTALE
ALTERAZIONE TONO MUSCOLARE
SPASTICITA'
PARALISI NERVI CRANICI
ALTERAZIONE COSCIENZA
EPILESSIA
MICRO-MACROCEFALIA
NEUROPATIA
ATROFIA OTTICA,RETINOPATIA
CUTE
CAPELLI
FACIES
DISPLASIE OSSEE
DIFETTO CRESCITA
CARDIOMEGALIA
ENDOCRINOPATIA
EPATOSPLENOMEGALIA
CISTI,INSUFFICIENZA RENALE



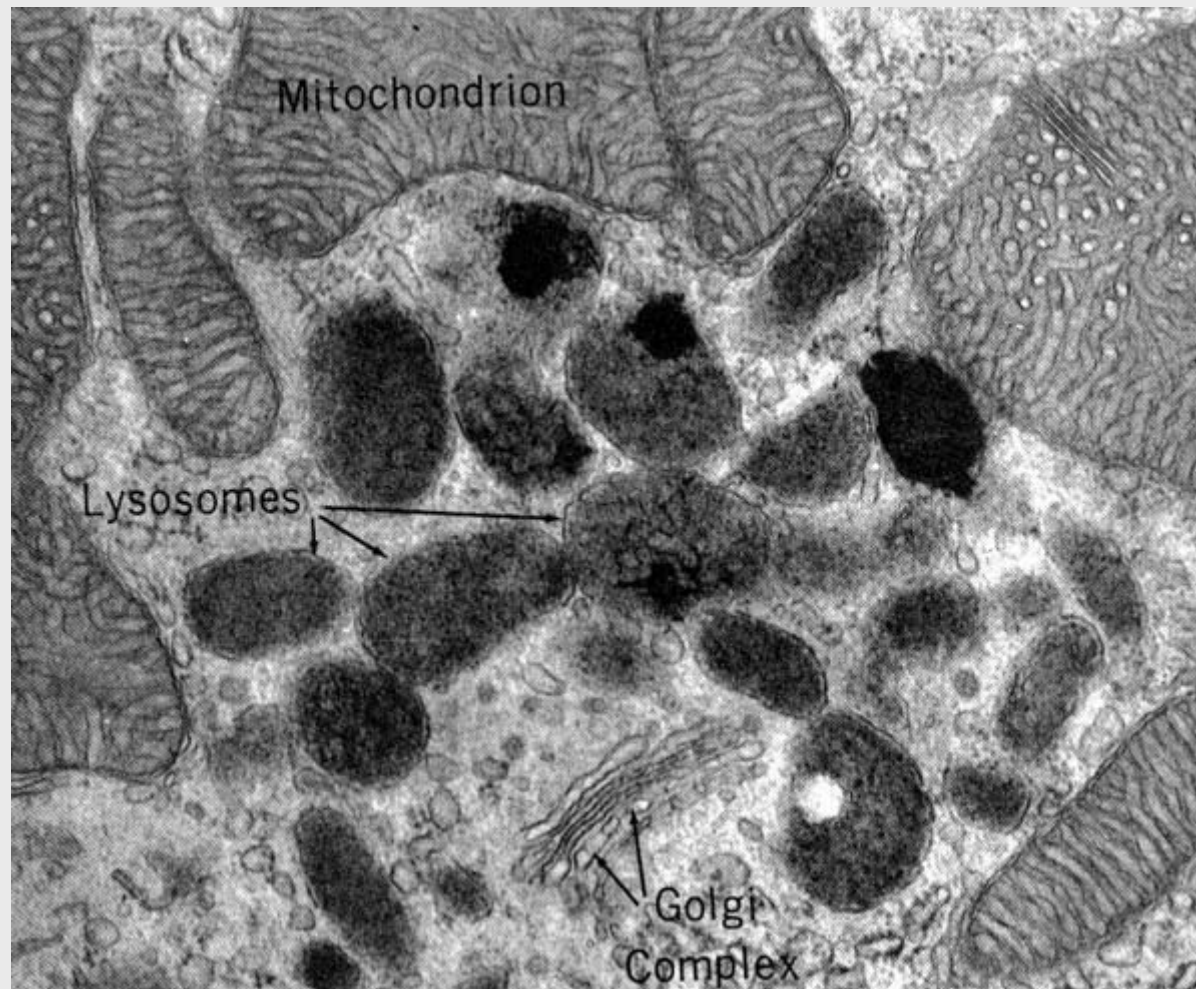
LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia



**LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA**

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

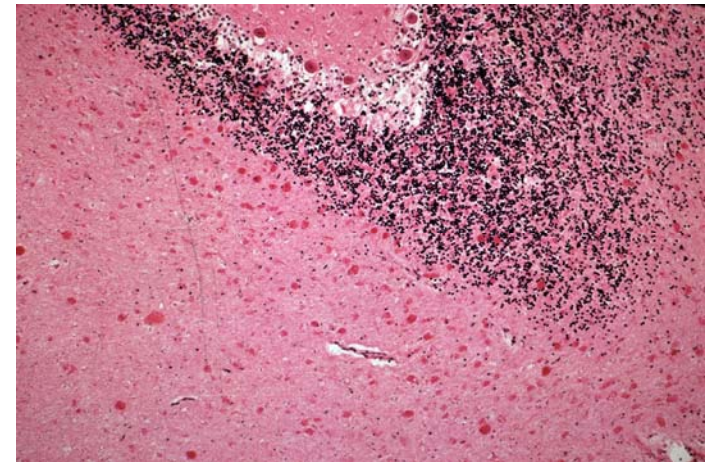
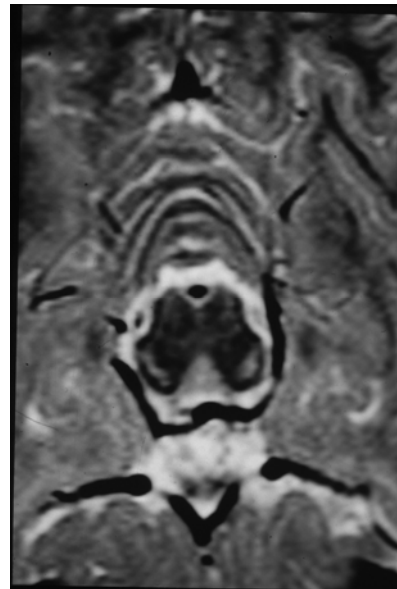
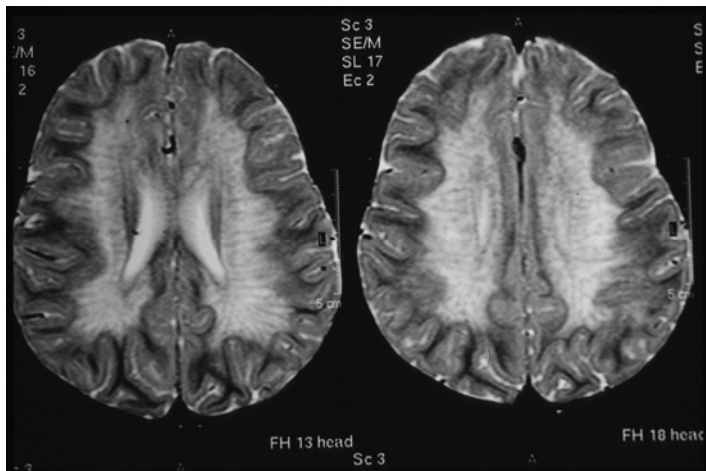
Esempi di malattia lisosomiale
Leucodistrofia metacromatica – MLD

DIAGNOSI CLINICA: regressione, demenza, spasticità, neuropatia progressiva, epilessia polimorfa, cecità, iperproteinorrachia, VCN, MRI

DIAGNOSI ENZIMATICA (leucociti, fibroblasti): arilsulfatasi A o cerebroside sulfatasi

DIAGNOSI GENICA-MOLECOLARE: 22q13 (mutazione)

DIAGNOSI NEUROPATOLOGICA: accumulo di sulfatide nella microglia



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

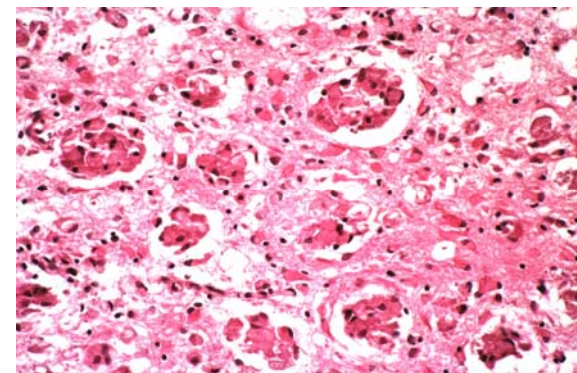
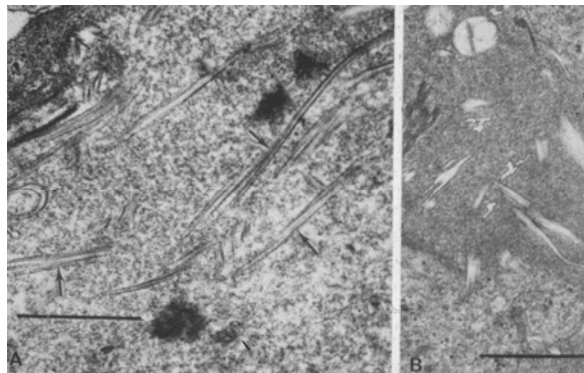
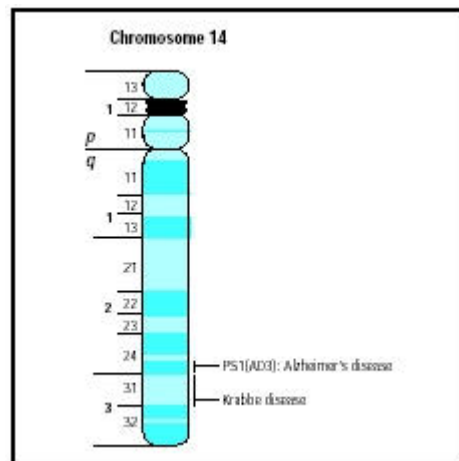
Esempi di malattia lisosomiale Leucodistrofia globoide - Krabbe

DIAGNOSI CLINICA : irritabilità nei primi mesi, spasmi tonici, opistotono, regressione, atrofia ottica, spasticità, epilessia, neuropatia, iperproteinorrachia, VCN, TAC e MRI (calcificazioni simmetriche paraventricolari)

DIAGNOSI ENZIMATICA (*leucociti, fibroblasti*) : beta-galattocerebrosidasi – accumulo di galattosilpsicosina nel CSF, tossica per oligodendrociti e cellula di Schwann

DIAGNOSI GENICA-MOLECOLARE : 14q31 (molte mutazioni)

DIAGNOSI NEUROPATOLOGICA : demielinizzazione – la microglia ingloba i detriti e diventa globoide



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

Esempi di malattia lisosomiale

Leucodistrofia spongiosa di Alexander

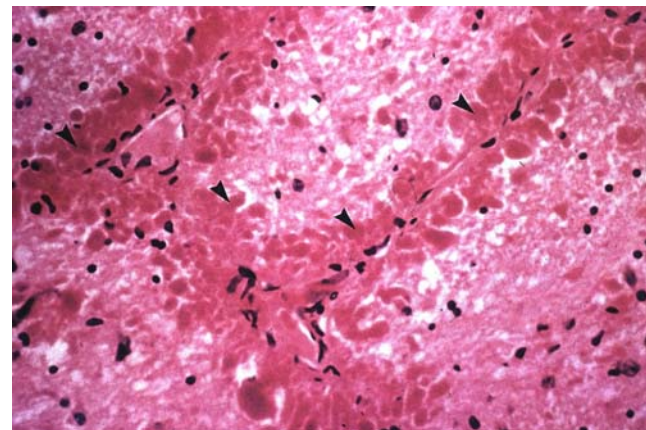
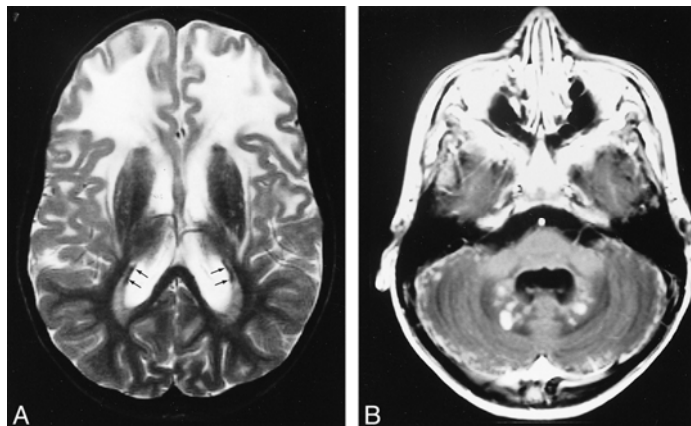
DIAGNOSI CLINICA : epilessia precoce, compromissione piramidale, extrapiramidale, cerebellare e del tronco cerebrale, ritardo globale, MACROCEFALIA

DIAGNOSI BIOCHIMICA : GFAP nel liquor (?)

DIAGNOSI GENICA-MOLECOLARE : 17q21 locus GFAP

DIAGNOSI NEUROPATOLOGICA : demielinizzazione, gradiente rostro-caudale, fibre di ROSENTHAL = astrociti degenerati (alfa-Bcristallino, GFAP, HSP27)

GFAP forma un filamento intermedio, iperespresso per la mutazione = fibre di Rosenthal e gain of function



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

Esempi di malattia lisosomiale **DISTROFIA NEUROASSONALE DI SEITELBERGER**

DIAGNOSI CLINICA : regressione dopo il primo anno, ipotonia, paraplegia>>tetraplegia, atrofia ottica, ipoestesia estremità, neuropatia assonale (VCN normale), MRI, ENG

DIAGNOSI BIOCHIMICA-ENZIMATICA : accumulo di ubiquitina e proteine ubiquitinate negli sferoidi

DIAGNOSI GENICA-MOLECOLARE : gene PLA2G6 (omeostasi membrane assonali)

DIAGNOSI NEUROPATOLOGICA : sferoidi in tutto il cervello



Esempi di malattia lisosomiale

Degenerazione spongiosa di Canavan-van Bogaert

DIAGNOSI CLINICA: esordio prime settimane, regressione, macrocefalia, irritabilità, ipotonia >> spasticità, epilessia, nistagmo >> cecità, atassia, MRI, MRS

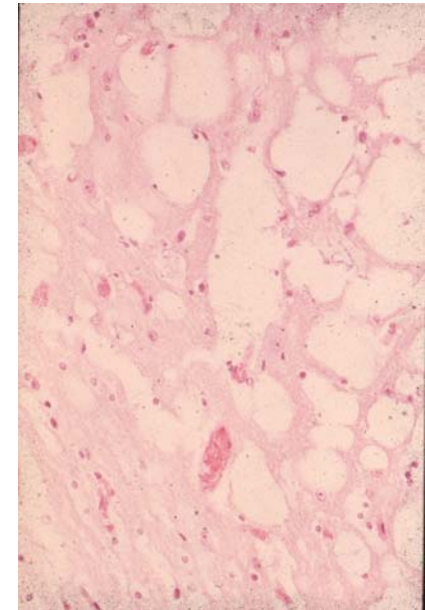
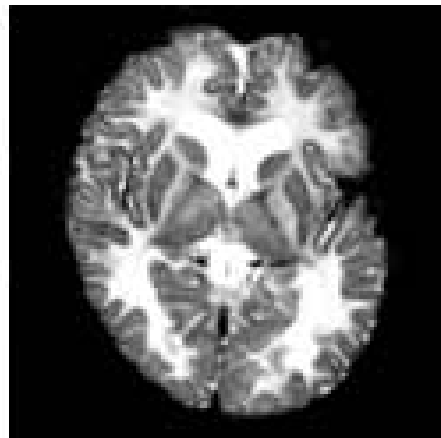
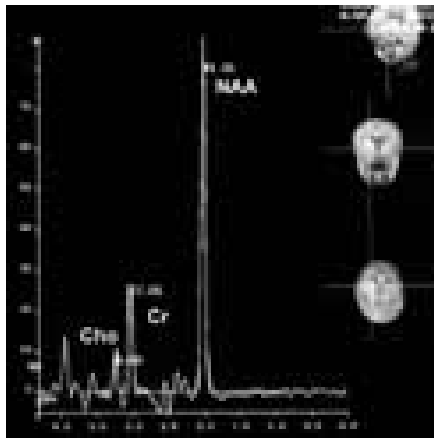
DIAGNOSI ENZIMATICA : deficit di aspartoacilasi

(acido N-acetilaspargico NAA >> aspartato + acetato) FIBROBLASTI !!

Dosaggio NAA in urine, sangue e CSF

DIAGNOSI GENICO-MOLECOLARE : 17p

DIAGNOSI NEUROPATOLOGICA : demielinizzazione, spongiosi, aumento acqua, gradiente centripeto decrescente, astrociti polinucleati, grandi; non Rosenthal



**LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA**

*dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia*

**SUBACUTE NECROTIZING ENCEPHALOMYELOPATHY
IN AN INFANT**

BY
DENIS LEIGH

From the Department of Neuropathology, Institute of Psychiatry, Maudsley Hospital, London

**A SURF1 Gene Mutation
Presenting as Isolated
Leukodystrophy**

Shamina Rahman, MRCP,¹ Ruth M Brown, MSc,³
Wui Khean Chong, FRCR,² Callum J Wilson, FRACP,¹
and Garry K Brown, FRCP, PhD³

**Differential Features of Patients with
Mutations in Two COX Assembly Genes,
SURF-1 and *SCO2***

C. M. Sue, MD, PhD,* C. Karadimas, PhD,* N. Checcarelli, MD,* K. Tanji, MD, PhD,*
L. C. Papadopoulou, PhD,† F. Pallotti, MD, PhD,* F. L. Guo, MD,* S. Shanske, PhD,* M. Hirano, MD,*
D. C. De Vivo, MD,*‡ R. Van Coster, MD,§ P. Kaplan, MD,|| E. Bonilla, MD,* and S. DiMauro, MD*

**Dichloroacetate
Therapy in Leigh
Syndrome With a
Mitochondrial
T8993C Mutation**

Tatsuya Fujii, MD, PhD,
Masatoshi Ito, MD, PhD,
Tomoko Miyajima, MD, and
Takehiko Okuno, MD, PhD

**Mitochondrial Disorders: Analysis of Their Clinical and Imaging
Characteristics**

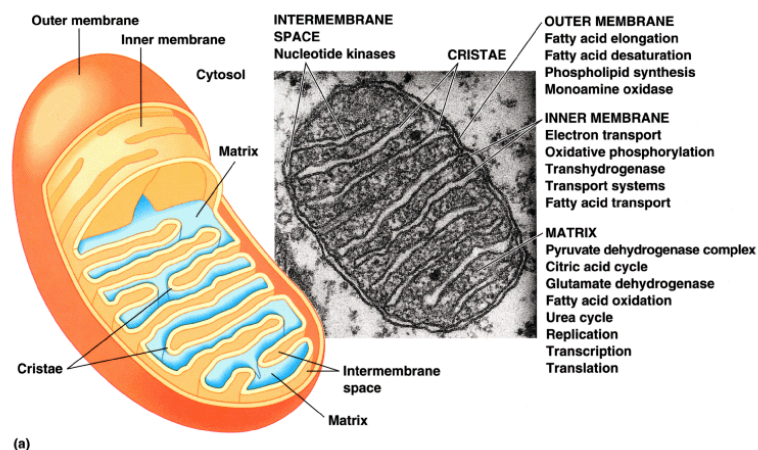
A. James Barkovich,^{1,3} William V. Good,² Thomas K. Koch,³ and Bruce O. Berg³

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

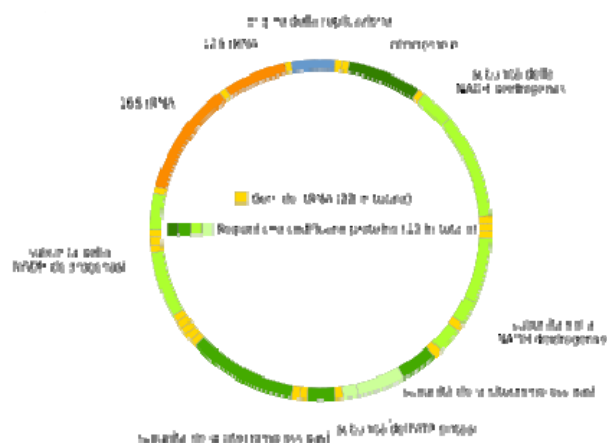
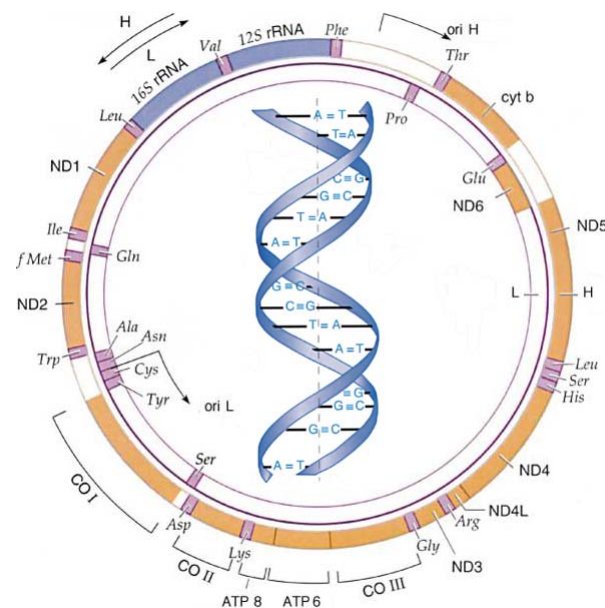
dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

Il mitocondrio e le malattie mitocondriali

Figure 15.2a Localization of respiratory process in the mitochondrion



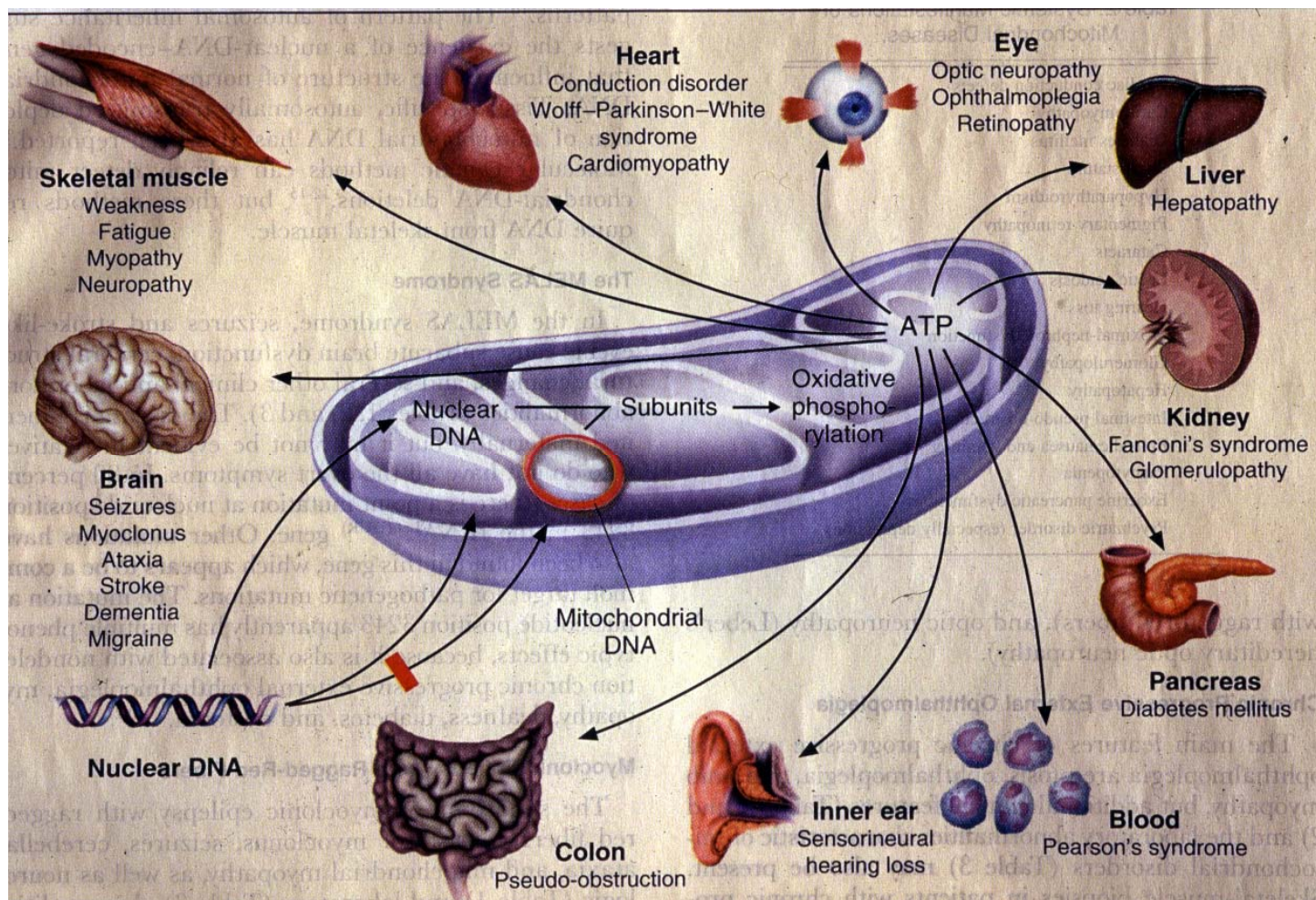
From Mathews and van Holde: *Biochemistry 2/e*. © The Benjamin/Cummings Publishing Co., Inc.



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

Il mitocondrio e i tessuti colpiti



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina

NPI – ASMN – Reggio Emilia

La via metabolica mitocondriale

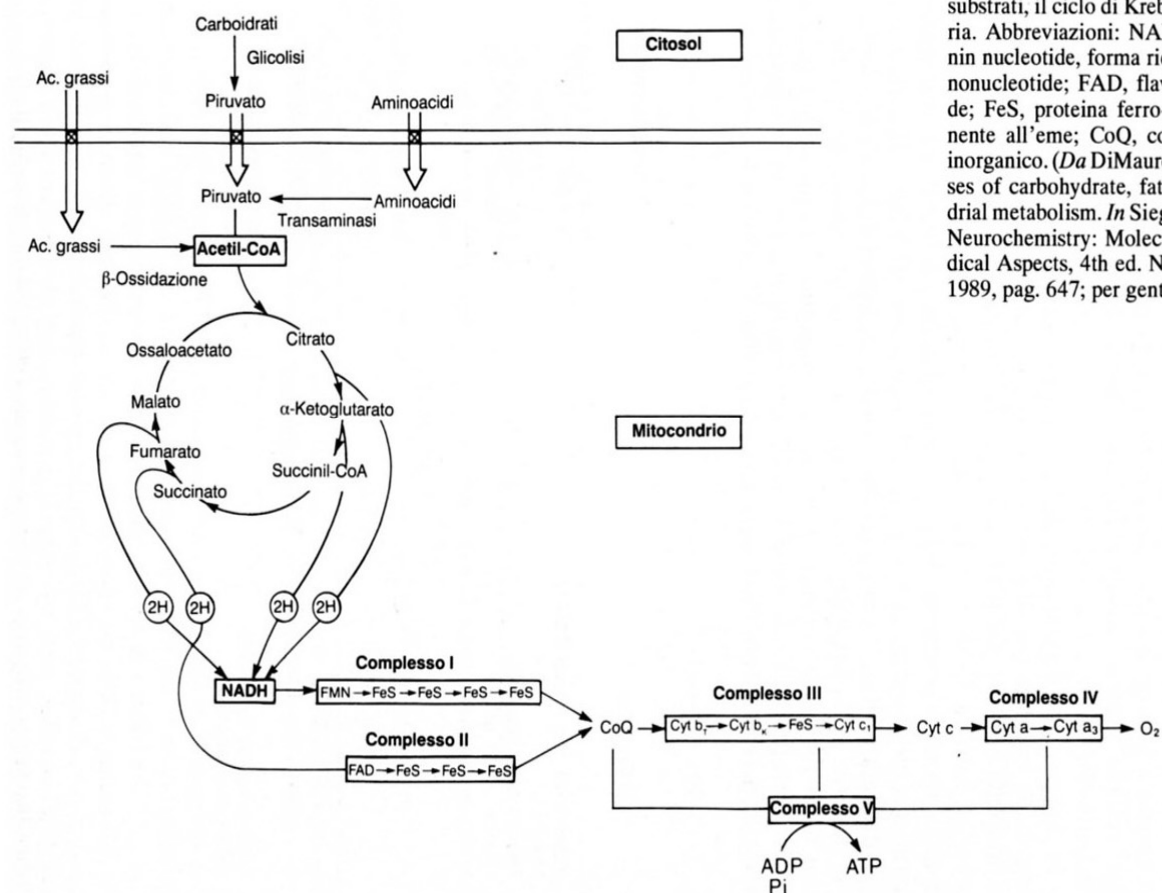


Figura 15. Schematizzazione del metabolismo mitocondriale comprendente il trasporto dei substrati, il ciclo di Krebs, e la catena respiratoria. Abbreviazioni: NADH, nicotinamide adenin nucleotide, forma ridotta; FMN, flavin mononucleotide; FAD, flavin adenina dinucleotide; FeS, proteina ferro-sulfurea, non appartenente all'eme; CoQ, coenzima Q; Pi, fosfato inorganico. (Da DiMauro S, DeVivo DC: Diseases of carbohydrate, fatty acid, and mitochondrial metabolism. In Siegel GJ, et al (eds): Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular, and Medical Aspects, 4th ed. New York, Raven Press, 1989, pag. 647; per gentile concessione.)

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La biologia del mitocondrio

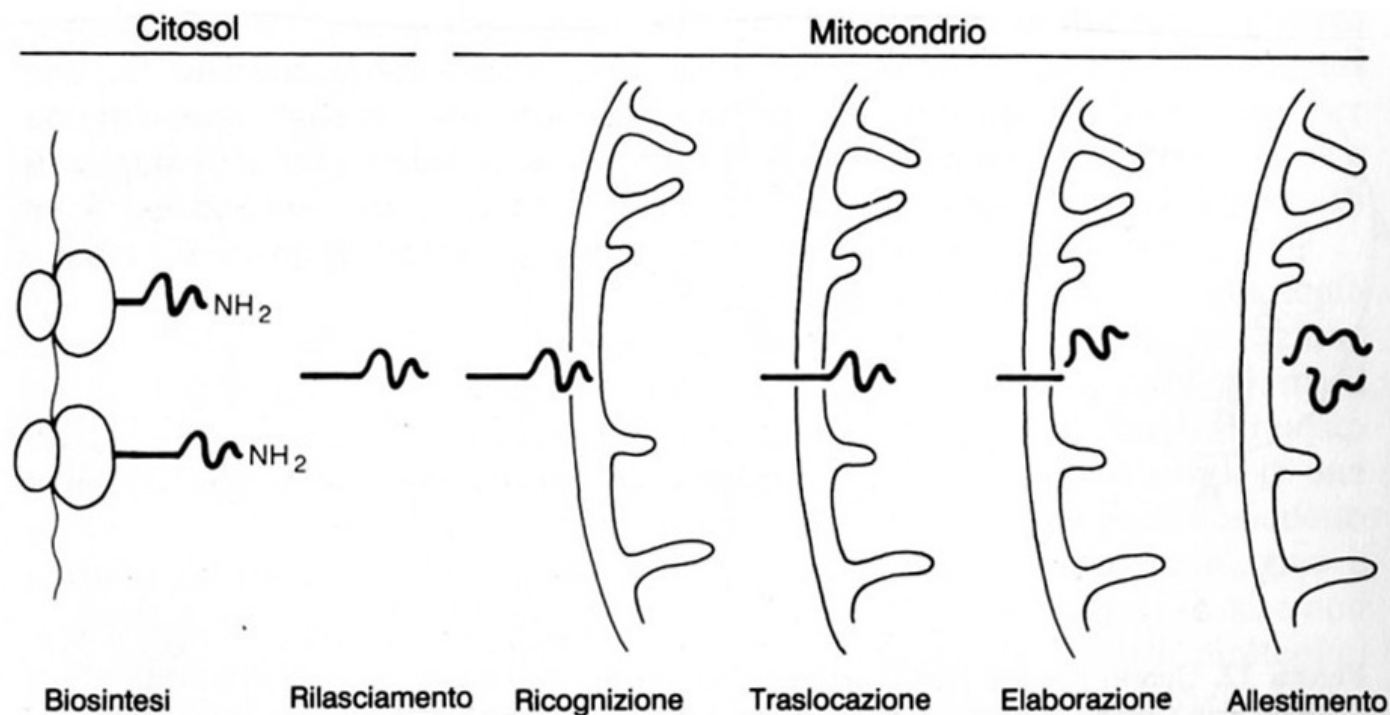


Figura 13. Rappresentazione schematica della sintesi e trasporto delle proteine mitocondriali codificate dal DNA nucleare. Per i dettagli vedi il testo. (Da Rosenberg LE, Fenton WA, Horwich AL et al: Targeting of nuclear-encoded proteins to the mitochondrial matrix: Implications for genetic defects. Ann NY Acad Sci 488:99, 1986; per gentile concessione.)

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La biologia del mitocondrio

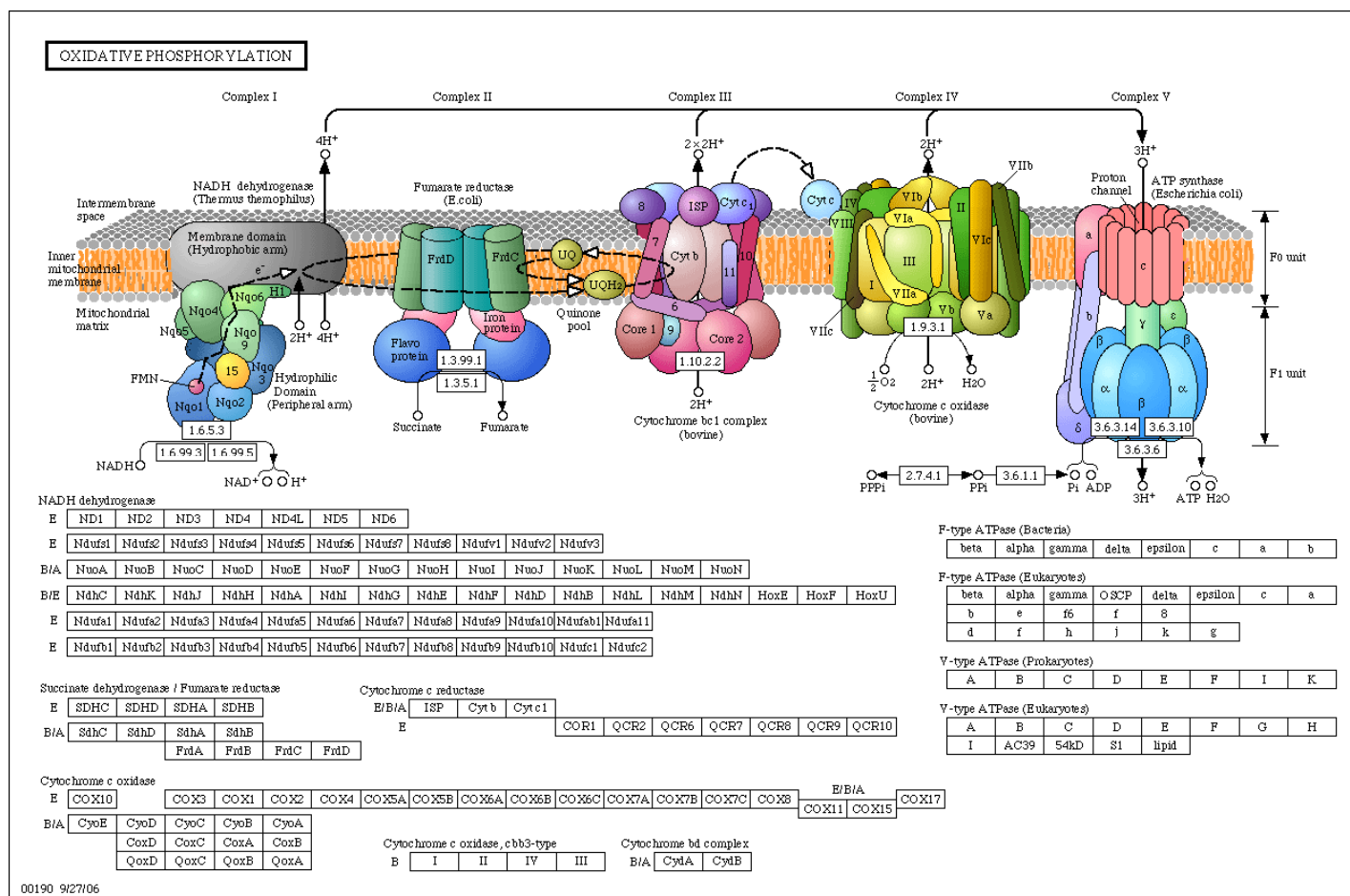
Tabella 6. Composizione e controllo genetico dei mitocondri
della catena respiratoria

CATENA RESPIRATORIA COMPLESSI	POLIPEPTIDI *	
	<i>N. totale</i>	Codificati dall'mtDNA
I	25	7
II	4	0
III	9-10	1
IV	13	3
V	12-14	2

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La via metabolica mitocondriale (2)



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

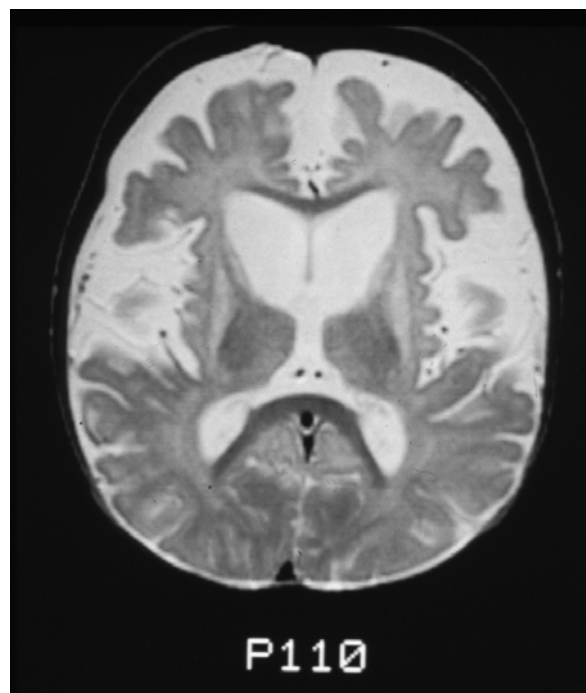
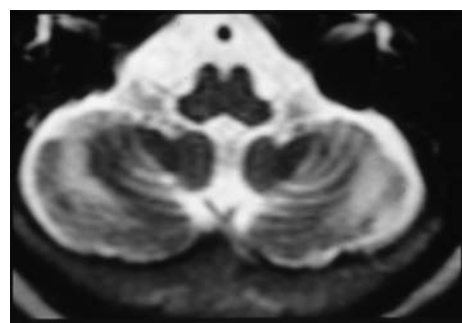
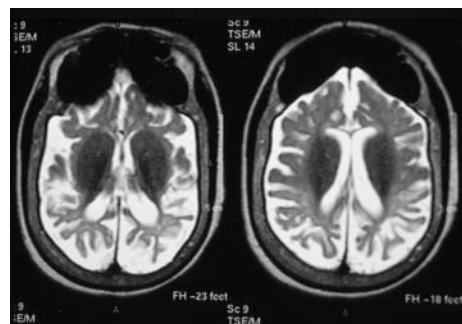
Le neuroimmagini nelle citopatie mitocondriali



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

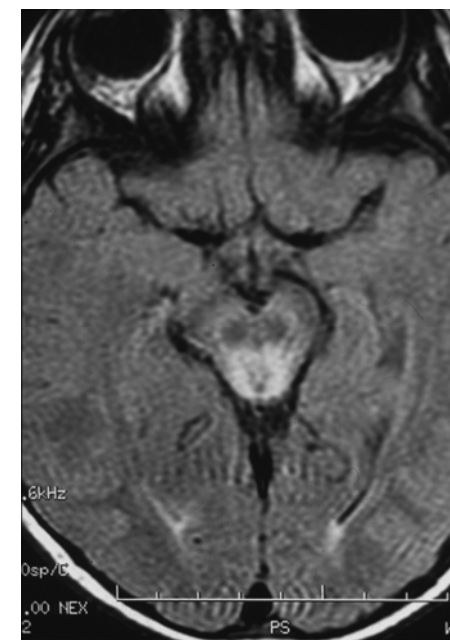
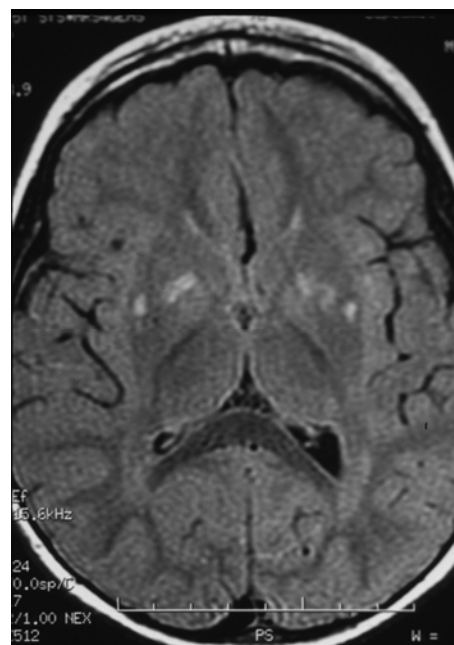
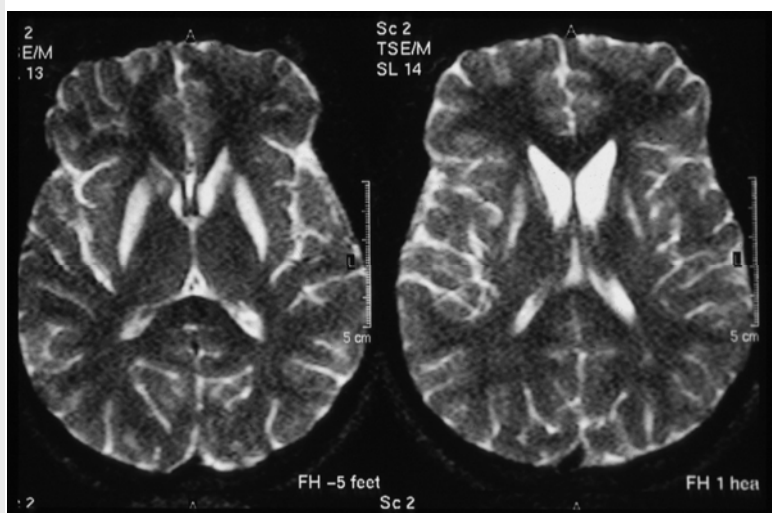
Le neuroimmagini nelle citopatie mitocondriali



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

Le neuroimmagini nelle citopatie mitocondriali



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

Il muscolo nelle citopatie mitocondriali



Figura 5. La colorazione tricromica secondo Gomori mostra le tipiche RRF in un paziente con miopatia mitocondriale. Ingr.: x 250.

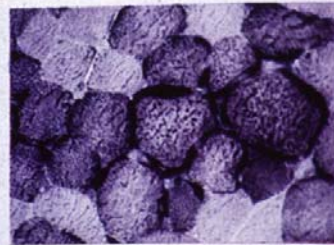


Figura 6. La colorazione con succinodeidrogenasi in sezioni seriate mostra un aumento di attività nelle RRF. Ingr.: x 250



Figura 7. La colorazione per COX di muscolo di un paziente con da miopatia letale infantile precoce dimostra un'assenza totale di attività enzimatica. Ingr.: x 200.



Figura 8. La colorazione per COX in un frammento biotico muscolare di paziente affetto da PEO mostra fibre COX-negative. Ingr.: x 250.



Figura 9. La doppia colorazione per COX e con SDH in sezioni seriate di muscolo di paziente affetto da PEO rivela una colorazione purpurea nelle fibre COX-negative. Ingr.: x 250.

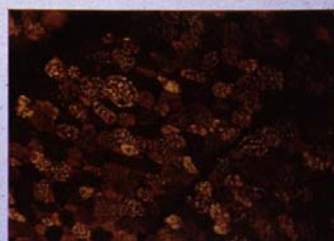
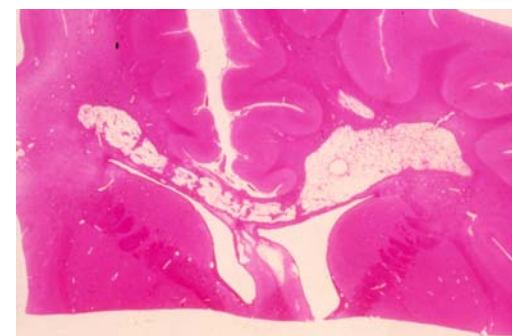
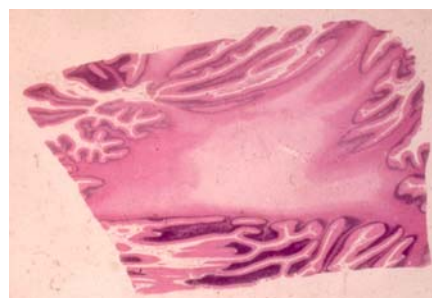
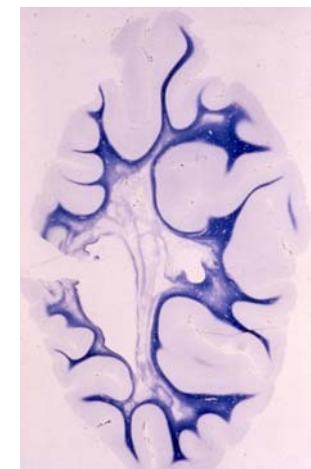
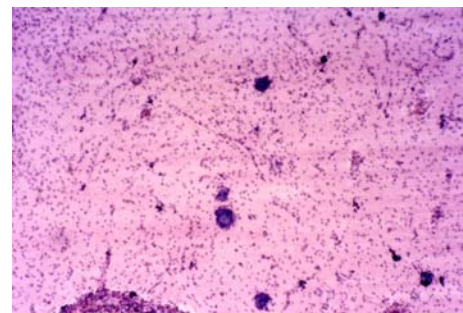
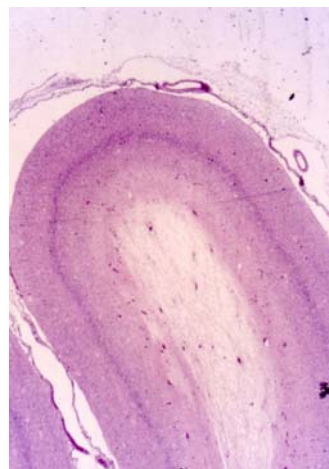
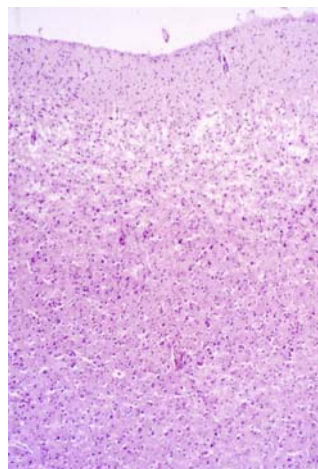


Figura 10. La colorazione rosso Nilo di un muscolo di paziente con miopatia letale infantile precoce mostra un accumulo lipidico in molte fibre. Ingr.: x 250.

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La diagnosi neuropatologica Le citopatie mitocondriali

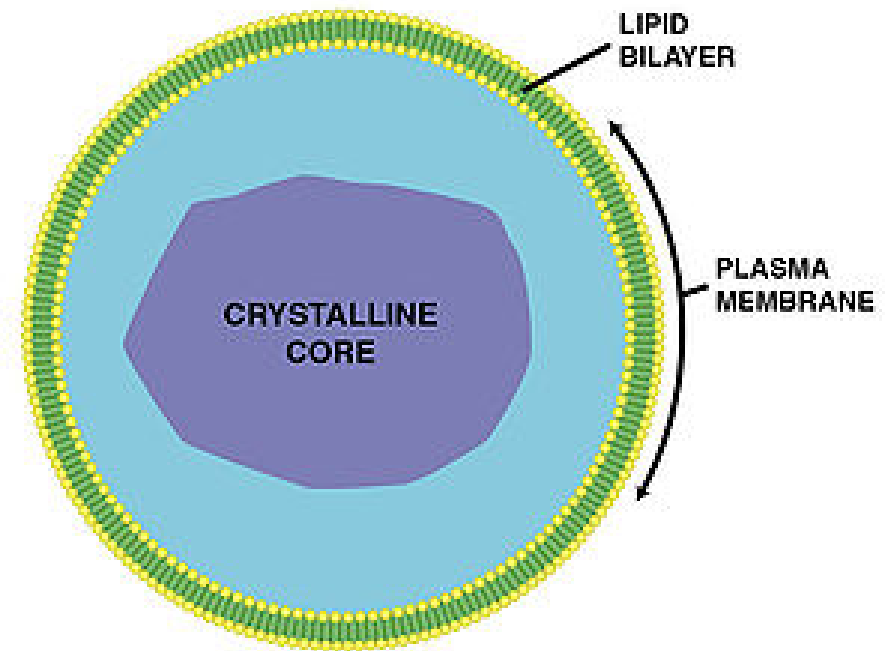


LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La diagnosi clinica delle perossisomopatie

Dismorfismi craniofacciali
Calcificazioni prerotulee e acetabolari
Opacità corneali, cataratta
Retinite pigmentosa
Atrofia ottica
Sordità neurosensoriale
Ritardo globale
Ipotonia
Epilessia precoce
Neuropatia demielinizzante
Epatomegalia con cirrosi micronodulare
Cisti renali
Cardiopatìa



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La classificazione delle perossisomopatie

- 1) *Disordini assemblaggio (biogenesi): Zellweger, adrenoleucodistrofia neonatale NALD, Refsum infantile IRD*
- 2) *Difetto singoli enzimi perossisomiali : deficit di ketotiolasi, deficit enzima bifunzionale, Refsum classica,*
- 3) *Difetto proteine di trasporto : ALD classica*

Sintetizzano: plasmalogeni, acidi biliari, colesterolo, dolicoli, acido docosaesaenoico

Catabolizzano: acidi grassi a catena molto lunga VLCFAs, idrogeno perossido, acido pipecolico, etanolo, purine

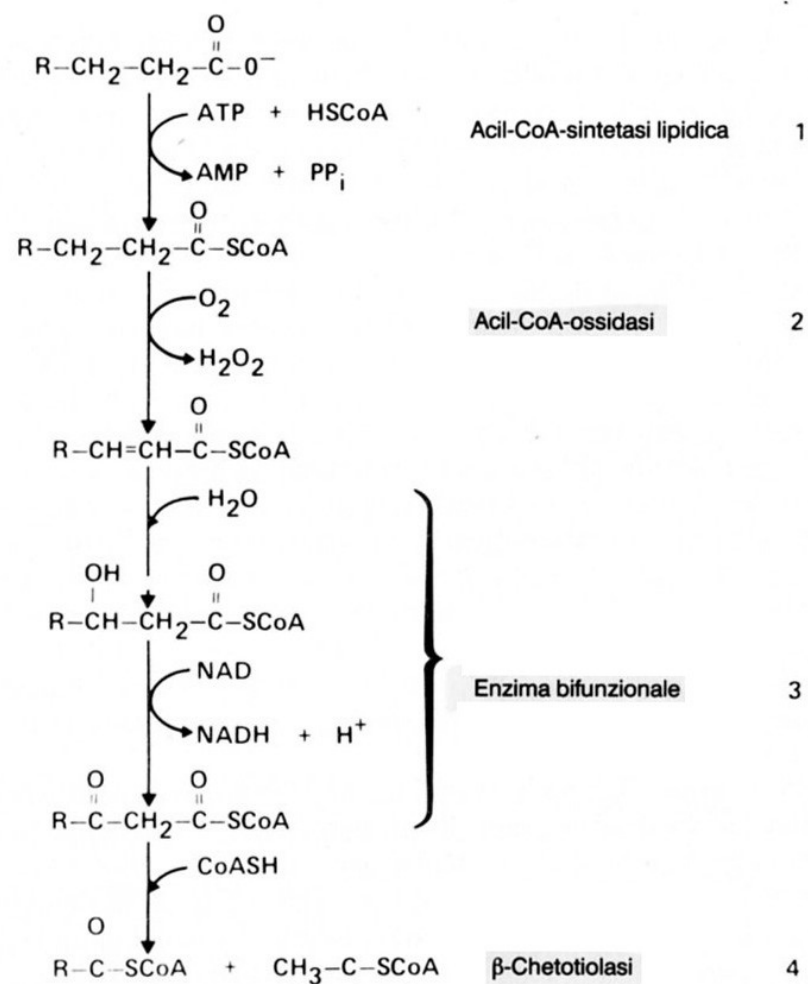
LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina

NPI – ASMN – Reggio Emilia

La biochimica del perossisoma

β -Ossidazione nei perossisomi

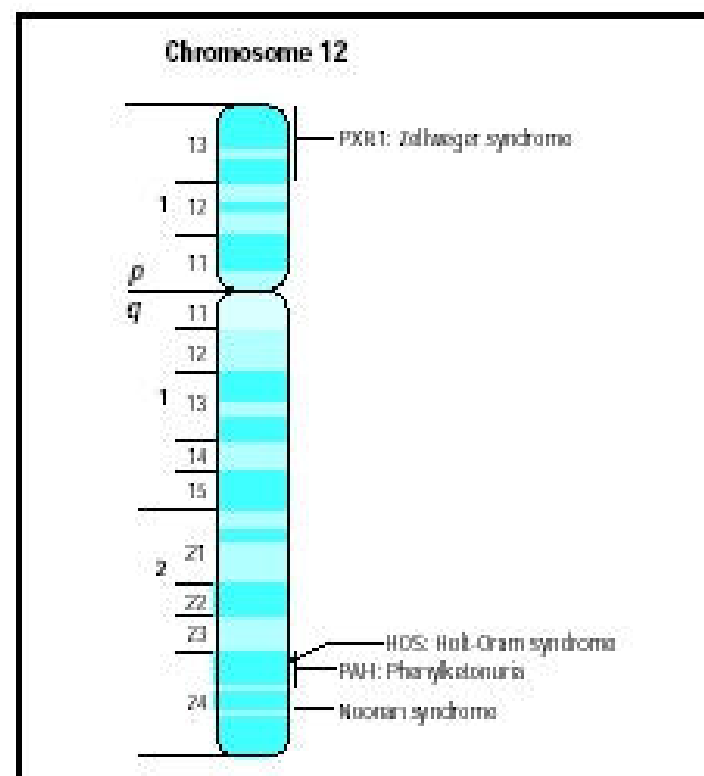


LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La diagnosi genico-molecolare

PBD, ZSS Genetics	
Gene	Location*
PEX1	7q21-q22
PEX6	6p21.1
PEX26	22q11.21
PEX10	On chromosome 1
PEX12	On chromosome 17
PEX2 (PXMP3)	8q21.1
PEX3	6q23-q24
PEX5	12p13.3
PEX13	2p15
PEX16	11p12-p11.2
PEX19	1q22
PEX14	1p36.2
* indicates chromosome number and gene location (when available)	



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La diagnosi biochimica e strumentale

- aumento VLCFAs (*plasma, fibroblasti*)
- riduzione sintesi plasmalogeni (*fibroblasti*)
 - acidemia pipecolica
 - aumento acido fitanico
 - aminoaciduria
 - RX scheletro
 - morfologia epatorenale

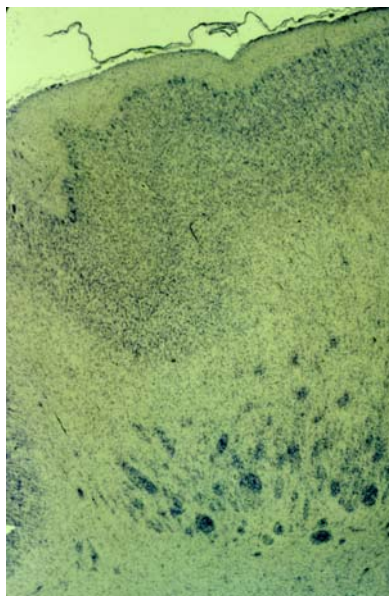
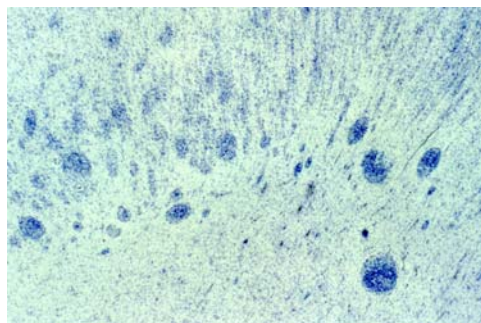
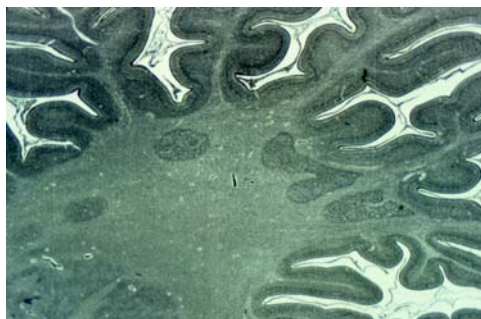
La terapia

- olio di Lorenzo (*glicerolo trioleato 1,7g/Kg + glicerolo trierucato 0,3g/Kg*)
- acido docosaesaenoico 100-200mg/die
- Lunaria oil (*ricco in acido nervonico C24*)

LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA'
PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

La diagnosi neuropatologica delle perossisomopatie



LO SVILUPPO DELLA RICERCA NELLE MALATTIE NEUROMETABOLICHE DELL'ETA' PEDIATRICA

dott. Elvio Della Giustina
NPI – ASMN – Reggio Emilia

I'offerta attuale e prossima della NPI dell'Arcispedale Santa Maria Nuova

- Diagnosi neuropatologica (+ agobiopsia muscolare, coltura fibroblasti)
 - Diagnosi clinica
 - Diagnosi elettroencefalografica (ENG, EMG pediatrico)
 - Diagnosi per neuroimmagini (MRI/MRS, SPECT, PET/TAC)
 - Diagnosi neuro-biochimica (sialotransferrine, acidi organici, VLCFAs, screening malattie lisosomiali, Blue Native Page = in proprio)
 - Diagnosi genetico-molecolare in laboratori interni (SPG3, SPG4) ed esterni