

S. Servidei • A. D'Amico • R. Di Giacopo • M. Catteruccia

## Le oftalmoplegie mitocondriali

**Riassunto** L'oftalmoplegia esterna progressiva (*Progressive External Ophthalmoplegia* – PEO) è caratterizzata da paresi dei muscoli oculari estrinseci lentamente progressiva fino alla paralisi completa e bilaterale. Nell'ambito delle patologie mitocondriali, la PEO può essere l'unica manifestazione clinica o può fare parte di un quadro sindromico più complesso spesso ad espressione multisistemica. La biopsia muscolare dimostra la presenza delle tipiche *ragged-red-fibers*. In quasi tutti i casi di PEO è presente un'alterazione del DNA mitocondriale: nel 40–70% una delezione singola (casi sporadici), nel 10–20% una mutazione puntiforme (casi a trasmissione materna non mendeliana), nel 15% circa delezioni multiple (a trasmissione dominante o recessiva). La mutazione puntiforme di più comune riscontro è la mutazione A3243G (mutazione MELAS). Tre sono i geni identificati fino ad ora nella PEO dominante con delezioni multiple: ANT1, Twinkle e POLG. Le mutazioni di POLG sono le più frequenti giustificando circa il 45% delle forme dominanti.

**Parole chiave** PEO • Malattie mitocondriali • DNA mitocondriale

S. Servidei (✉) • A. D'Amico • R. Di Giacopo • M. Catteruccia  
Istituto di Neurologia, Università Cattolica  
Policlinico A. Gemelli  
Largo A. Gemelli 8, I-00168 Roma, Italia  
e-mail: s.servidei@rm.unicatt.it

### Introduzione

L'oftalmoplegia esterna progressiva (*Progressive External Ophthalmoplegia* – PEO) è caratterizzata da paresi dei muscoli oculari estrinseci lentamente progressiva fino alla paralisi completa e bilaterale. Sono quindi risparmiati i muscoli oculari intrinseci, quali lo sfintere dell'iride e il ciliare. Il decorso è molto lento, il *deficit* degli oculomotori è generalmente simmetrico (ma può essere anche asimmetrico ed eccezionalmente unilaterale) e la diplopia è rara, ma può manifestarsi transitoriamente nei primi anni della malattia. Il primo segno della malattia è generalmente la ptosi palpebrale. Nell'ambito delle patologie mitocondriali, la PEO può essere l'unica manifestazione clinica o può fare parte di un quadro sindromico più complesso spesso ad espressione multisistemica. È geneticamente eterogenea, potendo essere sporadica o familiare con trasmissione mitocondriale materna, autosomica dominante (AR) o recessiva (AD).

### La genetica delle malattie mitocondriali

I mitocondri sono dotati di un proprio DNA, il DNA mitocondriale (DNAm). Il DNAm umano è una piccola molecola circolare di 16.5 kb che ha specifiche caratteristiche rispetto al DNA nucleare (DNA): non contiene introni, è soggetto a mutazioni spontanee con frequenza molto elevata, è dotato di meccanismi di riparazione poco efficaci, è presente in centinaia o migliaia di copie in ogni cellula, è trasmesso con eredità materna non mendeliana in quanto al momento della formazione dello zigote i mitocondri vengono forniti esclusivamente dalla cellula uovo. Se è presente una mutazione nel DNAm dell'ocita, questa viene quindi segregata in maniera casuale nelle cellule figlie così da configurare un quadro di eteroplasmia (coesistenza di DNAm normale e mutato) con variabile distribuzione dei genomi mutati nelle successive

divisioni cellulari e quindi nei diversi tessuti. L'espressione fenotipica è pertanto funzione della quantità di genomi mutati presenti in ciascun organo e della dipendenza di ciascun organo dal metabolismo ossidativo: il cuore, il muscolo scheletrico ed il cervello sono pertanto i tessuti più spesso clinicamente colpiti da mutazioni del DNAm. Secondo il modello genetico mitocondriale solo le madri trasmettono la malattia, ma maschi e femmine sono ugualmente affetti. Inoltre, la percentuale di zigoti e quindi, nella progenie, di individui portatori di una detta mutazione è elevatissima, virtualmente del 100%, ma la percentuale di genomi mutati trasmessi ad ogni zigote e la loro successiva distribuzione tissutale sono molto variabili: a questo consegue la variabile espressione fenotipica della lesione genetica (da portatore asintomatico a paziente affetto da sindrome multisistemica) anche nell'ambito di una stessa famiglia. Il DNAm codifica solo 13 proteine strutturali, tutte di pertinenza dei complessi della catena respiratoria. La maggior parte delle proteine mitocondriali è dunque codificata dal DNAn. Una complessa interazione tra i due genomi è pertanto alla base della sintesi proteica mitocondriale e della replicazione del DNAm. Questo doppio controllo genico fa sì che si possano distinguere tre gruppi di malattie mitocondriali geneticamente determinate: associate a difetti del DNA nucleare, difetti del DNA mitocondriale o difetti di comunicazione tra i due genomi [1].

### Aspetti clinico-genetici

Le malattie mitocondriali sono estremamente eterogenee sul piano clinico per età di esordio, evoluzione e variabile coinvolgimento tissutale. La PEO è una delle manifestazioni più frequenti delle malattie mitocondriali e può essere isolata in associazione ad una più estesa compromissione muscolare e/o altri segni di interessamento di altri organi o sistemi. Caratteristiche comuni sono l'intolleranza allo sforzo e la precoce faticabilità con acidosi lattica a riposo o dopo sforzo. La biopsia muscolare dimostra la presenza delle tipiche *ragged-red fibers* (RRF), fibre con proliferazione di mitocondri abnormi per numero, forma e dimensioni. Le RRF sono reattive alla succinato-deidrogenasi e spesso, ma non sempre, negative alla citocromo-c-ossidasi. In quasi tutti i casi di PEO si dimostra un'alterazione del DNA mitocondriale (estratto dal muscolo): nel 40–70% una delezione singola (casi sporadici), nel 10–20% una mutazione puntiforme (casi a trasmissione materna non mendeliana), nel 15% circa delezioni multiple a trasmissione dominante o recessiva.

#### PEO associata a delezione singola del DNAm

Forma clinica benigna e sporadica caratterizzata da oftalmoparesi, ptosi palpebrale e talora debolezza muscolare prevalentemente cingolare ed assiale. L'esordio avviene

nell'adolescenza o nell'età adulta, l'evoluzione è lentamente progressiva. La PEO può essere isolata o associarsi variamente ad ipoacusia neurosensoriale, diabete, disturbi del ritmo cardiaco (PEO plus). All'estremo dello spettro clinico la PEO costituisce uno degli aspetti caratteristici della sindrome di Kearns Sayre (KSS), malattia caratterizzata dalla triade: (1) ptosi palpebrale ed oftalmoparesi; (2) retinopatia pigmentosa atipica; (3) esordio prima dei 20 anni. A questa sintomatologia principale si associa almeno uno dei seguenti sintomi: blocco della conduzione cardiaca, sindrome cerebellare, iperproteino-rachia. Altri sintomi frequenti, ma non specifici, sono deterioramento, ipoacusia neurosensoriale, bassa statura, disturbi disendocrini (diabete, infertilità, ipoparatiroidismo). La prognosi è grave ed il decesso sopravviene di solito nella terza o quarta decade [1].

Non vi è correlazione tra gravità del fenotipo clinico (PEO – PEO plus – KSS) e sito e dimensioni della delezione del DNAm. È invece importante la percentuale di genomi mutati e la distribuzione nei vari tessuti (nella PEO solo o prevalentemente nel muscolo, nella KSS in tutti gli organi) [2–4].

#### PEO associate a mutazioni del DNA mitocondriale

Le PEO associate a mutazioni puntiformi del DNAm sono familiari a trasmissione mitocondriale (materna, non mendeliana).

La mutazione di più frequente riscontro, presente in circa il 10–15% dei casi totali di PEO, è la mutazione A3243G nel gene per il tRNA della leucina (codone: UUR) [5]. Nella PEO-3243 l'esordio della ptosi e dell'oftalmoparesi è generalmente più precoce rispetto alla PEO associata a delezione singola o delezioni multiple e l'acido lattico più elevato, con acidosi lattica anche a riposo. Inoltre sono sempre presenti un'importante miopia con interessamento dei muscoli prossimali, semidistali ed assiali ed ipoacusia neurosensoriale, ed incostantemente presenti diabete e/o cardiomiopia ipertrofica. A3243G è stata originariamente identificata nella sindrome MELAS (*Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic Acidosis and Stroke-like episodes*), caratterizzata dalla presenza di episodi *stroke-like* (simil-ictali), acidosi lattica e RRF e almeno due dei seguenti sintomi: crisi focali o generalizzate, emicrania, bassa statura, demenza, vomito ricorrente, cardiopatia ipertrofica. L'esordio dei sintomi di solito avviene prima dei 15 anni. Gli episodi *stroke-like* si presentano prima dei 40 anni con rare eccezioni. Nei pazienti MELAS, o nei familiari oligosintomatici, può essere presente PEO.

La mutazione A3243G è la più frequente mutazione patogenetica del DNAm e può determinare: a) MELAS, b) PEO, c) PEO + cardiomiopia, d) cardiomiopia familiare, d) sordità e diabete [1]. Queste varianti cliniche possono segregare in maniera monomorfa in una stessa famiglia, o possono variamente associarsi nei diversi familiari affetti. La distribuzione intra- e inter-tissutale dei genomi muta-

ti ha sicuramente importanza nel determinare il fenotipo, ma altri fattori coinvolti nella complessa interazione nucleo-mitocondrio svolgono un ruolo altrettanto determinante nel modulare l'espressione clinica [6].

#### PEO associata a delezioni multiple del DNAmT

Si tratta di malattie da difetto di comunicazione intergenomica in cui si verificano alterazioni del DNAmT sostenute da lesioni del DNAn e trasmesse pertanto con modalità ereditaria di tipo mendeliano, sia dominante (AD) che recessiva (AR) [7].

- a) PEO AD con delezioni multiple del DNAmT [7-9]: la PEO è variamente associata a miopia, cataratta, ipoacusia neurosensoriale, tremore, neuropatia, cardiomiopia, atassia, depressione del tono dell'umore. Studi di *linkage* hanno dimostrato l'esistenza di più di tre loci genici associati a tale condizione e tre sono i geni identificati fino ad ora: ANT1 (ADP/ATP translocator - 4q34-35), Twinkle (elicasi mitocondriale - 10q24) e POLG (polimerase gamma 15q22.q26). Le mutazioni di POLG sono le più frequenti giustificando circa il 45% delle forme dominanti [10]. La formazione di delezioni multiple del DNAmT è probabilmente conseguente a difetti di replicazione per le mutazioni di POLG o alterazione dell'equilibrio del pool di nucleotidi per mutazioni di ANT1 e Twinkle.
- b) PEO AR con delezioni multiple del DNAmT [7]: la PEO fa parte di sindromi più complesse tra cui ARCO (*AR Cardiomyopathy-Ophthalmoplegia*), SANDO (*Sensory Ataxia, Neuropathy, Dysarthria, Ophthalmoplegia*), MNGIE (*Myo-Neuro-GastroIntestinal Encephalopathy*). La MNGIE è caratterizzata da PEO, neuropatia ed alterazioni gastrointestinali con malassorbimento e cachessia. È associata a mutazioni nel gene della timidina fosforilasi localizzato sul cromosoma 22q13.32-qter. L'attività catalitica della timidina fosforilasi, implicata nel controllo del *pool* nucleotidi/nucleosidi, è marcatamente ridotta nei pazienti con MNGIE ed il dosaggio dell'enzima costituisce un importante test diagnostico.

#### Terapia

L'inibizione della fosforilazione ossidativa, conseguente a difetti del DNA nucleare o mitocondriale, causa un aumento della formazione di radicali liberi. I radicali liberi a loro

volta producono un'instabilità delle membrane cellulari, ma soprattutto ulteriori danni al DNAmT aggravando il *deficit* della fosforilazione ossidativa. La terapia delle malattie mitocondriali è dunque orientata a prevenire o attenuare gli effetti del danno da radicali liberi ed a stimolare la produzione di ATP mitocondriale. Il farmaco più usato attualmente è il coenzima Q10 (CoQ) con dosi che variano tra 150 e 900 mg/die, somministrate a lungo termine. Il CoQ, che funziona da *shuttle* di elettroni nella catena respiratoria, ha un ruolo di stabilizzazione della membrana mitocondriale e dimostra capacità antiossidante e preventiva del danno da radicali liberi.

#### Bibliografia

1. Di Mauro S, Schon EA (1998) Mitochondrial DNA and diseases of the nervous system: the spectrum. *Neuroscientist* 4:53-63
2. Holt IJ, Harding AE, Morgan-Hughes JA (1988) Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature* 331:717-719
3. Zeviani M, Moraes CT, Di Mauro S (1988) Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology* 38:1339-1346
4. Moraes CT, Di Mauro S, Zeviani M et al (1989) Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. *N Engl J Med* 320:1293-1299
5. Moraes CT, Ciacci F, Silvestri G et al (1993) Atypical clinical presentations associated with the MELAS mutation at position 3243 of human mitochondrial DNA. *Neuromuscul Disord* 3:43-50
6. Silvestri G, Rana M, Odoardi F et al (2000) Single-fiber PCR in MELAS(3243) patients: correlations between intratissue distribution and phenotypic expression of the mtDNA(A3243G) genotype. *Am J Med Genet* 94:201-206
7. Hirano M, Marti R, Ferreira-Barros C et al (2001) Defects of intergenomic communication: autosomal disorders that cause multiple deletions and depletion of mitochondrial DNA. *Semin Cell Dev Biol* 2:417-427
8. Zeviani M, Servidei S, Gellera C et al (1989) An autosomal dominant disorder with multiple deletions of mitochondrial DNA starting at the D-loop region. *Nature* 339:309-311
9. Servidei S, Zeviani M, Manfredi G et al (1991) Dominantly inherited mitochondrial myopathy with multiple deletions of mitochondrial DNA: clinical, morphologic, and biochemical studies. *Neurology* 41:1053-1059
10. Lamantea E, Tiranti V, Bordini A et al (2002) Mutations of mitochondrial DNA polymerase gammaA are a frequent cause of autosomal dominant or recessive progressive external ophthalmoplegia. *Ann Neurol* 52: 211-219