

# Peroxisomální onemocnění

## Peroxisomy

Tyto organely jsou abundantní v tkáních, kde je aktivní **lipidový metabolismus** (nejhojněji jsou přítomny v cytoplasmě hepatocytů, v epitelálních buňkách kanálků ledvin či v oligodendroglia, (hnědý tuk). V jedné buňce se jich nachází v průměru kolem sta až tisíce). Jsou, co se týče struktury, podobné lyzosomům i mitochondriím. Zatímco mitochondrie mají dvojitou membránu (viz mitochondrie), peroxisomy mají jednoduchou trilaminární membránu, která je relativně dobře propustná pro hydrofilní molekuly, obklopuje jemně granulární matrix. Peroxisomy jsou přítomny ve všech buněčných typech s výjimkou erytrocytů a spermií a dosahují velikosti 0,05–2 mikrometry.

Enzymové substráty, menší než 800 daltonů, procházejí membránou přes **nespecifické póry** – zde jsou asociovány dva proteiny o molekulové hmotnosti 22 a 28 kDa. Zatímco pro lyzosomy je charakteristická kyselá fosfatasa, pro peroxisomy je charakteristickým enzymem katalasa (katalyzuje reakci rozkladu peroxidu vodíku na vodu a kyslík).

Lidský peroxisomální proteom zahrnuje produkty přibližně 80 genů kódovaných jadernou gDNA. Jedná se jak o membránové, tak i o proteiny peroxisomální matrix. Převažující většina těchto proteinů je asociována s metabolickými drahami lokalizovanými do peroxisomů. Poslední třetina proteinů se nazývá **peroxiny** a sehrává základní roli v biogenezi a udržení peroxisomální organelové populace. Markerovým (výlučně zastoupeným a použitelným pro detekci v tkáních) enzymem peroxisomů je **katalasa**, kterou lze detekovat buď histochemicky (pomocí enzymatické aktivity) nebo imunohistochemicky (specifickou protilátkou).

## Biogeneze peroxisomů

Biogeneze peroxisomů (růst a štěpení) je v mnoha svých aspektech stále nedefinovanou oblastí; zvláště pokud jde o recentní hypotézu de-novo syntézy peroxisomů v endoplasmatickém retikulu. Další otevřenou otázkou zůstává sdílení některých proteinových komponent biogeneze mezi peroxisomy a mitochondriemi (jde zejména o proteiny spojené se štěpením sítí těchto organel).

V porovnání s mitochondriemi, peroxisomy neobsahují vlastní genetickou informaci v podobě jakékoliv formy nukleové kyseliny. Celý peroxisomální proteom je kódován jadernou gDNA a většina peroxisomálních proteinů (proteiny matrix a frakce membránových proteinů) je syntetizována na volných cytosolických ribosomech nebo polyribosomech. Cílení těchto proteinů do preexistujících peroxisomů je zprostředkováno krátkými specifickými signálními sekvencemi aminokyselin (tzv. **peroxisomal targeting signal - PTS**). Na rozdíl od proteinů endoplasmatického retikula a mitochondrií jsou peroxisomální proteiny přes limitující organelovou membránu transportovány ve sbaleném stavu, nicméně přesný molekulární mechanismus tohoto přenosu není definitivně stanoven.

Zbytek peroxisomálních membránových proteinů je cílen do peroxisomů z ER, nejspíše pomocí vezikulárního transportu. Nedávno bylo také ukázáno, že část proteinů se do peroxisomů dostává z mitochondrií. Co nebylo doposud spolehlivě dokumentováno, je retrogradní transport z peroxisomů do ER nebo mitochondrií.

Import proteinů do peroxisomů vede k objemové expanzi organely, která následně vyústí v peroxisomální štěpení.

Peroxisomy jsou degradovány mikroautofagií.

## Peroxisomální metabolismus

V peroxisomech se děje řada anabolických a katabolických pochodů. Primárně **syntetizují** plasmalogeny (fosfolipidy, ve kterých je masná kyselina vázána eterovou, nikoli esterovou vazbou; obsahují např. vinylétery masných kyselin). Peroxisomy dále syntetizují cholesterol a žlučové kyseliny; probíhá v nich též glukoneogeneze z aminokyselin a tvorba oxalové kyseliny za katalýzy alanin:glyoxalát-aminotransferasy.

Z **katabolických** reakcí je to především degradace hydrogenperoxidu, účinkem katalasy (nejvíce zastoupený enzym v peroxisomech) a  $\beta$ -oxidace masných kyselin s velmi dlouhým řetězcem, s více než 24 uhlíky.

Dále se zde děje oxidace polyaminů, ethanolu, degradace purinů, hydroxylace fytanové kyseliny a degradace pipekolové kyseliny. V peroxisomech jsou různé antioxidační enzymy (katalasa, glutathion-peroxidasa, superoxid-dismutasa), dále oxidasy masných kyselin (nasycených i nenasycených, i masných kyselin s velmi dlouhým řetězcem). Oxidace masných kyselin je analogická jako v mitochondriích, ale zatímco peroxisomy štěpí pouze asi 10 % kyseliny palmitové, 90 % oxidace se odehrává v mitochondriích; masné kyseliny o delším a velmi dlouhém řetězci jsou štěpeny výlučně v peroxisomech. Konečnými produkty  $\beta$ -oxidace jsou C6–C12 fragmenty (nejčastěji C8), které jsou dále přeneseny do mitochondrií, kde oxidace pokračuje.

Důležitá je i  $\alpha$ -oxidace masných kyselin, která umožňuje rozštěpení např. fytanové kyseliny, vznikající oxidací z fytolu – části chlorofylu. Tato látka obsahuje radikál methyl na beta uhlíku, což blokuje klasickou  $\beta$ -oxidaci; u lidí je příjem této látky asi 50–100 mg/denně z různých mléčných výrobků. Peroxisom však oxiduje též D-aminokyseliny i L-dihydroxykyseliny.

Peroxisomy obsahují aminotransferasy, acyltransferasy, dále enzymy pro syntézu cholesterolu či dolicholu (alkohol s velkým počtem uhlíků, který přenáší sacharidové molekuly k proteinům při stavbě různých proteoglykanů a glykoproteinů). Zatímco v mitochondriích je asi 90 % kyslíku přeměněno na vodu a pouze zbytek na superoxid, v peroxisomu je hlavním produktem peroxid. Různé reaktivní formy kyslíku musí však být v obou případech odstraňovány CuZn- či Mn-superoxiddismutasami, katalasou a glutathion-peroxidasou, aby nedošlo k poškození buňky.

## Peroxizomální onemocnění

Veškeré peroxisomální funkce jsou přímo závislé na kontinuální peroxisomální biogenezi, tzn. na importu komponent peroxisomální matrix a membrán. Tento rys peroxisomální biologie od sebe významně odlišuje – mimo jiné – peroxisomální a mitochondriální poruchy. Do dnešní doby bylo popsáno přibližně 24 různých lidských onemocnění kauzálně souvisejících s peroxisomální dysfunkcí. Vedle relativně vzácných dědičných peroxisomálních onemocnění, jsou to ale i častější postižení, jako některé typy **nealkoholické steatohepatitidy** (steatóza jater spojená s jejich zánětem), které jsou způsobeny abnormální peroxisomální funkcí.

Existuje řada dědičných metabolických vad, které jsou důsledkem buď **defektu biogeneze** a následného **uspořádání** peroxisomu či **defektu** jednoho případně více peroxisomálních **enzymů**. Byly proto klasifikovány dvě kategorie poruch:

### 1. Poruchy peroxisomální biogeneze s poruchou všech funkcí

- Narušení importu peroxisomálních matricových proteinů, čímž dochází k úplné ztrátě všech peroxisomálních funkcí.
- Zellwegerův syndrom, adrenoleukodystrofie, infantilní Refsumova choroba – vytvářejí Zellwegerovské spektrum – plynule přecházejí jedna v druhou.
- **Diagnostika** – masivně zvýšená plazmatická koncentrace mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem, omezená plasmalogen-biosyntéza, chybění intaktních peroxizomů v kultivovaných fibroblastech, zvýšená koncentrace fytanové kyseliny u rhizomelické chondrodysplázie punctaty a klasické Refsumovy choroby.

U všech forem je možná prenatální diagnostika.

- **Zellwegerův syndrom** – nejtěžší AR dědičnou formu perox. onem. Podkladem onemocnění jsou defekty v genech rodiny **PEX**, které kódují **peroxiny** (viz výše). Vzhledem k tomu, že buňka není schopná peroxisomy vytvořit, tak se jim někdy říká : "**peroxisomal ghosts**". Vzhledem k chybění jejich funkcí dochází mimo jiné k akumulaci mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem v mozku. U dětí je charakteristická kraniofaciální dysmorfie s vysokým čelem, hypertelorismem (nadměrná vzdálenost očí), vpadlým kořenem nosu a epikantem, (kožní řasa nad horním víčkem) časté jsou oční odchylky (katarakta, glaukom, dysplazie optického nervu). Neurologické syndromy představují těžká svalová hypotonie, neonatální záchvaty křečí a zástava psychomotorického vývoje. Vždy se vyskytuje charakteristická porucha migrace neuronů v mozku, časté je také cholestatické postižení jater s časným rozvojem cirhózy. U většiny pacientů se vyskytují drobné cysty v ledvinách. Účinná terapie zatím neexistuje. Pacienti umírají v kojeneckém věku.
- **Neonatální adrenoleukodystrofie (NALD)**– i zde je podkladem porucha genů kódujících peroxiny. Charakteristický je protrahovaný průběh. Dysmorfie je méně vyjádřená, velmi častým příznakem jsou neonatální záchvaty křečí, dochází k těžké psychomotorické retardaci, často nacházíme hepatomegalii s poruchou jaterních funkcí, charakteristické jsou pigmentová retinitida a hluchota, symptomy nadledvinové insuficience jsou únava, zvracení a pigmentace kožních řas. Přežití do druhé dekády života je možné. Účinná terapie neexistuje. Pacienti umírají nejčastěji před 6. rokem života.
- **Infantilní Refsumova choroba** – tejně tak i tato choroba je způsobena v defekty genů kódujících peroxiny. Má asi nejlehčí průběh. K manifestaci dochází později, známky faciální dysmorfie jsou mírné nebo chybí. Dosažené motorické schopnosti 1.–3. roku pomalu regredují. Neurologická symptomatika mírnějšího projevu. Peroxisomy mohou být přítomny. Pravidelně nacházíme hepatomegalii a atrofii nadledvin, pigmentovou retinitidu a hluchotu. Pacienti přežívají v průměru o něco déle než u Zellwegerova syndromu a NALD (8. rok života). Terapie zatím neexistuje.
- **Rhizomelická chondrodysplasia punctata** – podkladem pro toto onemocnění je defekt genu PEX7, který kóduje faktor sedm peroxizomální biogeneze. Charakteristickými příznaky jsou zkrácení proximálních částí končetin, kraniofaciální dystrofie, katarakta, psychomotorická retardace, změny obratlových těl a kalcifikace epifýz. Úspěšná terapie neexistuje.
- **Další:** Hyperpipekolová acidurie, Leberova amauroza.

### 2. Onemocnění způsobená deficitem jednotlivých proteinů

- **X-vázaná adrenoleukodysplasia** – X-vázaná recesivně dědičná onemocnění patří mezi úplně nejčastější perox. onem. Deficit peroxisom. ABC-přenašeče ABCD1 vede k akumulaci mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem, k zánětlivé demyelinizaci CNS, k periferní neuropatii a také k adrenální a testikulární insuficienci. Popisováno je 6 forem s různým klinickým průběhem a různé fenotypy se vyskytují při identickém genotypu i v rámci jedné rodiny. Postižení jsou většinou chlapci. Více než polovina žen přenašeček vykazuje neurologické problémy.
- **Dětská cerebrální forma** – nejtěžší klinická forma s rychlou progresí neurologických příznaků. Na začátku onemocnění jsou děti zcela nenápadné, symptomatika začíná od 3.–10. roku věku poruchami chování, zhoršením zraku a sluchu. V průběhu několika měsíců se rozvíjí vegetativní stádium se spastickou tetraparézou, záchvaty cerebrálních křečí a demencí. Pacienti umírají do tří let od stanovení diagnózy.

- **Cerebrální forma dospívajících** – odlišuje se jen věkem manifestace.
- **Cerebrální forma dospělých** – odlišuje se jen věkem manifestace.
- **Adrenomyeloneuropatie** – symptomatika začíná ve třetí dekádě, demyelinizace míchy a periferních neuronů vede ke spastické paraparéze dolních končetin, inkontinenci a somatosensibilním poruchám.
- **Addison-only forma** – izolovaná nadledvinová insuficience.
- **Asymptomatická forma** – bez klinických příznaků.
- **Diagnostika** – zvýšená plasmatická koncentrace mastných kyselin s velmi dlouhým řetězcem, v CNS demyelinizační ložiska především periventrikulárně a okcipitálně, analýza mutací, nadledvinová insuficience (zvýšený ACTH, snížený kortisol).
- **Léčba** – ve velmi časných stádiích je metodou volby transplantace kostní dřeně, která vede k úplnému uzdravení. U chlapců mladších 6 let může speciální dieta oddálit nástup neurologických příznaků (podávání Lorenzova oleje – mononenasycených MK) který normalizuje plasmatickou koncentraci VLCAD. Prognóza závisí významně na klinické formě.
- klasický **Refsumův syndrom** – poruchou odbourávání kyseliny fytanové dochází k jejímu hromadění ve tkáních a plasmě. Onemocnění se manifestuje především v adolescenci periferní neuropatií, cerebelární ataxií, retinitis pigmentosou (dysmorfie, mentální retardace a poruchy jaterních funkcí většinou chybějí). ichtyózou a insomnií.
  - **Diagnostika** – snížení rychlosti vedení vzruchu nervovými vlákny, abnormální akustické a vizuální evokované potenciály, patologický elektroretinogram, zvýšená hladina bílkoviny v likvoru, zvýšená hladina kyseliny fytanové v séru, důkaz enzymového defektu ve fibroblastech.
  - **Léčba** – dietou (snížení příjmu kyseliny fytanové), léčba může zastavit demyelinizaci tkáně.
- **Další:** Peroxisomální deficiencie acyl-CoA-oxidasy, Peroxisomální deficiencie 3-oxoacyl-CoA thiolasy, Akatalasemie (deficiencie hydrogenperoxidoreduktasy).