

Ciliopati – orsak till flera besynnerliga syndrom

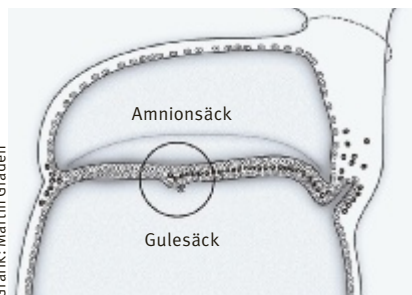
UNNE STENRAM, professor emeritus, avdelningen för patologi, Skånes universitetssjukhus,

Lund, Lunds universitet
unne.stenram@med.lu.se

Med ciliopati menas ciliesjukdom. Cilierna kan skadas och till och med gå helt förlorade genom till exempel infektion. De kan också vara förändrade på grund av genetiska skador, så kallade primära ciliopatier. Avsikten med denna artikel är att ge en översikt av primära ciliopatier och ge den biologiska bakgrunden. Artikeln avslutas med en kort beskrivning av ett ovanligt fall.

Kartagens syndrom och primär ciliär dyskinesi

Kartagener beskrev år 1933 några patienter med bronkiektasier, sinuit och situs inversus. Detta kallas sedan dess Kartagens syndrom, trots att flera författare tidigare beskrivit sådana fall. Den förste var Oeri år 1901 [1]. Patienterna är ofta sterila, och detta gäller särskilt män. 1975 fann två grupper, en i Köpenhamn och en i Stockholm, att dessa män hade orörliga spermier. Elektronmikroskopisterna Pedersen och Afzelius såg defekter i spermiesvansarna, som är cilier. Afzelius (som anses vara nestorn inom den morfologiska cilieforskningen) fann samma förändringar i luftvägarnas cilier, som också var orörliga. Endast hälften av dessa patienter visade sig ha situs inversus. Nu började termen primär ciliär dyskinesi (PCD) användas, eftersom cilierörligheten inte behöver försvinna helt [2]. Begreppet omfattar både patienter med och patienter utan situs inversus. Afzelius antog från början att någon form av ciliedefekt under fosterlivet var förklaringen till situs inversus. En japansk grupp kunde bekräfta detta 1998 [3]. Cilier på ventral-sidan av Hensens nod, även kallad den embryonala eller ventrala noden (Figur 1), står bakåt lutade och ger genom sin rotation kring en tänkt axel ett extraembryonalt vänstersidigt bakåtflöde av vätska. Är dessa cilier orörliga blir chansen till normal situs, situs solitus, 50 procent och chansen till situs inversus 50 procent.



Grafik: Martin Gradén

Figur 1. Skiss av mänskligt embryo omkring 17 dagar efter ovulation. Embryot är den centrala plattan med huvudändan till vänster på bilden, svansändan till höger, dorsalsidan (ektoderm) uppåt, ventral-sidan (endoderm) nedåt, och de svarta cellerna är mesoderm. Hensens nod ses centralt i cirkeln med nedåtriktade cilier.

Men vad styr cilierna i Hensens nod, och vad styr i sin tur dessa? Redan den befruktade groddäggcellen har en asymmetri. Från början föreligger en polarisering av epitelceller. Denna asymmetri överförs till Hensens nod [4]. I ett kycklingembryo är det annorlunda. Här finns ett asymmetriskt uttryck av gener i noden som är oberoende av cilierna [5, 6].

Cilierna i Hensens nod ger ett vätskeflöde på 10–20 µm/s. En möjlighet är att vätskeflödet styr situs, men mera troligt är det molekyler i vätskan. Särskilt retinolsyra (en metabolit av vitamin A), FGF och TGF-beta har diskuterats [5, 7]. Det är känt sedan tidigare att rubbningar i vitamin A-metabolismen kan leda till situs inversus. Mödrar med diabetes har sagts få barn med ökad prevalens av situs inversus [8, 9]. Äldre arbeten från tiden före ultraljuds- och magnetkameraundersökningar måste dock granskas mycket noga. Är det fråga om total situs inversus (det vill säga att samtliga bröst- och bukorgan är spegelvänt lokaliserade) eller bara dextrokardi (att hjärtat ligger på höger sida)? Prevalensen av situs inversus har i Japan angetts till 1:4 100 [10] och i Norge till 1:9 000 [11]. I dessa arbeten ingår inga studier av cilier. I 20–25 procent av fallen av situs inversus föreligger Kartagens syndrom.

Cilien har en rot, basalkroppen (Figur 2), som är en centriol (en struktur som deltar i celledelningen) förankrad i cellmembranet. I celler som har flera cilier bildas basalkroppar också de novo i cytoplasman [12]. Funktionen som basalkropp föregår fylogenetiskt den som centriol. De flesta växter saknar cilier och också centrioler. De klarar mitosen på annat sätt [13]. Cilien växer till genom att material transporteras upp till toppen, troligen från Golgiapparaten. Nedbrytningen före mitosen sker också från toppen [7]. Basalkroppen ska ju bli centriol.

Diagnostik. Förutom luftvägsinfektioner och nedsatt fertilitet kan patienterna få symtom från annat håll där det finns celler

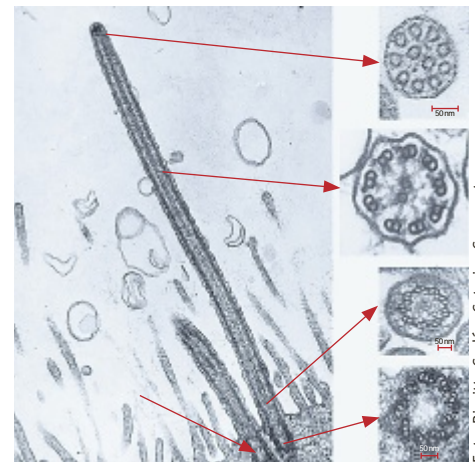


Foto: Birgitta Carlén, Catarina Crammert

Figur 2. Normal nasal cilie i längdsnitt och tvärsnitt på olika höjd. Normal längden är 6 µm, bredden 0,2 µm. Den vänstra nedre pilen pekar på en basalkropp.

■ sammanfattat

Kartagens syndrom innefattar bronkiektasier, sinuit och situs inversus. Cilierna i luftvägarna och i den embryonala Hensens nod har ultrastrukturella defekter och är orörliga. Nodens cilier bestämmer situs, och vid orörlighet blir situs slumpmässigt spegelvänt i hälften av fallen. Syndromet heter numera primär ciliär dyskinesi. **Flertalet celler i kroppen** har

en cilie med sensorisk funktion, kallad primär eller orörlig cilie. **Eftersom cilierna i olika organ** har olika funktioner men likartad uppbyggnad kan mutationer ge upphov till besynnerliga syndrom med förändringar i många organ. **Här beskrivs ett fall** av en variant som på engelska benämnts oralfaldigitallike syndrome Stenram type.

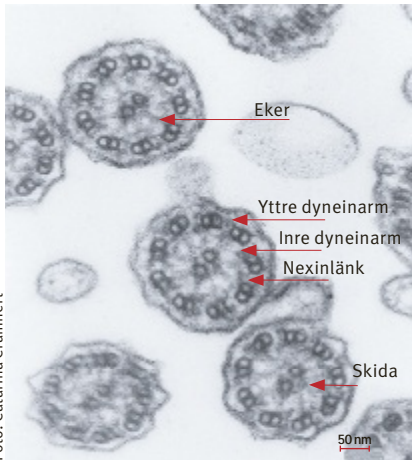


Foto: Catarina Crammert

Figur 3. Tvärsnitt av normal nasal cilie. De vanligaste formerna av primär ciliär dyskinesi beror på avsaknad av yttre och/eller inre dyneinarmar. Frånvaro av övriga namngivna strukturer är mer ovanliga orsaker. Ciliebredden är 0,2 µm.

med flera cilier, som anosmi och otitis media. Icke-fungerande cilier i ependymet kan ge hydrocefalus [2, 14]. Koncentrationen av nasal kväveoxid, som bildas i bihålorna, är mycket låg vid PCD. Den är sänkt även vid cystisk fibros, likaså vid polyper och inflammation. Kväveoxid är lägst vid PCD, lägt men inte lika uttalat sänkt (statistiskt) vid cystisk fibros och vid polyper och inflammation. Ett lågt värde är därför inte diagnostiskt, men ett normalt värde utesluter PCD. Cilierörligheten

kan mätas in vitro på biopsier av slemhinnan. Man kan också placera en sackarinkristall på nedre konkan och mäta hur lång tid det tar tills smaken känns [14].

Elektronmikroskopi anses vara den tillförlitligaste undersökningsmetoden. Prov tas bäst från näsan med en borste. Figur 2 visar en normal cilie från näsan i längdsnitt och tvärsnitt. Cilien har olika struktur på olika avstånd från roten (se tvärsnitten i Figur 2). Vid misstanke om PCD granskar man den längre, mellersta delen, som i större förstoring ses i Figur 3. Närmare roten saknas de centrala ringarna (mikrotubuli). Mot toppen smalnar cilien av och strukturerna försvinner efter hand. Detta får inte misstolkas som medfödda defekter. Normalt finns 9 yttre ringpar, mikrotubuli. De kan vid inflammation variera betydligt i antal och läge, men det är en sekundär förändring.

Defekter i var och en av de namngivna strukturerna i Figur 3 kan ensamma eller i olika kombinationer orsaka PCD. Varje yttre ringpar har en yttre och en inre dyneinarm. Den vanligaste förändringen vid PCD är att de yttre och/eller inre dyneinarmarna saknas. Det är svårt att se alla armar på varje cilie. Därför bör armarna på ett 50-tal tvärsnittade cilier räknas i elektronmikroskop och medeltalet beräknas. Man ser de flesta yttre dyneinarmarna (7–9 av 9) i ett bra preparat, av de inre ser man ungefär hälften (3–5). Detta beror delvis på att fyra av de inre armarna genom att böja sig neråt gör att cilien slår [15, 16]. Armarna kommer därigenom att ligga i olika plan. De inre armarna är inte så tydliga som de yttre, och ibland ser man inte hela armen.

Den tekniska hanteringen av preparaten är också viktig. Vi har kommit fram till gränsvärdena 1,8 och 0,8 som medeltal i de yttre respektive inre dyneinarmarna för diagnosen PCD [17]. Varje laboratorium måste komma fram till sina egna medel- och gränsvärden. Det krävs intresse, noggrannhet och erfarenhet för att känna igen de subtila strukturerna (Figur 3). Ett dussin olika morfologiska varianter av PCD har beskrivits. Härtill kommer en variant utan elektronmikroskopiskt synliga förändringar [2]. I ett preparat med normala cilier står de centrala mikrotubuli parallellt med varandra (Figur 4). Vid PCD är de som regel slumpmässigt orienterade. Detta är dock ingen absolut regel och kan inte ensamt användas för diagnostiken.

»Utvecklingen går snabbt och ännu vet vi inte hur många ciliopatier som finns.«

Andra ciliopatier

Många ytepitelceller i luftvägar och äggledare har alltså talrika cilier. De flesta andra celler i kroppen har bara en cilie, kallad primär eller orörlig cilie. Detta har varit känt sedan slutet av 1800-talet, men man visste då inte att cilierna hade någon funktion. År 2001 sågs in vitro att böjning av cilien på njurepitel gav en kemisk reaktion [18]. År 2003 fann man att ett cilieprotein var förändrat vid Bardet–Biedls missbildningssyndrom [19]. En intensiv jakt på funktionen av de primära cilierna startade, och litteraturen exploderade under 2005–2006 [7]. De primära cilierna har en sensorisk funktion. Det har också de rörliga cilierna i luftvägarna, de känner av bitter smak [20]. Nedan följer några exempel på ciliernas funktion.

- I njurkanalerna böjs cilien av urinflödet och en kemisk reaktion utlöses. Flera olika gener kan drabbas med olika njurmissbildningar och syndrom som följd (Tabell I). Såväl gener som proteiner och deras normala funktioner är väl kända. Många olika mutationer är beskrivna. Också cilier i gallvägsceller och endotel känner av flöde [7].
- I retinas tappar och stavar är fotoreceptorerna förändrade cilier. Transporten av det ljuskänsliga rodopsinet upp i cilien kan bli utslagen. Cellerna dör genom apoptos med blindhet som följd [7].
- Fetma kan bero på att neuron i hypotalamus inte känner av leptin [7].
- Cilier i andra neuron reagerar på somatostatin, serotonin, melanin och adenylycyklas [21].
- En störning av »hedgehog«-signaleringen ger störningar under embryonallivet, som kan ge skelettmissbildningar som polydaktyli och missbildningar i centrala nervsystemet [7, 21].

En cilie innehåller åtminstone 250 proteiner. En del av dessa är också lokaliserade till cytoplasman. En mutation som drabbar

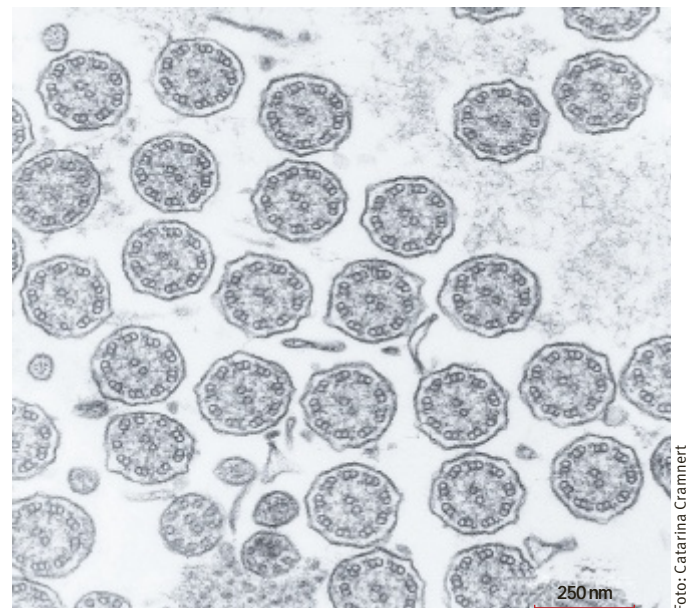
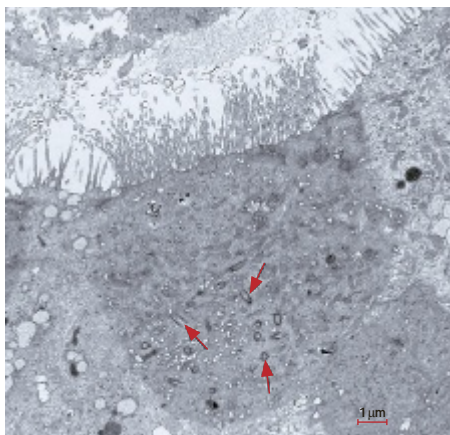


Foto: Catarina Crammert

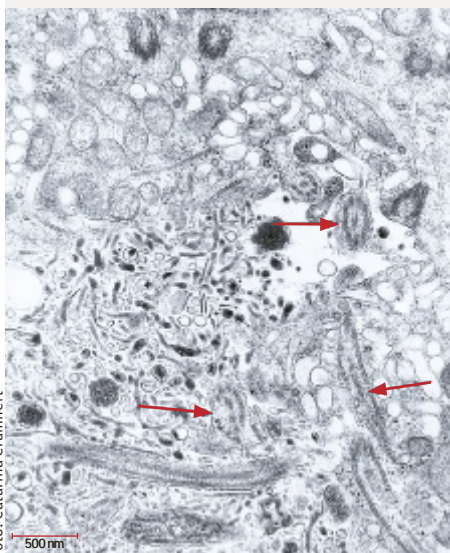
Figur 4. Tvärsnitt av nasala cilier och mikrovilli från normal person. De centrala mikrotubuli står parallellt anordnade i förhållande till varandra.

TABELL I. Några kända ciliopatier.

Syndrom	Klinik
Alströms syndrom	Retinal dystrofi, katarakt, nedsatt hörsel, fetma, insulinresistens, typ 2-diabetes, brist på tillväxthormon, fibros i inre organ, testisatrofi, luftvägsinfektioner.
Autosomal dominant polycystnjure	Cystor i njurar, pankreas och lever, artäraneurysm, dilatation av aortaroten, mitralisprolaps, kolondivertiklar, bråck i bukväggen. Risk för malignitetsutveckling föreligger i njurcystorna.
Autosomal recessiv polycystnjure	Njurcystor, kongenital hepatisk fibros, Carolis sjukdom.
Bardet–Biedls syndrom	Huvudsakliga symtom: blindhet, obesitas, njurmissbildningar, hypogonadism hos män, polydaktyli. Mindre symtom: diabetes mellitus, hypertoni, högt gontak, hjärtmissbildningar, mental retardation, astma. För diagnos behövs 4 huvudsakliga, eller 3 huvudsakliga och 2 mindre symtom.
Biemonds syndrom typ 2	Mental retardation, kolobom, fetma, polydaktyli, hypogonadism, hydrocefalus, facial dysostos.
Carpenters syndrom	Kraniosynostos, polysyndaktyli, fetma, hjärtmissbildningar.
Ellis–van Crevelds syndrom	Kondral och ektodermal dysplasi: korta revben, polydaktyli, kongenitala hjärtfel.
Jeunes asfyktiska torakala dystrofi	Kondrodysplasi, cystor i njurar, lever och pankreas, retinal degeneration.
Jouberts syndrom	Cerebellär vermishypoplasi med muskelsvaghet, förlängsam mental utveckling, hyperpné, retinal dystrofi, polydaktyli, njurdysplasi.
Lebers kongenitala amauros	Kongenital blindhet. Vid denna sjukdom har genterapi försökts med begränsad framgång.
McKusick–Kaufmans syndrom	Hydrometrokolpos, polydaktyli, hjärtmissbildningar.
Meckel–Grubers syndrom	Occipitalt meningoencefalocoele, polydaktyli, njurcystor, missbildning av leverns duktalplatta. Dessa patienter dör oftast under fosterlivet. Avsaknad av cilier i duktalplattan är beskriven.
Nefronoftis	Tubulointerstitiell njurskada, cerebellär hypoplasi, leverfibros, mental retardation, situs inversus.
Oralfacialdigitalt syndrom	Dysmorft ansikte, högt gontak, kluven gom eller läpp, tunghamartom eller tunglipom, polydaktyli, trakeobronkiala missbildningar, njurdysplasi, CNS-missbildningar. 13 typer var kända 2007.
Senior–Løkens syndrom	Nefronoftis, retinitis pigmentosa.
Ushers syndrom	Blindhet, dövhet. Kan ha luftvägsinfektioner.



Figur 5. Nasal cylindercell från det beskrivna ciliopatifallet. Inga cilier ses på ytan, däremot mikrovilli. Basalkroppar ligger nere i cytoplasman, några av dem är utmärkta med pilar.



Figur 6. Samma patient som i Figur 5. Pilarna pekar på 3 tydliga cilier i cytoplasman. Bilden återges med tillstånd av Acta Paediatrica [24].

Foto: Catarina Crammert

ett cilieprotein kan därför slå igenom i många olika organ. Symtomen blir mångfacetterade beroende på de olika funktionerna i organen och lappar delvis över varandra (Tabell I). De flesta ärvs recessivt, eftersom defekter i generna är orsaken. Termen autosomal dominant polycystnjure passar inte med detta. Förklaringen är att det fordras en ytterligare genetisk påverkan (second hit), som vid många cancrar. Detta är också orsaken till att inte alla nefron är drabbade utan bara omkring 5 procent [22].

Tabell I beskriver några syndrom som man säkert vet är ciliopatier. Samtliga symtom behöver inte förekomma samtidigt, och de behöver inte finnas vid födelens. Ofta finns underavdelningar inom syndromen. Situs inversus är inte vanligt. Nya referenser kommer ständigt och hittas lätt på nätet [7, 23].

Såväl genetisk bakgrund, drabbat protein, dess lokalisering och funktion är kända i detalj för de flesta av syndromen. Flera mutationer är beskrivna för många av dem. Besvär från luftvägarna är känt vid endast tre syndrom: vid Bardet–Biedls syndrom förekommer astma i 5 procent av fallen, vid Alströms syndrom beskrivs luftvägsinfektioner som ett av huvudsymtomen (precis som vid PCD), och vid Ushers syndrom. Vi har inte funnit någon elektronmikroskopisk undersökning av luftvägs-cilier vid de två förstnämnda (januari 2011). Vid Ushers syndrom har ett fall av cilieplasi beskrivits [24].

En term som man träffar på i samband med ciliopati är heterotaxi. Ordet betyder annan anordning (det vill säga av organen) men definieras som associerat med missbildningar, särskilt komplexa kardiovaskulära sådana [25]. Situs inversus totalis räknas inte dit. Ett typiskt exempel på heterotaxi är Ivemarks syndrom med aspleni eller polyspleni. De flesta heterotaxier är vad man vet inte ciliopatier, men 6–12 procent av patienterna med PCD har heterotaxi [26, 27]. Det finns alltså överlappningar mellan heterotaxier och ciliopatier, men sambanden är långt ifrån färdigutredda.

Fallbeskrivning

Vi fick våren 2004 en ciliebiopsi från en nyfödd flicka med missbildningar. Vi fann nästan inga cilier. De flesta basal-

»Utvecklingen går snabbt, och ännu vet vi inte hur många ciliopatier som finns.«

kropparna låg nere i cytoplasman (Figur 5). Talrika cystor utformades i cellerna, ofta med basalkroppar vid cystväggen. Enstaka cilier låg nere i cytoplasman (Figur 6). Där fanns också förstadier till basalkroppar. Fyra biopsier under 3 års tid gav samma resultat. Bilden stämde inte riktigt med någon ciliopati. Vi publicerade fallet som liknande oralfacialdigitalt syndrom [24]. Detta ovanliga fall fick senare namnet oralfacialdigital syndrome Stenram type.

Konklusion

Cilierna är likartat uppbyggda i olika organ. Mutationer som drabbar cilierna ger därför upphov till komplexa syndrom. Om en patient bara har några av symtomen i ett syndrom måste man vara beredd på att nya kan dyka upp, förstå orsaken och i bästa fall förebygga dem. Det kan också vara fråga om en ny variant. Utvecklingen går snabbt, och ännu vet vi inte hur många ciliopatier som finns.

■ *Potentiella bindningar eller jävsförhållanden: Inga uppgivna.*

REFERENSER

- Afzelius BA. Cilia-related diseases. *J Pathol.* 2004;204:470-7.
- Nonaka S, Tanaka Y, Okada Y, Takeda S, Harada A, Kanai Y, et al. Randomization of left-right asymmetry due to loss of nodal cilia generating leftward flow of extraembryonic fluid in mice lacking KIF3B motor protein. *Cell.* 1998;95:829-37.
- Song H, Hu J, Chen W, Elliot G, Andre P, Gao B, et al. Planar cell polarity breaks symmetry by controlling ciliary positioning. *Nature.* 2010;466:378-82.
- Sutherland MJ, Ware SM. Disorders of left-right asymmetry: heterotaxy and situs inversus. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009;151C:307-17.
- Gros J, Feistel K, Viebahn C, Blum M, Tabin CJ. Cell movements at Hensen's node establish left/right asymmetric gene expression in the chick. *Science.* 2009;324:941-4.
- Tobin J, Beales P. The nonmotile ciliopathies. *Genet Med.* 2009; 11:386-402.
- Hoyer-Fender S. Centriole maturation and transformation to basal body. *Semin Cell Dev Biol.* 2010;21:142-7.
- Lloyd C, Chan J. Not so divided: the common basis of plant and animal cell division. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7:147-52.
- Barbato A, Frischer T, Kuehni CE, Snijders D, Azevedo I, Baktai G, et al. Primary ciliary dyskinesia; a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *Eur Respir J.* 2009;34:1264-76.
- Lindemann CB, Lesich KA. Flagellar and ciliary beating: the proven and the possible. *J Cell Sci.* 2010;123:519-28.
- Mitchison TJ, Mitchison HM. How cilia beat. *Nature.* 2010; 463:308-9.
- Carlén B, Stenram U. Primary ciliary dyskinesia: A review. *Ultrastruct Pathol.* 2005;29: 217-20.
- Praetorius HA, Spring KR. Bending the MDCK cell primary cilium increases intracellular calcium. *J Membr Biol.* 2001; 184:71-9.
- Ansley SJ, Badano JL, Blacque OE, Hill J, Hoskins BE, Leitch CC, et al. Basal body dysfunction is a likely cause of pleiotropic Bardet-Biedl syndrome. *Nature.* 2003;425:628-32.
- Shah AS, Ben-Shahar Y, Moninger TO, Kline JN, Welsh MJ. Motile cilia of human airway epithelia are chemosensory. *Science.* 2009;325:1131-4.
- Green JA, Mykytyn K. Neuronal ciliary signaling in homeostasis and disease. *Cell Mol Life Sci.* 2010;67:3287-97.
- Gunay-Aygun M. Liver and kidney disease in ciliopathies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009;151C:296-306.
- Baker K, Beales PL. Making sense of cilia in disease: the human ciliopathies. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009; 151C:281-95.
- Stenram U, Cramnert C, Axfors-Olsson H. Oralfacialdigital-like syndrome with respiratory tract symptoms from birth and ultrastructural centriole/basal body disarray. *Acta Paediatr.* 2007;96:1101-4.
- Jacobs JP, Anderson RH, Weinberg PM, Walters HL 3rd, Tchervenkov CI, Del Duca D, et al. The nomenclature, definition and classification of cardiac structures in the setting of heterotaxy. *Cardiol Young.* 2007; 17 Suppl 2:1-28.