

7. Millat G, Marçais C, Tomasetto C, Chikh K, Fensom AH, Harzer K, Wenger DA, Ohno K, Vanier MT. Niemann-Pick C1 disease: correlations between NPC1 mutations, levels of NPC1 protein, and phenotypes emphasize the functional significance of the putative sterol-sensing domain and of the cysteine-rich luminal loop. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 1373-1385.
8. Vanier MT. Prenatal diagnosis of Niemann-Pick diseases types A, B and C. *Prenat Diagn* 2002; 22: 630-632.
9. Guo Y, He W, Boer AM, Wevers RA, de Bruijn AM, Groener JE, Hollak CE, Aerts JM, Galjaard H, van Diggelen OP. Elevated plasma chitotriosidase activity in various lysosomal storage disorders. *J Inher Metab Dis* 1995; 18: 717-22.
10. Imrie J, Vijayaraghaven S, Whitehouse C, Harris S, Heptinstall L, Church H, Cooper A, Besley GT, Wraith JE. Niemann-Pick disease type C in adults. *J Inher Metab Dis* 2002; 25: 491-500.
11. Hsu YS, Hwu WL, Huang SF, Lu MY, Chen RL, Lin DT, Peng SS, Lin KH. Niemann-Pick disease type C (a cellular cholesterol lipidosis) treated by bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 1999; 24: 103-107.
12. Lachmann RH. Miglustat. *Oxford GlycoSciences/Actelion. Curr Opin Investig Drugs* 2003; 4: 472-479.

Summary

Clinical and biochemical heterogeneity in Niemann-Pick disease type C. Ruijter GJG, Brunt ERP, Gijsbers CFM, Groener-JEM, Kramer MHH, van Diggelen OP, Poorthuis BJHM. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 343-348.

Niemann-Pick disease type C (NPC) is a neurodegenerative lysosomal storage disease with autosomal recessive transmission. The clinical manifestations of NPC are diverse. Most NPC patients exhibit progressive loss of motor skills and dementia combined with enlarged liver and spleen. The neurological hallmark of NPC is vertical supranuclear gaze palsy. In contrast to most other lysosomal storage diseases NPC is not caused by deficiency of an enzyme. Instead, the biochemical basis of NPC is a defect in intracellular trafficking of endocytosed cholesterol and glycolipids, resulting in lysosomal accumulation of unesterified cholesterol. The latter characteristic is used for biochemical diagnosis of NPC employing filipin-staining of unesterified cholesterol. In this paper we present two patients and discuss the variety of clinical signs, laboratory analysis and biochemistry of NPC.

Keywords: casuistic; inborn error of metabolism; inherited metabolic disease; diagnosis; Niemann-Pick type C; cholesterol; glycolipid; trafficking; lysosome

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 348-351

Twée patiënten met orgaanvergroting en een lysomale stapelingsziekte die niet met screenend stofwisselingsonderzoek te vinden is

K.E. NIEZEN-KONING, D.J. REIJNGOUD, J.P. RAKE, G.P.A. SMIT en F.J. van SPRONSEN

Het belang van goede diagnostiek naar lysosomale stapelingsziekten is de laatste tijd toegenomen. Niet alleen is dit van belang voor het geven van een prognose en het geven van erfelijkheidsadviezen, ook is behandeling in een toenemend aantal lysosomale stapelingsziekten deels of geheel mogelijk. Het overervingpatroon van de meer dan 40 verschillende lysosomale stapelingsziekten is autosomaal recessief, met als uitzondering hierop de ziekten van Fabry en van Hunter. De frequentie in voorkomen van lysosomale stapelingsziekten in Nederland blijkt 14 per 100.000 levend geboren te zijn (1). De ziekte van Gaucher is één van de belangrijkste lysosomale stapelingsziekten omdat de prevalentie hoog is (5 per 10.000 nieuwgeborenen), in het bijzonder onder de Asjkenazische Joodse bevolking. In dit overzicht beschrijven we twee patiënten met de ziekte van Gaucher waarbij de diagnostiek hieraan centraal staat.

Trefwoorden: erfelijke metabole ziekte; stofwisselingsziekte casuïstiek; diagnostiek; lysosomale stapelingsziekte; Gaucher

Casusbeschrijving

Patiënt 1 was een meisje van niet-consanguïne Nederlandse ouders. Elders werd de patiënte gezien omdat ze vanaf de leeftijd van ongeveer 4 maanden een 'knik' in ontwikkeling vertoonde. De lengte, het gewicht en de schedelomtrek lagen allemaal onder de $P < 3$. Tevens had de patiënte oogafwijkingen (strabisme) en was zij hypertoon. Ze had voedingsproblemen, en ontwikkelde recidiverende luchtweginfecties na verslikken. Het bloedbeeld liet een anemie en een trombopenie zien. Er werd ondermeer gedacht aan een metabool defect. De excretie van mucopolysacchariden, oligosacchariden en de sialzuurhoudende oligosacchariden was echter normaal. In het algemeen wordt dan gedacht dat lysosomale afwijkingen zijn uitgesloten. Ook andere metabole defecten werden uitgesloten geacht, omdat stofwisselingsonderzoek in urine en plasma hiervoor geen aanwijzingen bood. Gezien de recidiverende luchtweginfecties na verslikken werd er gedacht aan een tracheo-oesofageale fistel.

Werkgroep Metabole Ziekten, Beatrix Kinderkliniek AZG, Groningen

Correspondentie: Dr. K.E. Niezen-Koning, Academisch Ziekenhuis Groningen, Laboratorium Metabole Ziekten Y2109, Hanzeplein 1, 9713 GZ Groningen
E-mail: k.e.niezen-koning@med.rug.nl

In verband hiermee werd verwezen naar onze kliniek en werd een scapie gepland op de leeftijd van 8 maanden. Bij lichamelijk onderzoek werd een hepatosplenomegalie gevonden, waarbij zowel de lever als milt stevig aanvoelden. Gezien de combinatie van problemen, hepatosplenomegalie en de anemie en trombopenie kwamen de lysosomale afwijkingen sphingolipidosis en mucopolysaccharidose opnieuw in beeld. Enzymdiagnostisch onderzoek in leukocyten toonde een duidelijke deficiëntie aan van glucocerebrosidase (tabel). Hiermee was de diagnose M. Gaucher gesteld. Onderzoek naar mutaties in het glucocerebrosidasegen liet het genotype RecNci/RecNci zien, waarmee duidelijk werd dat het om een M. Gaucher type II ging. Patiënte is op de leeftijd van nauwelijks 1 jaar ten gevolge van ademhalingsproblemen overleden.

Patiënt 2 was een meisje van niet-consanguïne Nederlandse ouders, bij wie na bevalling in een algemeen ziekenhuis een aanhoudende trombopenie (en anemie) werd gevonden. Tevens viel een hepatosplenomegalie op. Zowel de lengte, het gewicht en de schedelomtrek lagen op de P=10. Uitgebreid hematologisch, immunologisch en infectiologisch onderzoek bood geen aanknopingspunten. Screenend metabool onderzoek toonde een lichte verhoging van de concentraties tyrosine, fenylalanine, ornithine en lysine in bloed. Deze afwijking werd verondersteld het gevolg te zijn van leverfunctiestoornissen. De excretie van mucopolysacchariden, oligosacchariden en siaalzuur/siaalzuurhoudende oligosacchariden in urine liet geen afwijkingen zien.

Op de leeftijd van 5 maanden werd de patiënte verwezen naar de kindergastro-enteroloog. Deze beoordeelde de lever en milt als stevig, zoals bekend bij stapelingsziekten. Lysosomale enzymdiagnostiek in leukocyten naar mogelijke lysosomale lipidoses volgde, waarbij een duidelijke deficiëntie van glucocerebrosidase werd aangetoond (tabel 1). Bij deze patiënte leverde onderzoek naar mutaties in het glucocerebrosidasegen het glucocerebrosidase-genotype L444P/L444P op, dat alleen voorkomt bij type-III-Gaucherpatiënten (2-5). Gezien het ontbreken van belangrijke neurologische problemen zoals scheelzien

of evidente hypertonie volgde enzymtherapie. In eerste instantie leverde de behandeling een belangrijke vooruitgang op. Het laatste jaar is er echter sprake van een duidelijke achteruitgang. Deze regressie is zowel neurologisch als niet-neurologisch.

Beschouwing

Bij beide patiënten werd gedacht aan een erfelijke metabole ziekte, maar werd deze groep van aandoeningen in eerste instantie uitgesloten geacht vanwege de resultaten van het screenend metabool onderzoek in plasma en urine. In dit type onderzoek wordt de excretie van mucopolysacchariden gekwantificeerd. De oligosacchariden en siaalzuur/siaalzuurhoudende oligosacchariden worden kwalitatief gescreend m.b.v. dunnelaag-chromatografie. Een sensitieve kwantitatieve screeningsmethode naar mucopolysaccharidose is een metachromatische test, de zgn. dimethyleenblauw(DMB)-methode (6, 7). Deze screenende diagnostiek heeft de beperking dat sphingolipidosen (behalve de G_{M1}- en G_{M2}-gangliosidosen) en mucopolysaccharidosen niet opgespoord kunnen worden. Door slechte wateroplosbaarheid van de door deze enzymen omgezette metabolieten worden deze stoffen niet in urine teruggevonden. Bij enkele sphingolipidosen wordt, indien gebruik gemaakt wordt van specifieke methoden, lipidenstapeling in het urinesediment gezien. Deze methode is zeer bewerkelijk en is in een beperkt aantal laboratoria beschikbaar. Wanneer alleen screenend metabool onderzoek wordt uitgevoerd bestaat de mogelijkheid dat specifieke diagnoses m.b.t. de lysosomale stapeling van lipiden zoals bij de ziekte van Gaucher gemist worden.

Zoals hierboven aangegeven, vormen de lipidenafbrekende enzymen betrokken bij G_{M1}- en G_{M2}-gangliosidosen een uitzondering. Deze gangliosidosen worden veroorzaakt door een deficiëntie van het β -galactosidase respectievelijk β -N-acetylhexosaminidase A+B. Aangezien de enzymen β -galactosidase en het B-iso-enzym van β -N-acetylhexosaminidase eveneens betrokken zijn bij de afbraak van de oligosaccharideketen van glycoproteïnen, wordt bij deficiëntie van deze enzymen toch een afwijkend profiel van de oligosacchariden in urine gevonden.

Tabel 1. Enzymactiviteiten van glucocerebrosidase, chitotriosidase, β -hexosaminidase en zure fosfatase in leukocyten en plasma.

Patiënt	Glucocerebrosidase nmol/u.mg eiwit	Chitotriosidase nmol/u.ml plasma	β -Hexosaminidase nmol/u.ml plasma	Zure fosfatase (type 5) nmol/u.ml plasma
Patiënt 1	1	23160	3695	10240
Patiënt 2	1	25120	5223	20925
Ref. waarde				
X _{gem} ± SD	9 ± 2			
Range (n)	5 - 13 (50)	7 - 124 (50)	477 - 1845 (50)	94 - 342 (50)
Gaucher type 2/3				
X _{gem} ± SD		20138 ± 12675	4318 ± 1378	9696 ± 6216
Range (n)		1626 - 39565 (8)	2067 - 6352 (8)	3093 - 20925 (5)
Gaucher type 1				
X _{gem} ± SD		21144 ± 14737	2529 ± 1095	2744 ± 2962
Range (n)		2085 - 74173 (52)	810 - 7064 (55)	103 - 18589 (47)

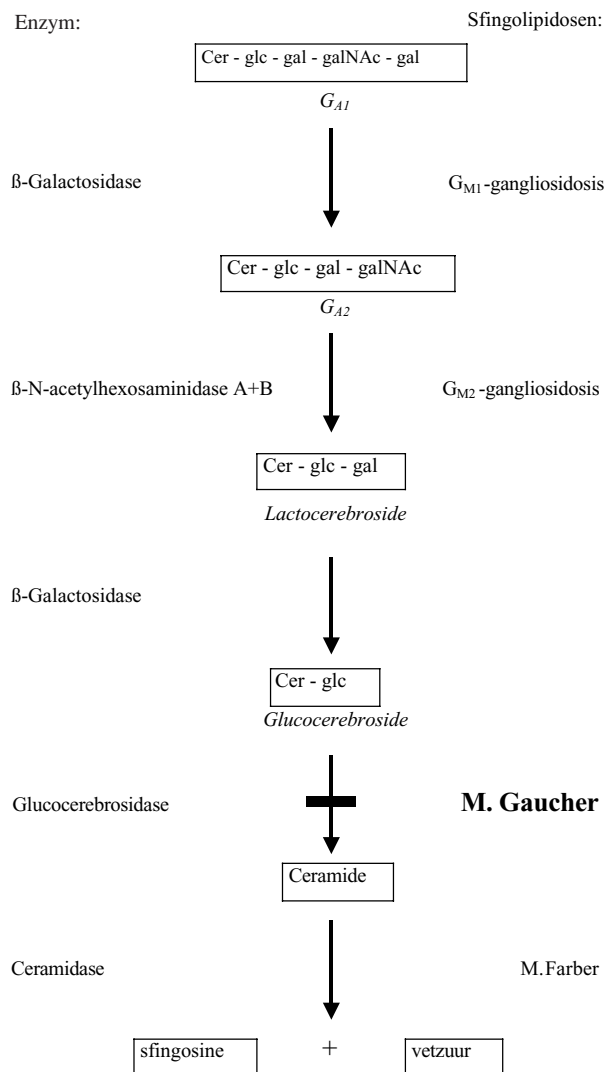
Het is bij diagnostiek van lysosomale stapelingsziekten gebruikelijk in leukocyten enzymdiagnostisch onderzoek te verrichten, waarna de gevonden enzymdiagnose in een ander type weefsel, i.c. huidfibroblasten, wordt bevestigd. Is de diagnose bevestigd, dan wordt bij de ouders van de indexpatiënt een huidbiopt afgenomen voor het kweken van huidfibroblasten. Dit laatste is om dragerschap van ouders aan te tonen ter voorbereiding van eventuele antenatale diagnostiek bij een toekomstige zwangerschap.

Bij de ziekte van Gaucher wordt het substraat glucosylcerebroside niet gemetaboliseerd tot ceramide (figuren 1+2) door een deficiëntie van het lysosomale enzym glucocerebroside (E.C. 3.2.1.45), met als gevolg dat glucosylcerebroside zich stapelt in het lysosoom van macrofagen. Bij onze patiënten waren de secundaire biochemische markers, β -hexosaminidase, zure fosfatase en chitotriosidase, in bloed sterk verhoogd (tabel 1). Verhoogd chitotriosidase in bloed duidt op aanwezigheid van veel Gaucher-cellen.

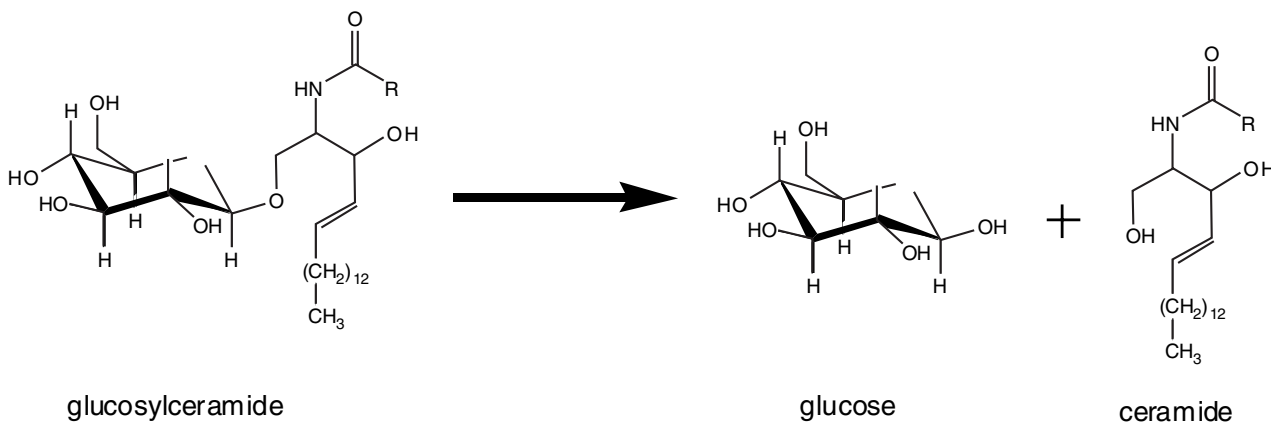
De 'klassieke' presentatie van een lysosomale stapelingsziekte is de knik in de ontwikkeling bij een leeftijd van 6 maanden. Alleen bij patiënt 1 was deze 'klassieke' knik in ontwikkeling aanwezig. De afwezigheid van een dergelijke knik sluit een lysosomale afwijking dus niet uit. De ziekte van Gaucher wordt gekenmerkt door een grote klinische variabiliteit (9), waarbij ook tijdens de zwangerschap en perinatale fase symptomen zoals hydrops foetalis respectievelijk dysmorphe kenmerken een indicatie zijn voor o.a. Gaucher (9-12). Andere symptomen welke in combinatie aanwezig kunnen zijn, zijn o.a. hepatosplenomegalie, trombopenie, anemie, gedragsproblemen, ichthyosis. De verdenking van een lysosomale stapelingsziekte in de gepresenteerde casus was uiteindelijk gebaseerd op de combinatie van de symptomen hepatosplenomegalie, anemie en trombopenie. De combinatie van klinische presentatie en gerichte laboratoriumdiagnostiek heeft geleid tot het stellen van diagnose M. Gaucher

Bij de meest voorkomende vorm van de ziekte van Gaucher, het niet neuropathische type (type I), kunnen klachten zich zowel op zeer jonge als op gevorderde leeftijd voordoen. De eerste symptomen variëren sterk in ernst. Op de voorgrond staan splenomegalie met afwijkend bloedbeeld. Het afwijkend

bloedbeeld bestaat uit trombopenie, soms in combinatie met anemie en leukopenie. Hoewel in een later stadium hepatomegalie kan optreden, zijn er geen leverfunctiestoornissen. De levensverwachting van een patiënt met type I is normaal. Uitgebreide klinische symptomatologie van M. Gaucher is beschreven in diverse handboeken (13, 14).



Figuur 1. Afbraakroute van een specifieke sfingolipide. Hierin staat aangegeven waar de diverse sfingolipidosen het metabolisme blokkeren (aangepast naar ref. 6).



Figuur 2. Glucosylceramide wordt door glucocerebroside bij zure pH gehydrolyseerd tot glucose en ceramide (aangepast naar ref. 8).

Inmiddels wordt uit de literatuur helder dat ook op basis van genotypering patiënten met M. Gaucher ingedeeld kunnen worden in type I, II of type III (2-5, 9). Bij type II is de genmutatie RecNci betrokken en bij type III de genmutatie L444P. Zowel type II als type III behoren tot de neuropathische groep, maar er is een duidelijk verschil in prognose, zodat enzymvervangende behandeling bij type II niet reëel is en bij type III reëel kan zijn.

De type-I-Gaucher-patiënten bezitten in het algemeen op één allel de N370S mutatie. Tezamen met de klinische en biochemische bevindingen biedt deze moleculaire benadering houvast voor prognose en adequate therapie bij Gaucher-patiënten (15).

Inmiddels is voor een groeiend aantal lysosomale stapelingsziekten een behandeling aanwezig of in ontwikkeling. Het zo vroeg mogelijk vaststellen van de diagnose bevordert derhalve de prognose van de patiënt.

Dankbetuiging

Dank is verschuldigd aan ing. Jenny Janssens-Puister en ing. Trijnie Bos voor glucocerebrosidase-activiteitsmeting. Ing. Theo v. Dijk willen we bedanken voor het maken van de figuren. Wij danken ook dr. Marcel Mannens (afdeling Klinische Genetica, AMC) en dr. Sonja van Weely (afdeling Biochemie AMC) voor mutatieonderzoek van het gen voor glucocerebrosidase respectievelijk enzymactiviteitsmeting in plasma.

Literatuur

- Poorthuis BJ, Wevers RA, Kleijer WJ, Groener JE, de Jong JG, van Weely S, Niezen-Koning KE, van Diggelen OP. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet* 1999; 105: 151-156.
- Filocamo M, Mazzotti R, Stroppiano M, Seri M, Giona F, Parenti G, Regis S, Corsolini F, Zoboli S, Gatti R. Analysis of the glucocerebrosidase gene and mutation profile in 144 Italian gaucher patients. *Hum Mutat* 2002; 20: 234-235.
- Koprivica V, Stone DL, Park JK, Callahan M, Frisch A, Cohen IJ, Tayebi N, Sidransky E. Analysis and classification of 304 mutant alleles in patients with type 1 and type 3 Gaucher disease. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 1777-1786.
- Zhao H, Bailey LA, Elsas LJ 2nd, Grinzaid KA, Grabowski GA. Gaucher disease: in vivo evidence for allele dose leading to neuronopathic and nonneuronopathic phenotypes. *Am J Med Genet* 2003; 116A: 52-56.
- Filocamo M, Bonuccelli G, Mazzotti R, Giona F, Gatti R. Identification of a novel recombinant allele in three unrelated Italian Gaucher patients: implications for prognosis and genetic counseling. *Blood Cells Mol Dis* 2000; 26: 307-311.
- Jong JGN de, Wevers RA, van den Berg CJM, Liebrand-van Sambeek MLF, van Rens AAET, Roelofs HGM. Diagnostiek van lysosomale stapelingsziekten. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 13-27.
- de Jong JGN, Wevers RA, Laarakkers C, Poorthuis BJHM. Dimethylmethylene blue based spectrophotometry of glycosaminoglycans in untreated urine: a rapid screening procedure for mucopolysaccharidosis. *Clin Chem* 1989; 35: 1472-1477.
- Dvir H, Harel M, McCarthy AA, Toker L, Silman I, Futerman AH, Sussman JL. X-ray structure of human acid- β -glucosidase, the defective enzyme in Gaucher disease. *EMBO reports* 2003; 4: 704-709.
- Wraith JE. Lysosomal disorders. *Semin Neonatol* 2002; 7: 75-83.
- Elstein D, Abrahamov A, Dweck A, Hadas-Halpern I, Zimran A. Gaucher disease: pediatric concerns. *Paediatr Drugs* 2002; 4: 417-426.
- Mignot C, Gelot A, Bessieres B, Daffos F, Voyer M, Menez F, Fallet Bianco C, Odent S, Le Duff D, Loget P, Fargier P, Costil J, Josset P, Roume J, Vanier MT, Maire, Billette de Villemeur T. Perinatal-lethal Gaucher disease. *Am J Med Genet* 2003; 120A: 338-344.
- Soma H, Yamada K, Osawa H, Hata T, Oguro T, Kudo M. Identification of Gaucher cells in the chorionic villi associated with recurrent hydrops fetalis. *Placenta* 2000; 21: 412-416.
- Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill 2001: 3635-3668.
- Fernandes J, Saudubray J-M, van den Berghe G, eds. Inborn metabolic diseases: diagnosis and treatment. Springer-Verlag 1996: 375-395.
- Groener JEM, Hollak CEM, Bakker HD, Boot RG, Aerts JMFG. Behandeling van patiënten met de ziekte van Gaucher aan de hand van chemische ziektemarkers. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2003; 28: 352-355.

Summary

Two patients with organomegaly and a lysosomal storage disease, that cannot be found by regular metabolic screening. Niezen-Koning KE, van Spronsen FJ, Reijngoud DJ, Rake JP, Smit GPA. Ned Tijdschr Klin Chem 2003; 28: 348-351.

The importance of adequate diagnostics for lysosomal storage diseases has increased recently. This is not only of importance for giving a prognosis, but also for genetic counseling and moreover the treatment of an increasing number of lysosomal storage diseases are possible, partly or completely. Gaucher disease is one of the most important lysosomal storage diseases with a disease incidence which is high (5 per 10.000 new-borns), particularly in the Ashkenazi Jewish population. In this communication we present two patients with Gaucher disease focussing on the diagnostics.

Key words: casuistic; inborn error of metabolism; inherited metabolic disease; lysosomal storage disease; diagnostics; Gaucher; diagnosis