

Een premature tweeling met icterus, stollingsstoornissen en een *E. coli*-sepsis

A.M. BOSCH¹, H.R. WATERHAM², M. DURAN² en H.D. BAKKER³

Een mannelijke premature tweeling presenteerde zich in de tweede levensweek met hyperbilirubinemie, stollingsstoornissen en sepsis. De diagnose klassieke galactosemie werd vastgesteld door middel van metabool onderzoek en bevestigd door mutatieanalyse. Klassieke galactosemie is een autosomaal recessieve erfelijke stoornis van de galactosestofwisseling en wordt veroorzaakt door een deficiëntie van het enzym galactose-1-fosfaat-uridylyltransferase (GALT). Het GALT-enzym is verantwoordelijk voor de omzetting van galactose-1-fosfaat met UDP-glucose in glucose-1-fosfaat en UDP-galactose. Het gen is gelokaliseerd op chromosoom 9p13. De diagnostiek bestaat uit basisdiagnostiek in de urine, het meten van het intra-erythrocytaire galactose-1-fosfaat, de GALT-enzymactiviteit en mutatieanalyse. De meeste patiënten presenteren zich na inname van galactose in de neonatale periode met voedingsproblemen, hepatomegalie, leverfalen, hypotonie, cataract, hypoglykemie en sepsis. Onbehandeld is galactosemie een levensbedreigende aandoening. Een streng galactose-arm dieet is de enige therapie, maar ondanks dit dieet krijgen veel patiënten complicaties zoals vertraagde psychomotore ontwikkeling, gestoorde taal-spraakontwikkeling, dyspraxie, cognitieve defecten en hypergonadotroop hypogonadisme.

Trefwoorden: casuïstiek; erfelijke metabole ziekte; stofwisselingsziekte; galactosemie; icterus; sepsis; diagnostiek

Casusbeschrijving

Een mannelijke tweeling werd, ten gevolge van cervixinsufficiëntie bij de moeder, prematuur geboren na een zwangerschapsduur van 30 weken en 4 dagen. De geboortegewichten waren respectievelijk 1670 en 1490 gram. Beide jongens hadden een goede start maar waren zuurstofbehoefstig gedurende de eerste twee levensdagen. Op de tweede levensdag werd ge-

start met orale voeding welke goed werd verdragen door één patiënt. De andere patiënt kreeg in verband met voedingsretenties enkele dagen tevens parenterale voeding, maar zijn orale voeding kon zonder problemen worden uitgebreid op de vierde levensdag.

Op de derde levensdag ontwikkelden beide jongens een hyperbilirubinemie, waarvoor intermitterend fotherapie werd gegeven tot en met de achtste dag, met hoogste bilirubinewaarden in bloed van respectievelijk 172 en 197 $\mu\text{mol/l}$ op dag zeven. Op de twaalfde levensdag werd bij beide jongens een verlengde bloedingstijd vastgesteld. Uitgebreid stollingsonderzoek dat werd ingezet toonde een sterk verlengde APTT en PT, sterk verlaagde factor V en VII, anti-trombine, fibrinogeen en factor-VII-antigeen en verhoogde D-dimeren. Ook bleek er sprake te zijn van een icterus prolongatus met verhoogde serumspiegels van totaal en direct bilirubine, transaminases en ammoniak. Toen beide jongens klinisch een sepsis ontwikkelden op de vijftiende levensdag, waarbij een *E. coli* en een *Enterococcus* uit het bloed werden gekweekt, werden de eerder beschreven afwijkingen hieraan geweten. Als behandeling kregen zij antibiotica, 'fresh frozen plasma' en vitamine K.

Op de twaalfde levensdag werd metabool onderzoek in urine en plasma ingezet in verband met de onduidelijkheid over de oorzaak van de stollingsafwijkingen. Veel van de aminozuren in plasma (zoals tyrosine, methionine, threonine) bleken fors verhoogd te zijn, passend bij leverproblemen. In verband met de mogelijkheid van klassieke galactosemie werd ook het intra-erythrocytaire galactose-1-fosfaat bepaald (normaal niet aantoonbaar). Dit was bij beide kinderen sterk verhoogd, respectievelijk 13,6 en 18,9 $\mu\text{mol/g Hb}$. De galactose-1-fosfaat-uridylyltransferase-activiteit in erythrocyten was bij beiden sterk verlaagd: respectievelijk 2,0 en $<0,5$ micromol/uur. g Hb (normaalwaarde $32,8 \pm 5,4$). De diagnose klassieke galactosemie werd gesteld. Deze werd bevestigd door mutatieanalyse van het GALT-gen welke liet zien dat beide patiënten samengesteld heterozygoot waren voor een Q188R- en een K285N-mutatie. Inmiddels was na afname van de metabole diagnostiek gestart met een galactosevrije voeding in de vorm van soja-voeding. Hierop toonden de patiënten goed herstel. Bij oogheelkundig onderzoek na diagnose waren er geen afwijkingen aantoonbaar bij de eerste patiënt, de tweede echter toonde een beginnend cataract links. Bij controle na 3 maanden was deze afwijking verdwenen.

Ziekenhuis Gooi-Noord, Blaricum (thans: Afdeling kindergeneeskunde, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam)¹; Laboratorium Genetische Metabole Ziekten² en Afdeling kindergeneeskunde³, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam.

Correspondentie: Dr. H.D. Bakker, Afdeling kindergeneeskunde, Academisch Medisch Centrum, Postbus 22660, 1100 DD Amsterdam
E-mail: H.D.Bakker@amc.uva.nl

Beschouwing

Biochemie en moleculaire biologie

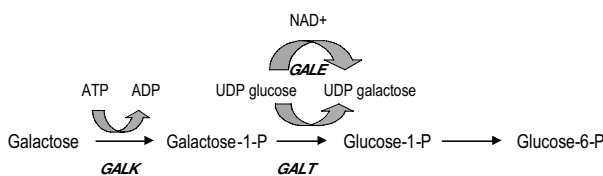
Het galactosemetabolisme (figuur 1) bestaat uit een drietal enzymen, galactokinase (GALK), galactose-1-fosfaat-uridyltransferase (GALT) en galactose-epimerase (GALE). GALK is verantwoordelijk voor de conversie van galactose in galactose-1-fosfaat, GALT voor de omzetting van galactose-1-fosfaat met UDP-glucose in glucose-1-fosfaat en UDP-galactose en GALE voor de interconversie van UDP-glucose en UDP-galactose. Mutaties in elk van de genen coderend voor deze drie enzymen kunnen leiden tot (sterk) verminderde activiteit van het betreffende enzym, resulterend in variabele klinische symptomen als gevolg van een defect in het galactosemetabolisme.

Klassieke galactosemie (mim 230400) is de meest voorkomende van de drie galactosemieën en wordt veroorzaakt door een deficiëntie van het GALT-enzym. Het GALT-gen codeert voor een peptide van 379 aminozuren met een moleculair gewicht van ongeveer 43 kD. Het functionele GALT-enzym bestaat uit twee van deze peptiden die samen een homodimeer vormen.

Het GALT-gen is gelokaliseerd op chromosoom 9p13, is 4,3 kb groot en bestaat uit 11 exonen en 10 intronen (1). In juli 2003 waren er 187 verschillende mutaties in het GALT-gen gerapporteerd (2). Een verandering van de glutamine op positie 188 in een arginine (Q188R) is de meest voorkomende mutatie in de Europese populatie met een frequentie van ~64% en is geassocieerd met een slechte prognose (3). Daarnaast zijn er nog een aantal andere meer frequent voorkomende mutaties beschreven, zoals de 'Duarte'-variant (N314D gekoppeld met een 4-bp-deletie in de promotor) welke de activiteit van het gecodeerde enzym met 50% verlaagt, de 'Los Angeles'-variant (N314D zonder de promotordeletie, maar gekoppeld aan een L218L-polymorfisme) welke resulteert in een toegenomen enzymactiviteit (4), en de zogenaamde 'Negro'-variant (S135L) met een milde presentatie en weinig symptomen (5).

Diagnostiek

Basisdiagnostiek. Galactose is een reducerende suiker, die gemakkelijk in urine wordt uitgescheiden. Bepaling van de urinereductie is dan ook een eerste benadering voor het vaststellen van galactosurie. Men moet zich ervan vergewissen dat er geen glucosurie is, want deze leidt natuurlijk ook tot een positieve reductietest.



Figuur 1. Het galactosemetabolisme. GALK: galactokinase, GALT: galactose-1-fosfaat-uridyltransferase, GALE: galactose-epimerase

De tweedelijns benadering is directe analyse van galactose en galactitol, het reductieproduct van galactose. Gaschromatografische bepaling van suikers en suikeralcoholen in urine is hiervoor het meest geschikt. Het voordeel van de meting van galactitol is het feit dat deze stof in urine aanwezig blijft, ook nadat lactosebeperkt dieet is ingesteld. Zo kan men een getransfundeerde, uit voorzorg behandelde neonat toch diagnostiseren.

Enzymdiagnostiek. De activiteit van het enzym galactose-1-fosfaat-uridyltransferase wordt gemeten in erythrocyten van patiënten (geïsoleerd uit heparine- of EDTA-bloed) en betreft het bepalen van de omzettingssnelheid van radioactief gelabelled galactose-1-fosfaat in UDP-galactose. Daarnaast kan het intracellulaire galactose-1-fosfaat worden bepaald door middel van een spectrofotometrische assay.

DNA diagnostiek. Mutatieanalyse bij patiënten vindt plaats d.m.v. het sequencen van alle coderende exonen plus flankerende intronsequenties van het GALT-gen. Deze exonen met flankerende intronsequenties worden m.b.v. PCR geamplificeerd uit genomisch DNA van patiënten. Sedert 1997 wordt de DNA-diagnostiek voor galactosemie verricht op het AMC te Amsterdam. Inmiddels is bij 117 patiënten tussen de 0 en 45 jaar mutatieanalyse verricht waarbij de Q188R-mutatie het vaakst is aangetroffen (59%), overeenkomstig wat verwacht kon worden uit de literatuur (3).

Kliniek

De incidentie van klassieke galactosemie (MIM 230400) in Nederland is 1:33.000 (6). De meeste patiënten met galactosemie presenteren zich in de eerste twee levensweken, na inname van lactose -de voornaamste bron van galactose- met voedingsproblemen, icterus, hepatomegalie, leverfalen, hypotonie, cataract, hypoglykemie en sepsis. Onbehandeld is galactosemie een levensbedreigende aandoening (7). Bij verdenking van galactosemie wordt onmiddellijk gestart met een galactosevrij dieet, in afwachting van de resultaten van het diagnostisch onderzoek. Op de zuigelingenleeftijd is een galactosevrij dieet (sojamelk) de enige therapie. Daarmee verdwijnen de meeste klinische verschijnselen binnen twee weken. Na de zuigelingenleeftijd wordt overgegaan op een streng galactosearm dieet, onder meer omdat veel groentes en fruit geringe hoeveelheden galactose bevatten. Uit onderzoek verricht in de afgelopen tien jaar blijkt dat, ondanks dit dieet, toch veel patiënten aan complicaties lijden, zoals vertraagde psychomotorische ontwikkeling, gestoorde taal-spraakontwikkeling, dyspraxie, cognitieve defecten en hypergonadotrop hypogonadisme (6-10). De pathogenese van deze complicaties is onbekend. Eén van de mogelijke oorzaken is zelf-intoxicatie door endogene galactosesynthese uit glucose (11). Ook zijn er diverse afwijkingen in de stofwisseling van glycoproteïnen beschreven die een rol kunnen spelen in de langetermijncomplicaties van GALT-deficiëntie (12).

Literatuur

1. Leslie ND, Immerman EB, Flach JE, Florez M, Fridovich-Keil J, Elsas L. The human galactose-1-phosphate uridylyltransferase gene. *Genomics* 1992; 14: 474-480.
2. Tyfield L, Carmichael D. The galactose-1-phosphate uridylyltransferase mutation analysis database home page 2003; <http://alspac1.ich.bris.ac.uk/galtdb/>.
3. Tyfield L, Reichardt J, Fridovich-Keil J, Croke DT, Elsas II JL, Strobl W et al. Classical Galactosemia and mutations at the galactose-1-phosphate uridylyl transferase gene. *Hum Mutat* 1999; 13: 417-430.
4. Langley SD, Lai K, Dembure PP, Hjelm LN, Elsas LJ. Molecular basis for Duarte and Los Angeles variant galactosemia. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 366-372.
5. Lai K, Langley SD, Singh RH, Dembure PP, Hjelm LN, Elsas LJ II. A prevalent mutation for galactosemia among black Americans. *J Pediatr* 1996; 128: 89-95.
6. Bosch AM, De Klerk JBC, Poll-The BT, Van Spronsen FJ, Wanders RJA, Bakker HD. Galactosemie in Nederland, opnieuw beschouwd. *Tijdschr Kindergeneesk* 2003; 71: 49-53.
7. Holton JB, Walter JH, Tyfield LA. Galactosemia. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases*, 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001:1553-1587.
8. Waggoner DD, Buist NRM, Donnell GN. Long-term prognosis in galactosemia: results of a survey of 350 cases. *J Inher Metab Dis* 1990; 13: 802-818.
9. Schweitzer S, Shin Y, Jakobs C, Brodehl J. Long-term outcome in 134 patients with galactosemia. *Eur J Pediatr* 1995; 152: 36-43.
10. Segal S. Galactosemia today: The enigma and the challenge. *J Inher Metab Dis* 1998; 21: 445-471.
11. Berry GT, Nissim I, Lin Z, Mazur AT, Gibson JB, Segal S. Endogenous synthesis of galactose in normal men and patients with hereditary galactosemia. *Lancet* 1995; 346: 1073-1074.
12. Jaeken J, Kint J, Spaapen LJM. Serum lysosomal enzyme abnormalities in galactosemia. *Lancet* 1992; 340: 1472-1473.

Summary

Premature twins suffering from jaundice, coagulation problems and E. coli sepsis. Bosch AM, Waterham HR, Duran M, Bakker HD. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 341-343.

Male premature twins presented in the second week of life with hyperbilirubinemia, coagulation problems and sepsis. Classical galactosemia was diagnosed by metabolic investigations and the diagnosis was confirmed by mutation analysis. Classical galactosemia is an autosomal recessive disorder of galactose metabolism caused by a deficiency of the enzyme galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GALT). The GALT enzyme is responsible for the conversion of galactose-1-phosphate with UDP glucose to glucose-1-phosphate and UDP galactose. The gene encoding GALT is located on chromosome 9p13. Diagnostic evaluation consists of the determination of galactose and galactitol in urine, the determination of the red-cell galactose-1-phosphate, measurement of the GALT enzyme activity and mutation analysis. Patients present with hepatomegaly, liver failure, food intolerance, hypoglycaemia, muscle hypotonia, sepsis and cataract. Treatment by completely restricting lactose-containing foods is life saving but many patients develop late complications such as problems of mental development, disorders of motor function, disorders of speech and hypergonadotrophic hypogonadism.

Key words: casuistic; inborn error of metabolism; inherited metabolic disease; galactosemia; icterus; sepsis; diagnosis

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 343-348

Klinische en biochemische variabiliteit bij de ziekte van Niemann-Pick type C

G.J.G. RUIJTER¹, E.R.P. BRUNT², C.F.M. GIJSBERS³, J.E.M. GROENER^{1,4}, M.H.H. KRAMER⁵,
O.P. van DIGGELEN⁶ en B.J.H.M. POORTHUIS¹

De ziekte van Niemann-Pick type C (NPC) is een autosomaal recessieve neurodegeneratieve ziekte die behoort tot de groep van lysosomale stapelingsziekten. Klinisch wordt de ziekte gekenmerkt door progressieve psychomotorie retardatie gecombineerd met hepat- en/of splenomegalie. Pathognomonisch voor NPC is supranucleaire verticale blikparese. Hoewel

NPC traditioneel als ziekte bij kinderen wordt gezien, worden steeds meer patiënten beschreven waarbij de eerste symptomen van NPC zich pas op volwassen leeftijd manifesteren. In tegenstelling tot de meeste andere lysosomale stapelingsziekten is er bij NPC geen sprake van een enzymdeficiëntie. De oorzaak van de ziekte is een defect in het intracellulair transport van cholesterol en glycolipiden welke door de cel zijn opgenomen door endocytose. Als gevolg hiervan stapelt cholesterol in de lysosomen. In de diagnostiek wordt hiervan gebruikt gemaakt door filipinekleuring van vrij cholesterol in gekweekte cellen. De klinische variabiliteit, laboratoriumdiagnostiek en biochemische achtergrond van NPC worden in dit artikel besproken aan de hand van twee casus.

Laboratorium Metabole Ziekten, Leids Universitair Medisch Centrum¹, Afdeling Neurologie, Academisch Ziekenhuis Groningen², Juliana Kinderziekenhuis, Den Haag³, Huidig adres: Afdeling Biochemie, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam⁴, Afdeling Interne Geneeskunde, Meander Medisch Centrum, Amersfoort⁵, Afdeling Klinische Genetica, Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam⁶

Correspondentie: Dr. G.J.G. Ruijter, Laboratorium Metabole Ziekten, Leids Universitair Medisch Centrum, Gebouw 1 P3-P, Postbus 9600, 2300RC Leiden
E-mail: g.j.g.ruijter@lumc.nl

Trefwoorden: casuïstiek; erfelijke metabole ziekte; stofwisselingsziekte; diagnostiek; Niemann-Pick type C; cholesterol; glycolipide; intracellulair transport; lysosoom