

Behandeling van patiënten met de ziekte van Gaucher aan de hand van chemische ziektemarkers

J.E.M. GROENER¹, C.E.M. HOLLAK², H.D. BAKKER³, R.G. BOOT¹ en J.M.F.G. AERTS¹

De ziekte van Gaucher is een erfelijke lysosomale stapelingsziekte die gekenmerkt wordt door de ophoping van pathologische, vetstapelende macrofagen in diverse weefsels. De ziekte is zeer succesvol te behandelen door enzymtherapie waarbij macrofagen voorzien worden van het ontbrekende glucocerebrosidase. Vanwege het heterogene klinische beeld van de ziekte van Gaucher en de grote kosten die gepaard gaan met enzymtherapie bestond er een grote behoefte aan plasmamarkers voor Gaucher-cellen. Intensief klinisch en laboratoriumonderzoek in het AMC heeft geleid tot de ontdekking van een geschikte marker voor Gaucher-cellen: het enzym chitotriosidase dat in sterk verhoogde concentraties voorkomt in plasma van symptomatische Gaucher-patiënten. Plasmachitotriosidase heeft zich ontwikkeld als een belangrijke biochemisch hulpmiddel voor het vervolgen van ziekte alsook het optimaliseren van de therapie.

Trefwoorden: casuïstiek; erfelijke metabole ziekte; stofwisselingsziekte; ziekte van Gaucher; chitotriosidase; enzymtherapie; lysosomen; behandeling

De ziekte van Gaucher is een autosomaal recessieve lysosomale stapelingsziekte, die veroorzaakt wordt door een deficiëntie van het lysosomale enzym glucocerebrosidase (1). Als gevolg van deze deficiëntie stapelt het substraat glucosylceramide in weefselmacrofagen. Stapelingscellen (Gaucher-cellen) worden vooral aangetroffen in milt, lever en beenmerg en resulteren in vergroting van deze organen, anemie, trombocytopenie, leukopenie en botklachten. In een kleine groep patiënten treden ook neurologische verschijnselen op. Er bestaan drie fenotypen van de ziekte van Gaucher, waarbij het belangrijkste verschil ligt in het optreden van en de voortgang van neurologische complicaties.

Type 1, de adulte of non-neuronopathische vorm, komt het meest voor; in Nederland wordt de prevalentie geschat op 1 op 40.000. Het verloop is chronisch en

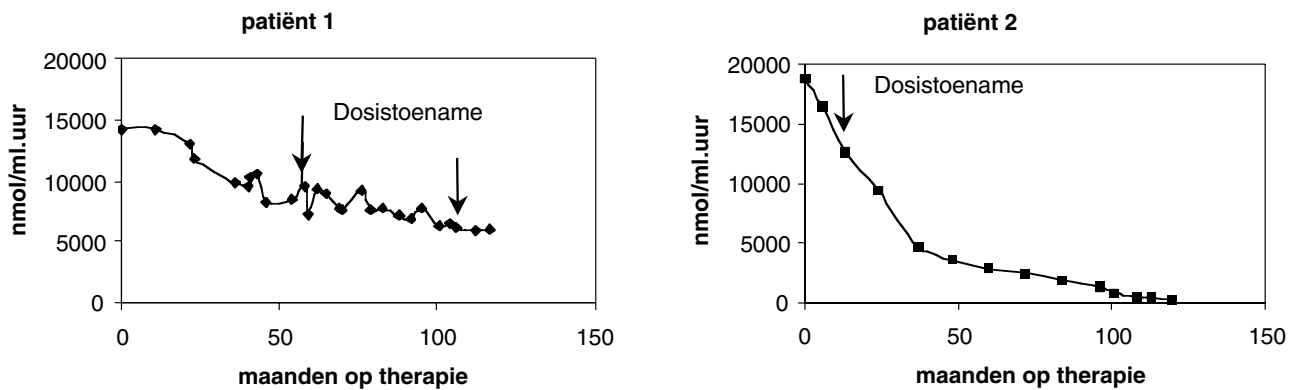
zonder neurologische symptomen. De leeftijd waarop deze ziekte zich manifesteert en de ernst van de klachten zijn sterk wisselend. Type 2 is de acute neuronopathische of infantiele vorm. De gemiddelde leeftijd waarop de ziekte begint is 3 maanden en de eerste neurologische klachten doen zich gewoonlijk voor tegen de 6^e levensmaand. De patiënten overlijden voor de leeftijd van 2 jaar. Type 3 wordt ook wel de subacute, neuronopathische of juveniele vorm genoemd. Deze vorm begint meestal op de kindereleeftijd en kent een langzaam progressief neurodegeneratief verloop. Horizontale blikparese en myoclonie zijn hierbij typische neurologische afwijkingen, maar ook bij deze vorm kan de presentatie zeer variabel zijn. Vrij recent is nog een vierde fenotype beschreven: een neonatale vorm, vaak zich presenterend met hydrops foetalis en zeer ernstige huidafwijkingen met fatale afloop in utero of kort na de geboorte (2). De ziekte van Gaucher type 1 was in 1990 de eerste lysosomale stapelingsziekte die succesvol behandeld kon worden door chronische toediening van recombinant humaan glucocerebrosidase: enzymtherapie (Cerezyme, Genzyme) (3). Onderzoek bij type-3-patiënten toonde aan dat ook deze patiënten baat hebben bij enzymtherapie, zij het uitsluitend op de niet-neurologische manifestaties van de ziekte. De afgelopen jaren heeft onderzoek plaatsgevonden naar behandeling door middel van substraatdeprivatie, waarbij de synthese van het glucosylceramide wordt verminderd (4). Recent is de orale behandeling met N-butyldeoxynojirimycine (Zavesca, OGS) voor volwassen type-1-Gaucher-patiënten geregistreerd, zij het louter voor patiënten die niet in staat zijn enzymtherapie te ondergaan.

In 1992 is in het AMC in Amsterdam een studie gestart naar de effecten en bijwerkingen van enzymtherapie. De studie had onder andere als doel om bij volwassen Gaucher-patiënten de laagste dosering per individuele patiënt vast te stellen (5). Dit vereiste het nauwkeurig vervolgen van de effectiviteit van therapie. De respons op therapie werd vastgesteld door regelmatige bepaling van hematologische parameters, milt- en levervolumina en onderzoek naar afwijkingen in skelet en beenmerg. Een beter inzicht in de daadwerkelijke aanwezigheid van pathologische Gauche-cellen verspreid over diverse weefsels bleek noodzakelijk. Een zoektocht naar een plasmamarker voor Gaucher-cellen werd hiertoe gestart.

De ziekte van Gaucher kenmerkt zich door velerlei abnormaliteiten in plasma van deze patiënten (6).

Afdeling Biochemie¹, Afdeling Hematologie², Afdeling Kindergeneeskunde³, Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Correspondentie: Dr. J.E.M. Groener, Academisch Medisch Centrum, Afdeling Biochemie, K1-157, Meibergdreef 15, 1105 AZ Amsterdam
E-mail: j.e.groener@amc.uva.nl



Figuur 1. Plasmachitotriosidaseactiviteit in twee met enzymtherapie behandelde patiënten met de ziekte van Gaucher type 1.

Verhoogde concentraties van onder meer hexosaminidase, zure fosfatase, angiotensin convertende enzymen, verschillende cytokines en macrofaagmarkers en verlaagde concentraties van LDL- en HDL-cholesterol komen algemeen voor bij symptomatische patiënten met de ziekte van Gaucher. Door de grote interindividuele verschillen, de vaak matige verhogingen en het gebrek aan specificiteit, is geen van deze parameters geschikt om als marker voor de ernst van het ziektebeeld en vroege voorspeller van de respons op therapie gebruikt te kunnen worden.

Uitgebreide vergelijkende analyses van plasmamonsters van patiënten met de ziekte van Gaucher en controles door AMC-onderzoekers hebben uiteindelijk geleid tot de ontdekking van een nieuw enzym dat sterk verhoogd is bij de ziekte van Gaucher: het chitotriosidase (7). Het enzym is genoemd naar zijn mogelijkheid het artificiële substraat 4-methylumbelliferylchitotrioside te hydrolyseren. In symptomatische patiënten met de ziekte van Gaucher zijn de plasmawaarden van het chitotriosidase gemiddeld 600x verhoogd (chitotriosidaseactiviteit: 3000- 60.000 nmol/ml.uur) vergeleken met controles (4-74 nmol/ml.uur). Asymptomatische patiënten hebben een marginale verhoging van dit enzym in plasma (90-195 nmol/ml.uur). Verder onderzoek heeft aangetoond dat het chitotriosidase specifiek gesynthetiseerd en uitgescheiden wordt door macrofagen en dat de dramatische verhoging van de activiteit in het plasma van Gaucher-patiënten direct gerelateerd is aan de aanwezigheid van Gaucher-cellen. In-situ-hybridisatie en histochemische analyses hebben aangetoond dat het enzym selectief wordt geproduceerd door Gaucher-cellen. Dit gegeven, en de mogelijkheid om de activiteit van dit enzym gevoelig te meten in plasma heeft chitotriosidase gemaakt tot een geschikte surrogaat-ziektemarker.

Een grondige retrospectieve analyse van de ernst van de ziekte en plasmachitotriosidasespiegels in het Nederlandse cohort Gaucher-patiënten heeft er toe geleid dat door het Gaucher Instituut Nederland (GIN) besloten is om plasmachitotriosidasesniveaus te laten meewegen in de beslissing tot de start van de enzymtherapie. Zo is gebleken dat bij Gaucher-patiënten met een plasmachitotriosidasespiegel hoger dan 15.000 eenheden of bij een duidelijke stijging van de chitotriosidaseactiviteit eigenlijk altijd uitgebreide

ziekteverschijnselen aanwezig zijn die behandeling noodzakelijk maken. Metingen van plasmachitotriosidase in vele honderden patiënten met de ziekte van Gaucher wereldwijd, hebben laten zien dat bij succesvolle behandeling met enzymtherapie altijd een sterke daling in de plasma-activiteit optreedt. Het ontbreken van een daling van meer dan 15% van de initiële waarde na het eerste behandlungsjaar wordt daarom beschouwd als een vroeg teken van een slechte respons en kan voor de behandelende arts aanleiding geven tot verhoging van de Cerezyme-dosering. Het stijgen van plasmachitotriosidase als gevolg van dosisverlagingen tijdens onderhoudstherapie wordt vergelijkbaar geïnterpreteerd. Aan de hand van een aantal patiëntenbeschrijvingen wordt in deze bijdrage duidelijk gemaakt dat de bepaling van het chitotriosidase een belangrijke toevoeging is voor het bepalen van de ernst en uitgebreidheid van de ziekte, waardoor het van grote waarde is bij het stellen van de diagnose, het bepalen van de noodzaak tot behandelen en het monitoren van het effect van therapie.

Casusbeschrijving, als illustratie van toepassing van chitotriosidase in de Gaucher-kliniek

Patiënt 1 is een man met M. Gaucher type 1¹. Op 33-jarige leeftijd was de milt verwijderd vanwege mechanische bezwaren en een ernstige cytopenie. Hierna ontstaan geleidelijk een progressieve hepatomegalie, ernstige botafwijkingen en beenmerginfiltratie, zich opnieuw uitend in anemie en trombocytopenie. In oktober 1992 wordt gestart met enzymtherapie 15 U/kg/maand; hij was toen 44 jaar. Binnen enkele maanden is de cytopenie verdwenen, maar de hepatomegalie en botafwijkingen veranderen nauwelijks. Ondanks dosisverhogingen (figuur 1) is er weinig verbetering hierin merkbaar. De geringe daling van het chitotriosidase reflecteert dit.

Patiënt 2 is een vrouw met M. Gaucher type 1 en zeer forse hepatosplenomegalie met hieraan gerelateerde cytopenie. Er zijn geen botklachten, maar bij beeldvormend onderzoek worden wel botafwijkingen vastgesteld. Zij begint met enzymtherapie in oktober 1992 (15 U/kg/maand), ze is dan 52 jaar, waarna snel

¹Zie voor een bijdrage over de diagnostiek van de ziekte van Gaucher tevens ref. 13 in dit EMZ-themanummer.

een sterke afname van lever- en miltvolume volgt (miltvolume van 4500 ml naar nu 670 ml en lever van 4200 ml naar nu 2700 ml, zijnde vrijwel normaal). De anemie is al na 6 maanden verdwenen, echter de trombocytopenie niet. Dit laatste is aanleiding om na 12 maanden de dosis te verhogen naar 30 U/kg per maand. Zij ontwikkelt geen botklachten. Het verloop van het plasmachitotriosidase laat een spectaculaire daling zien, die samengaat met de sterke klinische verbetering.

Patiënt 3 is het eerste kind van consanguïne Marokkaanse ouders. Ze presenteert zich op de polikliniek op de leeftijd van 2 jaar met progressieve lethargie, dystrofie, convergent strabismus en sterk vergrote lever en milt. Laboratoriumonderzoek toont anemie (Hb 4,3 mmol/l) en trombocytopenie ($40 \times 10^9/l$) aan. Neurologisch onderzoek laat een abnormaal EEG zien. Onderzoek naar een lysosomale stapelingsziekte wordt ingezet en een sterk verlaagde activiteit van glucocerebrosidase wordt gevonden, passend bij de ziekte van Gaucher. In plasma wordt een verhoogde activiteit van het chitotriosidase gevonden (20.000 nmol/ml.uur). Mutatieanalyse laat een L444P/L444P-genotype zien, passend bij Gaucher type 3. De behandeling met glucocerebrosidase wordt gestart met een dosis van 25 U/kg, 2 x per week. Vanwege de goede respons, normalisering van de hematologische parameters, sterke verkleining van lever en milt, verbetering van EEG en een sterke daling in het chitotriosidase wordt na 1 jaar de dosis verlaagd tot 25 U/kg, 1 x per 2 weken (figuur 2). Na 2,5 jaar stijgt het plasmachitotriosidase en nemen ook klachten weer toe, waarna de dosis langzaam wordt verhoogd tot 60 U/kg, 1 x per 2 weken. De huidige dosis is 120 U/kg, 1 maal per 2 weken. Het klinische beeld is stabiel, met uitzondering van neurologische complicaties, en ook het plasmachitotriosidase is stabiel, maar blijft duidelijk verhoogd (4000 nmol/ml.uur).

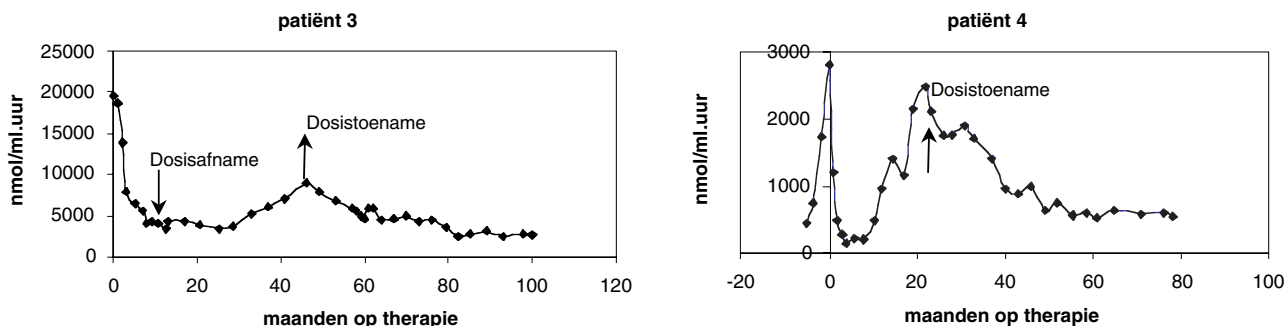
Patiënt 4, een zus van patiënt 3, wordt direct na de geboorte gediagnosticeerd. In navelstrengbloed wordt een deficiëntie van glucocerebrosidase gevonden. De activiteit van chitotriosidase is bij geboorte al verhoogd (300 nmol/ml.uur). Deze patiënt wordt klinisch en biochemisch gevolgd en op de leeftijd van 5 maanden wordt vanwege een lichte toename van de lever- en miltgrootte en een snelle stijging in het plasmachitotriosidase tot 3000 nmol/ml.uur (figuur 2), de therapie gestart. De dosis is 25 U/kg 2x per week. Na 3 maanden is het chitotriosidase gedaald tot 300

nmol/ml.uur en wordt de dosis verlaagd tot 25 U/kg, 1x per week. Na 1 jaar stijgt de chitotriosidase en wordt de dosis verhoogd tot 60 U/kg, 1x per 2 weken. Er is een lichte storing in de myelinisatie. Momenteel is de dosis 120 U/kg, 1x per 2 weken. De chitotriosidase is slechts licht verhoogd. Blikparese heeft zich echter ontwikkeld, vergelijkbaar met de oudere zus (8).

Beschouwing

Beperkingen van plasmachitotriosidase

Het is duidelijk dat een surrogaat-ziektemarkersluitend toegepast kan worden in de patiëntenzorg wanneer uitvoerig de relatie met het verloop van ziekte is aangetoond. Aanvang en dosering van enzymtherapie zal nooit louter gebaseerd kunnen worden op biochemische parameters, maar vereist primair een grondige klinische evaluatie van patiënten. In het geval van het chitotriosidase doen zich bovendien een aantal intrinsieke complicaties voor die de interpretatie van metingen compliceren. De eerste complicatie ligt op het enzymologisch vlak. De activiteit van chitotriosidase wordt doorgaans gemeten met 4-methylumbelliferylchitotrioside als substraat. Nauwkeurige bepaling van de activiteit met dit substraat wordt bemoeilijkt door schijnbare substraatremming, dit wil zeggen een afnemende activiteit bij hogere substraatconcentratie. Recente studies tonen aan dat deze substraatremming veroorzaakt wordt door het vermogen van het enzym chitotriosidase tot transglycosylering van het substraat. Een nieuw ontwikkeld substraat, 4-methylumbelliferyl-deoxychitobiose, kent dit probleem niet en heeft de bestaande assay duidelijk verbeterd (9). De tweede complicatie bij het interpreteren van chitotriosidasegegevens heeft een genetische oorzaak. Zo blijkt circa 6% van de bevolking, en dus ook 6% van de Gaucher patiënten, volledig deficiënt te zijn voor chitotriosidase vanwege het homozygoot voorkomen van een 24-bp-duplicatie in het chitotriosidasegen (10). Uiteraard kan chitotriosidase in deze individuen geen dienst doen als marker. Maar liefst één op de 3 individuen (en ook Gaucher-patiënten) is drager voor de mutatie. Enzymniveaus zijn bij deze dragers voor het chitotriosidasedefect gemiddeld de helft van de waarde in vergelijkbare personen met een normaal chitotriosidasegenotype (10). Voor een goed gebruik van chitotriosidase als marker is onderzoek naar het voorkomen van de 24-bp-duplicatie in



Figuur 2. Plasmachitotriosidaseactiviteit in twee met enzymtherapie behandelde patiënten met de ziekte van Gaucher type 3.

het chitotriosidasegen essentieel. Alternatieve markers voor Gaucher-cellen zijn vanwege de geschildeerde complicatie nog steeds van belang. De recente publicatie van Boot et al. (11), waarin gedemonstreerd wordt dat het chemokine CCL18/PARC een geschikte alternatieve marker is voor Gaucher-cellen, is daarom buitengewoon interessant.

Conclusie

Tot voor relatief kort bestonden er voor de lysosomale stapelingsziekten zeer weinig therapeutische mogelijkheden. Therapie bestond voornamelijk uit symptoombestrijding. De laatste jaren is de belangstelling voor therapie sterk toegenomen. Recent is enzymtherapie in Europa geregistreerd voor de ziekte van Fabry (Fabrazyme; Genzyme en Replagal; TKT) als ook voor MPS I (Aldurazyme; Biomarin/Genzyme). Momenteel lopen, of zijn gepland op korte termijn, klinische trials voor de ziekte van Pompe, de ziekte van Maroteaux-Lamy, de ziekte van Hunter en de ziekte van Niemann-Pick type B. Het aantal lysosomale ziektebeelden waarvoor enzymtherapie serieus kan worden overwogen zal in de toekomst zeker nog uitbreiden. Uit het voorgaande moge duidelijk zijn dat goede parameters om de ernst van de ziekte, de progressie en de respons op therapie te kunnen vervolgen van groot belang zijn. Lysosomale stapelingsziekten zijn zeldzaam en de symptomen zijn erg variabel. De dure therapieën die momenteel voorhanden zijn vereisen kennis over het beste tijdstip van starten en optimale dosering van de therapie. Met chitotriosidase en CCL18 zijn voor de ziekte van Gaucher uitstekende surrogaat-ziektemarkers gevonden. Wellicht dat het plasmachitotriosidase ook van waarde blijkt voor sommige andere stapelingsziekten (12), vooral die waarbij vetstapelende macrofagen zijn betrokken, zoals de ziekte van Wolman/Cholesterol ester storage disease, de ziekte van Niemann-Pick type A en B, en de ziekte van Niemann-Pick type C. Een belangrijke nieuwe uitdaging voor het onderzoekslaboratorium is nu het identificeren van plasma-surrogaat-ziektemarkers voor andere lysosomale stapelingsziekten dan de ziekte van Gaucher. De ervaring met deze ziekte heeft geleerd dat dergelijke parameters van zeer groot belang zijn voor optimale therapie.

Dankbetuiging

Wij danken dr. Sonja van Weely voor haar jarenlange bijdrage aan het chitotriosidaseonderzoek. Saskia Scheij, Mariette Helmond, Wilma Donker, Marri Verhoek en Karen Ghauharali-van der Vlugt worden bedankt voor het uitvoeren van de enzymbepalingen en genotypeanalyses. Dank gaat voorts uit naar Maaïke Wiersma en dr. Mario Maas voor hun bijdrages vanuit de kliniek. We zijn de leden van Gaucher Vereniging Nederland zeer erkentelijk voor hun steun aan het onderzoek.

Literatuur

1. Beutler E, Grabowski GA. Gaucher Disease In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic & molecular bases of inherited disease. 8e editie. New York: McGraw-Hill 2001; 3635- 3668.
2. Tavebi N, Stone DL, Sidransky E. Type 2 Gaucher disease: an expanding phenotype. Mol Gen Metab 1999; 209- 219.

3. Beutler E, Kay A, Saven A, Garver P, Thurston D, Dawson A, Rosenbloom B. Enzyme replacement therapy for Gaucher disease. Blood 1991; 78: 1183- 1189
4. Cox T, Lachmann R, Hollak C, van Weely S, Hrebicek M, Platt F, Butters T, Dwek R, Moyes C, Gow I, Elstein D, Zimran A. Novel oral treatment of Gaucher's disease with N-butyldeoxynojirimycin (OGT 918) to decrease substrate biosynthesis. Lancet 2000; 355: 1481-1485
5. Hollak CE, Aerts JM, Goudsmit R, Phao SS, Ek M, van Weely S, von dem Borne AE, van Oers MH. Individualised low dose alglucerase therapy for type I Gaucher's disease. Lancet 1995; 345: 1474-1478
6. Aerts JMFG, Hollak CEM. Plasma and metabolic abnormalities in Gaucher's disease. In: Zimran A, ed. Bailliere's Clinical Hematology 1997; 10: 691- 709
7. Hollak CEM, van Weely S, van Oers MHJ, Aerts JMFG. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. J Clin Invest 1994; 93: 1288-1292
8. Bergman AJIW, Bakker HD, Aerts JMFG, Poll-The BT. Disappointing neurologic outcome of enzyme replacement therapy in Gaucher type III. J Inher Metab Dis 2002; 25 suppl 1: 110 (abstract)
9. Aguilera B, Ghauharali-van der Vlugt K, Helmond MTJ, Out JMM, Donker-Koopman WE, Groener JEM, Boot RG, Renkema GH, van der Marel A, van Boom, JH, Overkleeft HS, Aerts JMFG. Transglycosidase activity of chitotriosidase: Improved enzymatic assay for the human macrophage chitinase. J Biol Chem 2003; in press
10. Boot RG, Renkema GH, Verhoek M, Strijland A, Blik J, de Meulemeester TM, Mannens MM, Aerts JM. The human chitotriosidase gene: chromosomal localization, nature of inherited enzyme deficiency, and occurrence of alternative splicing. J Biol Chem 1998; 273: 25680- 25685.
11. Boot RG, Verhoek M, de Fost M, Hollak CEM, Maas M, Bleijlevens B, van Breemen M, van Meurs M, Boven LA, Laman JD, Moran MT, Cox TM, Aerts JMFG. Marked elevation of the chemokine CCL18/ PARC in Gaucher disease: a novel surrogate marker for assessing therapeutic intervention. Blood 2003; in press.
12. 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- 722.
13. Niezen-Koning KE, Reijngoud DJ, Rake JP, Smit, GPA Spronsen FJ van. Twee patiënten met orgaanvergroting en een lysomale stapelingsziekte die niet met screenend stofwisselingsonderzoek te vinden is. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 348-351.

Summary

Groener JEM, Hollak CEM, Bakker HD, Boot RG, Aerts JMFG. Treatment of patients with Gaucher disease making use of chemical diseasemarkers. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 352-355.

Gaucher disease is an inborn error that is characterised by accumulation of lipid laden, pathological macrophages in various tissues. The disorder can be successfully treated by enzyme replacement therapy (ERT) which implies supplementation of macrophages with the deficient glucocerebrosidase. Due to the heterogeneous clinical manifestation and the high costs associated with therapy markers for pathological Gaucher cells were required. In the AMC a suitable plasma marker for Gaucher cells was identified: the enzyme chitotriosidase that is about 1000-fold elevated in symptomatic patients. Plasma chitotriosidase has evolved as useful tool in the clinical management of Gaucher patients.

Key words: casuistic; inborn error of metabolism; inherited metabolic disease; Gaucher disease; chitotriosidase; enzyme replacement therapy; lysosomes