

Metachromatische leukodystrofie: diagnostische valkuilen, klinische variabiliteit en mogelijkheden voor therapie

B.J.H.M. POORTHUIS¹, O.F. BROUWER² en J.E.M. GROENER^{1,3}

Metachromatische leukodystrofie is een autosomaal recessieve lysosomale stapelingsziekte, die veroorzaakt wordt door een deficiëntie van het lysosomale enzym arylsulfatase A. Als gevolg van deze enzymdeficiëntie kunnen 3-O-sulfogalactosyl-bevattende glycolipiden, waaronder het sulfatide -een belangrijke component van myeline- niet goed gemetaboliseerd worden en stapelen in het lysosoom. Dit leidt tot een ziektebeeld dat gedomineerd wordt door demyelinatie van het centrale en perifere zenuwstelsel. Aan de hand van de ziektegeschiedenis van een patiënt worden specifieke problemen die zich kunnen voordoen in de laboratoriumdiagnostiek belicht, wordt de klinische variabiliteit die zich kan voordoen binnen één familie geïllustreerd en worden de mogelijkheden van therapie besproken.

Trefwoorden: casuïstiek; erfelijke metabole ziekte; stofwisselingsziekte; lysosomale stapelingsziekten; metachromatische leukodystrofie; arylsulfatase A; sulfatidenstapelings; pseudodeficiëntie; klinische variabiliteit; diagnostiek; mutatieanalyse

Casusbeschrijving

De proband is een 9-jarige jongen die toenemende cognitieve achteruitgang vertoont en loopstoornissen. Sinds ruim een jaar gaan de leerprestaties op school (groep 5) achteruit en kan hij de eenvoudigste sommen niet meer maken. Ook het lezen van zinnen verslechtert geleidelijk. Hij vertoont tekenen van depressiviteit en gaat nog halve dagen naar school, waarbij speltherapie wordt ingezet. Hij gaat steeds moeilijker lopen, valt regelmatig en fietsen lukt niet meer. De fijne handmotoriek verslechtert, het spreken wordt moeizamer, hij kwijlt soms en moet soms ontremd lachen of huilen en de mictie gaat moeizaam. Zijn ouders, broer (14 jaar) en zus (12 jaar) zijn gezond. Bij lichamelijk onderzoek wordt een jongen van 9 jaar gezien met een ernstige dysartrie en sterk gesaccadeerde oogbewegingen. Hij vertoont een spas-

tisch-atactisch looppatroon met neiging tot overstrekken van de knieën en tenengang, hyperreflexie en pathologische voetzoolreflexen. Een MRI van de hersenen toont ernstige diffuse afwijkingen van de witte stof periventriculair, van het corpus callosum, de capsula interna en het mesencefalon, passend bij een leukodystrofie. Lysosomaal enzymonderzoek laat een deficiëntie zien van het enzym arylsulfatase A, passend bij de diagnose metachromatische leukodystrofie (MLD) (zie tabel 1).

Op verzoek van de ouders wordt de mogelijkheid van een beenmergtransplantatie (BMT) onderzocht en er wordt HLA-typing gedaan, waaruit blijkt dat de zus HLA-identiek is aan de proband en de broer niet. Bij de ouders en de zus wordt vervolgens aanvullend laboratoriumonderzoek verricht naar arylsulfatase-A-activiteit. Hieruit blijkt dat vader een laagnormale activiteit heeft passend bij dragerschap voor arylsulfatase A, terwijl moeder en zus een deficiëntie van dit enzym hebben (tabel 1). De mogelijkheid van 'compound'-heterozygotie voor een pseudo-deficiëntie (*psd*)-allel en een MLD(*mld*)-allel wordt overwogen en het sulfatidegehalte in urine wordt bepaald. Ook wordt mutatie-analyse naar ziekteveroorzakende mutaties in het MLD-gen en naar de pseudo-deficiëntie veroorzakende mutaties ingezet bij de patiënt, zijn zus en zijn ouders. De sulfatidenuitscheiding bij vader en moeder was normaal, terwijl die bij de indexpatiënt en zijn zus sterk verhoogd was (tabel 1). Mutatie-analyse toonde aan, dat zowel de patiënt als zijn gezonde zus homozygoot waren voor de frequente (milde) P426L-mutatie. Deze mutatie wordt veroorzaakt door een CCG → CTG-baseverandering op positie 2381 in het arylsulfatase-A-gen en geeft aanleiding tot de inbouw van het aminozuur leucine in plaats van proline op positie 426 in het eiwit. De vader was heterozygoot voor deze mutatie, terwijl de moeder 'compound'-heterozygoot was voor de P426L-mutatie en het pseudo-deficiëntiepolymorfisme. De veronderstelling dat dit laatste ook de verklaring was voor de deficiëntie bij de gezonde zus bleek dus onjuist; zij bleek een presymptomatische MLD-patiënt te zijn (tabel 1).

De proband kwam niet voor BMT in aanmerking, omdat de ziekte bij hem reeds te ver was voortschreden. Voor de presymptomatische zus was behalve haar zieke broer geen HLA-identieke donor beschikbaar. Gezien de inmiddels aanvaardbaar geachte morbiditeit en mortaliteit van de procedure

Laboratorium Metabole Ziekten, Leids Universitair Medisch Centrum¹, Afdeling Neurologie, Academisch Ziekenhuis Groningen², Afdeling Biochemie, AMC, Amsterdam³

Correspondentie: Dr. B.J.H.M. Poorthuis, Laboratorium Metabole Ziekten, Leids Universitair Medisch Centrum, Gebouw 1, P3P, Postbus 9600, 2300 RC Leiden
E-mail: b.j.h.m.poorthuis@lumc.nl

Tabel 1. Resultaten van de bepaling van arylsulfatase A (14), de sulfatidenbepaling (15) en de genotypering in een gezin met metachromatische leukodystrofie

	Arylsulfatase-A-activiteit in leukocyten (nmol/mg 17 uur)	Sulfatide-uitscheiding in urine (nmol/ μ mol fosfolipide)	Genotype
Proband	7	2036	<i>mld/mld</i>
Vader	65	51	<i>mld/+</i>
Moeder	14	38	<i>mld/psd</i>
Zus	5	1175	<i>mld/mld</i>
Broer	73	–	<i>mld/+</i>
Controles	45-260	10, 11	

werd een MUD(matched unrelated donor)-BMT overwogen. Klinisch bleek het meisje volledig intact zonder neurologische afwijkingen, maar gezien de bij MRI-onderzoek van de hersenen vastgestelde witte-stofafwijkingen, leek er voor een eventuele BMT niet veel tijd meer te zijn. Na uitgebreid overleg met de ouders en hun dochter werd een MUD-procedure ingezet. Er werd een geschikte donor gevonden en de BMT kon plaatsvinden toen ze 15 jaar oud was. Ze heeft de procedure goed doorstaan, maar de periode van follow-up is nog te kort om conclusies te trekken over het effect van de BMT. Hoewel terughoudendheid geboden is bij presymptomatische diagnostiek bij kinderen, werd op verzoek van de oudste zoon en zijn ouders uiteindelijk ook bij hem het arylsulfatase A bepaald en mutatie-analyse verricht. De resultaten waren in overeenstemming met dragerschap voor MLD (tabel 1).

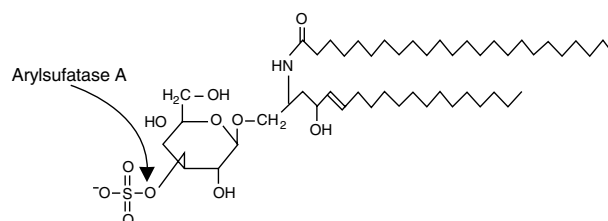
Beschouwing

Achtergrond metachromatische leukodystrofie en arylsulfatase-A-deficientie

Metachromatische leukodystrofie is met een geboorteprevalentie van 1:70.000 een van de meest frequent voorkomende lysosomale stapelingsziekten in Nederland (2). De ziekte wordt veroorzaakt door een deficiëntie van het enzym arylsulfatase A (ASA; sulfatidesulfatase; E.C. 3.1.6.1.; figuur 1), die leidt tot stapeling van sulfatide en andere gesulfateerde glycolipiden in het centrale en perifere zenuwstelsel, de nier, de galblaas en de lever en in verschillende klieren en de testis. De ziekte kan zich presenteren op iedere leeftijd vanaf het eerste levensjaar en het beloop is zeer variabel. Klinisch worden drie vormen van de ziekte onderscheiden op grond van de leeftijd waarop de eerste symptomen zich voordoen en de ernst van het beloop: een laat infantiel type, dat zich al in het eerste of tweede levensjaar openbaart met snel progressief beloop; een juveniele vorm, die zich tussen 4 en 16 jaar openbaart en een adulte vorm, waarvan de eerste verschijnselen zich tussen 16 en 70 jaar kunnen voordoen (1). De oudste in ons laboratorium gediagnosticeerde patiënt was 62 jaar oud toen de diagnose gesteld werd, terwijl de eerste subtiele symptomen zich slechts enkele jaren daarvoor hadden voorgedaan (3, 4).

De meeste ziekteverschijnselen zijn gerelateerd aan

de stapeling van sulfatiden in de witte stof van het centrale en perifere zenuwstelsel en bestaan onder andere uit loopstoornissen, afgenomen peesreflexen, mentale achteruitgang, verlies van spraakvermogen, opticusatrofie, ataxie, spastische tetraparese, gedragsproblemen, achteruitgang in schoolprestaties en psychiatrische problemen afhankelijk van de ernst van het ziektebeeld (voor een gedetailleerde beschrijving van de klinische symptomen zie 1). De ernst van de ziekteverschijnselen en de beginleeftijd zijn vaak goed gecorreleerd met de restactiviteit van het deficiënte enzym arylsulfatase A (5, 6). Deze restactiviteit correleert op zijn beurt vaak weer met de verantwoordelijke mutaties in het op chromosoom 22q13 gelegen arylsulfatase-A-gen (7). Er zijn inmiddels meer dan 60 ziekteveroorzakende mutaties bekend in dit gen, waarvan de meeste zeldzaam zijn (1). Enkele komen echter frequent voor, zoals de 459+1G \rightarrow A, een 'splice donor'-mutatie op de grens van exon 2 / intron 2, die in homozygote vorm steeds geassocieerd is met de laat infantiële vorm van MLD en de hier gevonden P426L-puntmutatie. Deze laatste mutatie is in homozygote vorm geassocieerd met de juveniele of adulte presentatie van de ziekte. In Nederland zijn de 459+1G \rightarrow A-mutatie en de P426L-mutatie verantwoordelijk voor 9,4 %, respectievelijk 35 % van de *mld*-allelen (A. Lugowska et al., ongepubliceerd). 'Compound'-heterozygotie van deze beide mutaties geeft steeds aanleiding tot de juveniele vorm van de ziekte. De verklaring is gelegen in het feit, dat de 459+1G \rightarrow A-mutatie niet codeert voor functionele arylsulfatase-A-polypeptiden, terwijl de P426L-mutatie codeert voor een instabiel, maar functioneel actief arylsulfatase A met voldoende restactiviteit om de ziekte minder ernstig te laten verlopen (7).



Figuur 1. Structuur van sulfatide en de plaats, waar het gesplitst wordt door het enzym arylsulfatase A. Een deficiëntie van arylsulfatase A leidt tot stapeling van sulfatide en tot de ziekte metachromatische leukodystrofie.

De door ons beschreven proband presenteerde zich op de leeftijd van 9 jaar met de juveniele vorm van MLD, terwijl zijn oudere zus op de leeftijd van 15 jaar -ondanks duidelijke wittestofafwijkingen op de MRI- nog geen klinische symptomen had. Hoewel binnen een familie hetzelfde genotype op een vergelijkbare genetische achtergrond meestal aanleiding zal geven tot eenzelfde klinisch beeld, zijn grote verschillen in klinisch fenotype van lysosomale stapelingsziekten binnen één familie mogelijk (8), ook bij MLD (6, 9). De verklaring kan dan gezocht worden in andere genetische factoren (modifying genes) of omgevingsfactoren. Het is goed zich van de mogelijkheid van intrafamiliaire variabiliteit steeds bewust te zijn wanneer het gaat om de prognose van het beloop van de ziekte. Er is voor MLD geen behandeling. BMT kan zinvol zijn bij presymptomatische patiënten, omdat er aanwijzingen zijn dat BMT het ziekteproces vertraagt (10). Bij het evalueren van het effect van BMT wordt soms het ziekteproces bij de getransplanteerde patiënt vergeleken met dat van een aangedane sib uit het gezin bij wie BMT, gezien het reeds te ver voortgeschreden ziekteproces, niet meer geïndiceerd was. Ook hierbij dient men bedacht te zijn op de mogelijkheid van variabele fenotypische expressie binnen één gezin.

Een derde zeer frequente mutatie is een mutatie in exon 8 die leidt tot een verlies van het polyadenyle-ringssignaal (AATAAC → AGTAAC op positie 2725). Dit geeft aanleiding tot een sterk gereduceerde productie van normaal actief arylsulfatase-A-enzym en dus een enzymdeficiëntie. De restactiviteit is echter zo hoog, dat de mutatie in homozygote vorm niet gepaard gaat met klinische verschijnselen en dus beschouwd kan worden als een polymorfisme. Er is dus sprake van een pseudo-deficiëntie van het arylsulfatase A (11). Deze mutatie komt meestal voor in combinatie met een N350S(asparagine naar serine)-mutatie. Deze laatste mutatie, die leidt tot het verlies van een N-glycosyleringspositie op het eiwit, maar een normale productie van arylsulfatase A met normale activiteit geeft, kan dus ook als een polymorfisme beschouwd worden. Het *psd*-allel komt zeer frequent voor onder Europeanen -dus ook onder dragers voor een *mld* mutatie- en de frequentie ligt tussen de 10 en 20% (1). Dit betekent in de praktijk dat ongeveer 1% van alle Europeanen pseudo-deficiënt is en ongeveer 1 op 1500 individuen 'compound'-heterozygoot is voor een *mld*-allel en een *psd*-allel. Dit is het genotype dat gevonden werd bij de moeder van de proband. Hoewel dus in principe een nog lagere restactiviteit van het arylsulfatase A verwacht mag worden dan in het geval van een pseudo-deficiëntie, leidt ook dit genotype niet tot klinische verschijnselen (12). Het is van groot belang zich dit te realiseren wanneer men conclusies wil trekken ten aanzien van een causale relatie tussen de enzymdeficiëntie en atypische patiënten met ongerelateerde neurologische ziektebeelden. Tenslotte kan een *mld*-mutatie ook voorkomen op een pseudo-deficiënte achtergrond, met andere woorden een *mld*-veroorzakende mutatie kan voorkomen in *cis* met het frequente pseudo-deficiëntieallel. Naar schatting is dit in 1-2 % van de *psd*-allelen het geval (13).

Aanbevelingen diagnostiek

De in het voorgaande gepresenteerde gegevens en overwegingen leiden tot de volgende aanbevelingen ten aanzien van de diagnostiek van MLD:

- Goed klinisch onderzoek inclusief onderzoek naar wittestofafwijkingen met MRI is noodzakelijk om toevallige associaties van atypische ziektebeelden met (pseudo)deficiënties van arylsulfatase A te vermijden.
- Wanneer een deficiëntie van het arylsulfatase A gevonden wordt, bijvoorbeeld door meting van de enzymactiviteit in leukocyten geïsoleerd uit volbloed, of gekweekte huidfibroblasten met een van de veel gebruikte routineassays (14), dient men bedacht te zijn op de mogelijkheid van een pseudo-deficiëntie, vooral wanneer de klinische symptomen niet direct lijken te passen bij MLD. Dan kan de (semi-)kwantitatieve bepaling van sulfatiden in het urine-sediment een belangrijk hulpmiddel zijn voor het stellen van de diagnose (13, 15). Hierbij kijkt men naar het stapelingsproduct (sulfatiden) in cellulair materiaal, dat voornamelijk afkomstig is van cellen uit de nier, na de hersenen het belangrijkste orgaan waarin sulfatiden stapelen. Ook bij patiënten met het mildere fenotype vindt men steeds sulfatiden-stapelingsproduct, terwijl dit bij pseudo-deficiënties niet het geval is (15, 16). Wanneer asymptomatische sibs in een gezin getest worden op arylsulfatasedeficiëntie, dienen steeds de ouders ook getest te worden om een foutieve interpretatie van een deficiëntie ten gevolge van 'compound'-heterozygotie van een *mld*-allel en een *psd*-allel uit te sluiten.
- Mutatie-analyse kan bijdragen tot de diagnostiek, waarbij de kans op het vinden van een van de frequente mutaties die geassocieerd zijn met het infantiele type of het juveniele/adulte type, groot is. Het vinden van een *psd*-allel sluit de aanwezigheid van een MLD-mutatie in hetzelfde allel niet uit. Het vaststellen van dragerschap met behulp van de bepaling van arylsulfatase A is mede door het wijde referentiegebied (tabel 1) van deze bepaling niet goed mogelijk. Ook hier kan mutatie-analyse een bijdrage leveren.
- Tenslotte kan een functionele deficiëntie van het arylsulfatase A ook het gevolg zijn van een multiple sulfatasedeficiëntie en van een deficiëntie in het activatoreiwit Saposin B, dat nodig is voor de *in vivo*-afbraak van sulfogalactolipiden (1). De eerste mogelijkheid wordt in het laboratorium uitgesloten door bij een gevonden arylsulfatase-A-deficiëntie steeds ook andere sulfatasen te meten. De tweede mogelijkheid wordt slechts uitgesloten indien de clinicus bij de uitslag "lysosomale enzymen normaal" toch op grond van het klinisch beeld blijft vasthouden aan de klinische diagnose metachromatische leukodystrofie en in verder overleg treedt met het laboratorium. Ook in dit geval is de sulfatidenbepaling in urine weer van nut. Een activatoreiwitdeficiëntie kan dan met behulp van speciale 'loadingtests' in fibroblasten worden aangetoond. Tot nu toe is bij landelijke inventarisatie van gestelde diagnoses bij Nederlandse patiënten geen activatoreiwitdeficiëntie gemeld (2).

Dankbetuiging

Wij danken D.J. Kamphuis, neuroloog, Reinier de Graafziekenhuis, Delft, voor het verwijzen van de indexpatiënt en dr. R.J. Sinke, Klinisch Genetisch Centrum Utrecht, voor het verichten van de mutatie-analyse.

Literatuur

1. Von Figura K, Gieselmann V, Jaeken J. Metachromatic Leukodystrophy. In: The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease. Volume III. 2001. Edition 8. Eds. Scriver CR, Beaudet AL, Sly W.S., Valle D. Co-eds Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B. McGraw-Hill, New York USA, Chapter 148: 3695-3724.
2. Poorthuis BJHM, Wevers RA, Kleijer WJ, Groener JEM, De Jong JGN, Van Weely S, Niezen-Koning KE, Van Diggelen OP. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet* 1999; 105: 151-156.
3. Duyff RF, Weinstein HC. Late-presenting metachromatic leukodystrophy. *Lancet* 1996; 348:1382-1383.
4. Perusi C, Lira MG, Duyff RF, Weinstein HC, Pignatti PF, Rizzuto N, Salviati A. Mutations associated with very late-onset metachromatic leukodystrophy. *Clin Genet* 1999; 55: 130.
5. Leinekugel P, Michel S, Conzelmann E, Sandhoff K. Quantitative correlation between the residual activity of β -hexosaminidase A and arylsulfatase A and the severity of the resulting lysosomal storage disease. *Hum Genet* 1992; 88: 513-523.
6. Kappler J, Leinekugel P, Conzelmann E, Kleijer WJ, Kohlschütter A, Tønnesen T, Rochel M, Freycon F, Propping P. Genotype-phenotype relationship in various degrees of arylsulfatase A deficiency. *Hum Genet* 1991; 86: 463-470.
7. Polten A, Fluharty AL, Fluharty CB, Kappler J, Von Figura K, Gieselmann V. Molecular basis of different forms of metachromatic leukodystrophy. *N Engl J Med*; 1991; 324: 18-22.
8. Zlotogora J. Intrafamilial Variability in Lysosomal Storage Diseases. *Am J Med Genet* 1987; 27: 633-638.
9. Clarke JTR, Skomorowski MA, Chang PL. Marked clinical difference between two sibs affected with juvenile metachromatic leukodystrophy. *Am J Med Genet* 1989; 33: 10-13.
10. Maaswinkel-Mooij PD, Poorthuis BJHM, Hoogerbrugge PM, Brouwer OF, Vossen JMJJ. Allogene beenmergtransplantatie bij de behandeling van (lysosomale) stapelingsziekten. *Ned Tijdschr Geneesk* 1998; 142: 169-174.
11. Gieselmann V, Polten A, Kreysing J, Von Figura K. Arylsulfatase A pseudodeficiency: loss of a polyadenylation signal and a N-glycosylation site. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 9436-9440.
12. Penzien JM, Kappler J, Herschkowitz N, Schuknecht B, Leinekugel P, Propping P, Tønnesen T, Lou H, Moser H, Zierz S, Conzelmann E, Gieselmann V. Compound heterozygosity for metachromatic leukodystrophy and arylsulfatase A pseudodeficiency alleles is not associated with progressive neurological Disease. *Am J Hum Genet* 1993; 52: 557-564.
13. Rafi MA, Coppola S, Liu SL, Rao HZ, Wenger DA. Disease-causing mutations in *cis* with the common arylsulfatase A pseudodeficiency allele compound the difficulties in accurately identifying patients and carriers of metachromatic leukodystrophy. *Mol Genet Met* 2003; 79: 83-90.
14. Lee-Vaupel, M, Conzelmann E. A simple chromogenic assay for arylsulfatase A. *Clin Chim Acta* 1987; 164: 171-180.
15. Natowicz, MR, Prenc EM, Chaturvedi P, Newburg DS, Urine sulfatides and the diagnosis of metachromatic leukodystrophy. *Clin Chem* 1996; 42: 232-238.
16. Hageman, ATM, Gabreëls FJM, De Jong JGN, Gabreëls-Festen WM, Van den Berg CJMG, Van Oost BA, Wevers RA. Clinical symptoms of adult metachromatic leukodystrophy and arylsulfatase A pseudodeficiency. *Arch Neurol* 1995; 52: 408-413.

Summary

Metachromatic leukodystrophy: diagnostic pitfalls, intrafamilial variability and therapeutic options. Poorthuis BJHM, Brouwer OF, Groener JEM. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 356-359.

We present a family with metachromatic leukodystrophy (MLD) with extreme variability in phenotypic expression of the disease. The index case, a boy, presented with the juvenile form of MLD at nine years of age. Laboratory tests showed a deficiency of arylsulphatase A, increased urinary sulphatides and homozygosity for the frequent Pro426Leu mutation. His 12 years old sister and 15 years old brother and his parents were healthy. Bone marrow transplantation (BMT) was considered and HLA typing proved the sister to be HLA-identical to the patient and his brother not. The arylsulphatase A activity of the parents and the sister was determined. Both the mother and the sister were found to have a deficiency of arylsulphatase A, while the activity of the father was in the lower normal range compatible with heterozygosity for MLD. Analysis of urinary sulphatides showed normal levels for the father and mother, while the levels of the sister were comparable to those of the index case. Mutation-analysis showed heterozygosity for the P426L allele in the father, compound heterozygosity for the P426L allele and the pseudodeficiency allele in the mother and homozygosity for the P426L allele in the sister. A matched unrelated donor BMT was subsequently performed in the sister at 15 years of age, while she was still completely asymptomatic despite MRI findings showing a leukodystrophy. Follow up has been too short to draw pertinent conclusions about the effect of BMT on the course of the disease. Laboratory analysis performed later showed arylsulphatase A levels of the brother comparable to those of his father, normal urinary sulphatide levels and heterozygosity for the Pr426L mutation. The pitfalls in the diagnosis of MLD, the inter- and intrafamilial variability of the expression of the disease and the possibilities of treatment are discussed.

Key words: casuistic; inborn error of metabolism, inherited metabolic disease; lysosomal storage disease; metachromatic leukodystrophy; arylsulphatase A; sulphatides; pseudodeficiency; diagnosis; clinical variability; mutation-analysis