

Een glycosyleringsdefect bij een 4 maanden oude zuigeling: chemische basisdiagnostiek en transferrine-isoelectric-focussing volstaan niet

F.A.J.T.M. van den BERGH¹, R.F.H.M. TUMMERS² en R.A.WEVERS³

Deze casus beschrijft de ziektegeschiedenis van een 4 maanden oud jongetje met kenmerken verdacht voor een stapelingsziekte, te weten: grof gelaat, hyperplasie van het tandvlees, lederachtige huid, cardiomyopathie, hepatomegalie en algehele hypotonie. Chemische basisdiagnostiek op urine leverde een aantal opvallende, doch niet-specifieke afwijkingen op, zoals gegeneraliseerde aminoacidurie, lichte dicarbonacidurie en een wat afwijkend oligosaccharidenpatroon. De uitscheiding van mucopolysacchariden bleek licht verhoogd, doch elektroforese toonde een normale samenstelling. De activiteit van een aantal lysosomale enzymen in leukocyten bleek normaal. In plasma en urine daarentegen werden sterk verhoogde waarden gevonden voor o.a. arylsulfatase A, β -hexosaminidase, α -mannosidase en β -mannosidase. Dit is vrijwel bewijzend voor I-cell disease (mucopolysaccharidose II). Het primaire defect dient te worden bevestigd door enzymonderzoek in leukocyten of gekweekte huidfibroblasten, eventueel gevolgd door DNA-onderzoek.

Trefwoorden: casuïstiek; erfelijke metabole ziekte; stofwisselingsziekte; glycosyleringsdefect; I-cell disease; mucopolysaccharidose type II

Casusbeschrijving

Klinische presentatie

De hier beschreven jongen werd à terme geboren als derde in een gezin na een ongecompliceerde zwangerschap van Nederlandse, niet-verwante ouders. Ondanks het goede geboortegewicht en de algeheel goede start volgde opname op de afdeling kindergeneeskunde van ons ziekenhuis vanwege hyperbilirubinemie binnen 24 uur, waarvoor foterapie werd gegeven. Het kind werd na enkele dagen ontslagen uit het ziekenhuis. Tijdens de opname vielen de algehele hypotonie en dysmorfieën op, zoals verderop be-

schreven. Voor de hyperbilirubinemie werd uiteindelijk, na uitgebreid onderzoek, geen oorzaak gevonden. In verband met voedingsproblemen volgde een tweede opname waarbij ook cardiovasculaire problemen en hepatomegalie werden gezien. De familieanamnese was negatief voor stofwisselingsziekten. Bij opname viel de leerachtige gladde en taaie huid op, het grove gelaat met hoog voorhoofd, epicantus (een congenitale huidplooi ter weerszijden van de neus), de lange verticale gleuf in het midden van de bovenlip (z.g. hoog filtrum), een grote bovenkaak met hyperplasie van het tandvlees en voorts skeletdeformaties, bestaande uit o.a. klokvormige thorax, opvallende inplant van de beide duimen en milde contracturen (strekproblemen) van ellebogen en knieën. Er was opvallende verbreding van de ribuiteinden waarbij gedacht werd aan rachitis; ook had het kind lange vingers en grote voeten. Aanvullende diagnostiek op bloed, liquor en urine, alsmede neurofysiologisch onderzoek en beeldvormende diagnostiek toonde geen afwijkingen. Echocardiografisch werd een cardiomyopathie gezien. Ofschoon meerdere syndromale afwijkingen de revue zijn gepasseerd, waaronder cholesterolsynthesestoornissen (Smith-Lemli-Opitz syndroom), M. Pompe en Geleophysic dysplasia, bleek op dat moment nog geen eenduidige conclusie mogelijk. Vanwege de arachnodactylie werd ook aan het syndroom van Marfan gedacht.

Op de leeftijd van 3¹/₂ maand werd het kind voor nadere observatie doorverwezen naar de afdeling Kinderneurologie van een academisch ziekenhuis. Intussen was er bloed en urine voor nadere metabole diagnostiek opgestuurd naar het laboratorium van het betreffende academische centrum.

Biochemisch onderzoek

Algemeen klinisch-chemisch onderzoek, waaronder parameters ter bepaling van lever- en nierfunctie, leverde weinig bijzonderheden op, doch 5% van de lymfocyten bevatte vacuoleachtige insluitsels zoals gezien in de handmatige differentiatie. Ruim twee maanden na de geboorte werd urine ingezet op de chemische basisdiagnostiek van erfelijke metabole ziekten in Enschede. Naast gegeneraliseerde aminoacidurie en lichte dicarbonacidurie (met licht verhoogde uitscheiding van adipinezuur, pimelinezuur, suberinezuur en 3-OH-suberinezuur) viel het licht afwijkende oligosaccharidenchromatogram op. Ook was er wat verhoogde uitscheiding van de mucopo-

Afdeling Laboratorium¹ en Kindergeneeskunde², Medisch Spectrum Twente, Enschede en Laboratorium voor Kindergeneeskunde en Neurologie, Universitair Medisch Centrum Nijmegen³

Correspondentie: Dr. F.A.J.T.M. van den Bergh, Afdeling Laboratorium, Medisch Spectrum Twente, Postbus 50.000, 7500 KA Enschede.
E-mail: F.vandenbergh@ziekenhuis-mst.nl

lysacchariden: 53 mg/mmol creat. (DMB-Tris-methode, ref.waarde < 45). Ook in verschillende andere urineporties, gemeten in het academisch centrum, bleek de uitscheiding van mucopolysacchariden bij herhaling verhoogd. Intussen was ook heparinebloed ingestuurd voor bepaling van de lysosomale enzymen. Zoals tabel 1 toont, was er sterk verhoogde activiteit meetbaar van diverse lysosomale enzymen in plasma en urine, terwijl de activiteit van de betreffende enzymen in leukocyten normaal bleek. Het enzym chitotriosidase, afkomstig uit geactiveerde macrofagen en bij vele lysosomale ziekten verhoogd in plasma, vertoende een normale activiteit. Transferrine-isoelectric-focussing in plasma liet evenmin afwijkingen zien. De sterk verhoogde activiteit van diverse lysosomale enzymen in plasma in combinatie met normale waarden in leukocyten is vrijwel bewijzend voor I-cell disease. Deze diagnose werd aansluitend bevestigd door bepaling van de N-acetylglucosaminylfosfotransferase-activiteit in leukocyten (Laboratorium voor Kindergeneeskunde, LUMC, dr. B.Poorthuis). Het enzym bleek volledig deficiënt (act. 0, ref. waarden 40-120 pmol/mg/h).

Beschouwing

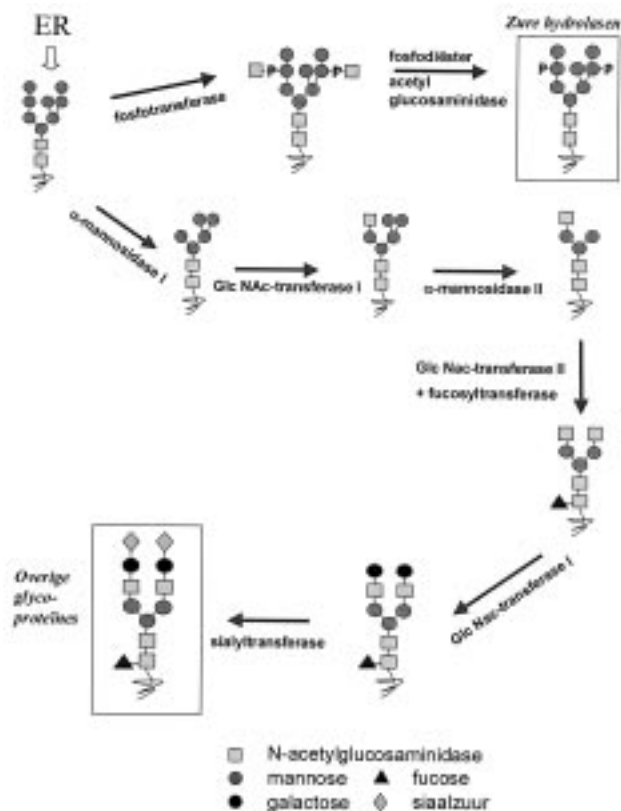
Achtergrond I-cell disease

I(inclusion)-cell disease (mucopolidose type II, McKusick 252500) is een autosomaal recessieve afwijking in de glycosylering. Voor een recente beschrijving in ons Tijdschrift wordt verwezen naar R.A. Wevers et al. (1).

Lysosomale enzymen zijn allen glycoproteïnen. De samenstelling van de terminale suikers is van cruciaal belang voor de juiste targeting. Na de synthese van het enzymeiwit vindt stapsgewijze glycosylering plaats tijdens passage van het endoplasmatisch reticulum naar het Golgi-apparaat (2; zie ook figuur 1). Door deficiëntie van het enzym fosfotransferase, gelokaliseerd in het Golgi-apparaat, worden lysosomale enzymen tijdens hun synthesroute niet voorzien van een mannose-6-fosfaatgroep. Hierdoor ontbreekt het herkenningssignaal voor de import in de lysosomen. Aldus worden de novo gesynthetiseerde enzymen niet opgenomen in de primaire lysosomen van de cel maar uitgescheiden in de bloedbaan (1, 3). Afwezigheid van verschillende zure hydrolasen in de lysosomen leidt tot intralysosomale stapeling. Slechts twee lysosomale enzymen zijn in normale hoeveelheden aanwezig, n.l. β -glucocerebrosidase en zure fosfatase.

Tabel 1. Activiteit van een aantal lysosomale enzymen bij de indexpatiënt

	Leukocyten (nmol/h/mg eiwit)		Plasma (U/l)	
	Patiënt	Controles	Patiënt	Controles
Arylsulfatase A	72	60 - 140	1009	3 - 55
β -Hexosaminidase	5890	3000 - 7000	43432	< 7000
α -Mannosidase	488	150 - 650	5766	50 - 350
β -Mannosidase	275	160 - 360	6013	125 - 900



Figuur 1. Overzicht van het glycosyleringsproces bij de synthese van lysosomale enzymen.

Aangetoond is dat beide enzymen een andere transportroute volgen en geen eindstandige fosforylering behoeven (3). Voorts blijkt de enzymdeficiëntie niet in alle weefsels en celtypen aanwezig, waaronder hepatocyten, Kuppfer-cellen en leukocyten. Dit suggereert dat alternatieve vormen van lysosomale targeting bestaan.

I-cell disease is als assemblagestoornis in feite vergelijkbaar met de carbohydraat deficiënt glycoproteïne (CDG)-afwijkingen. Ook daar is sprake van glycosyleringsdefecten en problemen met de targeting van allerlei eiwitten. I-cell disease werd reeds sinds 1967 in de literatuur (4, 5) beschreven, lang voor de ontdekking van de CDG-syndromen. Mede omdat de onderliggende mutatie tot nu toe niet is opgehelderd, wordt I-cell disease separaat van de CDG-syndromen in de leerboeken beschreven. De specifieke herkenning van de eindstandige mannose-6-fosfaatgroepen op de zure hydrolasen door receptoren aanwezig in de primaire lysosomen kan niet plaatsvinden. Dit resulteert in een lysosomale stapelingsziekte en daarmee tot een geheel ander klinisch beeld dan bij de op heden bekende varianten van het CDG-syndroom, type Ia t/m Ik resp. IIa t/m IIc (1, 6).

Behandeling

De ziekte is progressief en behandeling is, net als bij de meeste lysosomale enzymdeficiënties, slechts symptomatisch en niet causaal. Enzymsubstitutie-therapie of genterapie behoren nog niet tot de mogelijkheden; evenmin is een gunstig effect van beenmergtransplantatie te verwachten (1, 3).

Klinisch beloop

De ernstige gedilateerde cardiomyopathie bij ons patiëntje, waarvoor vochtbeperking werd ingesteld, valt te verklaren op grond van de lysosomale stapelingsziekte. Tijdens de tweede opname ontwikkelde zich nog het beeld van een intercurrente RS-broncheolitis, gepaard gaande met respiratoire insufficiëntie. De algehele hypotonie van de ademhalingsspieren speelde hierbij zeker een grote rol. Een maand na de symptomatische behandeling resteerde nog een geringe zuurstofbehoefte van 0,4 l/min. In het kader van marginale groei in combinatie met verhoogde arbeid kreeg hij hypercalorische voeding, waarop adequate groei intrad. Wat betreft zijn ontwikkeling liet het 4 maanden jonge kind inmiddels een leeftijdsadequaat reactiepatroon zien. Motorisch speelt de ernstige algehele hypotonie hem echter parten. Hiervoor krijgt hij fysiotherapie. De prognose op langere termijn is door de beperkte cardiorespiratoire conditie ongunstig.

Conclusies

Correcte glycosylering van glycoproteïnen is van cruciaal belang voor de juiste werking van enzymen op de juiste plaats. Met het ontdekken van de CDG-syndromen lijkt slechts het topje van de ijsberg opgehelderd. I-cell disease (mucopolipidose type II) is een bijzondere variant hiervan, waarbij de afwezigheid van eindstandig mannose-6-fosfaat resulteert in lysosomale enzymdeficiënties. Deze afwijking is niet te diagnosticeren via eenvoudige basisdiagnostiek in urine of transferrine-isoelectric-focussing in plasma. Wel geven de vacuolen in de lymfocyten, die in de hand-dif zichtbaar zijn, een aanwijzing voor het bestaan van een lysosomale stapelingsziekte, evenals de klinische symptomen. De activiteit van de zure hydrolasen in leukocyten is evenwel in principe normaal.

Literatuur

1. Wevers RA, Grünwald S, Huijben K, Smeitink JAM en de Rijk-van Andel JF. Congenitale defecten in de glycosylering: het CDG syndroom. *Ned Tijdschr Klin Chem* 2000; 25: 4-13.

2. Sabatini DD, Adesnik MB. The biogenesis of membranes and organelles. In: Scriver C, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. New York: McGraw-Hill Inc. 1995: 459-554.
3. Kornfeld S, Sly WS. I-cell disease and pseudo-Hurler polydystrophy: disorders of lysosomal enzyme phosphorylation and localization. In: Scriver C, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. *The metabolic and molecular basis of inherited disease*. New York: McGraw-Hill Inc. 1995: 2495-2508.
4. Leroy JG, De Mars RI. Mutant enzymatic and cytological phenotypes in cultured human fibroblasts. *Science* 1967; 157:804-806.
5. Hickman S, Neufeld EF. A hypothesis for I-cell disease: defective hydrolases that do not enter lysosomes. *Biochem Biophys Res Comm* 1972; 49: 992-999.
6. Jaeken J, Carchon H. The carbohydrate-deficient glycoprotein syndromes: an overview. *J Inher Metab Dis* 1993; 16: 813-820.

Summary

A glycosylation defect in a 4-month-old child: chemical metabolic screening and isoelectric focussing of transferrin are insufficient. Bergh FAJTM van den, Tummers RFHM, Wevers RA. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 360-362.

This case history describes a 4-month-old boy suspected of a lysosomal storage disease. He presented with coarse facial features, gingival hyperplasia, leatherlike skin, cardiomyopathy, hepatomegaly and generalized hypotonia. Biochemical screening for metabolic diseases in urine revealed several striking, though aspecific, abnormalities like generalized aminoaciduria, slight dicarbonic aciduria as well as a slight abnormal oligosaccharide pattern. Excretion of total mucopolysaccharides was slightly increased, although the pattern was normal of composition as characterised by electrophoresis. Several lysosomal enzymes assayed in the leucocytes of the patient showed normal activity. In contrast, however, strongly increased activities were demonstrated in urine and plasma for a.o. arylsulphatase A, β -hexosaminidase, α -mannosidase and β -mannosidase. This is strongly indicative of I-cell disease (mucopolipidosis type II), a glycosylation defect. Due to the absence of mannose-6-phosphate recognition markers targeting of lysosomal enzymes to lysosomes does not occur. The primary defect, phosphotransferase deficiency, has to be confirmed by enzyme assay in leucocytes or cultured skin fibroblasts followed by DNA mutation analysis.

Key words: casuistic; inborn error of metabolism; inherited metabolic disease; glycosylation defect; I-cell disease; mucopolipidosis type II