

Pompeho choroba – kazuistika juvenilnej formy

MUDr. Katarína Okáľová, PhD.¹, Mgr. Slavomíra Mattošová², doc. MUDr. Ján Chandoga CSc.²,
MUDr. Viera Holecová³

¹Detská fakultná nemocnica s poliklinikou Banská Bystrica

²Ústav lekárskej biológie, genetiky a klinickej genetiky LF UK a UN Bratislava

³Fakultná nemocnica s poliklinikou F. D. Roosevelta Banská Bystrica

Pompeho choroba je vzácné dedičné ochorenie, ktoré je spôsobené deficitom enzýmu kyslá alfa-glukozidáza, ktorý sa nachádza v lyzozómoch a využíva sa na štiepenie glykogénu. Toto ochorenie patrí do skupiny lyzozómových ochorení. Nadmerné množstvo glykogénu sa hromadí v lyzozómoch v každej telesnej bunke, najvýraznejšie sú postihnuté kostrové svaly a srdcový sval. Na základe nástupu začiatku ochorenia a klinických príznakov, ktoré varujú, ako aj reziduálnych enzýmových aktivít rozlišujeme formy infantilnú, kde dominuje postihnutie srdcového svalu, a formu juvenilnú/adultnú, kde dominuje postihnutie kostrových svalov. V laboratórnych vyšetreniach zisťujeme u väčšiny pacientov zvýšenú hladinu kreatínkinázy. Diagnostika Pompeho choroby u pacientov s klinickými prejavmi vyžaduje dôkaz deficiencie α -glukozidázy. Môže byť meraná vo vzorkách svalovej biopsie, kultivovaných kožných fibroblastoch a purifikovaných lymfocytoch. Zisťovanie aktivity alfa-glukozidázy v suchej kvapke krvi predstavuje rýchlu, neinvasívnu a spoľahlivú metódu na stanovenie aktivity GAA, najmä ako iníciačný skríningový test. V posledných rokoch je k dispozícii enzymatická substitučná liečba rekombinantným purifikovaným humánnym enzýmom. Prezентujeme kazuistiku včasného záchytu juvenilnej formy.

Kľúčové slová: Pompeho choroba, kyslá alfa glukozidáza, myopatia.

Pompe disease – case report of the juvenile form

Pompe disease is a rare inherited disease that is caused by a deficiency of the enzyme alpha-glucosidase, which is located in the lysosomes and is used to break down glycogen. This disease belongs to the group of lysosomal storage diseases. Excessive glycogen accumulates in the lysosomes in every cell of the body, most affected being skeletal and cardiac muscle. Clinical symptoms can vary widely according to the residual enzyme activity, infantile variants are dominated by the involvement of the heart muscle and juvenile and adult variants are dominated by skeletal muscle disease. In laboratory tests, the majority of patients display elevated levels of creatine kinase. Diagnosis of Pompe disease in patients with clinical signs of deficiency requires proof of α -glucosidase. It may be measured in samples of a muscle biopsy, cultured skin fibroblasts and purified lymphocytes. Detection of alpha-glucosidase activity in dried blood spot is a rapid, non-invasive and reliable methodology for determining GAA activity, especially as an initial screening test. In recent years enzyme replacement therapy with a recombinant purified human enzyme has been available. This paper presents a case report of the early detection of juvenile form.

Key words: Pompe disease, acid alpha-glucosidase, myopathy.

Úvod

Pompeho choroba (PCh, glykogenóza II. typu, GSD II) je vzácné autozomálne recesívne dedičné ochorenie s incidenciou 1: 60 000 vo všetkých etnických skupinách. PCh je spôsobená mutáciami v géne kódujúcom enzým kyslá alfa-glukozidáza (GAA). Za normálnych okolností sa tento enzým nachádza v lyzozómoch a využíva sa na štiepenie glykogénu. Mutácie v GAA géne spôsobujú čiastočný alebo takmer úplný deficit enzýmu. Excesívne množstvo lyzozomálneho glykogénu sa hromadí v mnohých typoch buniek, ale najvýraznejšie sú postihnuté kostrové svaly a srdcový sval. Bolo objavených viac ako 300 mutácií v tomto géne, ktoré spôsobujú Pompeho chorobu. Klinické príznaky PCh môžu široko variovať vo veku objavenia sa prvých príznakov a miery ťažkostí príznakov v závislosti od reziduálnej enzýmovej aktivity.

Pri kompletnom alebo takmer kompletom deficite enzýmovej aktivity (menej ako

1% enzymatickej aktivity) sa ochorenie prejaví v prvých mesiacoch života a nazýva sa **infantilná forma**. Klinicky sú prítomné ťažkosti s kŕmením (saním), neprospievanie, hypotonický syndróm, respiračná insuficiencia a časté pneumónie. Srdce je extrémne hypertrofované a veľa detí má aj zväčšený jazyk. Deti umierajú v prvom roku života na kardiálne alebo respiračné zlyhanie.

Juvenilná/adultná forma je zapríčinená čiastočným deficitom enzýmu GAA. Začiatok ochorenia sa môže pohybovať od prvého decénia až do šiesteho decénia. Primárnym symptómom je progresívna svalová slabosť predominantne pletencových svalov, pričom svaly panvového pletenca sú postihnuté výraznejšie ako svaly ramenného pletenca. Môže byť prítomná aj slabosť trupového svalstva, ktorá sa klinicky prejaví ako skolióza alebo slabosť respiračného svalstva, ktorá vedie k dychovej nedostatočnosti. Srdce nebyva postihnuté alebo je postihnuté nevýrazne.

Laboratórna diagnostika

Elevácia sérovej **kreatínkinázy (CK)** je zvyčajne 15-násobná, ale asi u 10% pacientov býva hladina CK v norme (Špalek et Hlavatá, 2011). Nie je prítomná porucha metabolizmu glycidov, pacienti nemajú nikdy hypoglykémie. Diagnostika Pompeho choroby u pacientov s klinickými prejavmi vyžaduje dôkaz deficiencie α -glukozidázy. Zisťovanie **aktivity α -glukozidázy** v suchej kvapke krvi predstavuje rýchlu, neinvasívnu a spoľahlivú metódu na stanovenie aktivity GAA, najmä ako iníciačný skríningový test. Aktivita α -glukozidázy môže byť meraná vo vzorkách svalovej biopsie, kultivovaných kožných fibroblastoch a purifikovaných lymfocytoch. Testy využívajúce kultivované kožné fibroblasty sú považované za zlatý štandard v diagnostike m. Pompe z dôvodu, že nemajú enzýmové aktivity maltázy-glukoamylázy (MGA). Nevýhoda je, že kultivácia fibroblastov trvá niekoľko týždňov, čo oddaluje diagnózu a začatie liečby. Meranie

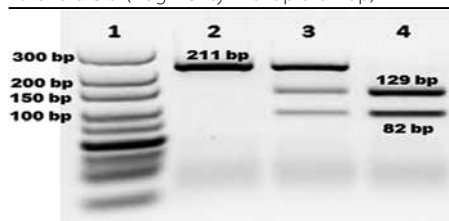
Obrázok 1. Trendelenburgova chôdza, kedy vo fáze, keď je plne zaťažená pravá noha a ľavá noha je nezaťažená, dochádza k poklesu ľavého bedra, na rozdiel od situácie u zdravého človeka, kedy panva ostáva vyrovnaná



Obrázok 2. Postavovanie z drepu



Obrázok 3. Výsledok restriktívneho štiepenia na detekciu mutácie IVS1-13T>G. Dráha č. 1 – marker molekulovej hmotnosti, dráha č. 2 – pacient s Pompeho chorobou – homozygot pre mutáciu IVS1-13T>G (fragment 211 bp), dráha č. 3 – heterozygot pre mutáciu IVS1-13T>G (fragменты 211 bp, 129 bp a 82 bp), dráha č. 4 – homozygot pre zdravú alelu (fragменты 129 bp a 82 bp)



aktivity v leukocytoch a v suchých kvapkách krvi (DBS) je komplikované prítomnosťou MGA nachádzajúcej sa v neutrofiloch. MGA je aktívna aj pri kyslom pH, čo maskuje deficit lyzozómovej α -glukozidázy (Winchester et al., 2008). Aktivita MGA môže byť zablokovaná inhibítorom akarbózu, čím sa dosiahne spoľahlivá diagnostika Pompeho choroby v DBS a v leukocytoch (Zhang et al., 2006, Okumiyama et al., 2006). Pri vzorkách sa vyšetrojú celkové aktivity (MGA + α -glukozidázy) a aktivity v prítomnosti akarbózy, ktorá inhibuje MGA, takže namerané aktivity zodpovedajú lyzozómovej enzýmu α -glukozidáze. Pri každej meranej vzorke sa vypočíta pomer aktivít vzoriek

s inhibítorom akarbózu k celkovým aktivitám. Na určenie diagnózy Pompeho choroby je dôležitý tento ukazovateľ, ktorého hodnoty by mali byť nižšie ako 0,29.

Po potvrdení Pompeho choroby určením enzýmových aktivít nasleduje **molekulárno-genetická diagnostika** a určenie mutácií v géne pre α -glukozidázu (GAA). DNA diagnostika pozostáva z detekcie mutácií v GAA géne. Identifikácia mutácií v GAA géne poskytuje cennú informáciu na skrining rodinných príslušníkov a identifikáciu prenášačov ako aj na genetické poradenstvo. Analýza mutácií je taktiež potrebná na stanovenie genotypovo-fenotypových korelácií (Kishnani et al., 2006, Winchester et al., 2008).

Elektromyografia (EMG)

Ihlovou EMG sa môže zistiť myogénny nález, ale často sú prítomné aj nešpecifické EMG nálezy ako zvýšená inzerčná aktivita vo forme pseudomyotonických výbojov, komplex repetitívnych výbojov, fibrilačných potenciálov a pozitívnych ostrých vln (Špalek et Hlavatá 2011).

Svalová biopsia

Typickým nálezom vo svetelnom mikroskope pri farbení hematoxilínom-eozínom sú vakuolizované svalové vlákna s vysokým obsahom glykogénu. Vo vakuolách sa histochemicky detegujú aktivity kyselých fosfatáz, čo svedčí o tom, že ide o lyzozómy. Pri PAS (Periodic acid schiff) farbení majú vakuoly výraznú reakciu. Ostatné histologické zmeny sú nešpecifické (internalizácia jadier, variácie veľkosti svalových vlákien a zrnčenie interstícia).

Môžu byť aj falošne negatívne výsledky, keďže nie všetky svaly sú postihnuté rovnako. Svalová biopsia nie je nevyhnutnou diagnostickou metodikou.

Terapia

Významným prelomom v terapii bolo zavedenie enzýmovej substitučnej liečby s rekombinantnou alfa-glukozidázou. Komerčne je v Európe dostupná od apríla 2006. Podáva sa v dávke 20 mg/kg intravenózne v intervale 14 dní. Pri včasnom začatí liečby sa darí zabrániť progresii ochorenia pri infantilných formách a zmierniť príznaky pri adultných formách. Najväčšou limitáciou ostáva vysoká cena substitučnej liečby (Malinová 2010).

Kazuistika

Vo februári roku 2012 sme na našu kliniku prijali 5,5-ročné dievča a negatívnou perinatálnou a rodinnou anamnézou a s normálnym

ranným psychomotorickým vývinom. Posledný rok rodičia pozorovali, že začína chodiť po špičkách, prejde len krátku vzdialenosť, musí často oddychovať, pri chôdzi do schodov si nestráda nohy a pomáha si rukami. Pri prijatí bol v objektivnom náleze myopatický syndróm, dominantne bol postihnutý panvový svalový pletenec a Trendelenburgova chôdza (viď obrázok 1.) ako prejav slabosti dolného svalového pletenca, scapulae allatae ako prejav slabosti ramenného pletenca, Gowersov príznak nebol prítomný, ale postavovanie z drepu za pomoci konvergencie kolien – viď obrázok 2.

Z laboratórnych výsledkov mala pacientka zvýšené hodnoty CK na 16,18 ukat/l, AST 4,12 ukat/l a ALT 2,9 ukat/l, ale špecifický hepatálny enzým GMT v norme 0,19 ukat/l a karnitín bol tiež v norme.

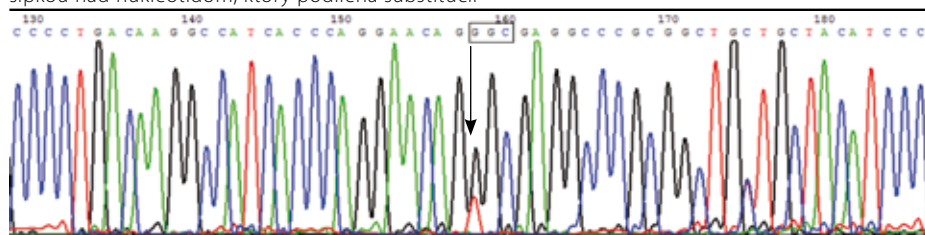
Ihlové EMG vyšetrenie z m. rectus femoris l. dx. v pokoji sa u 5-ročnej pacientky ťažko dosahuje relaxácia, preto bolo hodnotenie pozitívnych ostrých vln aj fibrilácií problematické. Hodnotili sme posluchovo len v krátkych úsekoch, kde sme nenašli typický obraz svedčiaci pre ich prítomnosť. Pri intencii bol postupný nábór trifázických akčných potenciálov s nízkou amplitúdou a krátkym trvaním typických pre myogénnu léziu z viacerých miest vpichu. Pri maximálnej kontrakcii bol dokumentovaný prechodný typ krivky. Opakovane boli zachytené aj vyššie potenciály. Myotonické výboje z vyšetrovaných miest neboli zachytené. Nakoľko sme supponovaný typ poruchy potvrdili z končatinového svalu, neindikovali sme vyšetrenie paraspinalných svalov, ktoré je odporúčané len pri negatívnom náleze pri ihlovom EMG na končatinách (Cupler et al. 2012).

V spirometrickom vyšetrení bez obštrukčnej ventiláčnej poruchy, vitálna kapacita redukovaná na 60% normy, čo je čiastočne spôsobené aj nedostatočnou spoluprácou. Kardiologický nález v norme, rovnako ako aj USG vyšetrenie brucha.

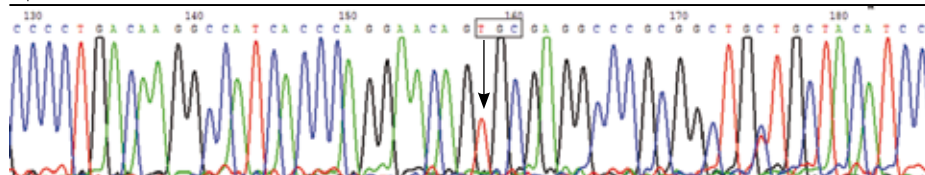
Vyšetrili sme gén CAPN3 na detegovateľnú formu kongenitálnej svalovej dystrofie (LGMD – limb girdle muscular dystrophy), kde nebola identifikovaná žiadna kauzálna mutácia.

Pacientka mala realizovanú svalovú biopsiu s nálezom hojných vakuolizovaných svalových vlákien (cca 40 – 50% zo všetkých vlákien) s akumuláciou PAS pozitívneho materiálu. Bez zápalovej celulizácie v interstíciu. Akumulácia lipidov nebola dokázaná. Vysoká aktivita kyselých fosfatáz vo vakuolizovaných vláknach svedčila pre ich lyzozomálny pôvod. To znamená, že histologický obraz svedčil pre ochorenie zo skupiny autofagických vakuolárnych myopatií s lyzozomálnym pôvodom.

Obrázok 4. Výsledok sekvenčnej analýzy exónu 2. Mutácia C103G v heterozygotnom stave s prítomnosťou tymínu a guanínu v pozícii 307 cDNA. Miesto nukleotidovej zámény je na obrázku znázornené šípkou nad nukleotidom, ktorý podlieha substitúcii



Obrázok 5. Výsledok sekvenčnej analýzy exónu 2 pri kontrolnej vzorke s prítomnosťou tymínu v pozícii 307 cDNA



Výšetrením zo suchej kvapky krvi sa zistovala enzýmová aktivita alfa glukozidázy s nálezom celkovej aktivity v norme (36,9 nmol/hod/mg), ale aktivita po inhibícii akarbózou bola znížená na 8,7nmol/hod/mg a znížený bol aj pomer aktivity po inhibícii a celkovej aktivity na 0,24, zatiaľ čo pri kontrolných vzorkách je pomer 0,42±0,12 (AP±SD), čo je významným ukazovateľom na posúdenie deficitu, t. j. výsledok bol pozitívny a diagnóza M. Pompe možná.

Pomocou merania α -glukozidázy v suspenzii izolovaných leukocytov sme u pacientky potvrdili Pompeho chorobu. Aktivity α -glukozidázy po inhibícii akarbózou boli znížené (7,8 nmol/hod.mg) oproti kontrolným vzorkám a pomer aktivít s akarbózou k aktivitám bez akarbózy bol 0,20, zatiaľ čo pri vzorkách kontrolného súboru sa pomer pohybuje v rozmedzí 0,28 – 0,60.

Aktivita kontrolného enzýmu β -galaktozidázy sa pohybovala v referenčnom intervale.

Po potvrdení Pompeho choroby určením enzýmových aktivít nasledovala molekulárno-genetická diagnostika a určenie mutácií v géne pre α -glukozidázu (GAA). Prostredníctvom PCR-RFLP sme u pacientky zistili prítomnosť najčastejšej mutácie IVS1–13T>G v heterozygotnom stave. K zisteniu druhej mutácie sme uskutočnili sekvenčnú analýzu kódujúcej oblasti GAA génu. Pomocou sekvenčnej analýzy sme na druhej alele identifikovali mutáciu C103G. To znamená, že pacientka je zložený heterozygot pre mutácie IVS1 (-13T>G) a C103G v GAA géne.

Mutačná analýza GAA génu rodiny: otec pacientky mal prítomnú mutáciu C103G v heterozygotnom stave, mama pacientky mala mutáciu IVS1–13T>G v heterozygotnom stave, u brata

sme zistili mutáciu IVS1–13T>G v heterozygotnom stave a sestra pacientky nemala ani jednu z uvedených mutácií. Rodina bez konsangvinity.

Pacientka mala začatú enzýmovú substitučnú liečbu.

Literatúra

1. Kishnani PS, Steiner RD, Bali D, et al. Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genet. Med.* 2006; 8(5): 267–288.
2. Malinová V. Glykogenózy II. typu (DSD II, m. Pompe). Současné možnosti diagnostiky a terapie. *Klinická kazuistika Neurol. praxi.* 2010; 11(5): 331–335.
3. Okumiya T, Keulemans JLM, Kroos MA, et al. A new diagnostic assay for glycogenstorage disease type II in mixed leukocytes. *Mol. Genet. Metab.* 2006; 88: 22–28.
4. Špalek P, Hlavatá A. Pompeho choroba – nové trendy v diagnostike a liečbe. *Via practica.* 2011; 8(5): 225–229.
5. Winchester B, Bali D, Bodamer OA. Methods for a prompt and reliable laboratory diagnosis of Pompe disease: Report from an international consensus meeting. *Mol. Genet. Metab.* 2008; 93: 275–281.
6. Zhang H, Kallwass H, Young SP. Comparison of maltose and acarbose as inhibitors of maltase-glucoamylase activity in assaying acid α -glucosidase activity in dried blood spots for the diagnosis of infantile Pompe disease. *Genet. Med.* 2006; 8(5): 302–306.
7. Cupler EJ, Berger KI, Leshner RT. AANEM Consensus Committee on Late-onset Pompe disease. Consensus treatment recommendations for late-onset Pompe disease. *Muscle Nerve* 2012; 45(3): 319–333.

Článok je prevzatý z
Neurol. praxi 2015; 16(1): 48–50

MUDr. Katarína Okáľová, PhD.

Detská fakultná nemocnica s poliklinikou
Banská Bystrica
Nám. L. Svobodu 4, 974 09 Banská Bystrica
kokalova@nspbb.sk