

Van gen naar ziekte; de ziekte van Gaucher

C.E.M.Hollak, R.G.Boot, B.J.H.M.Poorthuis en J.M.F.G.Aerts

DE ZIEKTE

De ziekte van Gaucher is een autosomaal recessief overervende aandoening en behoort tot de groep van lysosomale stapelingsziekten.¹ Deficiëntie van het lysosomale enzym glucocerebrosidase (synoniemen: glucosylceramidase en EC 3.2.1.45) resulteert in stapeling van glucosylceramide in macrofagen.^{2,3} Karakteristieke stapelingscellen, zogenaamde Gaucher-cellen (figuur 1), kunnen gevonden worden in lever, milt en beenmerg.

De ziekte wordt ingedeeld in 3 fenotypen, waarbij aanwezigheid van neurologische symptomen het belangrijkste verschil maakt. De zogenaamde type-1-vorm of non-neuronopathische vorm komt verreweg het meest voor. Hierbij staan hepatosplenomegalie, cytopenie en beenmerginfiltratie met hieraan gekoppelde botafwijkingen op de voorgrond.¹ Hoewel traditioneel aangeduid met de term 'adulte vorm' kan de type-1-vorm zich op iedere leeftijd openbaren.¹⁻⁴ Meestal zijn er een geleidelijk toenemende hepatosplenomegalie en cytopenie, later gevolgd door botpijnen met hevig pijnlijke botcrises en pathologische fracturen. Het beloop kan echter wisselend zijn en patiënten die geen enkel symptoom hebben zijn ook beschreven. De oorzaak van deze heterogene uiting van de ziekte kan slechts zeer ten dele verklaard worden uit een verschil in genotype (zie verder). Bij de zeldzamere typen 2 en 3 wordt het beeld gekenmerkt door respectievelijk snel progressieve of geleidelijk toenemende afwijkingen van het centrale zenuwstelsel. Type-2-patiënten overlijden meestal voor het 2e levensjaar, terwijl type-3-patiënten meestal voor hun 30e levensjaar overlijden.¹

Behandeling. De ziekte van Gaucher is de eerste lysosomale stapelingsziekte waarvoor rationele therapie is ontwikkeld. Sinds de vroege jaren negentig van de vorige eeuw is er een succesvolle behandeling voor de ziekte van Gaucher type 1. Intraveneuze toediening van imiglucerase, dat is gezuiverd en gemodificeerd recombinant glucocerebrosidase, leidt bij patiënten met type 1 tot een aanzienlijke afname van stapeling in alle organen, herstel van cytopenie

en verbetering van de kwaliteit van leven. Hierover werd in dit tijdschrift reeds gerapporteerd.⁵⁻⁶ Schade aan het skelet kan met deze behandeling, mits men er tijdig mee start, voorkomen worden. Niet alle type-1-patiënten behoeven behandeling. Regelmatige monitoring is van groot belang om het juiste moment te bepalen waarop met therapie begonnen wordt. Verschillende doseringen zijn onderzocht, waarbij in Nederland, mede gezien de hoge kosten, een geïndividualiseerd doseringsschema wordt gehanteerd, waarbij men streeft naar optimale respons bij een zo laag mogelijke dosis.⁷ Behandeling met imiglucerase geeft geen verbetering van neurologische symptomen. Kinderen met type 2 hebben daarom geen baat bij deze therapie en bij type-3-patiënten kan slechts verlichting van de viscerale afwijkingen en de botafwijkingen verkregen worden.⁸

Recent is het orale middel miglustat geregistreerd voor behandeling van licht tot matig ernstig aangedane patiënten met de ziekte van Gaucher type 1 die geen enzymtherapie willen of kunnen krijgen.⁹ Miglustat is een substraatremmer, waarbij de productie van glucosylceramide, de eerste stap in de synthese van complexe glycosfingolipiden, geremd wordt en kan zo de balans tussen afbraak en aanmaak herstellen.¹⁰ In de Verenigde Staten zijn enkele onderzoeken verricht naar de effectiviteit van gentherapie, maar er zijn nog geen klinische effecten van betekenis gemeld.¹¹

HET GEN

Het gen voor glucocerebrosidase (GBA) is gelokaliseerd op chromosoom 1q21.¹² Het bestaat uit 11 exonen (circa 7 kb) en codeert voor een mRNA van ongeveer 2500 nucleotiden. Een pseudo-gen (circa 5 kb) met 96% homologie ten aanzien van de exonen is gelokaliseerd op 16 kb afstand van het actieve gen. Inmiddels zijn er meer dan 200 GBA-genmutaties beschreven, genummerd naar hun positie in het cDNA ten opzichte van het startcodon of op basis van de aminozuurpositie in de eiwitketen. De aard van de mutatie bepaalt de uiteindelijke restactiviteit van het enzym. Zo veroorzaakt de 84GG-mutatie, waarbij insertie van een tweede guanosine (G) op positie 84 leidt tot een vroege leesraamverschuiving, volledige afwezigheid van enzymproductie. Minder ernstige defecten, zoals de N370S-mutatie (daarbij is op positie 370 een asparagine (N) vervangen door een serine (S)), geven een geringe afname van enzymactiviteit. De abnormale allelen betreffen 'missense'- en 'nonsense'-mutaties in exonen, 'splice junction'-mutaties, deleties of

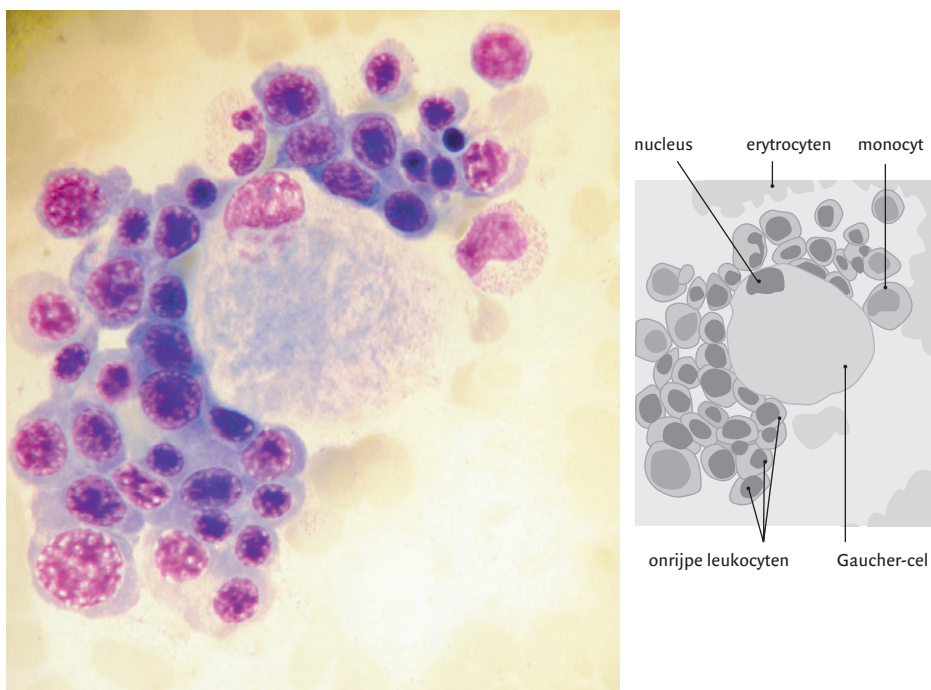
Academisch Medisch Centrum/Universiteit van Amsterdam, Meibergdreef 9, 1100 AZ Amsterdam.

Afd. Inwendige Geneeskunde, onderafd. Endocrinologie en Metabolieme: mw.dr.C.E.M.Hollak, internist.

Afd. Biochemie: hr.dr.R.G.Boot en hr.prof.dr.J.M.F.G.Aerts, biochemici. Leids Universitair Medisch Centrum, afd. Kindergeneeskunde, Leiden.

Hr.dr.B.J.H.M.Poorthuis, klinisch chemicus.

Correspondentieadres: mw.dr.C.E.M.Hollak.



FIGUUR 1. Gaucher-cel; macrofaag met excentrisch gelegen kern en streperig cytoplasma ten gevolge van in tubulaire structuren opgeslagen stapeling van glucocerebroside (vergroting: 700 ×; kleuring: Jenner-Giems).a).

inserties van 1 of meer nucleotiden, en complexe allelen ten gevolge van genconversie of recombinatie met het pseudogen.

HET EIWIT

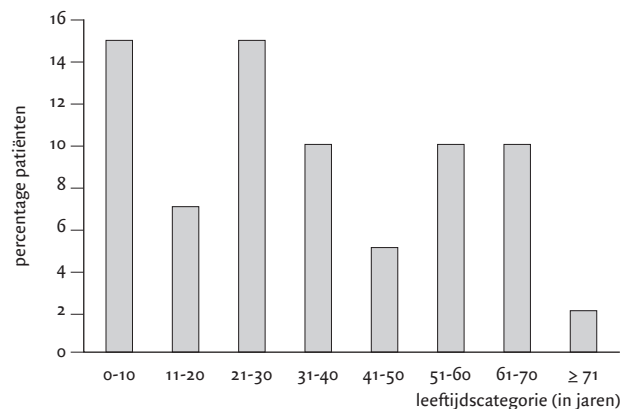
Het enzym glucocerebrosidase is een glycoproteïne van 59 kDa aan de lysosomale membraan. In tegenstelling tot veel andere lysosomale enzymen wordt het eiwit niet gesecreteerd, zodat plasma niet als bron voor diagnostiek kan dienen. Het eiwit wordt geactiveerd door saposine C, een proteolytisch fragment van prosaposine. Deficiëntie van saposine C kan ook ten grondslag liggen aan de ziekte van Gaucher.¹³ De suikerketens van glucocerebrosidase bestaan uit 'complex-type' structuren, zonder mannose-6-fosfaat, zodat in de normale situatie transport naar het lysosoom onafhankelijk van het mannose-6-fosfaatreceptorpad verloopt. Het commercieel verkrijgbare enzympreparaat voor behandeling van de ziekte van Gaucher heeft een modificatie van deze suikerketens ondergaan, zodanig dat eindstandige mannoserisiduen overblijven, die specifieke opname door de macrofagen (Gaucher-cellen) faciliteren via de mannosereceptor. De activiteit van het enzym is door deze procedure intact gebleven.

DE CEL

De Gaucher-cel is de centrale pathologische cel bij de ziekte van Gaucher. De met glycolipiden beladen macrofagen zijn te vinden in beenmerg, lever en milt en in zeldzame gevallen in nier, long en centraal zenuwstelsel. De Gaucher-macrophage is een geactiveerde cel die verschillende biologisch actieve stoffen secreteert, waaronder cytokinen als TNF- α , IL6, IL8 en macrofaag-koloniestimulerende factor (M-CSF), en verschillende hydrolasen, zoals het tartraatresistente zure fosfatase (TRAP), lysozym en angiotensineconverte-rend enzym. Verhogingen van de concentratie of de activiteit van deze factoren in het bloed kunnen soms aanleiding zijn tot het overwegen van de diagnose 'ziekte van Gaucher'. Het specifiekst zijn de sterk verhoogde activiteit van het enzym chitotriosidase¹⁴ en de verhoogde concentratie van het recent beschreven chemokine CCL18,¹⁵ die gemiddeld respectievelijk 1000 keer en 30 keer verhoogd zijn. Chitotriosidase wordt inmiddels wereldwijd toegepast als surrogaatmarker om het effect van therapie te monitoren. De productie en de secretie van deze cytokinen en hydrolasen dragen wellicht bij aan het pathofysiologisch mechanisme van de ziekte van Gaucher.

De type-1-variant van de ziekte van Gaucher heeft een hoge prevalentie in de asjkenazisch-joodse bevolking. Vier mutante allelen (N370S, L444P, 84GG, IVS2+1) zijn verantwoordelijk voor het grootste deel van de afwijkingen in de gehele Gaucher-populatie. Hiervan komen de N370S en 84GG het meest voor bij de joodse bevolking, met een frequentie van respectievelijk 3,2% en 0,2%. Dit komt overeen met 77% en 13% van de mutante allelen in deze populatie.^{16, 17} De gecombineerde frequentie van deze mutaties zou leiden tot een verwachte incidentie van 1 per 855 levendgeborenen. De reden voor deze hoge frequentie in de asjkenazisch-joodse populatie is onbekend, hoewel wel gespeculeerd is dat dragerschap een selectievoordeel zou geven.¹⁸ In de West-Europese populatie is de frequentie van de N370S mutatie lager dan in de asjkenazisch-joodse populatie. Naar schatting zijn er in Nederland 100 tot 150 Gaucher-patiënten aanwezig.¹⁹ Mogelijk ligt het werkelijke aantal patiënten hoger, omdat lichte uitingsvormen van de ziekte gemist kunnen worden. Hoewel het overgrote deel van de Nederlandse patiënten met de ziekte van Gaucher type 1 niet bekend is wegens een asjkenazisch-joodse achtergrond is de N370S ook hier verantwoordelijk voor 50% van de gemuteerde allelen.²⁰ Hierbij wordt deze mutatie vrijwel steeds gevonden in combinatie met een andere pathogene mutatie op het andere allel (samengestelde heterozygotie). Opvallend is dat patiënten die homozygoot zijn voor de N370S-mutatie, vrijwel geheel ontbreken. Dit suggereert dat in Nederland homozygotie voor de N370S-mutatie in de meeste gevallen nauwelijks of niet tot klachten leidt. Verder valt het geringe aantal patiënten bij wie de diagnose 'ziekte van Gaucher type 1' op de kinderleeftijd is gesteld op in vergelijking met gegevens uit internationale overzichten (figuur 2); dit is vooral het geval bij de patiënten van autochtone afkomst.⁴ De verklaring voor deze verschuiving naar een minder ernstig fenotype zou kunnen liggen in modifierende genen of omgevingsfactoren.

Genotype-fenotypecorrelaties bij de ziekte van Gaucher zijn niet eenduidig. Dit bemoeilijkt genetische counseling. De belangrijkste conclusie die getrokken kan worden uit de vele studies die zijn verricht, is dat homozygotie voor de N370S-mutatie en samengestelde heterozygotie voor deze mutatie en een andere mutatie betrokkenheid van het centrale zenuwstelsel uitsluit en dus steeds gepaard gaat met Gaucher type 1. Bij homozygotie voor de N370S-mutatie zijn de patiënten vaak minder ernstig aangedaan, hoewel de ziekte zich ook dan op de kinderleeftijd kan manifesteren.⁴ De combinatie van een zogenaamde ernstige mutatie, zoals de L444P, met bijvoorbeeld de 84GG-'null'-mutatie gaat daarentegen vrijwel altijd samen met de ernstige type-2- en -3-vormen, evenals homozygotie voor L444P.¹⁷



FIGUUR 2. Percentage patiënten met de ziekte van Gaucher type 1 in Nederland gediagnosticeerd in de periode 1966-2001 (n = 108; leeftijd bekend: 75), verdeeld naar leeftijdsgroepen waarop de diagnose is gesteld.

DIAGNOSTIEK

De gouden standaard voor het stellen van de diagnose 'ziekte van Gaucher' is het aantonen van de glucocerebrosidase-deficiëntie in leukocyten.²¹ Deze diagnostiek wordt in Nederland in verschillende klinisch-genetische centra verricht. Omdat een patiënt zich veelal met een onbegrepen (hepato)splenomegalie en cytopenie presenteert, wordt nogal eens beenmergonderzoek verricht. Dit is begrijpelijk in het licht van de differentiaaldiagnose, zoals lymfoom of leukemie. Voor de diagnose 'ziekte van Gaucher' is het echter niet noodzakelijk.²² Als onderzoek wordt verricht van beenmerg of weefsel, zoals na een leverbiopsie of splenectomie, dan zijn de typische Gaucher-cellen goed te herkennen. Aanvullende enzymdiagnostiek dient nog steeds verricht te worden, omdat in zeldzame gevallen ook pseudo-Gaucher-cellen gevonden kunnen worden.²³ Vervolgens kan mutatieanalyse verricht worden, waarbij tevens screening van broers en zussen aan te raden is. Vanwege de beschikbaarheid van effectieve behandelingen is vroege herkenning van de ziekte opportuun.

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Aanvaard op 11 mei 2005

Literatuur

- Beutler E, Grabowski GA. Gaucher disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill; 1995. p. 2641-70.
- Patrick AD. Short communications: a deficiency in glucocerebrosidase in Gaucher's disease. *Biochem J* 1965;97:17C-8C.

- 3 Brady RO, Kanfer JN, Bradley RM, Shapiro D. Demonstration of a deficiency of glucocerebrosidase-cleaving enzyme in Gaucher's disease. *J Clin Invest* 1966;45:1112-5.
- 4 Grabowski GA, Andria G, Baldellou A, Campbell PE, Charrow J, Cohen JJ, et al. Pediatric non-neuronopathic Gaucher disease: presentation, diagnosis and assessment consensus statements. *Eur J Pediatr* 2004;163:58-66.
- 5 Hollak CEM, Aerts JMFG, Goudsmit R. De ziekte van Gaucher; nieuwe ontwikkelingen in de behandeling van lysosomale stapelingsziekten. *Ned Tijdschr Geneesk* 1991;135:2162-4.
- 6 Hollak CEM, Oers MHJ van, Maaswinkel P, Aerts JMFG, Goudsmit R. Behandeling van de ziekte van Gaucher in Nederland met enzymvervangingstherapie. *Ned Tijdschr Geneesk* 1996;140:1011-3.
- 7 Hollak CEM, Aerts JMFG, Goudsmit R, Phoa SS, Ek M, Weely S van, et al. Individualised low-dose alglucerase therapy for type 1 Gaucher's disease. *Lancet* 1995;345:1474-8.
- 8 Vellodi A, Bembi B, de Villemeur TB, Collin-Histed T, Erikson A, Mengel E, et al. Management of neuronopathic Gaucher disease: a European consensus. *J Inher Metab Dis* 2001;24:319-27.
- 9 Cox T, Lachmann R, Hollak CEM, Aerts JMFG, Weely S van, Hrebicek M, et al. Novel oral treatment of Gaucher's disease with N-butyldeoxynojirimycin (OGT 918) to decrease substrate biosynthesis. *Lancet* 2000;355:1481-5.
- 10 Platt FM, Neises GR, Dwek RA, Butters TD. N-butyldeoxynojirimycin is a novel inhibitor of glycolipid biosynthesis. *J Biol Chem* 1994;269:8362-5.
- 11 Cabrera-Salazar MA, Novelli E, Barranger JA. Gene therapy for the lysosomal storage disorders. *Curr Opin Mol Ther* 2002;4:349-58.
- 12 Ginns EI, Choudary PV, Tsuji S, Martin B, Stubblefield B, Sawyer J, et al. Gene mapping and leader polypeptide sequence of human glucocerebrosidase: implications for Gaucher disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985;82:7101-5.
- 13 Schnabel D, Schroder M, Sandhoff K. Mutation in the sphingolipid activator protein 2 in a patient with a variant of Gaucher disease. *FEBS Lett* 1991;284:57-9.
- 14 Hollak CEM, Weely S van, Oers MH van, Aerts JMFG. Marked elevation of plasma chitotriosidase activity. A novel hallmark of Gaucher disease. *J Clin Invest* 1994;93:1288-92.
- 15 Boot RG, Verhoek M, Fost M de, Hollak CEM, Maas M, Bleijlevens B, et al. Marked elevation of the chemokine CCL18/PARC in Gaucher disease: a novel surrogate marker for assessing therapeutic intervention. *Blood* 2004;103:33-9.
- 16 Grabowski GA, Horowitz M. Gaucher's disease: molecular, genetic and enzymological aspects. *Baillieres Clin Haematol* 1997;10:635-56.
- 17 Beutler E, Gelbart T. Gaucher disease mutations in non-Jewish patients. *Br J Haematol* 1993;85:401-5.
- 18 Kannai R, Elstein D, Weiler-Razell D, Zimran A. The selective advantage of Gaucher's disease: TB or not TB? *Isr J Med Sci* 1994;30:911-2.
- 19 Poorthuis BJ, Wevers RA, Kleijer WJ, Groener JE, Jong JG de, Weely S van, et al. The frequency of lysosomal storage diseases in the Netherlands. *Hum Genet* 1999;105:151-6.
- 20 Boot RG, Hollak CEM, Verhoek M, Sloof P, Poorthuis BJ, Kleijer WJ, et al. Glucocerebrosidase genotype of Gaucher patients in the Netherlands: limitations in prognostic value. *Hum Mutat* 1997;10:348-58.
- 21 Daniels LB, Glew RH. Beta-glucosidase assays in the diagnosis of Gaucher's disease. *Clin Chem* 1982;28(4 Pt 1):569-77.
- 22 Beutler E, Saven A. Misuse of marrow examination in the diagnosis of Gaucher disease. *Blood* 1990;76:646-8.
- 23 Busche G, Majewski H, Schlue J, Delventhal S, Baer-Henney S, Vykoupil KF, et al. Frequency of pseudo-Gaucher cells in diagnostic bone marrow biopsies from patients with Ph-positive chronic myeloid leukaemia. *Virchows Arch* 1997;430:139-48.

Abstract

From gene to disease; Gaucher disease. – Gaucher disease is an autosomal recessive inherited lysosomal storage disorder due to mutations in the glucocerebrosidase gene located on chromosome 1q21. Hepatosplenomegaly and bone disease due to massive accumulation of undegraded glucocerebroside in macrophages found in the liver, spleen and bone marrow dominate the clinical picture in type 1 disease. In rare instances (type 2 and 3 disease) the central nervous system is involved. Phenotype-genotype correlations are poor. Diagnosis is possible by enzyme assay at clinical genetic centres in the Netherlands. The availability of effective therapies emphasizes the need for early recognition of the disease.

Ned Tijdschr Geneesk 2005;149:2163-6