

## UTREDNING AV NEUROMETABOLA SJUKDOMAR

Jan-Eric Månsson, docent  
Neurokemi

Laboratoriemedicin/Klinisk kemi  
Sahlgrenska Universitetssjukhuset/Mölndal  
431 80 Mölndal

Tel: 031-3430025 Fax: 031-3432426

e-mail: jan-eric.mansson@vgregion.se

<http://www.sahlgrenska.se/klinkem> (neurometabola sjukdomar)

---

### LYSOSOMALA SJUKDOMAR

#### Lysosomal funktion

Förekomsten av lysosomer i cellerna beskrevs första gången av De Duve och medarbetare 1955. Lysosomerna är cellorganeller, 400-500 nm stora, med starkt surt pH i vilken både endogena och exogena stora, sammansatta molekyler (makromolekyler) brytes ned till sina lågmolekylära byggstenar. Ca 50 % av proteininnehållet i det lysosomal membranet utgörs av kraftigt glykosylerade proteiner med kolhydratkedjorna på den luminala sidan. Dessa proteiner har bland annat till funktion att förhindra autolys av lysosomen. I den lysosomal lumen finns åtminstone ett 50-tal enzymer/proteiner, som oftast i samverkan, bryter ned makromolekylerna (proteiner, glykoproteiner, glykosaminoglykaner, lipider, glykolipider) till sina individuella byggstenar såsom aminosyror, monosackarider och fettsyror. Dessa byggstenar transporteras sedan ut ur lysosomerna via olika transportproteiner i det lysosomal membranet för att antingen användas i nysyntes eller genomgå fortsatt degradation i cellen. Lysosomerna genomgår också till viss del exocytos som del av reparationsmekanismer av plasmamembranet. Lysosomerna spelar således en viktig roll vid cellernas egen förnyelse. Molekylerna som skall brytas ned i lysosomerna transporteras dit på två olika sätt beroende på deras ursprung. När de är av extracellulärt ursprung internaliseras de av invaginering av plasmamembranet, en process som kallas endocytos eller heterofagi. Intracellulära makromolekyler eller makromolekylära strukturer överföres till det lysosomal systemet i en process som kallas autofagi. Först sker en inneslutning i speciella vesiklar, autofagosomer, som sedan sammansmälter med det lysosomal systemet på ett likartat sätt som för endosomer.

#### Lysosomal sjukdomar

De lysosomal sjukdomarna beror på olika ärftliga förändringar i den lysosomal funktionen. Kliniskt beskrevs många av dessa redan i slutet av 1800-talet men begreppet lysosomal upplagringsjukdom myntades först 1963 av Hers i och med upptäckten att glykogenos typ II (Pompe) orsakades av brist av det lysosomal enzymet  $\alpha$ -glukosidas. En enkel indelning av de lysosomal sjukdomarna i olika grupper baserad på typ av ansamlad substans användes fortfarande allmänt. Ett drygt 50-tal lysosomal sjukdomar är idag kända. De flesta är orsakade av förändringar i något enzymprotein som leder till en reducerad hydrolytisk aktivitet. Felaktig processning av det lysosomal enzymprotein, frånvaro av någon co-faktor eller förändrad lysosomal membranfunktion är andra orsaker till lysosomal sjukdom. De beskrivna förändringarna leder till upplagring av icke nedbrytbara naturligt förekommande substanser i

organ och utsöndring i kroppsvätskor, vilket i sin tur leder till den fortskridande fysiska och/eller intellektuella försämringen som ses vid dessa sjukdomar.

Lysosomal funktion finns i alla celltyper utom i erythrocyter. Lysosomala enzymer är av "house-keeping" typ och har mångfaldig överkapacitet att bryta ned olika substanser. Behovet av att omsätta olika makromolekyler varierar mycket mellan olika celltyper och organ men när inflödet av en substans till lysosomen överstiger degradationshastigheten så sker en upplagring. Den kritiska nivå av kvarvarande enzymaktivitet in vivo, vid vilken upplagringen börjar, är svår att beräkna men brukar oftast anges till storleksordningen 5-10 %. Graden av kvarvarande enzymaktivitet påverkar upplagringshastigheten och därmed tiden för symtomdebuten men även andra faktorer som modifierande gener och omgivande faktorer har betydelse för utvecklingen av fenotypen. Kliniskt har en indelning i undergrupper av en specifik lysosomal sjukdom skett med avseende på debutålder av symtomen. Man bör dock se debutåldern som ett kontinuum där rena nollmutationer oftast leder till den tidigdebuterande, snabbt progredierande formen. Dagens kunskapsnivå är fortfarande för begränsad för att vi helt skall kunna förstå genotyp-fenotyp korrelationer. Bilden kompliceras ytterligare av att vid var och en av dessa mycket sällsynta sjukdomar så förekommer ett stort antal mutationer (oftast >50 beskrivna i litteraturen). Även när samma mutation förekommer på båda kromosomarmarna kan den fenotypiska variationen vara mycket omfattande. Dessutom är kunskapen om den naturliga funktionen hos t ex sfingolipider fortfarande till stor del oklar varför förståelsen för de patogenetiska mekanismerna är begränsad.

### **Genetik och epidemiologi**

Det stora flertalet lysosomala sjukdomar är autosomt recessiva medan Fabry, MPS II (Hunter) och Danon har X-kromosombunden ärftlighetsgång. Vid Fabry har de kvinnliga anlagsbärarna oftast någon form av symtom medan detta inte förekommer vid Hunter.

Förekomsten av lysosomala sjukdomar som grupp är maximalt av storleksordningen 1 fall per 5000 nyfödda. De flesta lysosomala sjukdomar är pan-etniska men en del kan vara särskilt frekventa inom vissa geografiska områden eller bland vissa befolkningsgrupper. I Sverige har en form av Gaucher, Norrbottensformen, varit vanlig i Norrbotten och Västerbotten medan det i norra Finland i stället har varit Salla och aspartyglukosaminuri. I Jämtland förekommer metakromatisk leukodystrofi mer frekvent än på andra ställen av landet. Bland den judiska befolkningen av östeuropeiskt ursprung har Tay-Sachs, Gaucher och Fabry varit särskilt frekventa.

Vid vårt laboratorium har under perioden 1976-2002 totalt diagnosticerats 297 svenska patienter med lysosomala sjukdomar förutom ceroidlipofuscinoser. Detta ger en ungefärlig frekvens av 1/8700 nyfödda. Denna siffra överensstämmer väl med vad som observerats i andra länder i västvärlden. Den helt dominerande gruppen var sfingolipidoserna, som utgjorde 62 % av de diagnosticerade fallen. Av sfingolipidoserna utgjorde Krabbe 35 % och metakromatisk leukodystrofi 20 %.

Förekomsten av neuronala ceroidlipofuscinoser (CLN) är oklar men en incidens av 1/12500-1/25000 brukar anges i litteraturen. Den lägre incidenssiffran är sannolikt mest applicerbar för Sverige.

### **Kardinalsymtom vid lysosomala sjukdomar**

Även om symtombilden är mycket varierad mellan olika lysosomala sjukdomar så förekommer olika kardinalsymtom som kan ge misstanke om lysosomal sjukdom.

Om symtom bara kommer från nervsystemet så begränsas antalet möjliga lysosomala sjukdomar.

De mest uttalade symtomen är förlust av tillägnade färdigheter, irritabilitet, mental och/eller psykomotorisk utvecklingsförsening, grova anletsdrag, lever och/eller mjältoförstoring samt skelettförändringar. Andra symtom som kan förekomma vid lysosomala sjukdomar är kardiomyopati, angiokeratom, förlust av eller nedsatt hörsel och myoklonus epilepsi. Noggrann ögonundersökning kan också ge värdefull information om möjlig lysosomal sjukdom. Ett klassiskt ögonfynd är den körsbärsröda fläck (cherry-red spot) i macula lutea som kan observeras vid GM2-gangliosidos (Tay-Sachs) men även vid flera andra lysosomala sjukdomar. Störning i ögonmotoriken förekommer vid Niemann-Pick C samt vissa former av Gaucher. Hornhinnegrumling kan ses vid Hurler och hornhinneopacitet vid Fabry och mukopolidos IV.

Tiden för debuten av olika symtom vid en lysosomal sjukdom varierar och förekomsten av olika symtom kan klart variera mellan tidig- och sendebuterande form av samma lysosomala sjukdom.

Fabry kan exemplifiera denna variation. Tidigt i förloppet förekommer akroparestesier, hypohidros, smärtekriser, angiokeratom och hornhinneopacitet. Senare i förloppet förekommer nedsatt hörsel, kardiomyopati, nedsatt/sviktande njurfunktion samt ibland stroke-liknande episoder.

### Behandlingsprinciper

DeDuve föreslog redan 1964 att enzymsubstitutionsterapi skulle vara en möjlig behandlingsstrategi vid lysosomala sjukdomar. Det dröjde dock nästan 30 år innan Gaucher, som första lysosomala sjukdom, kunde behandlas med enzymsubstitutionsterapi (ERT). Det första tillgängliga glukosylceramidaset isolerades från human placenta. Numera framställs alla enzymer för terapi med rekombinantteknologi. Upptag i olika celltyper sker genom bindning av sockerkedjor på enzymproteinet med terminala mannos- eller mannos-6-fosfatgrupper till mannosreceptorer på cellytan och efterföljande endosomtransport till lysosomerna. En av de allvarliga begränsningarna med enzymsubstitutionsterapi är att administrerat enzym inte passerar blod-hjärnbarriären och man får således ingen effekt på symtom från nervsystemet. Idag finns, förutom för Gaucher, även godkända preparat för enzymsubstitutionsterapi av följande lysosomala sjukdomar; Fabry, MPS I, MPS II, MPS VI samt Pompe.

Dessförinnan hade redan i början av 1980-talet patienter med MPS I (Hurler) behandlats med allogen hematopoietisk stamcellsterapi (ASCT). Även en del patienter med Gaucher behandlades med ASCT innan enzymsubstitutionsterapin fanns tillgänglig. Vissa patienter med metakromatisk leukodystrofi och Krabbe har också, med varierande framgång, behandlats med ASCT. Start av ASCT på Krabbepatienter före symtomdebuten har visat sig ha långsiktigt god effekt på förhindrande av symtomutveckling.

En annan form av behandling, substratreduktionsterapi (SRT), är godkänd att användas för vissa Gaucherpatienter. Den bygger på att man begränsar belastningen på cellerna genom partiell reduktion av biosyntesen av glukosylceramid för att med resterande endogen glukosylceramidasaktivitet förhindra fortsatt ackumulering av glukosylceramid. Möjliga patienter att behandla är bara de med den högsta kvarvarande endogena enzymaktiviteten.

Möjligheten att behandla lysosomala sjukdomar med ”småmolekyler” har praktiskt visats vid cystinos.

Vid cystinos, där upplagring av cystein i lysosomerna sker, behandlas patienter med cystamin. Den svaga basen cystamin, liksom andra svaga organiska baser, tas lätt upp av lysosomerna. En disulfid mellan cystamin och cystein bildas och denna kan sedan transporteras ut ur lysosomerna med en lysintransportör till cellcytosolen varefter klyvning sker med reducerat glutathion.

Försök med ”småmolekyler” (chaperoner) pågår för att påverka stabiliteten av enzymproteinet och därigenom öka dess förekomst i lysosomerna. Förhoppningen är att därigenom åstadkomma en ökad enzymaktivitet. Fördelen med denna typ av terapi är att vissa ”småmolekyler” skulle kunna passera blod-hjärnbarriären och således även ha effekt i CNS. Nackdelen är, liksom vid ERT, att bara vissa mutationer med endogen enzymaktivitet är aktuella.

Genterapi har ännu inte nått praktisk tillämpning på lysosomala sjukdomar även om ett flertal djurexperimentella studier har visat att även detta är en möjlig behandlingsform för denna sjukdomsgrupp.

## Laboratorieundersökningar

På remiss Klinisk kemi 8, ”Neurometabola sjukdomar”, anges vilket provmaterial som behövs för olika undersökningar. Det mest vanliga är att anti-koagulerat blod (EDTA-blod) sändes vid rumstemperatur för olika enzymatiska undersökningar och morgonurin för ”screening” av utsöndrade glykokonjugat. I en del fall fordras odlade hudfibroblaster för att kunna utföra begärd analys. Fibroblastkulturer kan också sparas i cellbank för senare bruk men i de fall där fibroblaster är ett absolut krav så fördröjs analysresultatet med flera veckor. Det är sällan möjligt att direkt välja en enda analys för att komma fram till rätt diagnos utan oftast behövs en hel panel av analyser för att uppnå slutlig diagnos.

### Orienterande tester

Klinisk-kemiska rutinundersökningar ger sällan information om specifik lysosomal sjukdom men kan ge vägledning om inriktning av den fortsatta laboratorieutredningen. Sänkt hemoglobinkoncentration och trombocytital tillsammans med bukförstoring ger en indikation om Gaucher. Undersökning av blodcellmorfologin kan ge information om möjlig förekomst av vissa lysosomala sjukdomar. Vakuoliserade lymfocyter förekommer hos en del lysosomala sjukdomar (Mukolipidos II, Pompe, ISSD, Sialidos, Galaktosialidos samt CLN 3). Denna analys måste beställas specifikt i och med dagens automatiserade hematologiska undersökningar.

I benmärgsutstryk är ”Gaucher”celler karaktäristiska men kan förekomma vid andra blodsjukdomar än Gaucher. Skumceller (Niemann-Pick A,B,C, Wolman) och ”sea-blue” histiocytes förekommer vid vissa lysosomala sjukdomar men är inte specifika för dessa.

Elektronmikroskopi behövs som orienterande undersökning vid mukolipidos IV och utföres oftast direkt på hudbiopsi men kan även utföras på odlade hudfibroblaster.

Om albuminkvoten är ökad i cerebrospinalvätska så är detta en klar indikation om att vitsubstansskadesjukdom kan föreligga.

### Urinundersökning

Vid misstanke om lysosomal sjukdom inom mukopolysackaridoser och glykoproteinoser (oligosackaridoser) är en allmän undersökning av utsöndrade lösliga glyko-konjugat i urinen ett första steg för fastställande av diagnos och val av fortsatt diagnostisk metod. Genom bestämning av olika lösliga glykokonjugat (glykosaminoglykaner (GAG), oligosackarider) kan mukopolysackaridoser (se tabell), glykoproteinoser (se tabell) Salla, ISSD, GM1-gangliosidos samt de flesta patienter med Mb Sandhoff detekteras. Undantag är Mukolipidos II, I-cell disease och  $\beta$ -mannosidos som inte leder till någon förändrad urinutsöndring av glykokonjugat. Mukopolysackaridos typ IV, Morquio, kan ibland ha helt normal utsöndring av glykosaminoglykaner (mukopolysackarider). Även vissa patienter med Sanfilippo har normal eller näs-

tan normal utsöndring av glykosaminoglykaner men har alltid en mycket klart ökad förekomst av heparansulfat.

Analys av glykosfingolipider i urinsediment är komplement vid diagnostik av Metakromatisk leukodystrofi, Fabry samt vid undersökning av kvinnliga anlagsbärare av Fabry.

### **Lysosomala hydrolaser**

De flesta lysosomala sjukdomar orsakas av brist av ett specifikt lysosomalt hydrolas. Lysosomala enzymaktiviteter uttrycks i de flesta vävnader och celltyper men med varierande aktivitetsnivå.

Totala leukocytfractionen eller isolerade lymfocyter är de allmänt använda enzymkällorna fastän vissa lysosomala hydrolaser också kan analyseras i serum eller plasma. Positiva resultat i serum/plasma måste alltid konfirmeras i leukocyter och fibroblaster.

Patienter med mukopolidos II/III har en mångfaldigt ökad aktivitet av ett flertal lysosomala enzym i serum/plasma. Med påvisad ökad aktivitet av flera hydrolaser måste också en motsvarande enzymreduktion påvisas i fibroblaster.

Odlade hudfibroblaster är möjliga att använda för diagnostik av alla lysosomala sjukdomar men för vissa krävs fibroblaster för att kunna utföra diagnostiken (Farber, aktivator-proteinbristformer, Sialidos/Galaktosialidos, CLN 1 och CLN 2) men även vid förändringar i lysosomala membranproteiner (Niemann-Pick C, Mukopolidos IV samt Danon) erfordras fibroblaster.

Det är viktigt att även konfirmera diagnosen av indexfallet med bestämning av utsöndrad eller upplagrad substans i kroppsvätskor och celler. Detta för att undvika felaktig diagnos vid partiell reduktion av lysosomal aktivitet, "pseudobrist", som förekommer vid flera lysosomala sjukdomar, men också för att följa effekten av en senare enzymsubstitutions-terapi eller annan form av behandling. Sekundära markörer av lysosomal dysfunktion, som chitotriosidas och CCL 18 vid Gaucher, kan också vara till nytta vid behandlingsuppföljning. Även utredning av föräldrar bör ske vid diagnostillfället inför en eventuell framtida prenataldiagnos. Finns yngre syskon till indexfallet bör även dessa direkt undersökas för att utesluta aktuell lysosomal sjukdom. I dessa uppföljande analyser ingår också erforderlig mutationsdiagnostik.

### **Cerebrospinalvätskeanalyser**

Vid utredning av neurodegenerativa sjukdomar av oklar orsak hos barn kan cellskademarkörer (tau-protein, neurofilament, surt gliafibrillärt protein) användas som del i den biokemiska utredningen. Vid leukodystrofier bestäms albuminkvot som mått på förekomst av barriärskada, men vid former med långsamt kliniskt förlopp bör även undersökas om immunologisk aktivitet föreligger.

Bestämning av gangliosid GM1 och GM2 samt sulfatid i cerebrospinalvätska kan användas för att konfirmera diagnosen av GM1- respektive GM2-gangliosidos samt MLD. Detta för att utesluta förekomst av "pseudobrist" av motsvarande lysosomala enzym, men också ett mått på hur aktiv upplagringsprocessen är. Också behandlingseffekten efter hematopoietisk stamcellsterapi (ASCT) kan följas med sulfatidbestämning i spinalvätska.

### **Behandlingsuppföljning**

Med möjlighet att behandla många olika lysosomala sjukdomar samt även förekomst av olika behandlingsprinciper är det primära att biokemisk effekt av behandling följes med påvisande av minskad utsöndring eller ansamling av icke metaboliserad substans så långt som möjligt. Även nyttjande av andra för sjukdomen relevanta biomarkörer bör ingå. Vid enzymsubstitu-

tionsterapi skall också förekomst av antikroppar mot administrerat enzym undersökas och om de är av neutraliserande natur.

Vid hematopoietisk stamcellsterapi bör också regelbunden kontroll av enzymaktivitetsnivån i blodceller ske för att fastställa att stabil enzymaktivitet in vitro föreligger.

## PEROXISOMALA SJUKDOMAR

Peroxisomen är en cellorganell som förekommer rikligast i lever och njure men finns även i hjärna och fibroblaster. Storleken varierar mellan 0.1 och 1.0  $\mu\text{m}$ , och de största förekommer i levern. Peroxisomen består av enhetsmembran och matrix. Peroxisomala proteiner syntetiseras i cytosolen och transporteras till befintliga organeller, som vidgas och delas. Över femtio kända enzymatiska processer finns lokaliserade till peroxisomerna. De har hög halt av katalas, som omvandlar väteperoxid från olika oxidativa peroxisomala processer. Katalasförekomsten utnyttjas vid histokemisk lokalisering av peroxisomer i fibroblaster och leverbiopsier. Både anabola och katabola processer förekommer i peroxisomen t. ex. biosyntes (plasmalogener, gallsyror och kolesterol), transaminering (glyoxylat), och oxidation (långkedjade fettsyror, grenade fettsyror, pipekolsyra, dikarboxylsyror, fleromättade fettsyror, fytansyra och vissa aminer).

Peroxisomal dysfunktion leder till allvarlig störning i cellmetabolismen. Idag är ca femton sjukdomar kända, som beror på störningar i den peroxisomala funktionen.

Peroxisomala sjukdomar kan i huvudsak indelas i två grupper, den ena med generell peroxisomal dysfunktion (Zellwegergruppen), också kallad peroxisomal biogenesstörning, och den andra med enkel peroxisomal störning (exempelvis X-kromosombunden adrenoleukodystrofi).

De peroxisomala biogenessjukdomarna har alla autosomt recessiv ärftlighetsgång och kan orsakas av mutationer i 13 olika PEX-gener. 12 av dessa ger upphov till sjukdomar i Zellwegerspektrat medan mutationer i den trettonde, PEX 7 genen, orsakar rhizomel kondrodysplasi (RCDP 1). Klassisk Zellwegers syndrom det vanligast förekommande fenotypen bland de peroxisomala biogenessjukdomarna. Den manifesterar sig redan vid födelsen med allvarlig muskulär hypotonus, ansiktsdysmorfism, tunn hud, skelettförändringar, leverpåverkan samt polycystiska njurar som kardinalsymtom. Flertalet av patienter med Zellweger avlider inom sex månader. Andra peroxisomala sjukdomar inom den första gruppen samt vissa med en isolerad defekt påminner om Zellweger men har ett långsammare förlopp där dock symtomen oftast visar sig före sex månaders ålder.

Den vanligaste störningen inom grupp två med enkel peroxisomal defekt är X-kromosombunden adrenoleukodystrofi (ALD) med dess varianter adrenomyeloneuropati (AMN) och Addison med en incidens av ca 1:40 000 födda. Vid den klassiska formen debuterar sjukdomen hos pojkar vid i genomsnitt 7 års ålder med beteendeförändringar samt försämrad syn och hörsel. Det fortsatta förloppet innefattar binjurebarksinsufficiens, psykomotorisk retardation samt progressiv encefalopati och fortskrider snabbt till ett utbränt tillstånd inom några år. Många avvikelser i förloppet finns även inom samma familj. Varianter med MS-liknande, psykotiska, demensartade och hjärntumorsimulerande symtom förekommer. AMN har en genomsnittlig debutålder av ca 25 år med progress av spastisk parapares under tiotal år. Oftast saknas symtom från centrala nervsystemet. Kvinnliga bärare kan utveckla vissa symtom i 40-50 års åldern med en långsam progress.

Smith-Lemli-Opitz syndrom (SLO) tillhör inte gruppen peroxisomala sjukdomar men företer ändå likheter med de peroxisomala biogenessjukdomarna. SLO orsakas av brist av enzymet sterol  $\Delta^7$ -reduktas, som är det sista steget i biosyntesen av kolesterol. Enzymbristen leder till

ansamling av 7-dehydrokolesterol (7-DHC) samt den isomera molekylen 8-dehydrokolesterol (8-DHC) i kroppens alla celler med samtidig brist av kolesterol. Ökningen av dehydrokolesteroler i plasma är mer än 100-faldig.

Kliniskt karaktäriseras SLO av missbildningar (bl a mikrocefali och sammanväxning mellan 2:a och 3:e tån), mycket karaktäristiskt utseende, måttlig till svår utvecklingsstörning samt svåra matningsproblem med dålig tillväxt som följd. Svårighetsgraden vid SLO varierar från intrauterin död till normal livscykel beroende på mutationstyp och enzymatisk restaktivitet.

### Analyser

Vid allmän misstanke om peroxisomal sjukdom rekommenderas **peroxisomal screening** i EDTA-blod. I denna ingår bestämning av långkedjade fettsyror, plasmalogener och fytansyra. Detta täcker det stora flertalet av de nu kända peroxisomala sjukdomarna. Även om bestämning av långa fettsyror fångar in majoriteten av de peroxisomala sjukdomarna så föreligger flera varianter med plasmalogenbrist som också kan vara kombinerad med störning i fytansyra-metabolismen. Vid positiva fynd utföres också bestämning på odlade hudfibroblaster. Vid misstanke om adrenoleukodystrofi/adrenomyeloneuropati utföres endast bestämning av långkedjade fettsyror.

Möjligheten **bärardiagnostik** vid peroxisomala sjukdomar har dramatiskt förbättrats genom att ett flertal gener, som ger upphov till peroxisomala sjukdomar, har karaktäriserats. Detta innebär också att säker bärardiagnostik kan utföras vid ALD/AMN genom mutationsdiagnostik av ALD-genen.

Vid misstanke om SLO analyseras serum eller plasma med avseende på dehydrokolesterol och kolesterol. Totalkoncentrationen av kolesterol är klart reducerad med ungefär lika proportioner av dehydrokolesterol och kolesterol. Den vanliga kvantifieringsmetoden för totalkolesterol i serum avslöjar inte SLO utan kan endast vara en indikation vid klart sänkt koncentration.

### MEDFÖDDA GLYKOSYLERINGSSTÖRNINGAR

Många proteiner kräver närvaro av kolhydratkedjor för att få full biologisk funktion. Bildningen av N-glykosidiska kolhydratkedjor sker i endoplasmatiskt retikulum och Golgisystemet. En lipidbunden prekursoroligosackarid bildas först. Denna prekursoroligosackarid överföres sedan från lipidankaret dolikol till möjliga glykosyleringsställen (asparagin) proteinet varefter en omfattande modifiering av kolhydratkedjan sker tills färdig struktur uppnås. Totalt beräknas mer än 50 olika gener vara involverade i syntes och överföring av den N-glykosidiska kolhydratkedjan.

Medfödda glykosyleringsstörningar (CDG, Congenital Disorders of Glycosylation) har delats in i två huvudgrupper beroende på i vilket steg i biosyntesvägen felet finns. I CDG I ingår störningar som rör syntes och överföring av den lipidbundna kolhydratkedjan till respektive protein. I CDG II ingår störningar som rör den efterföljande processningen av den N-glykosidiska kolhydratkedjan. Den störda glykosyleringen manifesteras sannolikt i de flesta celltyper och organ men den mest omfattande dokumentationen rör serumglykoproteiner. Sjukdomsgruppen upptäcktes ursprungligen genom det förändrade isomönstret hos serumtransferrin.

Den vanligaste formen av medfödda glykosyleringsstörningar, CDG Ia, beror på brist av enzymet fosfomannomutas 2 (PMM 2). Mer än 80 % av de kända CDG-fallen i världen orsakas av denna enzymbrist. Förekomsten av CDG Ia i Sverige har beräknats till ca 1/70000 nyfödda. Även om mer än 60 mutationer finns beskrivna i PMM 2 genen så svarar en mutation, R141H, för ca 40 % av de muterade allelerna. Bärarfrekvensen av denna mutation har beräk-

nats till att vara 1/70 i norra Europa. Mutationen förekommer endast i heterozygot form eftersom den är letal i homozygot form.

CDG Ia är en multisystemsjukdom där symtom som uppfödningssjukdom och slapphet under nyföddhetsåret, tilltagande försening i den psykomotoriska utvecklingen, nedsatt leverfunktion, ataxi, skelning samt slaganfallsliknande episoder är karaktäristiska drag för sjukdomen.

### **Analyser**

Bestämning av isoformer av transferrin är den generellt använda screeningmetoden vid misstanke om en medfödd glykosyleringsstörning. Ett normalt transferrinmönster utesluter inte fullständigt en medfödd glykosyleringssjukdom (CDG II b och c har normalt mönster) men > 95 % av alla rapporterade patienter har upptäckts med denna screening. Isomönstret av transferrin visar också om den medfödda glykosyleringsstörningen tillhör CDG I eller CDG II. Vid CDG Ia är proportionen av disialotransferrin 25-40 % (normalt < 2 %). Vid ett positivt resultat måste fortsatt utredning ske med biokemiska- och molekylärgenetiska metoder för att fastställa vilken typ av glykosyleringsstörning som föreligger.

Hos äldre patienter med CDG är oftast förändringarna av proportionerna i transferrinmönstret mindre uttalade.

Förhöjd proportion av disialotransferrin kan också förekomma vid sekundära glykosyleringsstörningar (fruktosintolerans, galaktosemi, kronisk alkoholism) men proportionen av disialotransferrin är klart lägre än vid CDG.

## PROVTAGNING NEUROMETABOLA SJUKDOMAR

### URIN

Morgonurin användes för dessa analyser. För analys av lösliga glykokonjugat räcker i allmänhet **10 mL**. För bestämning av glykosfingolipider i urin behövs **minst 50 mL**. Se till att **hela sedimentet** kommer med då bestämning av glykosfingolipider önskas. Inga tillsatser. Prov skickas **fryst**.

### EDTA-BLOD

Tag **7 mL** från vuxna och äldre barn för att undvika materialbrist. Från små barn **4 mL**. För **peroxisomal screening** behövs 4 mL.

Tag venblod i EDTA-rör och vänd röret omedelbart för att undvika koagulation.

*Kontakta laboratoriet (031-3430025, int 46-31-3430025) om oklarhet råder angående provmängd eller analysval.*

Prov transporteras vid rumstemperatur (får ej utsättas för frost) och bör vara laboratoriet tillhanda inom 24 timmar (Inom Sverige är Postens Express-brev lämplig försändelse). Prov för isolering kan mottagas måndag-torsdag 8.00-16.00, samt fredag 8.00-12.00.

### HUDBIOPSI FÖR FIBROBLASTODLING

Provtagning skall ske under sterila förhållanden.

Desinficera insidan på underarmen med 70 % U-sprit (**ej klorhexidinsprit**). Ge lokal-anestesi med ca 2 mL Xylocain 10 mg/mL **utan** adrenalin (**absolut ej Emla-kräm eller Xylocain med adrenalin**).

Tag en hudbit med steril hudstans 3 mm eller 4 mm och 1 mm djup. Överför hudbiten till sterilt rör med skruvpropp fyllt upp till bredden med odlingsmedium exempelvis MEM (kan rekvireras från vårt laboratorium). Odlingsmedium är hållbart i 2 månader vid förvaring i kylskåp.

20 minuter innan hudbiopsin utföres så ställes röret i rumstemperatur.

**Hudbiopsin förvaras i rumstemperatur och transporteras i rumstemperatur till laboratoriet inom 24 timmar.** Anteckna datum och klockslag för provtagningen. *Var vänlig och meddela laboratoriet innan prov skickas.*

### KORIONVILLI

Prov tages och tvättas i odlingslösning (t ex MEM). Vävnadsbitarna placeras i ett sterilt provrör med skruvlock fyllt upp till bredden med odlingslösning (t ex kryorör med volym 2 mL)

Transport vid rumstemperatur (**får ej frysas**) och provet måste vara oss tillhanda inom 24 timmar. *Var vänlig och meddela laboratoriet innan korionvilli-prov skickas.*

Prov kan mottagas måndag-torsdag 8.00-16.00 samt fredag 8.00-12.00.

### CEREBROSPINALVÄTSKA

För barn upp till 16 år tas de 3 första mL och för personer över denna ålder tas i stället de första 12 mL. Prov tages i plaströr av polypropylen med skruvpropp. Använd endast ett rör för uppsamling för att undvika inverkan av koncentrationsgradienter längs spinalkanalen. Centrifugera provet och överför ovanstående vätska till nytt plaströr. Önskas proteinanalys (t ex albuminkvot) tages samtidigt 1 mL serum. Cerebrospinalvätskeprov för bestämning av gangliosider, sulfatid och monoaminmetaboliter samt proteinanalyser behöver inte frysas utan kan skickas vid rumstemperatur så att de är oss tillhanda inom 24 timmar (Inom Sverige är Postens Express-brev lämplig försändelse).

Alla prover sändes till: **Neurokemi, Hus V 3**  
**Laboriemedicin/Klinisk kemi**  
**Sahlgrenska Universitetssjukhuset / Mölndal**  
**431 80 Mölndal**

Remissblanketter samt ytterligare information kan erhållas från laboratoriet,  
**tel: 031-3430025** samt från hemsidan [www.sahlgrenska.se/klinkem](http://www.sahlgrenska.se/klinkem),  
remiss **Klinisk kemi 8 (Neurometabola sjukdomar)** med provtagningsanvisningar.

**Tabell. Neurometabola sjukdomar****Lysosomala sjukdomar**

| Namn  | Enzym / protein defekt             | Upplagrad / utsöndrad substans  |
|---|------------------------------------|---------------------------------|
| <b>Lipidoser</b>                                  |                                    |                                 |
| GM1-gangliosidos                                  | $\beta$ -galaktosidas              | GM1-gangliosid                  |
| GM2-gangliosidos(Tay Sachs)                       | hexosaminidas A                    | GM2-gangliosid                  |
| GM2-gangliosidos (Sandhoff)                       | hexosaminidas A+B                  | GM2-gangliosid                  |
| GM2-gangliosidos AB form                          | GM2-aktivator protein              | GM2-gangliosid                  |
| Gaucher   | Glukosylceramidas                  | Glukosylceramid                 |
| Niemann-Pick A,B                                  | Sfingomyelinas                     | Sfingomyelin                    |
| Fabry   | $\alpha$ -galaktosidas             | Globotriaosylceramid            |
| Metakromatisk leukodystrofi (MLD)                 | arylsulfatas A                     | Sulfatid                        |
| Metakromatisk leukodystrofi aktivatorproteinbrist | Saposin B                          | Sulfatid                        |
| Krabbe  | Galaktosylceramidas                | Psykosin (galaktosyls-fingosin) |
| Wolman  | surt lipas                         | Kolesteroester                  |
| Farber  | Ceramidas                          | Ceramid                         |
| Prosaposinbrist                                   | Flera olika                        | Sfingolipider                   |
| <b>Glykoproteinoser</b>                           |                                    |                                 |
| Aspartylglukosaminuri (AGU)                       | Aspartylglukosaminidas             | Oligosackarider                 |
| $\alpha$ -Mannosidos                              | $\alpha$ -mannosidas               | Oligosackarider                 |
| $\beta$ -Mannosidos                               | $\beta$ -mannosidas                | Oligosackarider                 |
| Sialidos  | Sialidas                           | Oligosackarider                 |
| Fukosidos   | $\alpha$ -fukosidas                | Oligosackarider                 |
| Schindler   | $\alpha$ -N-acetylgalaktosaminidas | Oligosackarider                 |
| <b>Glykogenoser</b>                               |                                    |                                 |
| Glykogenos II (Pompe)                             | $\alpha$ -glukosidas (surt maltas) | Glykogen, Oligosackarider       |
| <b>Mukopolysackaridoser</b>                       |                                    |                                 |
| MPS I H (Hurler)                                  | $\alpha$ -iduronidas               | GAG                             |
| MPS I S (Scheie)                                  | $\alpha$ -iduronidas               | GAG                             |
| MPS II (Hunter)                                   | Iduronatsulfatsulfatas             | GAG                             |
| MPS IIIa (Sanfilippo A)                           | Heparansulfatsulfamidas            | GAG                             |

|                         |                                      |     |
|-------------------------|--------------------------------------|-----|
| MPS IIIb (Sanfilippo B) | $\alpha$ -N-acetylglukosaminidas     | GAG |
| MPS IIIc (Sanfilippo C) | Glukosaminacetyltransferas           | GAG |
| MPS IIId (Sanfilippo D) | N-acetylglukosamin-6-sulfat-sulfatas | GAG |
| MPS IVa (Morquio A)     | galaktos-6-sulfat-sulfatas           | GAG |
| MPS IVb (Morquio B)     | $\beta$ -galaktosidas                | GAG |
| MPS VI (Maroteaux-Lamy) | arylsulfatas B                       | GAG |
| MPS VII (Sly)           | $\beta$ -glukuronidas                | GAG |

---

| Namn | Enzym / protein defekt | Upplagrad / utsöndrad substans |
|------|------------------------|--------------------------------|
|------|------------------------|--------------------------------|

---

### Multipla enzymdefekter

|                                 |  |                 |
|---------------------------------|--|-----------------|
| Galaktosialidos                 | Katepsin A (sialidas, $\beta$ -galaktosidas) | Oligosackarider |
| I-cell-disease (Mukolipidos II) | Acetylglukosamin- Fosfotransferas            |                 |
| Multipel sulfatasbrist          | Formylglycinbildande enzym (FGE)             | Sulfatid, GAG   |

### Transportstörningar

|  |                                    |                                       |
|--|------------------------------------|---------------------------------------|
| Salla  | Sialin (sialinsyratransportör)     | Sialinsyra                            |
| Infantile Sialic Acid Storage Disease (ISSD) | Sialin (sialinsyratransportör)     | Sialinsyra                            |
| Cystinos                                     | Cystinosin (cystintransportör)     | Cystin                                |
| Niemann Pick C1                              | NPC-protein (membranflödestörning) | Kolesterol, flera sfingolipider       |
| Niemann Pick C2 (HE 1)                       | Kolesteroltransportör              | Kolesterol, flera olika sfingolipider |
| Mukolipidos IV                               | Mukolipin                          |                                       |

### Lysosomal membrandefekt

|       |        |          |
|-------|--------|----------|
| Danon | LAMP-2 | Glykogen |
|-------|--------|----------|

### Neuronala ceroidlipofuscinoser

|              |                             |                                   |
|--------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| CLN 1 (INCL) | Palmitoylproteinthioesteras |                                   |
| CLN 2        | Tripeptidylpeptidas-I       |                                   |
| CLN 3        | CLN 3 protein               | Subenhet C från mitokondrie ATPas |

## Peroxisomala sjukdomar

| Namn   | Enzym / protein defekt                           | Metabolit  |
|--|--|--|
| <b>Peroxisomala biogenessjukdomar</b>        |  |  |
| Zellweger och närbesläktade sjukdomar        | Olika peroxiner (från 12 PEX-gener)              | Långkedjade fettsyror, fytansyra, pristansyra, plasmalogener, pipekolsyra, gallsyrametaboliter |
| Rhizomel kondrodysplasi typ I (RCDP I)       | PTS 2 (PEX 7)                                    | Plasmalogener, fytansyra   |
| <b>Enskild peroxisomal störning</b>          |  |  |
| Adrenoleukodystrofi/<br>Adrenomyeloneuropati | ALDP   | Långkedjade fettsyror  |
| Refsum                                       | Fytansyra-CoA hydroxylas                         | Fytansyra  |
| Brist av D-bifunktionellt protein            | D-bifunktionellt protein                         | Långkedjade fettsyror, pristansyra, gallsyrametaboliter  |
| Acyl-CoA oxidas brist (ACOX 1)               | Acyl-CoA oxidas                                  | Långkedjade fettsyror  |
| 2-Metylacyl-CoA racemas brist (AMACR)        | 2-Metylacyl-CoA racemas                          | Pristansyra, gallsyrametaboliter   |
| Rhizomel kondrodysplasi typ II (RCDP II)     | Dihydroxiacetonfosfat - Acyltransferas (DHAP-AT) | Plasmalogener  |
| Rhizomel kondrodysplasi typ III (RCDP III)   | Alkyl-DHAP syntas                                | Plasmalogener  |
| <b>Övriga</b>                                |  |  |
| Smith-Lemli-Opitz                            | 7-dehydrokolesterolreduktas                      | 7,8-dehydrokolesterol  |
| CDG (Congenital Disorders of Glycosylation)  |  | CDT (Carbohydrate Deficient Transferrin)   |