

KAZUISTIKA

Deficience lyzozomální kyselé lipázy

Lysosomal acid lipase deficiency

Radana Kotalová

Pediatrická klinika,
2. lékařská fakulta,
Univerzita Karlova a FN Motol,
Praha

SOUHRN

Kotalová R. Deficience lyzozomální kyselé lipázy

Deficience kyselé lipázy (LAL-D) je geneticky podmíněné progresivní onemocnění s významnou morbiditou a mortalitou u dětí i dospělých. Hlavními klinickými příznaky jsou kombinace jaterní dysfunkce a dyslipidemie v důsledku strádání esterů cholesterolu a triacylglycerolů v celém organismu, převážně v játrech, slezině, gastrointestinálním traktu a ve stěnách cév. LAL-D má dostupnou přesnou diagnostiku biochemickým průkazem aktivity kyselé lyzozomální lipázy (LAL) a v posledních letech je dobře řešitelná kauzálně podáním rekombinantní enzymové substituční terapie.

Klíčová slova: kyselá lipáza, dyslipidemie, steatóza

SUMMARY

Kotalová R. Lysosomal acid lipase deficiency

Lysosomal acid lipase deficiency (LAL-D) is a genetically determined progressive disease with significant morbidity and mortality in children and adults. The main clinical features include a combination of hepatic dysfunction and dyslipidemia as a consequence of cholesterol ester and triglyceride accumulation throughout the body, predominantly in the liver, spleen, gastrointestinal tract and vessel walls. It has an accurate diagnosis available by biochemical demonstration of acid lysosomal lipase (LAL) activity and in recent years has been well addressed by causal therapy based on recombinant enzyme replacement therapy.

Key words: acid lipase, dyslipidemia, steatosis

Korespondenční adresa

MUDr. Radana Kotalová, CSc.
Pediatrická klinika 2. LF UK a FN v Motole, Praha
V Úvalu 84
150 06 Praha 5 – Motol
radana.kotalova@fnmotol.cz

Deficience lyzozomální kyselé lipázy (LAL-D) je vzácné autozomálně recesivně dědičné onemocnění dané mutacemi v genu pro lyzozomální kyselou lipázu (*LIPA*) lokalizovaném na chromozomu 10q23.2-q23.3. Ty snižují aktivitu kyselé lyzozomální lipázy (LAL). Fyziologickou funkcí LAL je intra-lyzozomální degradace triacylglycerolů a esterů cholesterolu – resp. štěpení LDL derivovaného esteru cholesterolu na neesterifikovaný cholesterol a triacylglycerolů na mastné kyseliny a glycerol.⁽¹⁾

Deficience LAL vede k progresivnímu lyzozomálnímu strádání esterů cholesterolu (CE) a v menší míře i triacylglycerolů (TAG) v hepatocytech a v makrofázích jater, sleziny, střeva, v buňkách kůry nadledvin a také v endotelu. Následný nedostatek volného neesterifikovaného cholesterolu

vede k jeho zvýšené endogenní syntéze a k hypercholesterolemii.

Klinicky se LAL-D (OMIM 278000) projevuje dvěma fenotypy – **Wolmanovou chorobou (WOLD)** a **onemocněním ze strádání esterů cholesterolu** (cholesteryl ester storage disease – **CESD**), které se navzájem liší mírou deficitu LAL, a tím tíží projevů a průběhem.

První fenotyp byl popsán Wolmanem v roce 1961,⁽²⁾ zmínky o něm jsou ale již z roku 1956.⁽³⁾ WOLD je velmi vzácné onemocnění – jedná se o tzv. infantilní formu LAL-D, kdy aktivita LAL je < 1% nebo nulová. To vede k masivní akumulaci CE a TAG v lyzozomech celého organismu – predominantně v hepatocytech a makrofázích jater, makrofázích sleziny a střevních klků, v nadledvinách, kostní dřeni i endotelu cév.

K výrazným projevům WOLD dochází mezi 1.–3. měsícem věku. V popředí je zvracení s průjmy (steatorea) vedoucí k neprospívání až kachektizaci. Je patrná hepatosplenomegalie při jaterní steatóze provázená distenzí střevních kliček, až v 50 % případů jsou prokazovány kalcifikace ve zvětšených nadledvinách, poruchy krvetvorby – zvl. závažné anemie. K úmrtí vede jaterní selhání v terénu kachexie mezi 1,5–46 měsíci (medián 3,7 měsíce), resp. všechny děti s WOLD zemřely před 4. rokem věku i přes včasnou diagnostiku a léčbu.⁽⁴⁾ V ČR byla WOLD verifikována u jednoho chlapce. Zemřel v prvním měsíci věku, diagnostika byla provedena až z autoptického materiálu.⁽⁵⁾

Druhá, častější, tzv. mírná pozdní forma onemocnění – **CESD**, popsaná Fredricksonem v roce 1963,⁽⁶⁾ má reziduální aktivitu LAL mezi 1–12 % normy. Představuje mimořádně širokou variabilitu vlastní manifestace onemocnění. Věk zjevné klinické manifestace CESD je popisován od dětství po dospělost.^(7,8) Jen výjimečně může mít rys WOLD, obvykle je průběh nesrovnatelně mírnější, proto velké procento pacientů s CESD zůstává zřejmě nediagnostikováno. Nicméně progresivní lyzozomální strádání esterů cholesterolu a triacylglycerolů vede k charakteristické (ale nespecifické) **jaterní patologii**. V laboratorním nálezu je mírné zvýšení hladiny aminotransferáz. U českých dětí s CESD v době zachytu onemocnění (nikoli v době definitivního stanovení diagnózy) byly hodnoty AST $1,6 \pm 0,5$ a ALT $1,9 \pm 0,4$ $\mu\text{kat/L}$.⁽⁸⁾ Elevované aminotransferázy jsou provázené zvýšenou hodnotou LDL cholesterolu a triacylglycerolů a normální nebo nízkou hodnotou HDL cholesterolu (odpovídající IIb hyperlipoproteinemii dle Fredricksona), viz tab 1.^(9,10) Lyzozomální strádání je podkladem rozvoje hepatomegalie. Biopickým nálezem je v makroskopickém pohledu žlutooranžová barva vzorku, mikroskopický nález přináší **difúzní uniformní mikrovezikulární steatózu**, provázenou makrofágy s vysokým obsahem lipidů v sinusoidech a portálních polích. Progresivní strádání časem vede k **fibrotizaci a mikronodulární cirhotické přestavbě jaterního parenchymu** s jejími důsledky – portální hypertenzí a jaterním selháním. Ovšem histopatologické odlišení CESD od jiných mikrovezikulárních steatóz – zvl. od MASLD (steatotické onemocnění jater asociované s metabolickou dysfunkcí – metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease) nebo jiných steatóz (např. při Wilsonově chorobě) – není dobře možné. Problematika byla řešena i českými patology, kteří doplněním několika imunohistochemických metod (k průkazu LAMP1, LAMP2, LIMP2, kathepsinu D) ve vyšetřovaném vzorku přispěli k histopatologickému upřesnění diagnózy CESD.⁽¹¹⁾

Deficit LAL neumožní hydrolýzu esterů cholesterolu a triacylglycerolů a zejména následný nedostatek volného neesterifikovaného cholesterolu vede k jeho zvýšené endogenní syntéze a k hypercholesterolemii. Ta je příčinou **předčasné aterosklerózy** a následného zvýšeného výskytu kardiovaskulárních onemocnění, zvl. myokardiálních a cerebrálních ischemických patologií. Tyto jsou popisovány spíše v dospělosti, mohou být prvním projevem oligosymptomatické formy. V případě šesti českých dětských pacientů s CESD, poprvé vyšetřených (nikoliv diagnostikovaných) v průměrném věku 5,5 roku, 100 % dětí mělo hypercholesterolemii – jednalo se v průměru o zvýšení $1,3\times$ nad normu, maximální

hodnota cholesterolu byla $2,2\times$ vyšší než norma, resp. průměrné hodnoty celkového cholesterolu dosahovaly $7 \pm 1,5$ mmol/l, hodnoty triacylglycerolů byly $2,8 \pm 1,5$ mmol/l.⁽⁸⁾

Diagnostika LAL-D se opírá o **průkaz výrazné snížené enzymatické aktivity LAL** v izolovaných leukocytech z periferní krve (hodnoty u zdravých kontrol jsou 190–650 nmol/h/mg) nebo screeningovou metodikou v suché krevní kapce – ta je v současnosti považována za zlatý standard. Referenční hodnoty pro LAL v suché kapce jsou 176–1647 pmol/h/punch. Enzym je vyšetřován ve specializovaných laboratořích – v ČR v Enzymologické laboratoři Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN na Praze 2.

Potvrzení diagnózy stojí na **průkazu dvou kauzálních mutací v LIPA genu**. V současnosti je známo 98 kauzálních a 22 potenciálně kauzálních mutací genu. V případě CESD je u 50 % pacientů prokazována v exonu 8 splice junction mutace E8SJM (c.894 G>A). U pacientů s WD to jsou v exonu 8 mutace E8SJM⁻³ (c.892C>T) a E8SJM⁺¹ (c.894⁺¹ G>A).⁽¹²⁾

Prevalence onemocnění je diskutována řadou autorů a pohybuje se v rozmezí 1 : 130 000 – 500 000.^(13–15) Z českého sdělení z roku 2014 plyne, že do té doby bylo v České republice popsáno 20 případů LAL-D.⁽⁸⁾ Následně pak vypočtená prevalence v ČR je 1 : 322 000. To je ale v rozporu s odhadovanou prevalencí onemocnění v kavkazské populaci 1 : 40 000 na základě výskytu mutací E8SJM v genu *LIPA*.^(16,17) LAL je velmi vzácné onemocnění a dle metaanalýzy provedené Carterem v roce 2019 je frekvence onemocnění stanovená na 1 : 177 000, kdy nízké frekvence mají Finové a pacienti z východní a jižní Asie.⁽¹⁸⁾ Vysoké frekvence jsou mezi Evropany (kromě Finů).

Terapie je v současnosti kauzální, stojí již několik let na ERT (enzyme replacement therapy) – intravenózním podávání rekombinantní humánní lyzozomální kyselé lipázy (**rhLAL**) – **sebelipáza alfa**, v dávce 1–3 mg/kg podávaných po intenzivní počáteční terapii obvykle $2\times$ do měsíce. Provedené studie prokazují vysokou úspěšnost léčby u CESD, léčba je celoživotní a velmi finančně náročná.^(19–21) Všem pacientům je doporučována **dieta s omezením tuků**, zvl. cholesterolu. **Hypolipidemická terapie** statiny není kauzální, sice má určitý pozitivní vliv na snížení proaterogenních hladin v lipidogramu, neovlivní ale progresi jaterního postižení. **Transplantace jater** u CESD byla dle literárních sdělení realizována v devíti případech (u dětí ve věku 5–14 let).^(22,23) Téměř ve všech případech byla provázena závažnými komplikacemi. Včasná diagnostika onemocnění a dostupnost ERT řeší onemocnění bez potřeby transplantace jater.

KAZUISTIKA

Diagnóza CESD byla stanovena v 3,5 letech u výborně prosperujícího chlapce. V jeho rodině jsou projevy atopie u obou rodičů i starší sestry, 2 pradědové z otcovy strany zemřeli na tumor jater.

Chlapec se narodil z fyziologické gravidity, s porodní hmotností 2880 g, délkou 51 cm, neměl novorozenecký ikterus, prospíval dobře, kojen byl 12 měsíců. Byl prokázán hemodynamicky nevýznamný defekt síňového septa a atopická dermatitida.

Tab. 1: Fredricksonova klasifikace hyperlipoproteinemií

Typ	Výskyt (% z celkového počtu hyperlipoproteinemií)	ELFO (zmnožená frakce)	Cholesterol	Triacylglyceroly	Vzhled séra	Riziko aterosklerózy
I	1	chylomikra	málo zvýšený	hodně zvýšené	smetanové	malé
Ila	10–15	(LDL)	hodně zvýšený	v normě	čiré	velmi vysoké
Ilb	22–25	VLDL, LDL	zvýšený	jemně nad normou	opalescentní	velmi vysoké
III	1–5	LDL, VLDL atypické	zvýšený	zvýšené	zkalené	velmi vysoké
IV	50–60	VLDL	málo zvýšený	jemně nad normou	zkalené	vysoké
V	1–5	VLDL + chylomikra	hodnoty mezi typem III a IV	hodně zvýšené	smetanové	malé

Tab. 2: Přehled základních laboratorních parametrů v době akutní infekce EBV a po jejím odeznění

			Akutní EBV		Remise EBV		
	SI jednotky	Rozmezí	7/2016	8/2016	10/2016	1/2017	5/2017
AST	μkat/l	0,20–0,63	7,08	2,2	0,99	1,1	0,92
ALT	μkat/l	0,25–0,60	5,18	2,08	1,15	1,31	1,25
GGT	μkat/l	0,10–0,39	2,71	2,71	0,41	0,42	0,44
ALP	μkat/l	1,12–6,20	6	7,05	6,2	5,2	4,8
Bilirubin celkový	μmol/l	2,0–17,0	6,2	3,8	4,4	9,3	5,4
Cholesterol	mmol/l	2,6–4,8	5,28	5,9	7,6	7,1	6,99
HDL cholesterol	mmol/l	1,11–1,83	–	–	–	0,88	0,67
LDL cholesterol	mmol/l	0,50–1,50	–	–	–	6,2	5,12
Triacylglyceroly	mmol/l	1,20–1,60	3,64	4,45	1,8	1,2	1,99

Prodělal opakované tonzilitidy, gastroenteritida si dvakrát vyžádala parenterální rehydrataci za hospitalizace.

Ve 3 letech jako eutrofický (výška i hmotnost 50. percentil) onemocněl mononukleózou s projevy tonzilitidy, lymfadenopatie submandibulární i výrazné mezenterické, s významnou hepatosplenomegalií včetně ascitu. To vedlo k překladi ze spádového dětského oddělení na Pediatrickou kliniku FN Motol a 2. LF UK v Praze. Zde byla potvrzena akutní EBV infekce, v laboratorním nálezu (tab. 2) byla elevace aminotransferáz i ALP a GGT, bez zvýšeného bilirubinu, provázená zvýšenými hladinami cholesterolu a triacylglycerolů, krevní obraz byl s významnou leukocytózou ($32 \times 10^9/l$) s převahou lymfocytů a monocytů. Některé z laboratorních paramentů vedly ke zvážení sekundární formy hemofagocytující lymfohistiocytózy – pokles hemoglobinu na 100 g/l, vyšší hodnoty triacylglycerolů 3,64 mmol/l, feritinu 186 μg/l, solubilního CD25 2475 U/ml, nižší hodnota fibrinogenu 1,62 g/l, dále to byla splenomegalie a lymfadenopatie. Pro hemofagocytující lymfohistiocytózu charakteristické febrilie u chlapce nebyly zaznamenány, cytopenie se týkala jen červené řady, nikoliv bílé řady a trombocytů. K diagnostické punkci kostní dřeně nebylo přistoupeno, bez farmakoterapie docházelo rychle k ústupu tonzilitidy, lymfadenopatie, hepatosplenomegalie i ascitu, poklesu aktivity aminotransferáz, normalizaci hodnot GGT a ALP. Po 7 dnech stav umožnil propuštění do domácí péče.

V krátkém odstupu prodělal varicellu vyžadující hospitalizaci a následně streptokokovou anginu. Trvající mírná

elevace aminotransferáz (s normálními hladinami GGT, ALP a bilirubinu) při remisi EBV infekce byla důvodem k dalšímu ambulantnímu vyšetření na Pediatrické klinice 2. LF UK a FN Motol necelé 3 měsíce po propuštění z hospitalizace. Tehdy v objektivním nálezu u plně prospívajícího chlapce přetrvávala jen mírná hepatomegalie (1–2 cm pod oblouk žeberní) bez splenomegalie. Sonografie neprokázala změny v textuře jaterního parenchymu. Laboratorní nález byl s aminotransferázami kolem 1 μkat/l, normální hodnotou GGT a bilirubinu (tab. 2). Byla vyloučena Wilsonova nemoc (normální hodnoty ceruloplasminu a odpadů Cu v moči za 24 hodin), deficit α-1-antitrypsinu, autoimunitní hepatitidy či jiné infekční choroby. Opět byla zaznamenána zvýšená hodnota cholesterolu a hraničně vyšší hodnota triacylglycerolů. To po vyloučení běžnějších příčin jaterní léze vedlo k úvaze o možnosti deficitu LAL, podpořené i nálezem vyšší hladiny LDL cholesterolu a eutrofickým stavem dítěte při zvýšených parametrech tukového metabolismu.

Nejprve bylo odesláno screeningové vyšetření ze suché kapky ke stanovení LAL do zahraničí, které přineslo výrazně patologickou hodnotu 0,02 nmol/h/punch (při referenční normě laboratoře 0,1–2,3 nmol/h/punch). Následně byla ověřena aktivita LAL v leukocytech standardní metodikou již v ČR s výsledkem opětovně patologické hodnoty 34 nmol/h/mg a bylo provedeno molekulárně genetické vyšetření prokazující nejtypičtější patogenní mutace v homozygotním stavu v *LIPA* genu – c.(894G>A), c.(894G>A).

Tab. 3: Soubor nálezů indikující screening LAL-D

Objektivní nález	neobězní dítě
	hepatomegalie, steatóza
Laboratorní nález	↑ ALT
	↑ AST
	↑ cholesterol
	↑ LDL cholesterol
	↓ HDL cholesterol
	↑ triacylglyceroly
Další	biopticky verifikovaná mikrovezikulární steatóza jater bez známé příčiny
	kryptogenní cirhóza jaterní

Uvedený genotyp potvrdil diagnózu deficitu kyselé lyzozomální lipázy – cholesterol ester storage disease (CESD). Dítě bylo k dalšímu sledování a léčbě předáno na Kliniku pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN. Kromě diety se sníženým obsahem tuků byla zahájena substituční terapie rekombinantní humánní lyzozomální kyselou lipázou (rhLAL – sebelipáza alfa). Po několika letech terapie chlapec prospívá, má příznivý laboratorní nález, játra jsou elastograficky bez zvýšené tuhosti.

ZÁVĚR

LAL-D je výrazně poddiagnostikované onemocnění. Bez léčby i ve formě CESD má nepříznivou prognózu. Včasná diagnostika a léčba sebelipázou alfa zcela mění osud jedinců s CESD. Uvedená kazuistika ukazuje, že k diagnóze nás přivedly jen „mírně“ zvýšené hodnoty aminotransferáz, cholesterolu, LDL cholesterolu a triacylglycerolů. V objektivním nálezu byla pouze hraniční hepatomegalie – v té době bez sonograficky prokazatelné steatózy. Indikace ke screeningu LAL jsou uvedeny v tabulce 3. Opakovaná elevace aminotransferáz v kombinaci s elevací cholesterolu, LDL cholesterolu, ev. triacylglycerolů (bez známek cholestázy) u neobězního pacienta, kdy na sonografii je prokazovaná steatóza (ale není podmínkou) a ve fyzikálním vyšetření je hepatomegalie (nemusí být podmínkou, zvl. v nižším věku), má vést ke zvážení LAL-D jako vyvolávací příčiny. K diagnóze může i u dětí přivést dyslipidemie (zvl. v rámci genetického vyšetření pro familiární hyperlipidemii) nebo již příznaky kardiovaskulárního onemocnění, podložené rodinnou anamnézou obdobných nálezů. V pediatrii lze předpokládat rozvoj objektivního nálezu i jednotlivých laboratorních parametrů s postupujícím věkem. Ke zviditelnění onemocnění může přispět další zátěž organismu, obvykle se uvádí sepse, hemofagocytující lymfohistiocytóza a další, u našeho pacienta to byla „jen“ primoinfekce EBV. |

LITERATURA

1. Sloan RH, Fredrickson DS. Enzyme deficiency in cholesterol ester storage disease. J Clin Invest 1972; 51: 1923–1926.

2. Wolman M, Sterk VV, Gatt S, et al. Primary family xanthomatosis with involvement and calcification of the adrenals: report of two more cases in siblings of a previously described infant. Pediatrics 1961; 28: 742–757.

3. Abramov A, Schorr S, Wolman M. Generalized xanthomatosis with calcified adrenals. Am J Dis Child 1956; 91: 282–286.

4. Jones SA, Valayannopoulos V, Schneider E, et al. Rapid progression and mortality of lysosomal acid lipase deficiency presenting in infants. Genetics Med 2016; 5: 452–458.

5. Elleder M, Poupětová H, Ledvinová J, et al. Lysosomal acid lipase deficiency. Overview of Czech patients. Čas Lék čes 1999; 138: 719–724.

6. Fredrickson DS. Newly recognised disorders of cholesterol metabolism. Ann Intern Med 1963; 58: 718.

7. Assmann G, Seedorf U. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds.). The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw Hill Inc 2001: 3551–3572.

8. Mazurová S, Poupětová H, Hůlková H, et al. Nemoc ze strádání esterů cholesterolu (CESD): klinická, laboratorní a histologická charakteristika českých pacientů. Čes-slov Pediat 2014; 69: 148–160.

9. Longhi R, Vergani C, Valsasina R, et al. Cholesteryl ester storage disease: risk factors for atherosclerosis in a 15-year-old boy. J Inherit Metab Dis 1988; 11(Suppl 2): 143–5.

10. Elleder M, Chlumská A, Hyánek J, et al. Subclinical course of cholesteryl ester storage disease in an adult with hypercholesterolemia, accelerated atherosclerosis, and liver cancer. J Hepatol 2000; 32: 528–34.

11. Hůlková H, Elleder M. Distinctive histopathological features that support a diagnosis of cholesterol ester storage disease in liver biopsy specimens. Histopathology 2012; 60: 1107–1113.

12. Anderson RA, Byrum RS, Coates PM, et al. Mutations at the lysosomal acid cholesteryl ester hydrolase gene locus in Wolman disease. Proc Nat Acad Sci 1994; 91: 2718–2722.

13. Reiner Ž, Guardamagna O, Nair D, et al. Lysosomal acid lipase deficiency – an under-recognized cause of dyslipidaemia and liver dysfunction. Atherosclerosis 2014; 235: 21–30.

14. Bernstein DL, Hůlková H, Bialer MG, et al. Cholesteryl ester storage disease: review of the findings in 135 reported patients with an underdiagnosed disease. J Hepatol 2013; 58: 1230–1243.

15. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, et al. Prevalence of lysosomal storage disorders. JAMA 1999; 281: 249–54.

16. Poupětová H, Ledvinová J, Berná L, et al. The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech republic: Comparison with data in different populations. J Inherit Metab Dis 2010; 33: 387–396.

17. Scott SA, Liu B, Nazarenko I, et al. Frequency of the cholesteryl ester storage disease common LIPA E85JM mutation (c.894G>A) in various racial and ethnic groups. Hepatology 2013; 58: 958–965.

18. Carter A, Brackley SM, Gao J, et al. The global prevalence and genetic spectrum of lysosomal acid lipase deficiency: A rare condition that mimics NAFLD. J Hepatol 2019; 70: 142–150.

19. Valayannopoulos V, Malinova V, Honzík T, et al. Sebelipase alfa over 52 weeks reduces serum transaminases, liver volume and improves serum lipids in patients with lysosomal acid lipase deficiency. J Hepatol 2014; 61: 1135–42.

20. Shirley M. Sebelipase alfa: first global approval. Drugs 2015; 75: 1935–40.

21. Pastores GM, Hughes DA. Lysosomal acid lipase deficiency: Therapeutic options. Drug Design Development Ther 2020; 14: 591–601.

22. Arterburn JN, Lee WM, Wood RP, et al. Orthotopic liver transplantation for cholesteryl ester storage disease. J Clin Gastroenterol 1991; 13: 482–5.

23. Kale AS, Ferry GD, Hawkins EP. End-stage renal disease in a patient with cholesteryl ester storage disease following successful liver transplantation and cyclosporine immunosuppression. J Pediatr Gastroenterol Nutr 1995; 20: 95–7.