

Dědičné metabolické poruchy

Autoři

Doc. PharmDr. Iva Boušová, Ph.D., prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.

(bousova@faf.cuni.cz)

Katedra biochemických věd

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Dědičné metabolické poruchy (DMP) představují geneticky, biochemicky i klinicky velmi heterogenní skupinu několika set onemocnění. Jejich základním společným rysem je přítomnost biochemických či enzymových odchylek, které se dají zjistit pouze speciálním vyšetřením. Příčinou vzniku těchto poruch je mutace jaderné či mitochondriální DNA, která vede ke změně vlastnosti nebo množství translatovaného proteinu (enzymu, transportéru, receptoru). Hromadění substrátu či jeho patologických metabolitů nebo nedostatek produktu reakce následkem enzymového defektu vede k lokálním nebo systémovým projevům nemoci. Cílem této lekce je přiblížit molekulární příčiny dědičných metabolických poruch, objasnit typy dědičnosti, frekvenci výskytu a závažnost poruch, a také popsat laboratorní a klinické následky DMP podle lokalizace v dané metabolické dráze, významu postižené molekuly a stupně defektu. Součástí lekce jsou rovněž možnosti diagnostiky DMP (celopopulační vs. selektivní screening) a léčby těchto onemocnění.

Charakteristika a frekvence výskytu DMP

Dědičné metabolické poruchy představují různorodou skupinu nemocí způsobených patogenními mutacemi v genech kódujících enzymy, strukturální nebo transportní proteiny, zasahující do buněčného metabolismu. Termín „dědičné metabolické poruchy“ poprvé použil sir Archibald Garrod v roce 1908 k popisu čtyř v té době známých onemocnění (alkaptonurie, albinismus, pentosurie a cystinurie). V současnosti je známo kolem 900 různých DMP, které tvoří asi 15 % všech nemocí ze skupiny tzv. vzácných onemocnění (*rare diseases*), pro které byla stanovena hranice incidence nižší než 1 : 2000. Kumulativní incidence DMP je odhadována na 1 : 500 (frekvence heterozygotů 1 : 15), je však pravděpodobné, že jejich skutečný výskyt v populaci bude vyšší. Poměrně přesné údaje o výskytu jednotlivých DMP lze zjistit pouze celopopulačním novorozeneckým screeningem. Pro nemoci, které nejsou do



screeningového programu zařazeny, nelze výskyt stanovit spolehlivě proto, že není známo množství pacientů, kteří uniknou stanovení správné diagnózy. Pro ČR jsou z novorozeneckého screeningu k dispozici dlouhodobé údaje o výskytu fenylketonurie a hyperfenylalaninemie (přibližně 1 : 6500), z pilotních studií jsou k dispozici data o dalších čtrnácti DMP (kumulativní incidence těchto onemocnění pro ČR 1 : 1150). Největší počet pacientů s DMP je zachycen pomocí selektivního screeningu.

Klasifikace DMP

DMP můžeme klasifikovat podle různých hledisek – podle rychlosti nástupu příznaků (akutní, intermitentní, chronické), podle postižených metabolických systémů (aminokyseliny, sacharidy, lipidy, nukleové kyseliny, porfyriny atd.), podle subcelulární lokalizace (cytosolové, mitochondriální, lyzomální, peroxisomální atd.). Podle povahy metabolitů, které způsobují klinické projevy onemocnění, lze DMP rozdělit na nemoci malých molekul a nemoci komplexních molekul.

Z patofyziologického hlediska, které je vhodné pro porozumění přístupu k diagnostickému procesu a indikaci cílených vyšetření, lze DMP rozdělit do 3 skupin: 1) DMP vedoucí k intoxikaci organismu, 2) DMP postihující energetický metabolismus a 3) DMP zasahující komplexní molekuly. U **DMP vedoucích k intoxikaci** se nad metabolickým blokem hromadí toxické metabolity, které vyvolávají akutní nebo chronickou intoxikaci organismu. Do této skupiny onemocnění patří poruchy močovinného cyklu, poruchy metabolismu aminokyselin, organické acidurie, poruchy metabolismu sacharidů a porfyrie. Diagnostika je založena na vyšetření specifických metabolitů v krvi a moči, případně v likvoru.

Při **DMP postihujících energetický metabolismus** je tvorba nebo využití energie zejm. v energeticky náročných orgánech (játra, mozek, ledviny, myokard, sval, sítnice) nedostatečné. Do této skupiny patří DMP zasahující metabolické cesty v mitochondriích (poruchy dýchacího řetězce, Krebsova cyklu, metabolismu pyruvátu, oxidace mastných kyselin, metabolismus ketolátek) a v cytoplasmě (poruchy metabolismu glykogenu, glukoneogeneze a glykolýzy). K diagnostice je často nutné provést speciální testy a enzymové a genetické analýzy.

DMP postihující komplexní molekuly jsou způsobeny poruchou v syntéze nebo degradaci endogenních makromolekul, např. mukopolysacharidů a glykosaminoglykanů, glykolipidů, glykoproteinů. Tyto látky bývají součástí buněčných membrán a organel, proto dochází k abnormalitám lyzosomů a peroxisomů. Symptomy se obvykle manifestují po různě dlouhém bezpříznakovém období a bývají chronické a progresivní. Charakteristické je



hromadění nemetabolizovatelných meziproduktů, vedoucí k hypertrofii postižených parenchymatózních orgánů (hepatomegalie, splenomegalie) a/nebo útlaku životně důležitých struktur (např. v CNS). K diagnostice jsou obvykle nutná enzymová a molekulárně genetická vyšetření.

Patogeneze

Základním patogenetickým mechanismem u DMP je buď hromadění substrátů enzymové reakce nad blokem, nebo chybění produktů pod blokem, či kombinace obou těchto mechanismů. Analogické změny lze pozorovat u postižení transportu látky mezi dvěma kompartmenty oddělenými membránou. Následkem poruchy enzymu/transportéru může docházet k nedostatku funkčně významného produktu, k hromadění substrátu, k hromadění vzdálenějších prekurzorů nebo k tvorbě alternativních produktů (Obr. 1).

U prvního typu onemocnění dominuje relativní nebo úplný **nedostatek biologicky významné látky** díky defektu, který postihuje její syntézu. Příkladem tohoto typu poruchy je vrozený defekt syntézy hormonů štítné žlázy, jejichž nedostatek se projeví jako kretenismus.

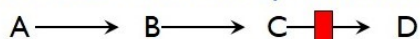
U některých onemocnění je převažujícím mechanismem **hromadění substrátů** postižené reakce. Významnou skupinou onemocnění tohoto typu jsou lipidózy, při nichž je porušeno odbourávání některého složeného lipidu. Vytvářejí se stále nové molekuly lipidu, které nejsou odbourávány, hromadí se a postupně utlačují životně důležité struktury (zejm. v nervovém systému). Chybění produktů štěpení přitom organismu nevádí, protože nejsou biologicky významné.

Někdy může v patogenezi onemocnění dominovat **hromadění vzdálenějších prekurzorů** substrátu postižené reakce. K tomu dochází v případě, že jsou reakce předcházející defektu vratné. Příkladem může být glykogenóza typu I (von Gierkova nemoc), která je způsobena defektem glukosa-6-fosfatasy v játrech a ledvinách. Mezi následky tohoto defektu vyniká hromadění glykogenu, který je vzdálenějším prekurzorem substrátu postižené reakce.

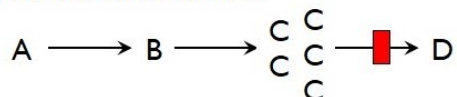
Jestliže může substrát postižené reakce podléhat jiným reakcím, projeví se blok jedné cesty přeměny zvýšenou nabídkou pro ostatní cesty. V důsledku poruchy dochází ke zvýšení koncentrací **alternativních produktů**. Někdy se alternativní cesty defektem hlavní dráhy pouze zvýrazní, jindy je jejich existence spojena pouze se zmíněným defektem. Charakteristickým příkladem DMP s tvorbou alternativních produktů je fenylketonurie, u níž je defekt fenylalaninhydroxylasy, která přeměňuje fenylalanin na tyrosin, provázen tvorbou fenylacetátu, fenylpyruvátu a fenyllaktátu.



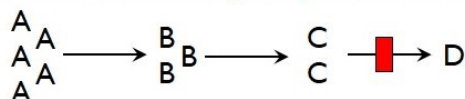
▶ nedostatek funkčně významného produktu



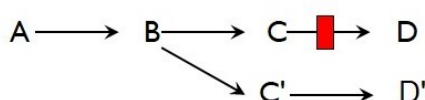
▶ hromadění substrátu



▶ hromadění vzdálenějších prekurzorů



▶ tvorba alternativních produktů



Obr. 1. Možné následky enzymového defektu (upraveno z Dršata 1983)

Dědičnost

Nejčastější příčinou dědičných metabolických poruch jsou mutace jaderné DNA v zárodečných buňkách (a tím pak i v somatických buňkách) s monogenní mendelovskou dědičností (autosomálně recesivní, gonosomálně recesivní i dominantní). Méně častou příčinou DMP jsou mutace mitochondriální DNA, které se přenášejí maternálním typem dědičnosti. Mutace mohou být typu bodových mutací (missense, nonsense, synonymní mutace), delecí a inzercí (s nebo bez posunu čtecího rámce), přičemž z typu mutace a její lokalizace nelze často přímo určit stupeň postižení funkce příslušného proteinu. Fenotypové projevy u dvou jedinců se stejným genotypem se mohou lišit v důsledku dalších faktorů jako je vliv prostředí (dieta, životní styl u nemocí malých molekul) či jako jsou např. epigenetické změny, epistáze (interakce s alelickými variantami v jiných genech), inaktivace X-chromozomu (lyonizace).

Nejčastějším typem dědičnosti u DMP je **dědičnost autosomálně recesivní**, kdy rodiče jsou přenašeči (heterozygoti) pro DMP s mutací v příslušném genu a jejich děti mají 25% riziko, že zdědí obě mutace svých rodičů a budou mít DMP (pro klinickou manifestaci je nutná přítomnost patogenních mutací na obou rodičovských alelách příslušného genu). Z manželství dvou nosičů mutovaného genu se v průměru narodí jedno dítě zdravé, jedno nemocné a 2 heterozygoti/přenašeči. Heterozygoti jsou sice klinicky zdraví, ale mají jen polovinu enzymové/transportní aktivity. Nosičství patogenní mutace lze prokázat vyšetřením DNA,



výjimečně enzymologickým vyšetřením či zátěžovým testem. Tento typ dědičnosti se často vyskytuje u příbuzenských sňatků. Příkladem onemocnění s autosomálně recesivní dědičností jsou např. fenylketonurie, srpkovitá anemie nebo cystická fibróza.

Vzácnějším typem dědičnosti DMP je dědičnost vázaná na X chromosom (gonosomální). V rodokmenu bývá přenos DMP z ženy na muže nebo z muže na ženu, ale nikdy z muže na muže.

U **gonosomálně recesivních onemocnění** jsou obvykle nemocní hemizygotní muži a ženy-heterozygotky jsou přenašečkami. Heterozygotní ženy jsou obvykle klinicky zdravé, ale v případě vyšší míry inaktivace zdravého X chromosomu (lyonizace) se může DMP klinicky manifestovat, obvykle v menší míře než u mužů. Příkladem gonosomálně recesivních onemocnění jsou hemofilie A i B, deficit glukosa-6-fosfátdehydrogenasy a Lesh-Nyhanův syndrom.

Gonozomálně dominantní choroby postihují obě pohlaví, postižený otec však nikdy nepředá nemoc svému synovi, zatímco všechny jeho dcery budou postiženy. Postižená žena předává nemoc polovině svých dětí bez ohledu na jejich pohlaví. Příkladem tohoto typu onemocnění je vitamin D-rezistentní rachitis.

Dědičnost autosomálně dominantní je vzácným typem dědičnosti v oblasti DMP, pacienti se vyskytují v několika generacích, v rodokmenu lze zaznamenat přenos DMP z muže na muže. Příkladem autosomálně dominantního typu dědičnosti jsou některé typy porfyrie, Huntingtonova chorea, familiární hypercholesterolemie (deficit LDL receptoru) či Leidenská mutace (faktor V krevního srážení).

Dědičnost maternální s mutacemi v mitochondriální DNA je u DMP vzácná. Přenos mutací probíhá prostřednictvím mitochondriální DNA, která je děděna vždy od matky. Většina takovýchto mutací je spojena s poruchou energetické funkce mitochondrie, proto se tyto mutace projevují zejména poruchami energeticky náročných orgánů, jako je třeba nervový systém nebo zrakové ústrojí. Většinou mají pozdější nástup (až v dospělém věku).

Klinické projevy

Klinické projevy DMP jsou značně variabilní a rozmanité, což komplikuje diagnostiku DMP. Na rozmanitosti klinických projevů DMP se podílí kombinace genetických faktorů (různé mutace v postiženém genu) a faktorů vnějšího prostředí (např. životospráva, výživa, akutní interkurentní infekce). První klinické příznaky DMP se mohou objevit kdykoliv od novorozeneckého období, přes dětský věk, dospělost až po období senescence. Některá



onemocnění se mohou klinicky projevit dokonce již prenatálně (např. neimunitním hydropsem plodu, rozvojem HELLP¹ syndromu u matky během těhotenství). Klinické projevy DMP jsou značně heterogenní, protože mohou postihnout funkce různých orgánů a tkání a to v různých kombinacích. Zatímco některé klinické projevy jsou specifické pro určitou DMP (např. třešňová skvrna na očním pozadí u gangliosidos), což má diagnostický význam, jiné jsou nespecifické a objevují se u řady DMP (např. mentální retardace, dysmorfie, hepatopatie). Klinický průběh onemocnění může být od akutního přes intermitentní až po chronický.

Diagnostika

Stanovení správné diagnózy je důležité zejména pro volbu způsobu léčby a to i v případě, kdy pro dané onemocnění není dostupná jiná než symptomatická léčba. Velký význam má též pro zlepšení psychického stavu nemocného a zmírnění jeho úzkosti a nejistoty, umožní rovněž předejít ještě neprojeveným příznakům, omezit další zbytečná vyšetření a stanovit rizika pro příbuzné nemocného. Diagnostika DMP je vždy tvořena dvěma částmi – klinickou a laboratorní. V **klinické části diagnostiky** lékař zhodnotí klinické symptomy, osobní a rodinou anamnézu, výsledky rutinních biochemických a hematologických vyšetření, paraklinických vyšetření a vysloví hypotézu, kterou potvrdí nebo vyvrátí následně laboratorní vyšetření.

Laboratorní diagnostika DMP probíhá buď jako celoplošný screening (např. novorozenecký screening fenylketonurie) nebo jako selektivní screening u vybraných osob, které mají příznaky suspektní pro některou DMP. Pro diagnostiku DMP je zásadní cílené vyšetření metabolitů, enzymů/transportérů, vyšetření tkáně nebo analýza DNA/RNA, protože řada těchto onemocnění nemá jednoznačný obraz na úrovni rutinních biochemických a hematologických vyšetření, zobrazovacích metod ani při standardních bioptických vyšetřeních. Laboratorní diagnostika DMP probíhá na několika úrovních: genetické, enzymatické, na úrovni metabolitů a tkání (Obr. 2).

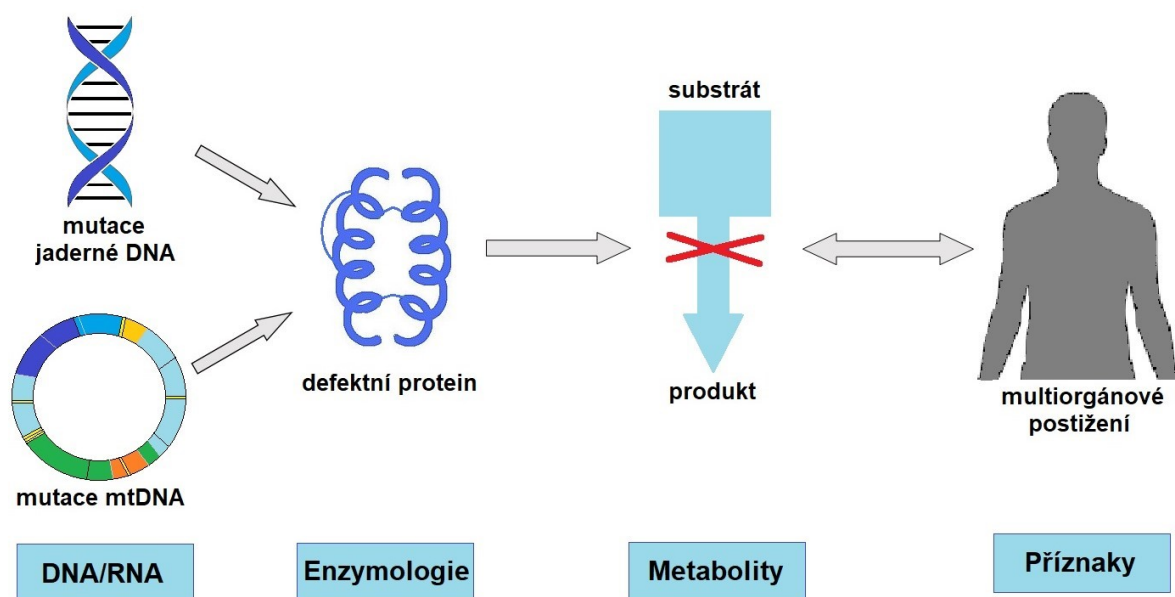
Nejširší diagnostické možnosti jsou k dispozici **na úrovni metabolitů**, kde se přímo či nepřímo prokazuje změna koncentrace metabolitu (tj. hromadění substrátu, chybění produktu, alternativní produkty) za použití různých metod biochemických, imunochemických, či metod chemické analýzy.

¹ HELLP syndrom (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelets) je velmi vážná komplikace těhotenství s výraznou mortalitou a morbiditou (až 40 %). Je spojen s hemolýzou, patologickými jaterními testy a trombocytopenií. Je vyvolán plodem s deficitem 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenasy mastných kyselin s dlouhým řetězcem (LCHAD).



Vyšetření **na úrovni enzymu/transportéru** je náročnější ekonomicky i časově a představuje větší zátěž pro pacienta. Stanovuje se změna aktivity postiženého enzymu/transportéru. Tento typ stanovení se využívá v prenatální diagnostice a k potvrzení DMP.

Ekonomicky nejnákladnější je diagnostika **na úrovni DNA**, kdy je přímo určena konkrétní mutace genu molekulárně-biologickými metodami (PCR, sekvenace). Nalezení patologické mutace v DNA je definitivním potvrzením diagnózy DMP a výsledky tohoto vyšetření slouží jako podklad pro genetické poradenství.



Obr. 2. Zjednodušené schéma patogeneze DMP a úrovně laboratorní diagnostiky DMP
(upraveno z Kožich a Zeman 2010)

Novorozenecký screening vyhledává pacienty s předem definovaným spektrem nemocí. Jeho cílem je aktivní vyhledávání pacientů v časném, presymptomatickém stadiu onemocnění tak, aby se tyto choroby diagnostikovaly a léčily před tím, než se stihnou projevit a způsobit pacientovi nevratné poškození zdraví. První novorozenecký screeningový program byl zaveden v 60. letech 20. století v USA pro detekci fenylketonurie. Zakladatelem novorozeneckého screeningu je prof. Robert Guthrie, který vyvinul bakteriální inhibiční test umožňující stanovovat fenylalanin v suché kapce kapilární krve odebrané na filtrační papírek. V ČR se v současné době se vyhledává 15 DMP pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie



(MS/MS) v suché kapce krve (screening tedy probíhá na úrovni metabolitů); další 3 onemocnění jsou vyhledávána pomocí imunoanalytických metod. Pravidla pro provádění novorozeneckého screeningu (odběr krve, transport vzorků, laboratorní vyšetření atd.) jsou uvedena v Metodickém návodu Ministerstva zdravotnictví České republiky. Pravděpodobnost odhalení některého z těchto 18 onemocnění je 1 : 1150 narozených. V případě pozitivního výsledku novorozeneckého screeningu je diagnosa potvrzena jinými nezávislými metodami.

Zavedení celoplošného screeningu vedlo k formulování obecných pravidel včasné detekce a diagnostiky nemocí Wilsonem a Jungnerem v roce 1968. Ačkoliv byla tato kritéria několikrát revidována, stále představují určité vodítko pro zachování etických principů.

- hledaná nemoc je fatální nebo vede k těžkému postižení, pokud není léčena
- je dostupná léčba, která zlepšuje výsledný stav
- jsou zajištěny vhodné podmínky pro diagnostiku a léčbu hledaného onemocnění
- nemoc by měla mít rozpoznatelnou latentní fázi nebo rozpoznatelné časné symptomatické stadium
- je dostupný vhodný test nebo vyšetření
- tento test nebo vyšetření by měl být populací akceptovatelný
- mechanismy a průběh onemocnění, včetně vývoje latentní fáze k potvrzení diagnosy, by měly být dostatečně známy
- existuje konsenzus o tom, kdo má být léčen jako pacient
- náklady na diagnosu a léčbu screeningem diagnostikovaných pacientů by měly být ekonomicky vyvážené vzhledem ke zdravotnímu systému jako celku
- hledání pacientů by mělo být kontinuálním procesem.

Screeningové metody by měly být rychlé, levné, citlivé, spolehlivé a specifické. Mezi rizika novorozeneckého screeningu patří falešně pozitivní a falešně negativní výsledky a detekce klinicky nezávažných stavů. Falešně pozitivní výsledek screeningu, který se může objevit u jedinců s nezralým enzymovým aparátem, má negativní vliv na psychiku rodičů a zvýšení nepřímých nákladů na kontaktování a další testování. U falešně negativních výsledků screeningu zase hrozí, že nebude včas zahájena léčba, což se negativně projeví na zdravotním stavu pacienta.

Léčba

Cílem léčby DMP je zlepšení kvality života, tj. zmírnění důsledků metabolické dysfunkce, prevence a léčba komplikací a zajištění přiměřeného somatického a



psychosociálního vývoje. Základním předpokladem úspěšné léčby DMP je správná a včasná diagnosa a znalost přirozeného průběhu a patogeneze onemocnění. Léčba DMP musí být vždy komplexní a multidisciplinární. Je třeba si však uvědomit, že léčbou je ovlivnitelná jen část DMP, v současnosti je možná nějaká forma léčebného zásahu zhruba u třetiny DMP. Léčba může probíhat na úrovni fenotypu, metabolitu, dysfunkčního enzymu nebo na buněčné úrovni.

Léčba na úrovni fenotypu neovlivňuje metabolickou podstatu onemocnění, ale pomáhá zmírnit klinické symptomy a zlepšit kvalitu života. Jedná se tedy o léčbu podpurnou a symptomatickou (např. symptomatická medikamentózní terapie, chirurgická léčba, edukace pacienta a rodiny, režimová opatření, psychologická péče atd.).

Léčba na úrovni metabolitu zahrnuje farmakologické, nutriční a instrumentální přístupy, které jsou zaměřeny na konkrétní metabolický blok a umožňují snížit koncentrace kritických metabolitů. Znalost patogeneze daného onemocnění nebo skupiny chorob je nezbytnou podmínkou správnosti léčby. U tohoto typu léčby se využívají následující principy: omezení příjmu nebo vzniku toxických substrátů a alternativních produktů (např. dieta s nízkým obsahem fenylalaninu u fenylketonurie), eliminace toxických substrátů a alternativních produktů (např. hemodialýza, hemofiltrace, podávání benzoátu a fenylacetátu při hyperamonemii), podávání metabolických inhibitorů (např. podávání nitisinonu – inhibitoru homogentisát-1,2-dioxygenasy – u hepatorenální tyrosinemie a alkaptonurie) a náhrada deficitních produktů (např. suplementace argininu u poruch močovinového cyklu).

Při **léčbě na úrovni dysfunkčního proteinu** se podávají vysoké dávky specifických koenzymů a farmakologických chaperonů k aktivaci a stabilizaci enzymu (např. thiamin u leucinosy) nebo se parenterálně podává rekombinantní enzym (např. enzymová substituční léčba u Gaucherovy nemoci).

Jedinou kauzální léčbou je **léčba na buněčné úrovni**. Pokud se enzymový defekt projevuje jen v určitých orgánech/tkáních, uplatňuje se transplantace orgánů, tkání či hematopoetických buněk, kdy transplantovaný orgán poskytuje funkční buňky bez deficitu aktivity enzymu nebo transportéru (např. transplantace ledvin u cystinosy). Poslední možností léčby je **genová terapie** virovým vektorem, při které dochází ke korekci mutace přímo v genu nebo k ovlivnění exprese genů na úrovni promotorů. Genová terapie řady chorob je zatím ve stadiu výzkumu či klinického testování. Prvním schváleným prostředkem pro genovou terapii v Evropské unii se stal v roce 2012 alipogen tiparvovek (Glybera[®]), který je určený pro léčbu dospělých pacientů s diagnostikovaným familiárním deficitem lipoproteinové lipasy. Tento přípravek obsahuje variantu LPL S447X lidského genu pro lipoproteinovou lipasu ve vektoru, který se skládá z bílkovinného obalu odvozeného ze sérotypu 1 adeno-asociovaného viru,



cytomegalovirového promotoru, posttranskripčního regulačního elementu viru hepatitidy sviště lesního a invertovaných terminálních repetit odvozených z adeno-asociovaného viru 2.

Použitá literatura

Dršata J (1983) Patobiochemie pro farmaceuty. 1. vydání. Státní pedagogické nakladatelství, Praha, 291 s.

Fernandes J a kol. (2008) Diagnostika a léčba dědičných metabolických poruch. 1. vydání. Triton, Praha, 608 s.

Honzík T (2011) Klinické příznaky dědičných metabolických poruch u dětí. *Pediatr. praxi.* 12(5): 314-319.

Košťálová E (2017) Dědičné metabolické poruchy v ordinaci praktického lékaře – jak diagnostikovat? *Med. praxi.* 14(2): 67-70.

Kožich V a Zeman J (2010) Dědičné metabolické poruchy v pediatrii. *Postgrad. Med.* 12(7): 793-800.

Malinová V a Honzík T (2013) Lysosomální onemocnění – současné možnosti diagnostiky a terapie. *Pediatr. praxi.* 14(2): 99-103.

Ptáček R, Bartůněk P a kol. (2014) Etické problémy medicíny na prahu 21. století. 1. vydání. Grada, Praha, 520 s.

Saudubray JM, Baumgartner MR, Walter JH (2016) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment.* 6th edition. Springer, Berlin, 658 pp.

Šťastná S (2008) Laboratorní diagnostika dědičných metabolických poruch. *Med. Praxi* 5(6):274–276.

