

Znaczenie niskich wartości badań laboratoryjnych w wybranych chorobach rzadkich.

IZABELA MICHAŁUS

Regionalne Centrum Chorób Rzadkich
Poradnia Wrodzonych Wad Metabolicznych
Klinika Endokrynologii i Chorób Metabolicznych
Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi



Choroba rzadka

- ▶ Zgodnie z definicją chorób rzadkich zalecaną w Unii Europejskiej, w tym w Polsce, chorobę uznaje się za rzadką jeśli dotyka ona **nie więcej niż 5 na 10 000 osób (1 na 2000)**
- ▶ Dotychczas wykryto około **8 tysięcy** chorób rzadkich, a nowe choroby z tej grupy są regularnie opisywane w piśmiennictwie.
- ▶ Sumarycznie cierpi na nie aż od **6 do 8%** populacji, stanowią więc poważny problem zdrowotny (w samej tylko Europie powyżej 30 mln osób z chorobą rzadką, w tym 75% dzieci, w Polsce ok 2,3-3 mln osób)



FOSFOR

GOSPODARKA FOSFORANOWA

Fosfor - fizjologia

- ▶ Fosfor występuje w organizmie w postaci organicznych i nieorganicznych fosforanów.
- ▶ Aż 80% zmagazynowane jest w kościach, około 9% w mięśniach, 10% w innych tkankach, a 1% w płynie pozakomórkowym.
- ▶ Fosforany krążące w osoczu występują w postaci fosfolipidów, estrów oraz wolnych fosforanów.

Fosfor - fizjologia

Fosfatemia fizjologicznie zmniejsza się z wiekiem

- ▶ Dzieci urodzone przedwcześnie
6,0 mg/ml,
- ▶ Noworodki i niemowlęta
5-7,5 mg/dl,
- ▶ Dzieci w wieku 1-5 lat
4,5-6,2 mg/dl,
- ▶ Dzieci w wieku 6-12 lat
3,6-5,8 mg/dl
- ▶ Młodzież i dorośli
2,5-4,5 mg/dl.

HIPOFOSFATEMIA



KRZYWICA HIPOFOSFATEMICZNA

Rodzinna krzywica hipofosfatemiczna

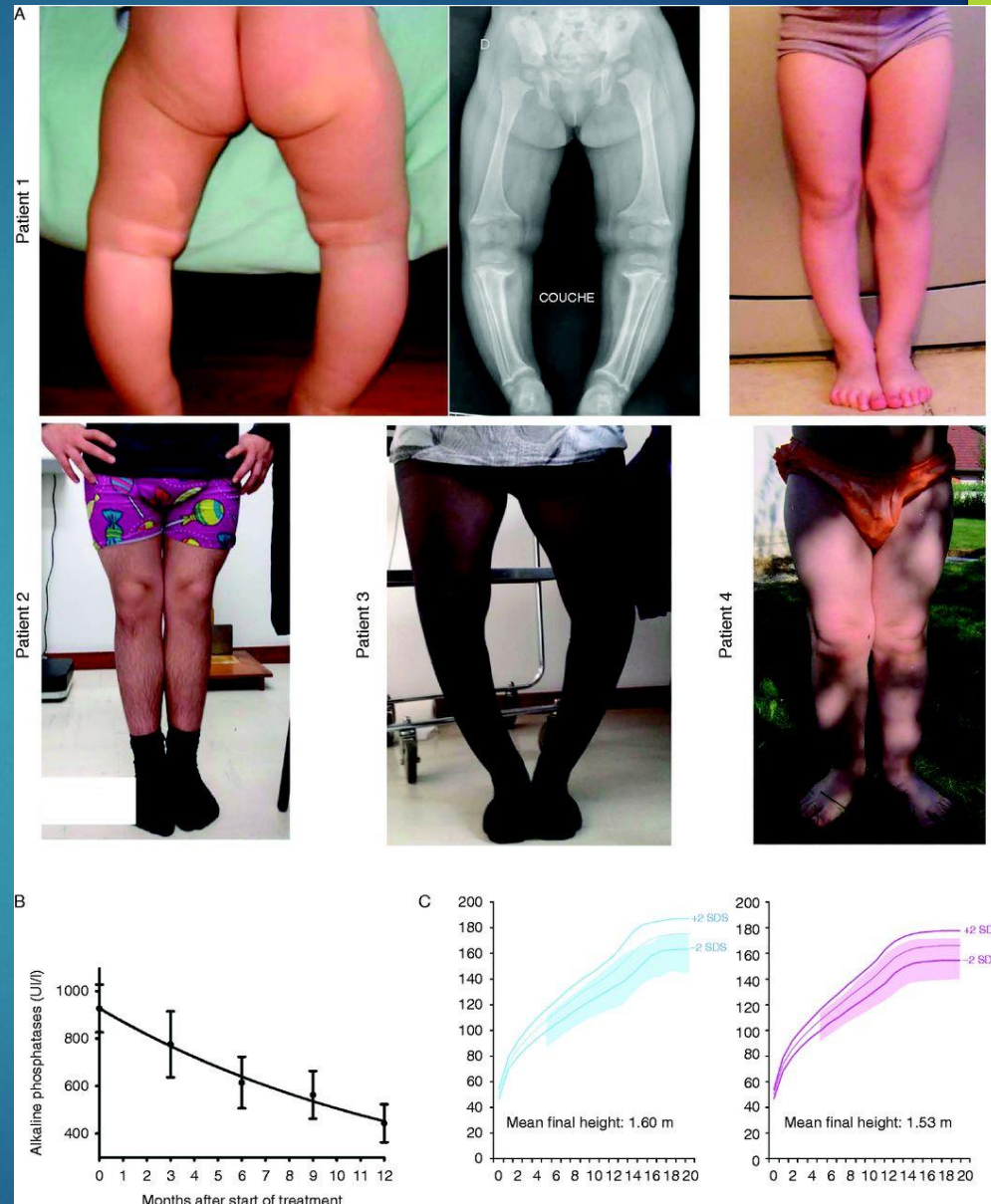
- ▶ Grupa rzadkich zaburzeń szkieletowych (4/100000) związanych z nadmierną nerkową ucieczką fosforanów
- ▶ Podobne objawy, zróżnicowane podłoże genetyczne
- ▶ Objawy kliniczne i wyniki badań laboratoryjnych w tej postaci wynikają z zaburzenia wchłaniania zwrotnego fosforanów w cewkach bliższych nerek - szpotawość kolan upośledzająca chód, niski wzrost, zaburzenia proporcji
- ▶ Leczenie – uzupełnianie fosforanów

Hypophosphatemic Rickets



Objawy kliniczne

- ▶ Deformacje kończyn dolnych – szpotawość
- ▶ Niskorosłość
- ▶ Zaburzenia chodu
- ▶ Osłabienie siły mięśniowej i wydolności wysiłkowej
- ▶ Bóle kostne



Objawy biochemiczne

- ▶ Hiperfosfaturia

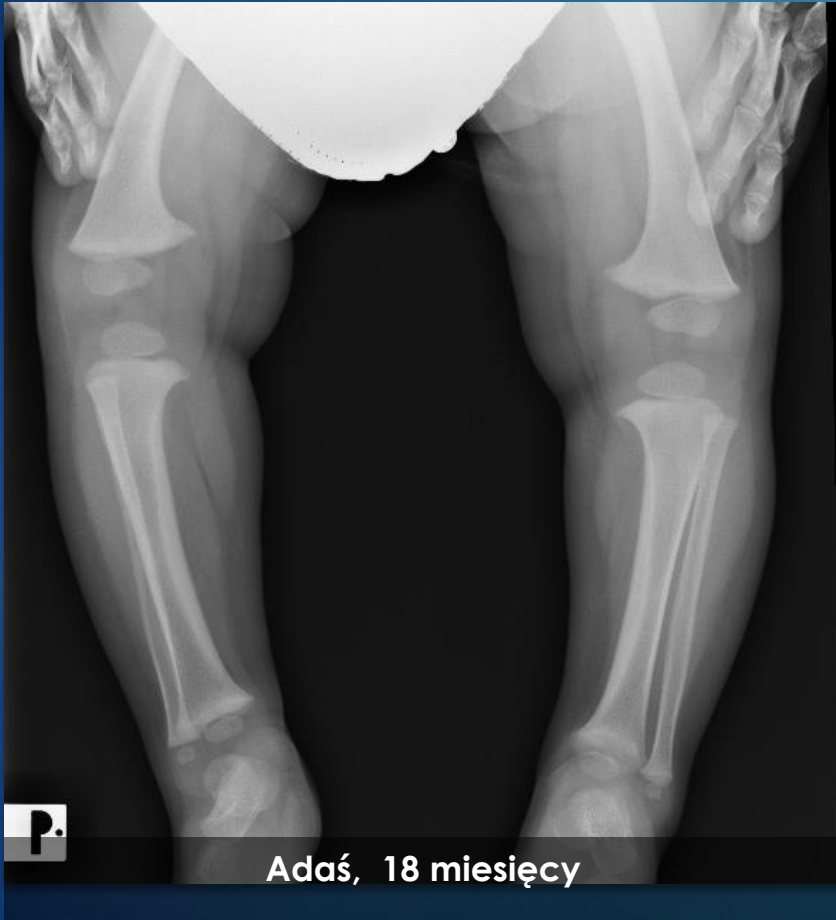
↓ wskaźnik TRP (tubular reabsorption for phosphate) i
TmP/GRF (tubular maximum of reabsorption for
phosphate)

- ▶ Hipofosfatemia

- ▶ ↑ ALP

- ▶ ↑ FGF23

Wyniki badań pacjenta



- ▶ Ca 9,7 mg/dl
- ▶ **P 2,8 mg/dl ↓**
[N 3,4-6,2]
- ▶ ALP 251 U/L
- ▶ 25OHD 32 ng/ml
- ▶ 1,25(OH)2D 60 pg/ml
- ▶ PTH 31 pg/ml
- ▶ Ca/kr mocz 0,04
- ▶ **P/kr mocz 2,03 ↑**
[N 0,3-0,8]
- ▶ Wysokość ciała 98 cm [25c]
- ▶ Masa ciała 19 kg [75c]

Monitorowanie

- opieka interdyscyplinarna

- ▶ Ocena kliniczna, badanie fizykalne, ocena masy i wys., badania biochemiczne (dzieci co 3-6 m-cy, dorośli co 6-12 m-cy)
 - ▶ **Ca, P, kreatynina surowica i mocz**
 - ▶ **Fosfataza zasadowa, markery obrotu kostnego**
 - ▶ **25OHD, 1,25 (OH)₂D, PTH**
- ▶ Usg nerek 1x w roku
- ▶ DXA 1x w roku
- ▶ Stomatolog, reumatolog con. 1x w roku
- ▶ Ortopeda, specj. rehabilitacji con. 1x w roku

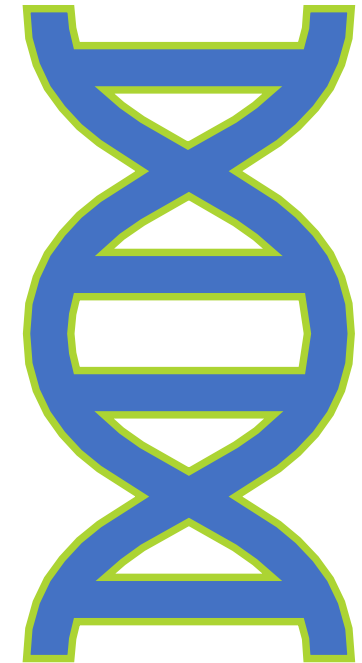
FOSFATAZA ZASADOWA



Hipofosfatazja

Definicja

- ▶ Hipofosfatazja jest rzadką chorobą metaboliczną spowodowaną mutacją genu kodującego tkankowo niespecyficzną fosfatazę zasadową (the tissue – nonspecific alkaline phosphatase - TNSALP).
- ▶ Istotą choroby jest niska aktywność TNSALP
- ▶ Patofizjologia choroby związana jest z upośledzoną funkcją osteoblastów, które nie wbudowują wapnia w macierz nowo powstającej tkanki kostnej. Niska aktywność fosfatazy zasadowej powoduje gromadzenie się w płynie zewnątrzkomórkowym nieorganicznych pirofosforanów, które zaburzają powstawanie hydroksyapatytu. W konsekwencji dochodzi do hipomineralizacji kośćca.



Rozpowszechnienie i częstość HPP

- ▶ Rozpowszechnienie i częstość HPP nie jest dokładnie określona
- ▶ Największa częstość HPP dotyczy plemienia Mennonites w prowincji Manitoba w Kanadzie, gdzie około 1 na 25 osób jest nosicielami mutacji genu ALPL i około 1 na 2,500 noworodków ma objawy letalnej postaci hipofosfatazji. W 1957, raport z Toronto, Canada, sugerował, że ciężka postać HPP występuje w tym kraju z częstością 1 na 100,000 żywych urodzeń.
- ▶ **Analiza analiza mutacji TNSALP z 2011 roku wykazała, że częstość ciężkiej i umiarkowanej postaci hipofosfatazji wynosi 1 na 300 000 i odpowiednio 1 na 6370 Europejczyków.**



HPP Patofizjologia: układ kostny



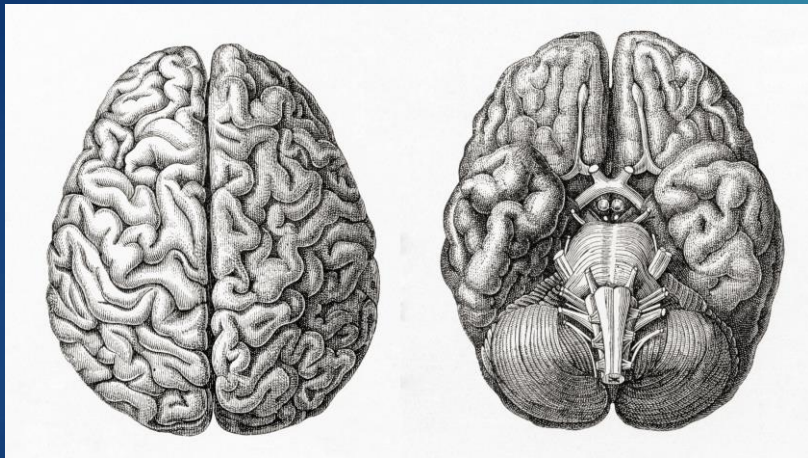
Podczas normalnego procesu mineralizacji kośćca, z udziałem TNSALP dochodzi do defosforylacji nieorganicznych pirofosforanów (PPi) w błonie osteoblasta, czego wynikiem jest powstanie nieorganicznych fosforanów (Pi).

- Pi and Ca^{++} budują kryształy hydroksyapatytu

W hipofosfatazji niska aktywność TNSALP powoduje pozakomórkową akumulację PPI

- PPI są potencjalnymi inhibitorami mineralizacji kośćca

HPP Patofizjologia: ośrodkowy układ nerwowy



- 5-fosforan pirydoksalu (PLP) jest aktywną formą witaminy B6
- Podczas prawidłowej przemiany TNSALP powoduje defosforylację, tworząc pyridoxal (PL)
 - PL przechodzi przez błonę komórkową i jest ponownie fosforylowany do PLP
 - Wewnątrzkomórkowy PLP jest zaangażowany w syntezę neurotransmiterów (np. GABA, dopaminy, serotoniny)
- Niedobór PLP w mózgu może być przyczyną drgawek.

Perinatalna

- In - utero i od urodzenia

Niemowlęca

- <6 miesiąca życia

Dziecięca/
Młodzieżowa

- ≥ 6 miesiąc życia – 18 lat

Dorostych

- >18 lat

Odontohipofosfatazja

- W każdym wieku, jedynym objawem klinicznym są zaburzenia dotyczące zębów

Łagodna prenatalna

- in utero, w okresie poporodowym zakres objawów od postaci niemowlęcej do odontohypofosfatazja

Objawy hipofosfatazji – układ kostny



Deformacje kostne, często krzywiczopodobne
m.in. szpotawość podudzi, spłaszczona potylica

Hipomineralizacja kośćca

Przedwczesne zarastanie szwów czaszkowych
kraniosynostoza

Złamania – bez urazu, nawracające, nie gojące się

Osteomalacja

Bóle kostne i stawowe

Niski wzrost

Zaburzenia chodu



1. Rockman-Greenberg, *Pediatr Endocrinol Rev*, 2013.
 2. Whyte, *Genetics of Bone Biology and Skeletal Disease*, 2013.
 3. Whyte et al, *N Engl J Med*, 2012.
 4. Beck et al, *Rheumatol Int*, 2011
2. http://www.softbones.org/wp-content/uploads/2015/07/SoftBones_HPP_Overview_HCP_Guide-2016.pdf

INNE OBJAWY HPP



mięśniowe

- Hipotonia
- Bóle mięśniowe
- Postępujące zaburzenia chodu wymagające stosowania przyrządów wspomagających – balkoników, wózków inwalidzkich.
- Opóźnione lub brak osiągnięcia etapów rozwoju (kamieni milowych)



reumatologiczne

- Chondrocalcynoza
- Calcific periarthritis
- Bóle mięśniowe
- Bóle stawów



nerkowe

Nefrokalcynoza



oddechowe

- Zaburzenia oddychania
- Niewydolność oddechowa wymagająca wsparcia oddechu

HPP Diagnostyka

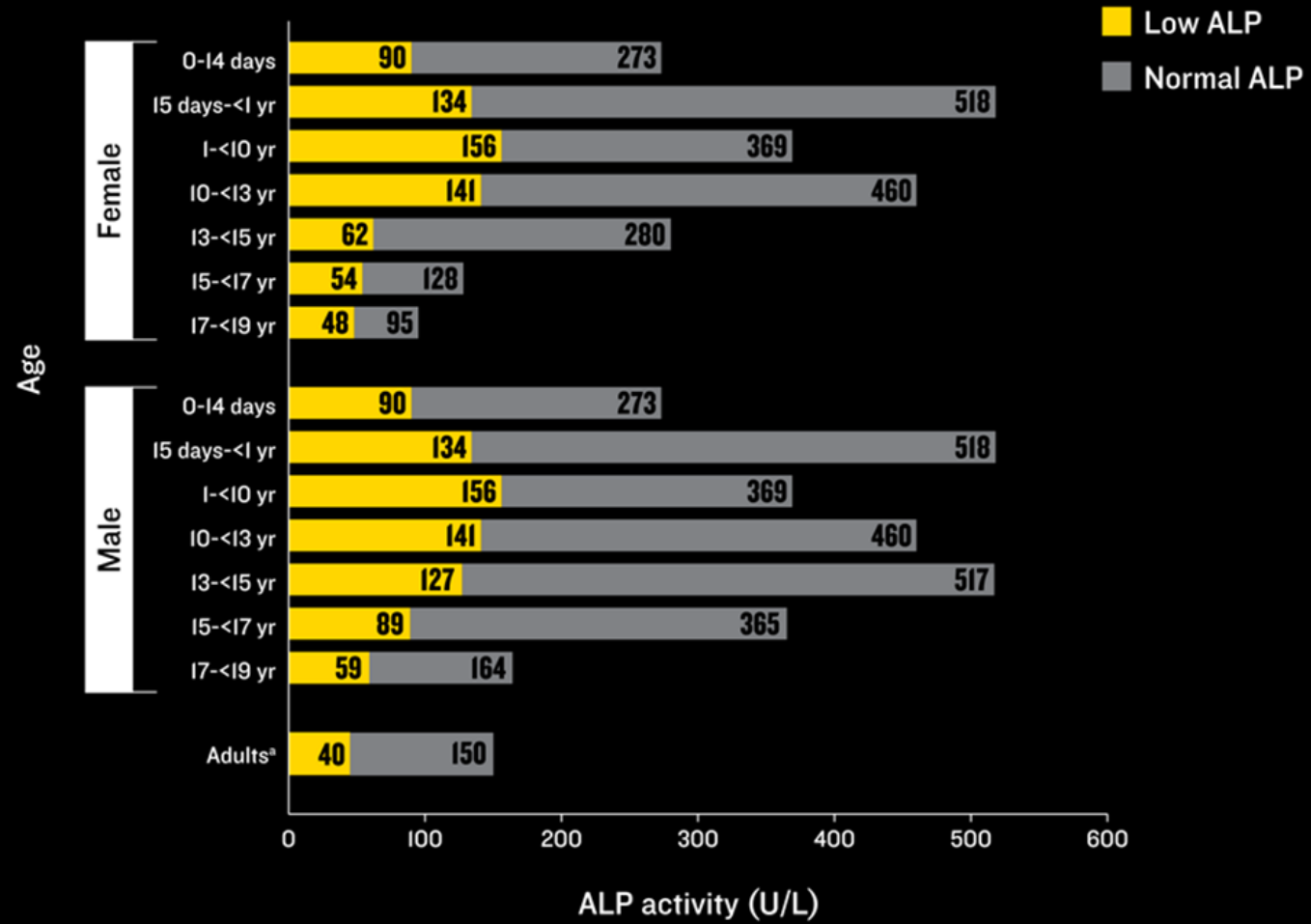
Parathormon Obniżony lub w normie	Stężenie wapnia w surowicy Podwyższone lub w normie	Stężenie fosforanów w surowicy Podwyższone lub w normie	25(OH)D W normie
Fosfataza zasadowa (ALP) – aktywność w surowicy obniżona	Phosphoetylonamina (PEA) podwyższona w moczu	Pirofosforany nieorganiczne (PPi) wysokie we krwi i moczu (odpowiedzialna za zmiany krzywicze i osteomalację)	Pyridoksal 5 – phosphate (PLP) – podwyższony poziom w surowicy, krążąca postać witaminy B6

Uwaga! Normy fosfatazy zasadowej zależą od płci i wieku, wynik powinien uwzględniać zarówno minimalne jak i maksymalne wartości referencyjne

Materiał
własny

**Badanie genetyczne –
potwierdzenie mutacji
genu ALPL**

AGE- AND GENDER-ADJUSTED ALP REFERENCE INTERVALS (U/L)³¹



Leczenie HPP

- ▶ **Enzymatyczna terapia substytucyjna**
- ▶ Uzupełnianie niedoborów np. wit. D, C
- ▶ Opieka

ortopedyczna, neurologiczna,
neurochirurgiczna, rehabilitacja,
stomatolog, nefrolog



OPIS PACJENTA

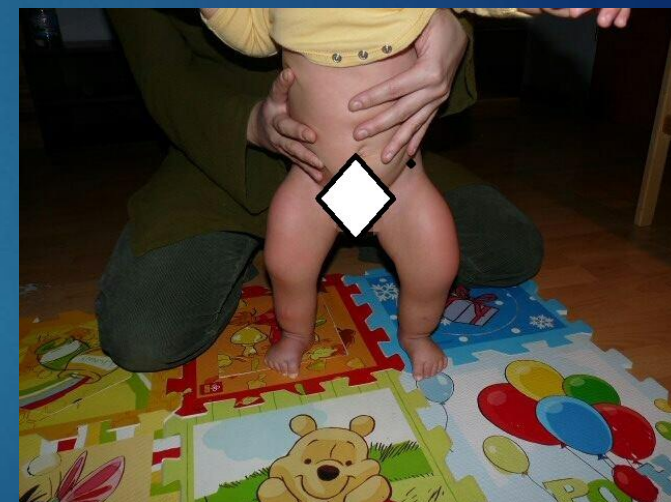
Okres noworodkowy

- ▶ CII, PII, 40hbd, m ur. 3950g, Apg 8pkt.
- ▶ W usg prenatalnym nie uwidoczono kości udowych
- ▶ Po porodzie skrócenie proksymalnych części kończyn górnych i dolnych, łukowate wygięcie kończyn, węższa klatka piersiowa w części górnej, wciągnięcia skóry na podudziach
- ▶ Badania biochemiczne:
 - Fosfataza zasadowa **23 U/l !!!**
 - Wapń 2,99 mmol/l



Rozwój dziecka

- ▶ Obniżone napięcie mięśniowe w okresie niemowlęcym
- ▶ Samodzielnie siedzi od 9 miesiąca życia, chodzi od 20 miesiąca życia
- ▶ Masa i długość ciała pozostaje **poniżej 3 centyla**
- ▶ W drugim roku życia **utrata siekaczy**, ubytki w szkliwie zębów
- ▶ W ambulatoryjnych badaniach podwyższone stężenie wapnia i fosforu, obniżone parathormonu



Parametry gospodarki wapniowo-fosforanowej

wapń	fosfor	magnez
5,37 mEq/l <u>N: 4,2-5,15</u>	6,8 mEq/l <u>N: 4,5-6,5</u>	2,18 mEq/l <u>N: 1,6-2,6</u>
10,8 mg/dl	6,0 mg/dl	2,0 mg/dl

- 25 OH D: **25,7 ng/ml** (N: 20-70)
- 1,25 OH D: 33,3 pg/ml (N: 19,6-54,3)
- PTH: **<3 pg/ml** (N: 11-67)
- Fosfataza alkaliczna: **54 U/l** (N: 108-317)

Rozpoznanie

- ▶ Na podstawie obrazu klinicznego i wyników badań wysunięto podejrzenie hipofosfatazji. Pacjentka została skierowana do Poradni Genetycznej.

- ▶ Rozpoznanie ostateczne:

hipofosfatazja typu dziecięcego

heterozygota złożona z mutacjami w genie ALPL:
p.A176P(c.526G>A), c.1171delC

Matka: mutacja patogenna c.1171delC w genie ALPL

Ojciec: mutacja patogenna p.ALA176 Thr w genie ALPL



Pacjentka w trakcie leczenia

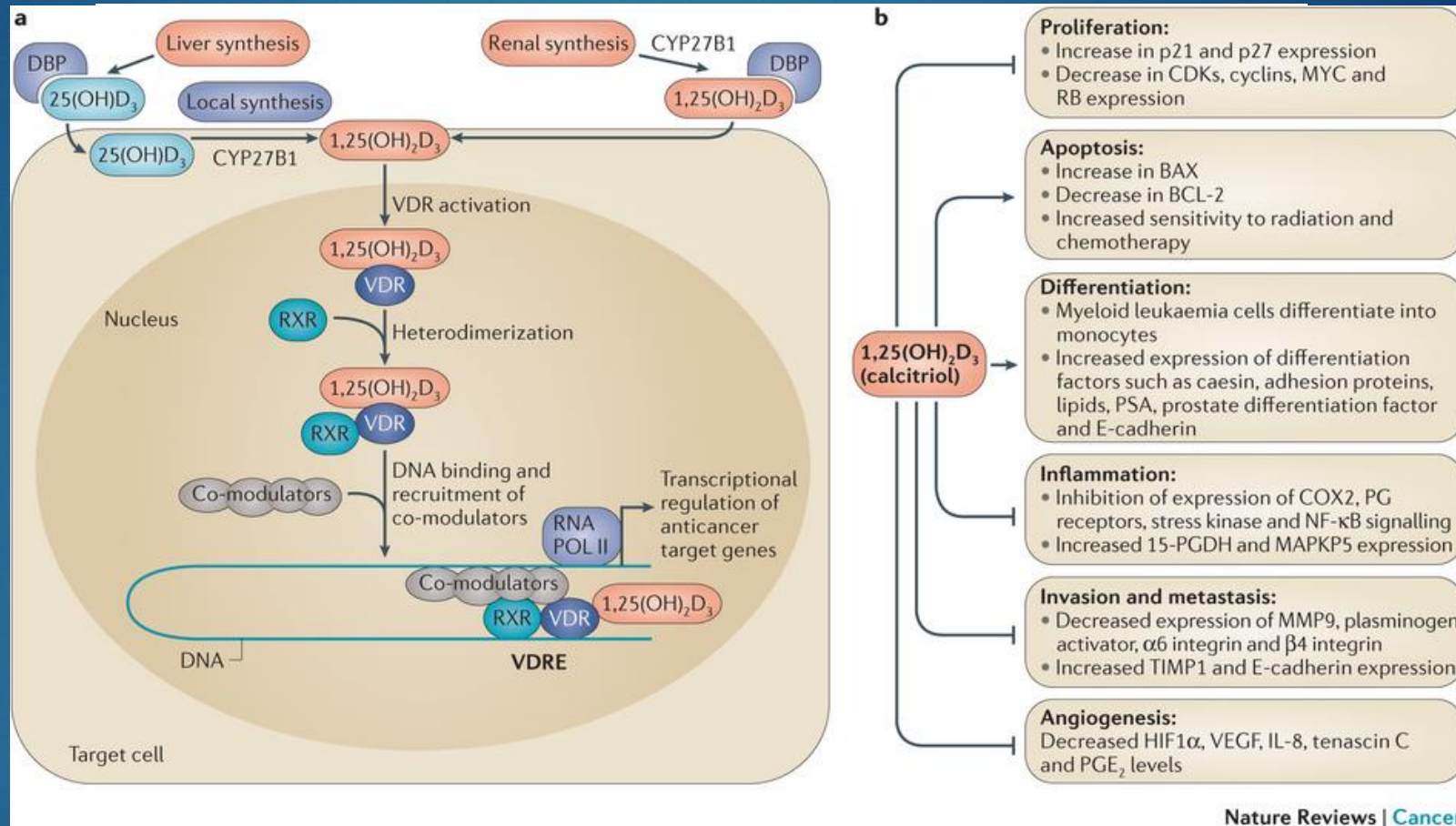
WITAMINA D

Witamina D

W zależności od stężenia metabolitu wątrobowego witaminy D niedobór dzielimy na:

- ▶ ciężki niedobór – stężenie 25 OHD 0-10 ng/dl
- ▶ znaczny niedobór - stężenie 25 OHD > 10-20 ng/dl
- ▶ stężenie suboptymalne - stężenie 25 OHD > 20-30 ng/dl
- ▶ Za optymalne uznaje się stężenie 25 OHD > 30-50 ng/dl

Metabolizm witaminy D



Krzywica niedoborowa

- ▶ Jest to choroba ogólnoustrojowa występująca wyłącznie w populacji wieku rozwojowego, we wczesnym okresie życia, która powoduje demineralizację i zaburzenia wzrostu kości na długość, a następnie ich charakterystyczne deformacje.
- ▶ Obecnie, z uwagi na wprowadzenie już od pierwszych dni życia dziecka profilaktyki niedoborów witaminy D, pełnoobjawowa krzywica jest rozpoznawana sporadycznie.

Objawy biochemiczne

- ▶ surowica:
 - ▶ Ca ↓ lub ↔
 - ▶ PO₄ ↓
 - ▶ Fosfataza alkaliczna ↑
 - ▶ 25OHD ↓
 - ▶ PTH ↑
- ▶ mocz:
 - ▶ Ca ↓
 - ▶ PO₄ ↑

Krzywice uwarunkowane genetycznie

Różnicowanie krzywic

Tabela 2. Diagnostyka różnicowa postaci krzywicy uwarunkowanych genetycznie oraz nabytych (na podstawie wyników badań laboratoryjnych oceniających gospodarkę wapniowo-fosforanową)

KRZYWICE UWARUNKOWANE GENETYCZNIE							
	STĘŻENIE WAPNIA W SUROWICY	STĘŻENIE FOSFORU W SUROWICY	FOSFATAZA ZASADOWA	PTH	25(OH)D	1,25(OH)2D	DZIEDZICZENIE
Rodzinna krzywica hipofosfatemiczna	N	↓	N	N	N	↓/N	dominujące związany z ch. X
Krzywica pseudoniedoborowa typu I	↓	↓	↑	↑	N	↓	autosomalne recesywne
Krzywica pseudoniedoborowa typu II	↓	↓	↑	↑	N	↓	autosomalne recesywne
KRZYWICE NABYTE							
Krzywica niedoborowa	N/↓	↓	↑	↑	↓	↓/↑/N	-
Krzywica z niedoboru wapnia	↓	N/↓	↑	↑	N	↑/N	-
Krzywica z nadmiaru fosforanów	↓	↑	N	N/↑	N	↑/N	-

Krzywica
pseudoniedoborowa
typu IA

- Dziedziczona autosomalnie recesywnie, spowodowana najczęściej mutacją genu CYP27B1 zlokalizowanego na chromosomie 12.
- Niedobór L 1-hydroxylazy, co powoduje zaburzenia hydroksylacji 25-hydroxycholecalciferolu (25OHD) przy węglu 1, czego wynikiem jest brak ostatniego etapu hydroksylacji i powstania metabolitu nerkowego witaminy D - 1,25dihydroxycholecalciferolu (1,25(OH)₂D)

Krzywica
pseudoniedoborowa
typu I A – obraz
kliniczny

W obrazie klinicznym choroby obserwujemy w badaniu przedmiotowym zarówno zaburzenia charakterystyczne dla krzywicy niedoborowej takie jak:

- wydatne guzy czołowe,
- odstające łuki żebrowe,
- zniekształcenia klatki piersiowej,
- poszerzenie przynasad kości długich,
- szpotawość kończyn dolnych,
- a także hipotonia, osłabienie siły mięśniowej, zaburzenia wzrastania, a w najcięższych przypadkach drgawki hipokalcemiczne, szczególnie w okresie niemowlęcym.

Krzywica
pseudoniedoborowa
typu I A – obraz
biochemiczny

- Hiperfosfatazja, hipofosfatemia oraz hipokalcemia z towarzyszącą wtórną nadczynnością przytarczyc, co jest jednym ze wskaźników różnicujących tę postać z rodzinną krzywicą hipofosfatemiczną.
- **Stężenie $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ w surowicy jest nieznaczalne lub obniżone natomiast 25OHD znajduje się powyżej normy lub w granicach wartości referencyjnych.**

Wywiad, rozwój

- ▶ Chłopiec 23-miesięczny (B.W.) został przyjęty do Kliniki Propedeutyki Pediatrii i Chorób Metabolicznych Kości z powodu dysproporcji budowy ciała z towarzyszącą hipokalcemią i hipofosfatemią celem oceny gospodarki wapniowo-fosforanowej
- ▶ Dane z wywiadu okołoporodowego:
 - ▶ CI, PI, 39 tydz. ciąży, CC, m.ur. 3600 g, 10 pkt w skali Apgar
- ▶ Rozwój psychoruchowy dziecka w pierwszym roku życia był prawidłowy (dziecko siedało samodzielnie w 7 m.ż.; zęby pojawiły się ok. 8 m.ż.). W drugim roku życia zaobserwowano opóźnienie rozwoju psychoruchowego (chłopiec zaczął chodzić samodzielnie w 18 m.ż.- chód niepewny)



Hospitalizacja w Oddziale Endokrynologii – (wiek pacjenta 20 m-cy)

Badanie przedmiotowe: niedobór masy i wysokości ciała (<3 c), dysproporcja w budowie ciała, nieproporcjonalna głowa, wydatne guzy czołowe, skrócone kości ramienne i udowe

Badania laboratoryjne:

- ▶ **Ca sr - 7mg/dl ↓↓**
 - ▶ **P sr - 3,5mg/dl ↓↓**
 - ▶ **PTH - 346 pg/ml ↑↑↑**
 - ▶ **FZ - 1829U/l ↑↑**
 - ▶ **25OHD – 56,6 ng/ml**
- ▶ Oceniony ambulatoryjnie w 18 miesiącu życia **wiek kostny określono na 6-9 miesięcy**. W badaniu tym (rtg) zwrócono uwagę na **krótkie ukształtowanie kości śródrecza i paliczków**



Hospitalizacja (wiek pacjenta 23 m-ce)

Badanie przedmiotowe:

- ▶ niedobór masy ciała (10,5kg [$<3c$])
- ▶ niedobór wysokości (74 cm [$<3c$])
- ▶ wydatne guzy czołowe
- ▶ skrócenie kości ramiennych i udowych
- ▶ odstające łuki żebrowe
- ▶ poszerzenie przynasad kości długich
- ▶ szpotawość kończyn dolnych



HOSPITALIZACJA - rozpoznanie

Wyniki badań laboratoryjnych:

- ▶ Ca (mg/dl) - **6,94**
- ▶ P (mg/dl) - **3,5**
- ▶ Mg (mg/dl) - 2,01

- ▶ FZ (U/l) - **1967** (N: 104-345)
- ▶ Osteokalcyna (ng/ml) - 16,1 (N:2-21)
- ▶ PyrylinksD (nmol/mmol): **152,97** (N: 13,4-60,4)
- ▶ 25OHD (ng/ml) - 34,2 (N:>30)
- ▶ 1,25(OH)2D (pg/ml) - **<6,5** (N:40-100)
- ▶ PTH (pg/ml) - **332,7** (N:15-65)
- ▶ TRP=89% (N:85-95%)

Ca/Kr - 0,01 (N:<0,21)
P/Kr - 1,81 (N:0,3-0,8)
Mg/Kr - 0,17 (0,11-0,31)



Badanie DXA (program Infant)

BMD TBLH: 0,470 g/cm²

Z-score TBLH: -1,8

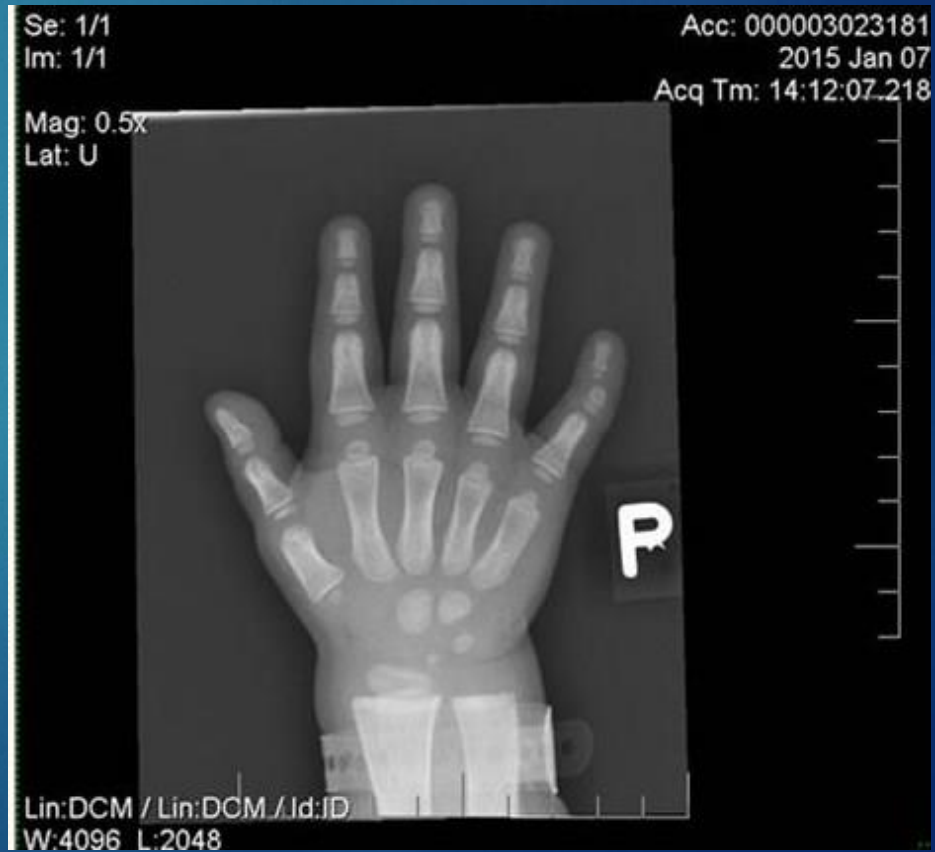
Przed leczeniem



Po 4 miesiącach leczenia



Po 12 miesiącach leczenia





Na podstawie badania genetycznego stwierdzono mutację genu CYP27B1

Lipidogram

HIPOCHOLESTEROLEMIA

Hipobetalipoproteinemia –
FHBL familial
hypobetalipoproteinemia

- ▶ Częstość 1:1000 – 1:3000 (hetero lub homozygoty)
- ▶ Mutacja genu APOB chr. 2p23-24 lub genu PCSK9
- ▶ ↓LDL-C (20-50 mg/dl), ↓ apo B
- ▶ Nazywana chorobą długowieczności z powodu niskiego ryzyka chorób sercowo-naczyniowych
- ▶ Przebieg: zwykle bezobjawowy (heterozygoty APOB), ale zwiększone ryzyko stłuszczenia wątroby, natomiast u homozygot przebieg nie do odróżnienia od abetalipoproteinemii.

Abetalipoproteinemia (ABL)

- ▶ Częstość <1 : 1 000 000 (AR)
- ▶ Objawy we wczesnym okresie życia
- ✓ zaburzenia wchłaniania, biegunki tłuszczowe, wymioty,
- ✓ brak prawidłowego rozwoju,
- ✓ postępujące zaburzenia okulistyczne - retinitis pigmentosa, zaburzenia widzenia nocnego i widzenia barw
- ✓ neurologiczne - ataksja rdzeniowo-mózdkowa, utrata odruchów głębokich, męczliwość mięśni)
- ✓ hematologiczne – anemia, hiperbilirubinemia, hemoliza
- ▶ Mutacja w obydwu allelach genu MTP (chromosom 4q22-24)
- ▶ Leczenie: dieta niskotłuszczowa (<30% całkowitego zapotrzebowania kalorycznego, suplementacja witaminy E (100-300 mg/kg/dobę), suplementacja witaminy D i K

Opis przypadku

Wizyta w Poradni Wrodzonych Wad Metabolicznych

16 rok życia, płeć męska

Otyłość

masa 94,6 kg [>97c]

wysokość 175 cm [50c]

BMI 30,9 [>97c]

Nieprawidłowości w lipidogramie

Obniżone wartości LDL

(12-15-23-54)

N 62-130 mg/dl

Opis przypadku

Wizyta w Poradni Wrodzonych Wad Metabolicznych

W wywiadzie:

Opóźnienie rozwoju, autyzm,
zaburzenia depresyjno-lękowe.

W 13 roku życia pojedynczy epizod
napadu padaczkowego.

Badanie fizykalne:

Nadmiar tkanki tłuszczowej
na brzuchu, rozstępy na plecach

Opis przypadku

Hospitalizacja w Klinice
Endokrynologii
i Chorób Metabolicznych

Badania metaboliczne:

profil acylokarnityn Tandem MS/MS – prawidłowy

Profil kwasów organicznych metodą GCMS –
prawidłowy

Mleczany 16,5 (N 6,3-18,9 mg/dl)

Gazometria – prawidłowa

Amoniak 52 (N 19-55 ug/dl)

Alat 26, Aspat 26

Opis przypadku

Hospitalizacja w Klinice
Endokrynologii
i Chorób Metabolicznych

HOMA IR = 6

25 OHD = 27,9 ng/ml

Lipidogram:

CH całk 92 (N 113-197 mg/dl)

Ch HDL 38 (N 35-65 mg/dl)

Ch LDL 39 (N 62-130 mg/dl)

TG 134 (N 34-140 mg/dl)

Hipobetalipoproteinemia? Abetalipoproteinemia?

Apo B 0,38 g/dl (N 0,66 – 1,33)

Podsumowanie

- ▶ Rzadkie choroby nie są takie rzadkie
- ▶ Pacjenta trzeba oceniać szeroko, biorąc pod uwagę to, czy na pozór różne objawy nie podpowiadają rozpoznania
- ▶ Przy interpretacji badań należy oceniać zarówno wartości zbyt wysokie jak też zbyt niskie





REGIONALNE
CENTRUM
CHORÓB
RZADKICH

rccr@iczmp.edu.pl

tel. (48) 271 12 66

Regionalne Centrum Chorób
Rzadkich
Klinika Endokrynologii i Chorób
Metabolicznych
Instytut Centrum Zdrowia Matki
Polki
ul. Rzgowska 281/289
Łódź
tel. 42 271 12 66