

Interesting case (Lysosomal Acid Lipase Deficiencies)

A 9-month-old male infant with prolonged fever

23 มกราคม 2558

พญ. พชร วงศ์รุจิรา

นพ. สิวโรจน์ ขนอม

ผศ.พญ. นิยะดา วิทยาศัย

พญ. ศิริลักษณ์ เจนนุวัตร

สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

ทารกเพศชายอายุ 9 เดือน

CC: ไข้สูงมา 15 วัน

PI: มีไข้สูงมา 15 วัน ถ่ายอุจจาระเหลว วันละ 3-4 ครั้ง ไม่มีมูกเลือด ไม่อาเจียน กินอาหารได้ปกติ มารดา
สังเกตว่าท้องโตขึ้นในช่วง 1 เดือนที่ผ่านมา

PH: บุตรคนที่ 2 เกิดโดย C/S due to previous C/S น้ำหนักแรกเกิด 2,770 กรัม

หลังเกิดไม่มีปัญหา กลับบ้านได้พร้อมมารดา

กินนมแม่อย่างเดียว 3 เดือน หลังจากนั้นกินนมผสม ได้รับวัคซีนครบตามเกณฑ์

พัฒนาการสมวัย แข็งแรงดีมาตลอด ปฏิเสธประวัติแพ้ยา แพ้อาหาร

FH: บิดา-มารดา เป็น Hb E trait

Nutrition: ข้าว 2 มื้อ + นม 4 oz x 4 มื้อ ต่อวัน

Physical examination :

GA: an active infant

HEENT: mild pale conjunctivae, no icteric sclerae, no lymphadenopathy, no injected pharynx
and tonsils, normal TM both ears

Heart & lungs: unremarkable

Abdomen: soft, distension, liver 3 cm below RCM, liver span 13 cm, spleen 3 cm below LCM ,
fluid thrill-negative

Extremities: no pitting edema

Problem lists:

- Prolonged fever
- Persistent diarrhea
- Abdominal distension with hepatosplenomegaly
- Anemia
- Family history of HbE trait

Differential diagnosis:

- Infectious causes
 - Viral infection: CMV, EBV, HIV
 - Bacterial infection
 - Hepatobiliary tract infection
 - Liver or splenic abscess
 - Melioidosis
 - Others: Rickettsial infection, malaria, TB
- Non-infectious causes
 - Malignancy, hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH)

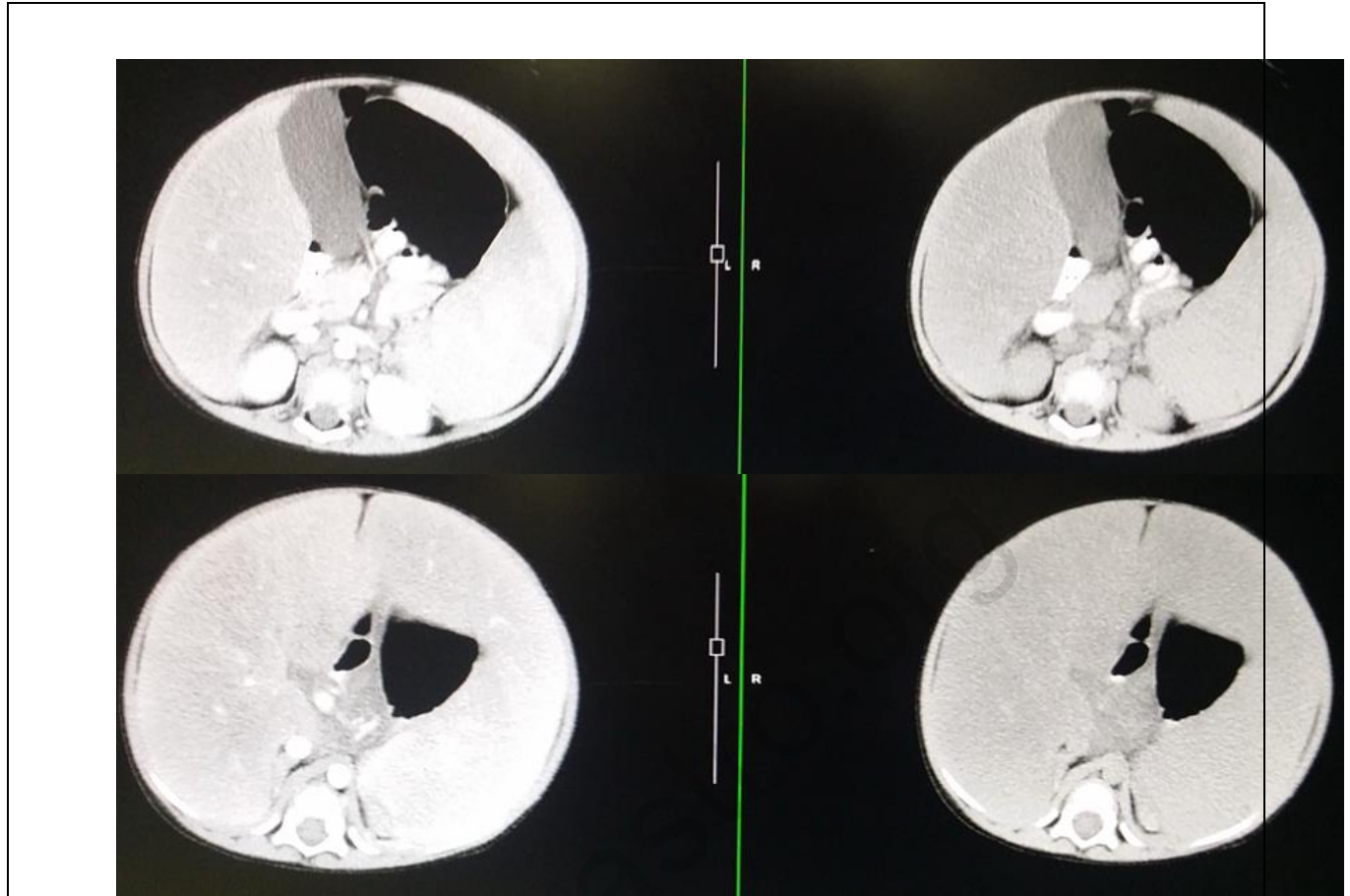
Investigations:

- CBC : Hb 7.8 g/dL, Hct 24.1%, WBC 12,240 /cu mm (N 53, L 36, E 1, M 8%), platelets 206,000/cu mm
- UA: yellow, clear, pH 6.0, sp gr 1.015, WBC 0-1, RBC 0-1/HPF, protein-trace
- Stool: yellow, soft, WBC 0-1/HPF, no RBC, fat 1+, no mucous
Stool occult blood: positive.
- Hemoculture : pending
- BUN 3.6 , Cr 0.13 mg/dL; serum electrolytes: Na 134, K 4.69, Cl 104, HCO₃ 23.2 mmol/L
- LFT : Total protein 5.95, alb 2.86, glob 3.09 g/dL; TB 1.95, DB 1.85 mg/dL
AST 3,103, ALT 350, ALP 578, GGT 751.7 U/L; ammonia 34 µmol/L (N 16-60)
- HBs Ag: negative, anti-HBs: positive, anti-HCV: negative
- Coagulogram : PT 15, PTT 42 sec, INR 1.2
- Viral study : VCA IgM - negative, EBV viral load <100 copies, EBV PCR - negative, CMV IgM - negative, anti HIV - negative
- CXR (patient & parents): normal finding
- TB work up
Gastric wash for AFB x 3 days : negative
Gastric wash culture for TB : negative
Gastric wash PCR for TB : positive for NTM
- Melioid titer <1:80 Leptospira titer IgM & IgG : negative
- **U/S abdomen:** hepatosplenomegaly with increased echogenicity, no space occupying lesion.

CT abdomen with contrast :

Diffuse hepatomegaly with hypodensity of liver parenchyma. Moderate splenomegaly.
Enlarged both adrenal glands, suprarenal mass cannot be ruled out; abdominal lymphadenopathy.
Ascites, mild ground glass opacities in both lungs.

Differential diagnosis: TB



Clinical course:

ขณะนั้น ผู้ป่วย ได้รับ Cefotaxime 100 MKD แต่ยังมีไข้สูงตลอด จากผล investigation พบเพียง Gastric wash PCR for TB : positive for NTM ได้ปรึกษาไปยังหน่วยโรคติดเชื้อ และหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ได้แนะนำให้การรักษา NTM และได้ส่ง investigations เพิ่มเติมเนื่องจากมีอาการเข้าได้กับ HLH

- Start medications for NTM
 - Ethambutol 20 MKD
 - Azithromycin 10 MKD
 - Amikacin 15 MKD

- **Ig level**

- IgG level = 13.3 (normal)

- IgA level = 0.279 (normal)

- IgM level = 1.48 (normal)

- IgE level = 1380 (high)

- **CD marker**

- CD 3 = 73.4 (58-67) (high)

- CD 4 = 51 (38-50) (high)

- CD 8 = 20.3 (18-25) (normal)

- CD 19 = 21.1 (19-31) (normal)

- CD 20 = 21.0 (19-31) (normal)

- CD 16+56 = 3.8 (8-17) (low)

- Triglyceride 294 mg/dL (N 27-125)

- Serum ferritin 5,281 ng/mL

- Serum fibrinogen 273 mg/dL (N 190-430)

- BM aspiration :

- Increased cellularity, increased megakaryocytes

- M : E : L = 38 : 41 : 15

- No tumor cell infiltration

- Increased histiocytes 6% with active hemophagocytosis

- BM culture : no growth
- BM gram & AFB stain, PCR for TB, NTM : negative

จากผล Investigations ให้การวินิจฉัยเป็น Hemophagocytic lymphohistiocytosis และให้การรักษาตาม HLH 2004 – protocol อาการไข้ของผู้ป่วยลดลง ให้กลับบ้านได้ และนัดติดตามอาการต่อเนื่อง พบว่าอาการผู้ป่วยปกติดี ไม่มีไข้ แต่ตับและม้ามโตขึ้นเรื่อยๆ ได้นัดผู้ป่วยมาส่องกล้องทางเดินอาหารตอนบน (EGD with biopsy) และเจาะตรวจชิ้นเนื้อตับ (liver biopsy)

Differential diagnoses :

- Hemophagocytic lymphohistiocytosis
- Chronic liver disease and portal hypertension
- Genetic and metabolic liver disease : Lysosomal storage disorders

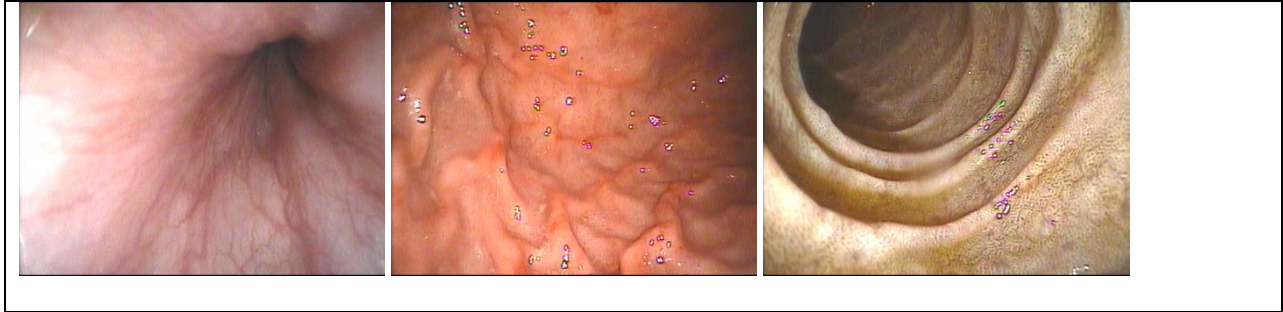
EGD with biopsies:

Small esophageal varices

No EG varices and gastric varices.

Mild erythematous mucosa at body of stomach

Pathologic results: Presence of many macrophages in lamina propria at second part of duodenum, no inflammation of gastric mucosa



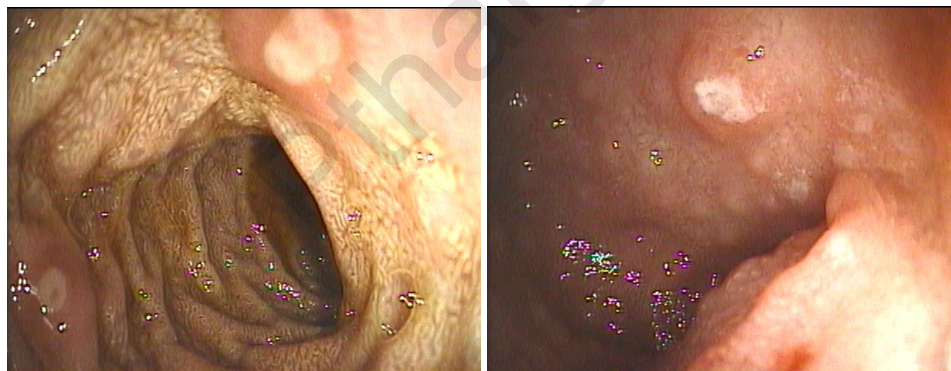
Liver biopsy :

Steatohepatitis, moderate activity with early cirrhosis, no definite malignancy seen.

No granuloma or organism seen.

ได้ไป review ผล section กับ พญ.อัญชลีรัตน์ เลิศสถิตย์ สถาบันพยาธิวิทยา และได้ไปขอความเห็นเพิ่มเติมจากรศ.พญ.นฤมล คล้ายแก้ว อาจารย์ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คิดถึง lysosomal acid lipase deficiency แนะนำให้ย้อม Oil-red-O เพิ่มเติม
ระหว่างนี้ ผู้ป่วยมา present ด้วย upper GI bleeding จึง ทำ EGD ครั้งที่ 2

EGD ครั้งที่ 2 : multiple aphthous ulcers at first and second parts of duodenum



Investigations and treatment :

- Tissue pathology : PCR for CMV - positive
- CMV viral load : 93 copies/mL → Start Gancyclovir x 21 days
- Frozen section for oil-red-O : positive
- Cholesterol 141 mg/dL (N 85-182), triglyceride 106 mg/dL (N 27-125)
- HDL-chol 11.7 mg/dL (N 35-82), LDL -chol 84.7 mg/dL
- Eye examination : normal macula and disc, no cherry red spot
- Plasma amino acid - normal, urine organic acid - normal

Acylcarnitine profile - normal

Leukocyte β -glucosidase activity - normal

Leukocyte β -hexosaminidase activity : normal

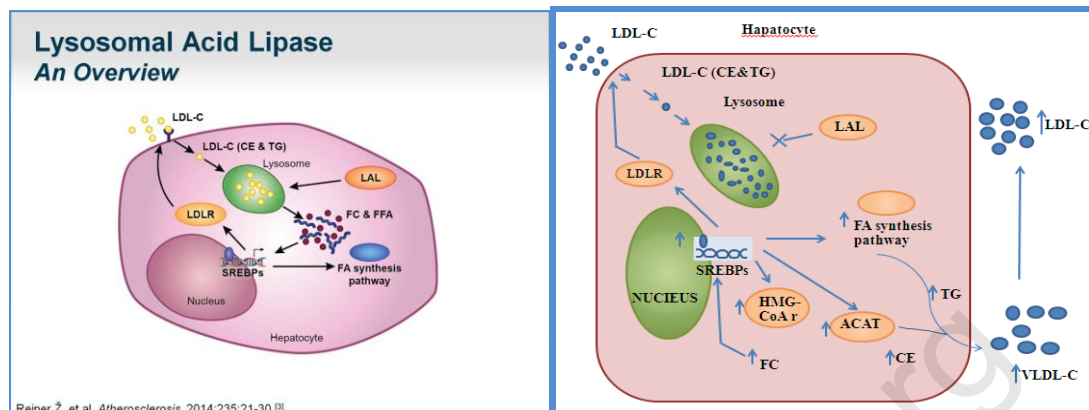
Leukocyte sphingomyelinase activity : normal

Plasma Chitotriosidase Enzyme Assay : low

- Nutritional support

ปรึกษา รศ.พญ. กัญญา สุภปิติพร ศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทยด้านเวชพันธุศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย เพื่อส่งตรวจทาง Molecular genetic ผลพบว่ามี mutation of LIPA gene ที่ตำแหน่ง homozygous c 1067I>G(pL356X) ช่วยยืนยันการวินิจฉัย ภาวะ Cholesteryl Ester Storage Disease

Cholesteryl Ester Storage Disease



Schematic view of cellular cholesterol homeostasis in (A) healthy individuals and (B) patients with LAL-D. ACAT = acyl-cholesterol acyltransferase, CE = cholesteryl esters, FA = fatty acid, FC = free cholesterol, FFA = free fatty acid, HMG-CoA r = hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase, LAL = lysosomal acid lipase, LAL-D = LAL deficiency, LDL-C = low-density lipoprotein cholesterol, LDLR = low-density lipoprotein receptor, SREBPs = sterol regulatory element binding proteins, TG = triglyceride, VLDL-C = very-low-density lipoprotein cholesterol

Cholesteryl ester storage disease เกิดจากความผิดปกติโดยมี Lysosomal acid lipase deficiency (LAL-D) ซึ่ง Lysosomal acid lipase (LAL) เป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการ metabolism ของไขมัน ในกรณีที่ activity ของ LAL ลดลงหรือหายไป จะมีผลทำให้ intracellular free cholesterol ลดลง ไปมีผลต่อ Sterol regulatory element binding proteins (SREBPs) ควบคุม HMG-CoA reductase และ LDL receptors ให้เพิ่มปริมาณ cholesterol ขึ้น พร้อมกับกับ Apolipoproteins B (Apo B) เพิ่มขึ้น จึงทำให้มีการสังเคราะห์ VLDL-C มากขึ้น จากการทำงานของ HMG-CoA reductase ทำให้ intracellular free cholesterol ใน hepatocyte ที่จะไปมีผลลดการทำงานของ LDL-receptor ทำให้ LDL-C เข้า hepatocyte ลดลง ผลคือ ลดการ clearance ของ LDL-C ในกระแสเลือด ซึ่งทั้งหมดนี้ อาจจะมีส่วนทำให้เกิด hypercholesterolemia ในภาวะ LAL-D

Investigations to diagnose LAL-D

- Measurement of LAL activity
 - By measuring enzyme activity in cultured fibroblasts, peripheral leukocytes or liver biopsy
- Genetic testing
 - Complete sequencing of the coding regions of LIPA
 - E8SJM mutation is most common mutation (50-70%)
- Liver biopsy
 - Presence of microvesicular steatosis
 - Hypertrophic Kupffer cells and portal macrophages with a foamy, tan-coloured cytoplasm are a characteristic feature of LAL-D in children and adults.
 - Presence of luminal and membrane lysosomal markers around lipid vacuoles is indicative of LAL-D in fixed paraffin-embedded material, as are pathognomonic cholesteryl ester crystals in unfixed samples.
- Radiological techniques
 - 3T MRI scanner to identify and to quantify the hepatic lipid signature associated with LAL-D

Management and Therapies

- No disease-specific treatments are currently available
- Clinical trials are ongoing to investigate the safety and efficacy of sebelipase alfa* (recombinant human lysosomal acid lipase, USA)

Lipid-lowering therapies :

- Statins (HMG-CoA-reductase inhibitors)
- Ezetimibe (a cholesterol absorption inhibitor)

Vitamin E :

- In vitro study: promote lysosomal exocytosis and reduce lipid accumulation in fibroblasts harvested
- In vivo: unfavourable pharmacokinetics

Hematopoietic stem cell and liver transplantation

Management and Therapies (cont.)

Enzyme replacement therapy

References

1. Reiner Z, Gaurdamagna O, Nair D, et al. Lysosomal acid lipase deficiency – An under-recognized cause of dyslipidemia and liver dysfunction. *Atherosclerosis* 2014; 21-30.
2. Bernstein D, Hulkova H, Bialer M, Desnick R. Cholesteryl ester storage disease: Review of the findings in 135 reported patients with an underdiagnosed disease. *J Hepatol* 2013; 58: 1230-43.

Pthaigastro.org