

NOVIJA DOSTIGNUĆA U DIJAGNOSTICI HEREDODEGENERATIVNIH ENCEFALOPATIJA

VLATKA MEJAŠKI-BOŠNJAK*

Hereditivne encefalopatije (HDE) su pojedinačno rijete bolesti, ali kao skupina bolesti postaju sve više zastupljene u morbiditetu i mortalitetu djece. Tome svakako pridonosi veći interes za ove bolesti, bolje mogućnosti dijagnostike i pokušaji terapijskog djelovanja. Dijagnostika HDE se temelji na kliničkoj slici, progresivnom tijeku bolesti te višestrukim neurološkim odstupanjima. Laboratorijska dijagnostika HDE polazi od negativnih nalaza specifičnih biokemijskih testova kojima se isključuju poznate nasljedne metaboličke encefalopatije, te na čitavom nizu parakliničkih pretraga (neurofiziološke tehnike, metode slikovnog prikaza i dr.). Posebno se ističe protonska magnetska spektroskopija mozga (1H MRS), kojom je moguće analizirati metabolite mozga, definirati stadij i osnovni patogenetski proces bolesti (degeneracija neuroaksonske jedinice, demijelinizacija, gliozna itd.). Na temelju tipičnog nalaza 1H MRS, definira se sve veći broj HDE: Poremećaj sinteze kreatina - nedostatak guanidinoacetat metiltransferaze (GAMT) (Stöckler i sur. 1994.), "Myelinotathia Centralis Diffusa"- "Vanishing white matter" (Hanefeld i sur. 1993., van der Knaap i sur. 1997.), dok su "Megalencefalična leukoencefalopatija sa supkortikalnim cistama" - MLC (van der Knaap i sur 1995.) i "Normo-mikrocefalična leukoencefalopatija sa temporalnim cistama" (Ollivier, Gärtner, 1998.) definirane na temelju kliničkih i morfoloških MRI kriterija. Napredak molekularne dijagnostike tj. otkriće mutiranog gena u MLC (MLC1) i Aleksandrovoj bolesti (GFAP), omogućio je potvrđivanje dijagnoze ovih bolesti DNA analizom mutacije gena, te prenatalnu dijagnostiku.

Deskriptori: HEREDODEGENERATIVNE ENCEFALOPATIJE; MRI; MR SPEKTROSKOPIJA MOZGA; CISTIČNE LEUKOENCEFALOPATIJE; ALEKSANDEROVA BOLEST; MOLEKULARNA DIJAGNOSTIKA

Uvod

Značajan dio progresivnih i nasljednih neuroloških bolesti zasada nema poznatu etiologiju tj. uzročni metabolički poremećaj ili enzimski deficit koji dovodi do degenerativnih promjena određene skupine neurona ili glijna stanica SŽS, iako će zasigurno za mnoge od tih bolesti to biti riješeno u bliskoj budućnosti. Zbog toga ih nazivamo hereditivnim encefalopatijama (HDE) (1, 2). HDE zajedno s nasljednim metaboličkim encefalopatijama pojedinačno se smatraju "rijetkim bolestima", iako kao skupina bolesti nisu tako rijetko zastupljene u morbiditetu djece, procjenjuje se oko 1-7/1000 živorođene djece.

Klinički se HDE mogu očitovati od najranije dobi, progresivnim tijekom, te simptomima višestrukog neurološkog poremećaja, kojima može prethoditi period urednog razvoja djeteta. S obzirom da su dijagnostika i liječenje ovih bolesti vrlo složene, one su sve više zastupljene u hospitalnom morbiditetu djece, a ujedno predstavljaju i nerješivi dio mortaliteta u dojenačkoj i ranoj dječjoj dobi. Preživjela djeca su kronični bolesnici i stoga ove bolesti pridonose povećanju zastupljenosti kroničnih bolesti u djece a ovu skupinu djece ubrajamo u skupinu s "posebnim potrebama".

Većina HDE se nasljeđuje autosomno recesivno. Degenerativni proces može zahvatiti pretežno sivu ili bijelu tvar velikog ili malog mozga stoga govorimo o *leukodistrofijama* ili *poliodistrofijama* (1-3). Možemo govoriti o piramidnom modelu dijagnostike, gdje bazu čini klinička dijagnostika na različitim razinama od neonatologa i pedijata primarne zaštite, do drugih pedijatrijskih

subspecijalnosti, no ove bolesti su s obzirom na progresivne i višestruke neurološke poremećaje, najčešće područje interesa neuropedijataru.

Posebnu pažnju potrebno je obratiti zastupljenosti bolesti sa sličnim simptomima i tijekom u istoj obitelji, krvnom srodstvu roditelja te pripadnosti roditelja izoliranoj etničkoj skupini. U leukodistrofijama više su zastupljeni simptomi piramidnog (spastičnost) ili ekstrapiramidnog poremećaja (ataksija, distonija, atetoza), te poremećaj vida i/ili sluha (2, 3). Naprotiv, poliodistrofije se očituju mentalnom retardacijom ili intelektualnim propadanjem, te tvrdokornom epilepsijom (1, 2).

No, u mnogih su HDE ovi simptomi isprepleteni, dokazujući da su istim nepoznatim patogenetskim procesom zahvaćeni, neuroni, aksoni i/ili glijna stanice (astroglia, oligodendroglia). Praćenje dinamike porasta opsega glave važan je dijagnostički kriterij za mnoge

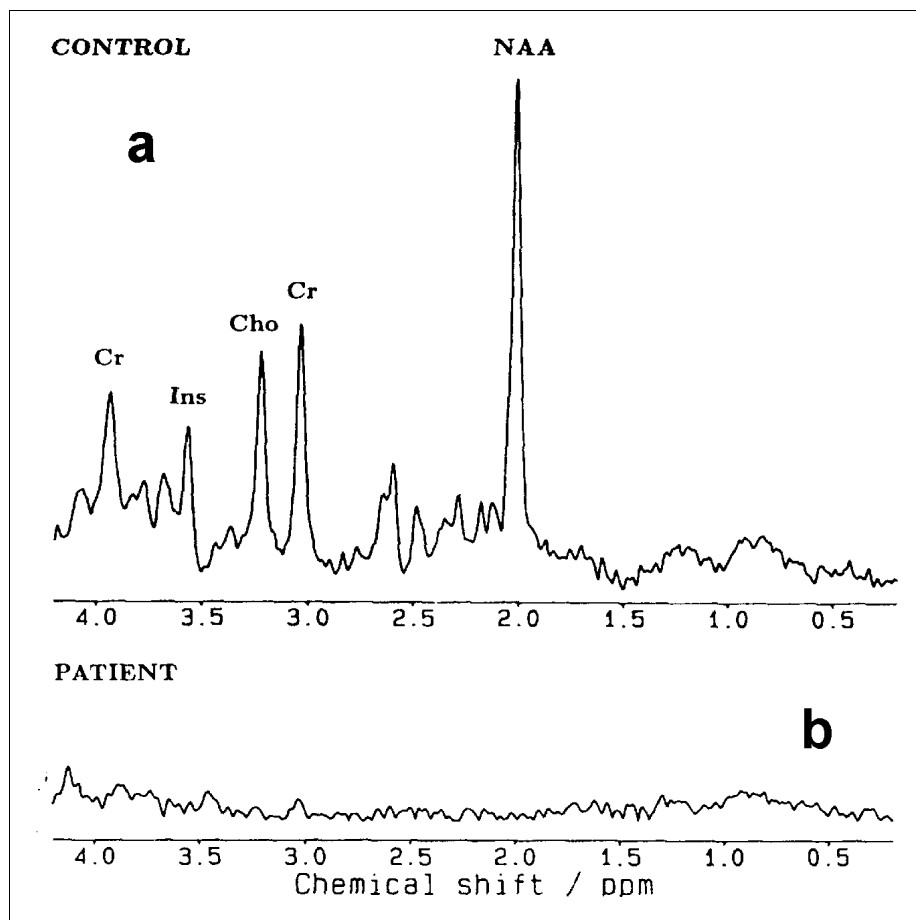
* Klinika za dječje bolesti, Zagreb
Adresa za dopisivanje:
Prof. dr. sc. Vlatka Mejaški-Bošnjak
Klinika za dječje bolesti Zagreb
Klinika za pedijatriju
10000 Zagreb, Klaićeva 16
E mail: vbosnjak@white.kdb.hr

HDE, bilo da je riječ o normo- mikro- ili makrocefaliji.

Idući korak je laboratorijska biokemijska dijagnostika kojom se isključuju poznate NME. Stoga se na temelju negativnih nalaza za NME gornji dio dijagnostičke piramide HDE odnosi se na vrlo složenu laboratorijsku dijagnostiku: hematološku, citološku, neurofiziološku (EEG, evocirani potencijali), metode slikovnog prikaza (CT, UZ MRI), pri čemu vrh dijagnostičke piramide čini patohistološki nalaz koji u većini ovih bolesti i potvrđuje konačnu dijagnozu (1, 4). Pritom se nastoji dobiti dijagnostički materijal što neinvazivnije koristeći periferna tkiva (kožu, sluznicu rektuma), no u nekih HDE konačna dijagnoza se temelji isključivo na patohistološkoj analizi tkiva mozga. Još donekadna to je bio slučaj i s Alexanderovom leukodistrofijom, za koju je otkrivena mogućnost neinvazivne dijagnostike. I u svim drugim HDE nastoji se zaobići invazivnost u dijagnostici koristeći druge dostatne i sve savršenije dijagnostičke metode.

U svih HDE koje ispunjavaju dijagnostičke kriterije određenog entiteta, provodi se molekularna dijagnostika te bolesti koja počinje s linkage analizom DNA oboljele djece, roditelja, te zdravih braće i sestara (5, 6). Kao rezultat linkage analize mapira se genski lokus, a zatim identificira mutirani gen. Kada je gen kloniran, dalje se principom "reverzne genetike" nastoji otkriti genski produkt, odnosno njegova funkcija. To omogućuje s jedne strane prenatalnu dijagnostiku, gensku terapiju, uvid u patogenezu bolesti i etiološku terapiju. Time bolest ujedno prestaje biti HDE i postaje definirana NME (1, 5, 6). U daljnjem tekstu bit će prikazano nekoliko novih entiteta HDE koje pretežno zahvaćaju bijelu tvar mozga, koje se temelje na kliničkim i morfološkim kriterijima MRI mozga, te sofisticiranoj pretrazi in vivo lokaliziranoj protonskoj MR spektroskopiji mozga (1H-MRS).

Protonska MR spektroskopija pruža zasada jedinstvenu mogućnost analiziranja metabolita mozga u fiziološkim i patološkim stanjima a naročito u NME i HDE (7,8). Glavni metaboliti mozga koje je moguće analizirati proton magnetskom spektroskopijom su (Slika 1.a):



Slika 1.a

Protonska MR spektroskopija mozga bijele tvari zdravog djeteta pokazuje normalan spektar metabolita: NAA (N-acetylaspartična kiselina, Cr (kreatin), Cho (kolin), Ins (myo -inositol).

Figure 1.a

Proton magnetic resonance spectroscopy of the white matter in healthy control child, showing normal spectra of brain metabolites: NAA (N-acetyl aspartic acid), Cr (Creatine), Cho (Choline), Ins (Myo-inositol).

Slika 1.b

Protonska spektroskopija mozga u 6 godišnje djevojčice sa MCL, učinjena u cističnim promjenama bijele tvari mozga pokazuje, gubitak svih metabolita, u skladu s kompletnom razgradnjom parenhima.

Figure 1.b

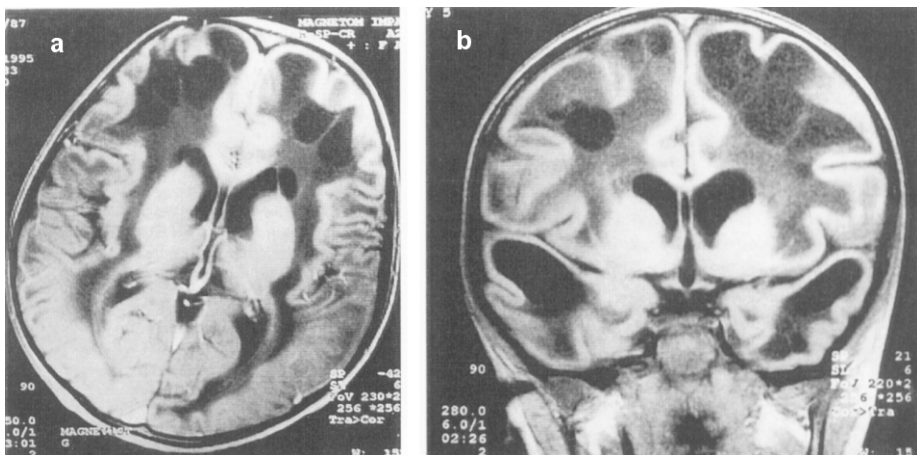
Proton magnetic resonance spectroscopy of the most severely affected cystic white matter in 6 year -old patient with MCL shows depletion of all metabolites in accord with complete tissue disintegration.

* Pretraga učinjena u okviru projekta bilateralne suradnje s Njemačkom "MRS u djece s neklasificiranim leukoencefalopatijama"

* MRS examination was performed as a part of project of bilateral cooperation with Germany "MRS in children with unclassified leukoencephalopathies"

- Acetil aspartična kiselina-NAA: pokazatelj aktivnosti neurona, odnosno vitalnog neuronskog tkiva;
- Myo-inositol-Ins: pokazatelj aktivnosti glije;
- Kolin-Cho: pokazatelj mijelinizacije u tijeku razvoja ali i u demijelinizacijskim bolestima;
- Kreatin-Cr: pokazatelj energetskeg metabolizma mozga;

Zastupljenost navedenih metabolita mozga se razlikuje ovisno o dobi kao i u pojedinim područjima mozga a napose u bijeloj i sivoj tvari mozga (7-9). Moguće je izračunati apsolutne vrijednosti pojedinih metabolita u određenom volumenu parenhima mozga, a također se mogu odrediti i njihove normalne vrijed-



Slika 2.a
Aksijalni MRI presjek u T1 sekvenci u 6 godišnje djevojčice s MLC pokazuje brojne ciste unutar promijenjene bijele tvari, pret ežno subkortikalno i frontalno.

Figure 2.a
Axial T1 weighted MRI scan of the 6 years -old girl with MLC showing multiple subcortical cysts within altered white matter frontoparietally.

Slika 2.b
Frontalni MRI presjek u T2 sekvenci u iste djevojčice kao na slici 2.a, pokazuje pored supkortikalnih cisti parijetalno, obostrane ciste u temporalnim režnjevima.

Figure 2.b
Frontal T2 weighted MRI scan of the same patient as shown in Figure 2.a, demonstrating beside parietal subcortical cysts, huge cysts in temporal lobes bilaterally.

dnosti prema dobi djece i području mozga (7, 9) Odnos pojedinih metabolita mozga na MR spektroskopiji upućuje na stadij HDE te tip degenerativnog procesa (8). Npr. manjak acetilaspertične kiseline govori za progresiju HDE tj. propadanje neuroaksonalne jedinice, dok manjak kreatina upućuje na deficitarni energetskei metabolizam mozga. Povišen myo-inositol govori za gliozu mozga kao proces zacjeljivanja nakon oštećenja, dok povišen kolin govori za demijelinizacijski proces (8).

Pomoću proton MR-spektroskopije do sada je opisano nekoliko entiteta HDE.

Poremećaj sinteze kreatina (nedostatak guanidinoacetat metyltransferaze- GAMT)

Stockler i sur. su 1994. godine objavili karakterističan nalaz MRS, kojim je dokazan manjak kreatina u mozgu djeteta s kliničkom slikom HDE. Riječ je o nasljednom poremećaju sinteze kreatina, zbog nedostatka guanidinoacetat metyltransferaze a simptomi bolesti su nestali peroralnom supstitucijom kreatina. Ova je bolest danas u potpunosti

definirana u odnosu na biokemijski poremećaj i enzimatski defekt (nedostatak guanidinoacetat metyltransferaze - GAMT) i time postala NME (10).

Myelinopathia Centralis Diffusa (Vanishing white matter disease)

Hanefeld i sur. su 1993. godine objavili novi entitet heredodegenerativne bolesti bijele tvari mozga u troje djece na temelju karektrističnih nalaza MRI i 1H MRS (11). Degenerativne promjene bijele tvari očitovale su se na MRI opsežnim promjenama signala u T1 i T2 vremenu, zbog čega je bolest i nazvana "crna bolest bijele tvari mozga", "mijelinopatija centralis diffusa" ili naziv koji je predložila van der Knaap i sur. (1997.) "vanishig white matter disease" opisujući 9 novih bolesnika (12). Nalaz MRS je pokazao gubitak svih navedenih metabolita mozga, uz pojavu spektra laktata i glukoze koje inače ne nalazimo u normalnom spektru metabolita mozga (11). Kliničke karakteristike bolesti su:

- Normalan ili blago usporen psihomotorni razvoj u dojenačkoj i ranoj dječjoj dobi.

- Početni simptomi su cerebelarna ataksija i spastičnost u ranom djetinjstvu, sa relativno očuvanim intelektualnim funkcijama. Kasnije se razvoja sljepoća zbog atrofije optičkog živca. Neki bolesnici imaju i epilepsiju. Rast glave je u granicama normocefalije.
- Razgradnja neuroloških funkcija ima kronično-progresivan tijek ali i krize naglog pogoršanja koje su obično uzrokovane infekcijom ili blažom traumom glave, što dovodi dijete u stanje letargije ili kome.

Vidimo da na tijek bolesti osim genetskih, značajno mogu utjecati i okolišni čimbenici, craniocerebralna povreda i infekcija. Bolest se nasljeđuje AR, opisano je više stotina bolesnika u cijelom svijetu, no u nas zasada još niti jedan. Molekularna dijagnostika koja je u tijeku pretražujući genom linkage analizom 19 obitelji i oboljele djece daje zasada samo naslutiti da je jedan genski lokus uključen u patogenezu ove bolesti (13).

Megalencefalična leukoencefalopatija sa supkortikalnim cistama (MLC)

Van der Knaap i sur. (1995.) su također opisali novi entitet bolesti bijele tvari mozga u 8 djece na temelju kliničkih i morfoloških kriterija MRI mozga (14). U međuvremenu nakon uvida u patohistološki nalaz bolesnika u kojih je učinjena i biopsija mozga, ova je bolest dobila naziv "Vakuolirajuća megalencefalična leukoencefalopatija sa subkortikalnim cistama" (VLE) (15). Klinički kriteriji uključuju:

- megalencefaliju od rane dojenačke dobi, koja pokazuje krivulju dinamike rasta opsega glave kao u djece s hidrocefalusom;
- sporo progredirajući klinički tijek s gotovo urednim razvojem u prvim godinama života;
- bolest počinje simptomima neuromotornog odstupanja u određenom slijedu: ataksija, spastičnost, disartriya, atetoza;
- intelektualne i senzoričke funkcije sačuvane su dugo u tijeku bolesti;

- "blaga" epilepsija, tj. rijetki napadaji koji se lako stabiliziraju antiepilepticima.

Morfološki kriteriji uključuju na temelju nalaza MRI mozga (Slika 2.a i 2.b):

- opsežne promjene supkortikalne bijele tvari mozga u smislu edema, što je i uzrok megalencefalije;
- pojavu subkortikalnih cisti u promijenjenoj bijeloj tvari naročito na vrhu temporalnih režnjeva i frontoparijetalno;

Ovako opsežne promjene bijele tvari mozga prisutne od najranije dojenačke dobi i svakako su u raskoraku s blagom progresijom bolesti (14). Nalaz MR-spektroskopije je nekarakterističan, ovisan o dobi djeteta i stadiju bolesti. Bolest se nasljeđuje autosomno recesivno, a bolesnici opisani i u originalnom radu pokazuju veliku varijabilnost kliničkih i morfoloških karakteristika.

Do sada je opisano preko 100 slučajeva ove bolesti u cijelom svijetu, a neposredno nakon definiranja ovog entiteta 1995.godine spoznali smo da petero od naše djece u dobi 9-4,5 godine, s dotada neklasificiranim megalencefalničnim leukodistrofijama ispunjava dijagnostičke kriterije ove bolesti (16-19). Naši bolesnici pokazuju još veću varijabilnost kliničkih i morfoloških obilježja nego opisani bolesnici van der Knapp i sur. (16,18,19).

Troje djece, od kojih su dvoje brat i sestra imaju vrlo teški klinički tijek s naglom progresijom poremećaja neuro-motornih funkcija i disartrijom između 3. i 5. godine, epilepsijom, a sada u dobi 9 i 14 godina značajnim gubitkom intelektualnih funkcija nepokretni, vezani za invalidska kolica. Mlađi brat od od te dvoje djece ima i najteži klinički tijek od svih do sada opisanih bolesnika s ovom bolešću. 1H MRS je u ovih bolesnika pokazala gubitak svih metabolita mozga, u cistično promijenjenoj bijeloj tvari mozga (Slika 1.b).

Najmlađe od te djece, tada dječak u dobi 4,5 godine imao je vrlo blagi klinički tijek s tek početnom neurološkom deterioracijom, malim cistama na vrhu temporalnih režnjeva (16, 18, 19). Od 1998. godine dijagnosticirali smo istu bolest u još petero bolesnika, s vrlo bla-

gom kliničkom slikom bolesti čime je ukupno u nas dijagnosticirano 10 slučajeva ove bolesti. Među tih posljednjih petero djece su dvoje djece iz iste obitelji, brat i sestra u dobi 11 i 5 godina, te tri djevojčice s postavljenom dijagnozom već u dojenačkoj dobi od kojih je 4,5 mjesечно dojenče ujedno zasada i najmlađa bolesnica sa dijagnosticiranim bolesti.

M. Topcu i sur.(2000.) uspjeli su primjenom linkage DNA-analize u13 obitelji (9 konsangvinih), mapirati genski lokus je na dugom kraku telomeričke regije 22qtel kromosoma, međutim nisu nađene mutacije na tri gena kandidata na toj sekvenci DNA (DNA). Leegwater i sur. (2001.) uspjeli su suziti područje 22qtel linkage analizom u 11 obitelji različitih etničkih skupina među kojima 4 iz Hrvatske. Utvrđena je mutacija u jednom od 4 gena te regije, označenom kao KIAA0027 (MLC1) gen, zastupljena u 13 od 19 obitelji (21). Osmero je imalo homozigotnu mutaciju tog gena, a dvije su obitelji bile složeni heterozigoti (21). U dvije obitelji nađena je samo jedna mutacija MLC1 gena. Identificirano je 12 različitih mutacija (*nonsense*, *missense*, *frame-shift* i *splice-site*). Jedna konsangvina obitelj ne pokazuje vezivanje za 22qtel regiju, a u njihove dvoje oboljele djece nije nađena mutacija MLC1 gena. Stoga, ova bolest može biti uvjetovana i mutacijom gena različitih lokusa. To svakako čini molekularnu dijagnostiku ove bolesti vrlo složenom i vjerojatno još neriješenom, a ujedno upućuje na genetičku heterogenost ove bolesti (21). Identifikacija MLC 1 gena omogućuje prenatalnu dijagnostiku u obitelji s jednim ili više oboljele djece (21).

MLC1 gen ima 12 eksona koji kodiraju transmembranski protein zasada nepoznate funkcije, ali se pretpostavlja je je riječ o transportnom proteinu (21). Taj protein je izražen u mozgu, leukocitima i slezeni. Unatoč velikoj kliničkoj i morfološkoj heterogenost ove bolesti, nije uočena u djece s identificiranim genskom mutacijom korelacija genotipa i fenotipa (van der Knaap 2001 usmeno priopćenje). Najnoviji naziv ove bolesti je "Megalencefalna leukoencefalopatija sa subkortikalnim cistama" (MLC) koji uključuje vrlo bitan dijagnostički kriterij megalencefalije (21).

Normo-mikrocefalična leukoencefalopatija sa subkortikalnim cistama

Ollivier i Gärtner (1998.) su opisali još jedan entitet normo-mikrocefalične HD leukoencefalopatije sa temporalnim cistama koja se ne samo po morfološkim, nego i po kliničkim karakteristikama bitno razlikuje od MCL (22, 23). Osim temporalnih cista ova leukodistrofija pokazuje multifokalne promjene bijele tvari mozga, više u subkortikalno. Do sada je opisano 7 bolesnika, troje iz obitelji s krvnim srodstvom, od kojih su dvoje brat i sestra, što upućuje na autosomno recesivan način nasljeđivanja. Preostale 4 djece su pojedinačni slučajevi oboljele djece u obitelji. Sva djeca od rane dojenačke dobi pokazuju teže usporen psihomotorni razvoj, sa razvojem spastičnosti i epileptičkih napadaja. Biokemijski testovi specifični za NME u sve djece su negativni, a 1H MRS ne pokazuje karakterističan nalaz. Jedan naš bolesnik ispunjava dijagnostičke kriterije ove bolesti, i uključen je zajedno s ostalim članovima obitelji u pretraživanje genoma linkage analizom u cilju pronalazjenja gena za ovu bolest (23).

Alexanderova bolest

Alexanderova bolest je rijetka leukodistrofija koja se očituje makrocefalijom, konvulzijama, intelektualnim propadanjem i progresivnom spastičnošću (24). Klinički se očituje u većini slučajeva u prvim godinama života, ali je moguć početak i u odrasloj dobi (25). Infantilni tip ove bolesti završava ranim smrtnim ishodom, nekoliko godina nakon početka simptoma (1, 25). Dijagnoza se postavlja na temelju kliničke slike progresivnog tijeka i višestrukih neuroloških poremećaja te razvoja makrokranije tijekom ranog djetinjstva (25). Nalaz CT i MRI mozga pokazuje opsežnu leukoencefalopatiju, pretežno frontalno i periventrikularno uz nakupljanje kontrasta u ranom stadiju bolesti (26). Konačna potvrda dijagnoze postavlja se na temelju patohistološkog nalaza biopsije (autopsije) mozga, koja osim opsežne demijelinizacije pokazuje i tipična "Rosenthalova" vlakna (26). Ta vlakna su nakupine "*heat shock proteina*" među kojima se posebno ističe

"glial fibrillary acid protein" (GFAP) koji se nalazi u citoplazmi astrocita (24). Aleksandrova bolest se najčešće javlja sporadično, ali su opisani slučajevi više oboljele djece u istoj obitelji, što upućuje na autosomno recesivan način nasljeđivanja, no još je donedavno genetičko porijeklo ove bolesti bilo proturijedno (25).

Godine 1998. Messing i suradnici uzgojili su transgenične miševe koji su posjedovali kopije humanog GFAP gena (27). Klinička slika oboljelih životinja bila je u ovisnosti o razini ekspresije GFAP transgena. Neuropatološki nalaz je pokazao hipertrofične astrocite sa inkluzijama koje su bile slične Rosenthalovim vlaknima. To upućuje da prekomjerna ekspresija humanog GFAP transgena dovodi do stvaranja Rosenthalovih vlakana, jer je poremećen mehanizam regulacije stvaranja GFAP, što rezultira njihovom prekomjernom produkcijom. Nakon toga, ista skupina istraživača potvrdila je da mutacija humanog GFAP gena na 17q21 lokusu može uzrokovati Alexanderovu bolest (28). Ispitivana je skupina 11 bolesnika sa Aleksanderovom bolešću potvrđenom patohistološkim nalazom i heterozigotna mutacija GFAP gena je nađena u 10, ali ni u jednog roditelja oboljele djece, što pokazuje da većina slučajeva Alexanderove bolesti je genetički uvjetovana, zbog *de novo* nastale dominantne mutacije GFAP gena (28). Postoji mogućnost da Aleksanderovu bolest uzrokuju i mutacije drugih gena. Identifikacija mutacije u GFAP genu je izuzetno važna jer potvrđuje da je Alexanderova bolest primarno genetički uvjetovana bolest astrocita (28). Za bolesnike sa sumnjom na Alexanderovu bolest analiza mutacije GFAP gena pruža mogućnost neinvazivne potvrde dijagnoze umjesto do sada obvezne patohistološke analize biopsije mozga, kao i mogućnost prenatalne dijagnostike u obiteljima s već jednim zahvaćenim djetetom. GFAP mutacija je jednostavna i brza dijagnostička pretraga u dijagnostici infantile Alexanderove bolesti, ukoliko klinički i paraklinički (frontalna leukoencefalopatija na MRI, CT) simptomi upućuju na tu bolest. U našeg bolesnika s s patohistološkom analizom mozga potvrđenim infantilnim tipom Alexanderovom bolesti, (zasada jedini u Hrvatskoj), če-

kamo potvrdu dijagnoze i na molekularnoj razini (28).

Još uvijek relativno mali postotak HDE uspijevamo uklopiti u neki od postojećih ili novo opisanih entiteta. Stoga u svakog djeteta gdje smatramo na temelju progresivne kliničke slike i višestrukog neurološkog poremećaja ili pak zastupljenosti slične bolesti u obitelji da je riječ o HDE, izoliramo i pohranjujemo DNA bolesnika i svih članova obitelji zbog analize genoma DNA linkage analizom ukoliko ta bolest postane naknadno definirana. Potrebno je uzeti kulturu fibroblasta kože, koja se može zamrznuta također godinama pohraniti i poslužiti za gensku i enzimsku analizu u trenutku kada bolest djeteta ispuni dijagnostičke kriterije određenog entiteta HDE.

U zaključku možemo reći da suvremeni pristup HDE zahtijeva timski rad u dijagnostici, liječenju i praćenju bolesnika i omogućuje postavljanje etioške dijagnoze u bolesti u kojih smo prije liječili samo simptome (neuromotorni poremećaj, epilepsija, mentalna retardacija i sl.).

Napredak u molekularnoj dijagnostici pojedinih HDE, identifikacija gena, funkcije gena i patogeneze bolesti otvorit će u skorom vremenu mogućnost provođenje specifične terapije oboljelog djeteta. U sve većeg broja HDE, identifikacija mutiranog gena u oboljelog djeteta omogućuje prenatalnu dijagnostiku bolesti u zahvaćenoj obitelji. Dijagnostika HDE, napose na razini složenih tehnoloških metoda zahtijeva ali i omogućuje stručnu i znanstvenu međunarodnu suradnju.

LITERATURA

- Aicardi J. Heredodegenerative disorders. In: Aicardi J, Bax M, Gillberg C, Ogler H. (Eds.) Diseases of the nervous system in childhood. 2nd Edition. Cambridge: Mc Keith Press, 1998; 323-69.
- Mejaški-Bošnjak V. Nasljedne degenerativne bolesti SZS U: Zergollern i sur. Medicinska genetika, Školska knjiga, 1994; 189-211.
- Aicardi J. The inherited leukodystrophies: a clinical overview. J. Inherit. Metab Dis 1993; 16: 733-43.
- Kohlschütter A. Neuroradiological and neurophysiological indices for neurometabolic disorders. Eur J Pediatr 1994; 153 (Suppl. 1): 90-3.
- Kaye EM. Update on genetic disorders affecting white matter. Pediatr Neurol 2001; 24: 11-24.
- van der Knaap MS. Leukoencephalopathies in children-how to attack the problem? Europ J Ped Neurol 2001; 5: A37.
- Frahm J, Hanefeld F. Localized proton magnetic resonance spectroscopy of cerebral metabolites. Neuropediatrics 1996; 27: 64-9.
- Frahm J, Hanefeld F. Localized proton magnetic resonance spectroscopy of brain disorders in childhood. In: Magnetic Resonance Spectroscopy and Imaging in Neurochemistry, Advances in Neurochemistry, Vol 8, Bachelard, Plenum Press, New York, 1997; 329-402.
- Pouwels PJW, Brockmann K, Kruse B, Wilken B, Wick M, Hanefeld F, Frahm J. Regional age dependence of human brain metabolites from infancy to adulthood as detected by quantitative localized proton MRS. Pediatr Research 1999; 46 (4): 474-85.
- Stöckler S, Holzbach U, Hanefeld F, Frahm J. Creatine deficiency in the brain: a new treatable inborn error of metabolism. Ped. Res. 1994; 36: 409-13
- Hanefeld F, Holzbach U, Kruse B, Wilichowski E, Christen HJ, Frahm J. Diffuse white matter disease in three children: an encephalopathy with unique features on magnetic resonance imaging and proton magnetic resonance spectroscopy. Neuropediatrics 1993; 24: 244-8.
- van der Knaap MS, Barth PG, Gabreëls FJM, Franzoni E, Begeer JH, Stroink H, Rottevel JJ, Valk J. A new leukoencephalopathy with vanishing white matter. Neurology 1997; 48: 845-55.
- Leegwater PAJ, Sandkuijl, Nadiu S, Pronk JC., van der Knaap MS. Chromosomal location of vanishing white matter. Europ J Paed Neur 1999; 3034.
- van der Knaap MS, Barth PG, Stroink H, van Nieuwenhuizen O, Arts WF, Hoogenraad F, Valk J. Leukoencephalopathy with swelling and discrepantly mild clinical course in eight children. Ann Neurol 1995; 37: 324-34.
- van der Knaap MS, Barth PG, Vrensen GFJM, Valk J. Histopathology of an infantile-onset spongiform leukoencephalopathy with a discrepantly mild clinical course. Acta Neuropediatr 1996; 92: 206-12.
- Bešenski N, Bošnjak V, Cop S, Pavić D, Mikulić D, Oršolić K. Neuroimaging and clinically distinctive features in van der Knaap megalencephalic leukoencephalopathy. In J Neuroradiol 1997; 3: 244-9.
- Singal BS, Gursahani RD, Udani VP, Biniwale AA. Megalencephalic leukodystrophy in an Asian Indian ethnic group. Pediatr Neurol 1996; 14: 291-6.
- Mejaški-Bošnjak V, Bešenski N, Brockmann K, Powels PJ, Frahm J, Hanefeld FA. Cystic leukoencephalopathy in a megalencephalic child: clinical and magnetic resonance ima-

- ging/magnetic resonance spectroscopy findings. *Pediatr Neurol* 1997; 16: 347-50.
19. Mejaški-Bošnjak V, Bešenski N. Megaloencephalic leukoencephalopathy: a further case of a new neurodegenerative white matter disease. *Dev Med Child Neurol* 1997; 39: 561-3.
 20. Topçu M, Gartiaux C, Ribierre F, Yalçinkaya C, Tokus E, Öztekin N, Beckmann J, Ozguc M, Seboun E. Vacuoliting megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts, mapped to chromosome 22q_{tel}. *Am J Hum Genet* 2000; 66: 733-9.
 21. Leegwater AJ, Yuan BQ, van der Steen J, Mulders J, Konst AAM, Boor PKI, Mejaški-Bošnjak V, van der Maarel SM, Frants RR, Oudejans CBM, Schutgens RBH, Pronk JC, van der Knaap MS. Mutations of MLC1 (K1AA0027), encoding a putative membrane protein, cause megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 831-8.
 22. Ollivier M, Lenard HG, Aksu F, Gärtner J. A new leukoencephalopathy with bilateral anterior temporal lobe cysts. *Neuropediatrics* 1998; 29: 225-8.
 23. Gärtner J, Kohlschütter. Cystic leukoencephalopathy without megalencephaly. *Europ J Child Neurol* 2001; 5: A38.
 24. Pridmore CL, Baraiser M, Harding B, Boyd SG, Kendall B, Brett EM. Alexander's disease: Clues to diagnosis. *J. Child Neurol* 1993; 8: 134-44.
 25. Springer S, Erlewein R, Naegele T. Alexander's disease classification revisited and isolation of a neonatal form. *Neuropediatrics* 2000; 31: 86-92.
 26. Arend AO, Leary PM, Rutherford GS. Alexander's disease: a case report with brain biopsy: ultrasound, CT MRI findings. *Clin Neuropathol* 1991; 10: 122-6.
 27. Messing A, Head MW, Galles K et al. Fatal encephalopathy with astrocyte inclusions in GFAP transgenic mice. *Am J Pathol* 1998; 152: 391-8.
 28. Brenner M, Johnson AB, Boespflug-Tanguy O et al. Mutations in GFAP, encoding glial fibrillary acidic protein, are associated with Alexander disease. *Nature Genet* 2001; 27: 117-20.
 29. Lujčić L, Mejaški-Bošnjak V, Pažanin L, Marušić-Della Marina B, Duplančić R, Đuranović V, Čačić M, Huzjan R. Alexander's disease - a case report. *Neurologia Croatica* 2000; 49: 1-2, 65-75.

Summary

UP-DATE IN DIAGNOSTIC OF HEREDODEGENERATIVE ENCEPHALOPATHIES

V. Mejaški-Bošnjak

Heredodegenerative encephalopathies (HDE) are considered to be "rare diseases", but as a group they increasingly participate in morbidity and mortality of the children. This fact can be explained by increased interest for these disorders, improved diagnostics and therapeutic trials. Diagnostic of HDE relies on clinical features, progressive course of disease and multiple neurological impairment of the child. Laboratory diagnostics of HDE include negative findings of specific biochemical tests for inherited metabolic encephalopathies, as well as variety of neurophysiologic neuroimaging procedures. Localized proton magnetic resonance spectroscopy of the brain (1H MRS) permits the analysis of brain metabolites, providing the insight to the stage of disease and main underlying pathological process e.g. (degeneration of neuro-axonal unit, demyelination, defect of brain energy metabolism, gliosis etc.). Based on unique findings of brain 1H MRS, increasing number of HDE were defined recently: "Creatine deficiency in the brain: A new treatable inborn error of metabolism." (Stöckler et al. 1994), "Myelinopathia centralis diffusa"- "Vanishing white matter" (Hanefeld et al. 1993, van der Knaap et al 1997). Another two entities of HDE are determined by using clinical and morphological MRI criteria i.e. "Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts"- MLC (van der Knaap et al 1995) and "Normo-microcephalic leukoencephalopathy with temporal cysts" (Ollivier, Gärtner, 1998). Recent discovery of MLC1 gene in patients with MLC and GFAP in patients with Alexander disease permits the diagnosis of these HDE on molecular level, including prenatal diagnosis.

Descriptors: HEREDODEGENERATIVE ENCEPHALOPATHIES; BRAIN MR IMAGING; MR SPECTROSCOPY; CYSTIC LEUKOENCEPHALOPATHIES; ALEXANDER'S DISEASE; MOLECULAR DIAGNOSTIC