

LIZOSOMSKE BOLESTI NAKUPLJANJA - SUVREMENA DIJAGNOSTIKA I NOVE MOGUĆNOSTI LIJEČENJA

KSENIJA FUMIĆ¹, IVO BARIĆ², MIRANDO MRSIĆ³, MILJENKA MARADIN¹

Lizosomske bolesti nakupljanja čini skupina od više od 45 nasljednih metaboličkih bolesti nastalih kao posljedica nemogućnosti razgradnje različitih makromolekula u lizosomima. Klinička slika izrazito je heterogena, što znatno otežava njihovo prepoznavanje. Zbog pojedinačne rijetke učestalosti i isključivo simptomatskog liječenja, ta skupina nasljednih metaboličkih bolesti bila je dugo na margini interesa. U posljednjih 10 godina nova saznanja o biokemijskoj osnovi poremećaja dovela su do razvoja novih metoda liječenja, a od posebnog interesa je mogućnost enzimske nadomjesne terapije. Rano postavljanje dijagnoze bitan je preduvjet uspješnosti svakog terapijskog pristupa. U radu je opisan dijagnostički pristup i najnovije mogućnosti liječenja lizosomskih bolesti nakupljanja.

Deskriptori: LIZOSOMSKE BOLESTI NAKUPLJANJA, DIJAGNOSTIČKA STRATEGIJA, MOGUĆNOSTI LIJEČENJA

UVOD

Prvi klinički opis lizosomske bolesti nakupljanja poznat je u literaturi već od 1881. godine kada je oftalmolog Warren Tay opisao dječaka sa gangliozidozom, no trebalo je proći dosta vremena da se objasni biokemijska pozadina te skupine bolesti. Tome je najviše doprinjelo otkriće ultracentrifuge i elektronskog mikroskopa te De Duveov opis organele lizosoma u stanici. Lizosomi su organele u kojima se u kiselom okruženju obavlja najveći dio razgradnje složenih molekula. Za te procese odgovorni su hidrolitički enzimi (glikozidaze, sulfataze, proteaze i esteraze) uz odgovarajuće aktivacijske i transportne proteine. Enzimi postupno razgrađuju supstrate do produkata koji su u mogućnosti proći kroz lizosomsku membranu (pasivno difuzijom ili

pomoću specifičnih transportera) te se u citoplazmi uključiti u razne metaboličke puteve. Kod lizosomskih bolesti nakupljanja nedostaje ili je značajno snižena aktivnost nekog od tih proteina, što za posljedicu ima nakupljanje nerazgrađenog supstrata u organeli, oštećenje stanice i okolnog tkiva. Taj osnovni patofiziološki mehanizam kao i izraz "lizosomske bolesti nakupljanja" prvi je opisao Hers 1965. godine u članku o nedostatku lizosomskog enzima α -glukozidaze kao uzroku Pompeove bolesti (1).

Značajan napredak u laboratorijskoj dijagnostici te skupine nasljednih bolesti omogućili su pokusi Elizabeth Neufeld 1968. godine na staničnim kulturama kožnih fibroblasta bolesnika s mukopolisaharidozom tip I i tip II (2). Otkriće lizosomskih enzima kao "korektivnih čimbenika biokemijskih poremećaja" u hranilištu kultiviranih fibroblasta takvih bolesnika, omogućilo je uvođenje laboratorijskih metoda za njihovo postnatalno i prenatalno mjerenje.

U periodu od 1980. do 1990. godine pročišćena je većina lizosomskih proteina i otkriveni su geni odgovorni za pojedine bolesti nakupljanja. Posljednjih deset godina najveći doprinos daljnjem

razumijevanju te skupine bolesti bilo je otkriće manoza-6-fosfatnih receptora i mehanizma posttranslacijskog procesiranja lizosomskih enzima. Ta su saznanja bila ključna za početak enzimske nadomjesne terapije što je ujedno doprinjelo i znatno većem interesu kliničara i farmaceutske industrije za te nasljedne metaboličke bolesti.

Do sada je poznato više od 45 lizosomskih bolesti nakupljanja čija se zajednička učestalost procjenjuje na oko jedan slučaj u 7500 živorođene djece. Neke od njih imaju izrazito visoku učestalost u pojedinim etničkim skupinama (Gaucherova bolest 1 na 855; Tay-Sachsova bolest 1 na 3900 živorođene djece u Aškenazi Židova) (3). U općoj populaciji najveću učestalost od 1 na 60000 do 120000 živorođenih imaju Gaucherova bolest, Fabryeva bolest i mukopolisaharidoza tip I (4). Njihova uobičajena podjela uglavnom se temelji na strukturi nakupljenog supstrata: mukopolisaharidoze, sfingolipidoze, lipidoze, oligosaharidoze, mukolipidoze, glikogenoze, neuronalne ceroidne lipofuscinoze i poremećaji prijenosa.

¹ Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku

² Klinika za pedijatriju

³ Klinika za unutarnje bolesti

Klinički bolnički centar Zagreb
Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Ksenija Fumić

Klinički bolnički centar Zagreb

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

10000 Zagreb Kišpatićeva 12

E-mail: Ksenija.Fumic@zg.hinet.hr

KLINIČKO PREPOZNAVANJE

Sve lizosomske bolesti nakupljanja karakterizira progresivan klinički tijek. Brzina progresije razlikuje se ovisno o bolesti i individualnim čimbenicima svakog bolesnika. Klinički simptomi mogu se očitovati kao somatske promjene (hepatosplenomegalija, promjene na kostima, zglobovima, očima, facijalna dismorfija, respiratorni i srčani problemi i dr.) i/ili neurološke promjene (mentalne retardacije, epilepsije i dr.).

Klinička slika lizosomskih bolesti nakupljanja izrazito je heterogena i može se pojaviti u svakom životnom razdoblju, a svaka od ovih bolesti klinički može varirati od sasvim blagih oblika do teške kliničke slike. Pri tome uz vrstu mutacije odgovarajućeg gena i različitih utjecaja iz okoliša, najvažniju ulogu ima preostala katalitička aktivnost zahvaćenog enzima. Conzelmann i Sandhoff postavili su kinetički model koji objašnjava "kritičnu točku" pri kojoj preostala katalitička aktivnost enzima nije više dovoljna za razgradnju pristiglog supstrata i kada u stanici počinje proces nakupljanja (5). Ta kritična točka i stupanj nakupljanja razlikuju se ovisno o vrsti stanica, njihovom razvojnom stadiju, te o ulazu supstrata u lizosom. Zato i izrazito male razlike u preostaloj katalitičkoj aktivnosti enzima mogu značajno utjecati na vrijeme pojave prvih kliničkih simptoma i znakova, odnosno tijek bolesti.

U Tablici 1. uz svaku bolest navedeni su samo najučestaliji osnovni klinički simptomi.

Važno je naglasiti da od navedenih primjera ima mnogo odstupanja i da klinička slika većine lizosomskih bolesti nakupljanja može jako varirati ovisno o prije navedenim čimbenicima.

Zato je je uputno svaku kliničku sumnju provjeriti odgovarajućom specijalističkom obradom (neurološkom, oftalmološkom, radiološkom i sl.) i započeti laboratorijsku dijagnostiku.

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA

Značajni pokazatelji osnovnih laboratorijskih testova uz dijagnostičke

pretrage i testove potvrde navedeni su uz svaku lizosomsku bolest nakupljanja (Tablica 1.). Za laboratorijsku dijagnostiku potrebno je poslati odgovarajuće biološke uzorke u laboratorij koji se bavi dijagnostikom nasljednih metaboličkih bolesti. Uz biološki materijal treba priložiti osnovne podatke o anamnezi i statusu bolesnika. Ti podaci neophodni su za racionalan pristup laboratorijskoj dijagnostici, utječu na izbor pretraga tijekom dijagnostike kao i na završno tumačenje dobivenih nalaza.

U početku laboratorijske dijagnostike od pomoći mogu biti nalazi dobiveni u biokemijskom, hematološkom i histološkom laboratoriju. Tako naprimjer vakuole odnosno granulacije u citoplazmi leukocita periferne krvi upućuju na mukopolisaharidoze, oligosaharidoze i mukolipidoze, trombocitopenija upućuje na Gaucherovu bolest a karakteristične stanice u punktatu koštane srži, jetre ili slezene upućuju na sfingolipidoze.

Dijagnostička obrada najčešće započinje analizom glikozaminoglikana (mukopolisaharida) i oligosaharida u urinu. Za izbor daljnjih dijagnostičkih postupaka bitno je ispravno tumačenje dobivenih nalaza koje ovisi o nizu čimbenika. U Tablici 2. navedeni su primjeri najčešćih pogrešaka pri dijagnostičkim pretragama kao i preporuke za njihovo ispravljanje.

Takvim pristupom laboratorijskoj dijagnostici znatno se sužuje izbor testova potvrde neophodnih za postavljanje konačne dijagnoze. To je značajno zbog toga što je iz 8 mL krvi vađene na antikoagulans (otopina visokomolekularnog dekstrana i heparina ili EDTA) moguće izolirati ograničenu količinu leukocita koja je dostatna za mjerenje katalitičkih aktivnosti samo nekoliko lizosomskih hidrolaza. Tako primjerice, ako su izmjerene povišene koncentracije glikozaminoglikana u urinu, a oni se razdvajaju na hondroitin- sulfat, heparan- sulfat i dermatan- sulfat, daljnja dijagnostika uključuje mjerenje katalitičkih aktivnosti samo sljedeća tri enzima: alfa- iduronidaze, iduronid- sulfataze i arilsulfataze B.

Mjerenje većine katalitičkih aktivnosti lizosomskih enzima moguće je uz visokospecifične 4- metilumbeliferonske supstrate. Radioaktivno obilježeni prirodni supstrati (sulfatidi, glukozilceramidi) još uvijek su potrebni za procjenu aktivnosti niskomolekularnih aktivacijskih proteina (GM2-aktivacijski protein, sfingolipidni aktivacijski protein i sl.) u staničnim kulturama fibroblasta. Homogenat leukocita je najčešći biološki materijal koji se rabi za provođenje testova potvrde. No u nekim slučajevima je stanična kultura fibroblasta neophodna za potvrdu dijagnoze (Tablica 1).

ODNOS FENOTIPA I GENOTIPA

Nakon postavljanja konačne dijagnoze mjerenjem katalitičke aktivnosti enzima, velik je izazov predviđanje daljnjeg kliničkog tijeka bolesti. To je u nekim bolestima značajno za izbor vremena uvođenja odgovarajuće terapije. Iako je poznavanje genotipa novootkrivenog bolesnika važno za testiranje eventualnih nositelja u obitelji i posebice za ranu prenatalnu dijagnostiku, samo u rijetkim slučajevima sa sigurnošću može upućivati na daljnji tijek bolesti. Primjer za to je nalaz mutacije N370S u bolesnika s Gaucherovom bolesti koja upućuje da bolesnik neće imati neurološke simptome.

Osim toga, učinak neke mutacije na enzimsku aktivnost može biti znatno izmjenjen utjecajem nasljednih i okolišnih čimbenika. To potvrđuju primjeri bitno različitog tijeka bolesti u blizanaca s istim genotipom neke bolesti (8). Zato se smatra da je pažljivo kliničko praćenje bolesnika još uvijek najpouzdaniji čimbenik u predviđanju tijeka većine lizosomskih bolesti nakupljanja.

MOGUĆNOSTI LIJEČENJA

Liječenje lizosomskih bolesti nakupljanja dugo je vremena bilo isključivo simptomatsko. Zadovoljavajući rezultati postignuti su u liječenju cistinoze cisteaminom koji omogućuje suzbijanje daljnjeg taloženja i eliminaciju već nataloženog cistina u stanicama (10). Kauzalni pristup terapiji lizosomskih bolesti nakupljanja može se

temeljiti na dva osnovna principa: zamjeni mutacijom izmjenjenog proteina katalitički aktivnim enzimom (transplantacija koštane srži, enzimska nadomjesna terapija, terapija genima) ili na smanjenju sinteze supstrata u lizosomima (niskomolekularni inhibitori sinteze glukoziltransferaza).

Godine 1980. izvedena je prva uspješna transplantacija koštane srži u bolesnika s lizosomskom bolesti nakupljanja. Od tada je u nekoliko specijaliziranih centara u svijetu pokušao takav način terapije u bolesnika s različitim bolestima iz te skupine. Preko 20 godina iskustva na tom području pokazalo je da uspješnost ovisi o nizu čimbenika, a najvažnije je da se zahvat izvede dovoljno rano i prije početka neuroloških simptoma. Nakon transplantacije koštane srži, tkivni makrofazi odgovarajućeg donora u periodu od oko 6 mjeseci do 2 godine savladaju krvno moždanu barijeru i kao mikroglija stanice unutar centralnog nervnog sistema počinju stvarati dovoljnu količinu katalitički aktivnih lizosomskih enzima. Do sada je najviše uspješnih transplantacija provedeno u bolesnika s mukopolisaharidozom tip I, Gaucherovom bolesti tip I i III, Krabbeovom bolesti i metakromatskom leukodistrofijom. Transplantacija koštane srži nije dala zadovoljavajuće rezultate u bolesnika s GM1 gangliozidozom, Pompeovom bolesti, Niemann-Pickovom bolesti tip C, mukopolisaharidozama tipa II, III i IV (11).

Nove nade u terapiji donijelo je 1991. godine uvođenje agluceraze (modificirani oblik enzima beta glukocerebrozidaze iz posteljice čovjeka) u liječenje Gaucherove bolesti tip I. Metodama molekularne biotehnologije ubrzo je proizveden i rekombinantni oblik enzima-imigluceraza (CerezymeTM). Od tada se takvim načinom u svijetu liječi preko 3000 bolesnika (12). Uspješnost enzimske nadomjesne terapije Gaucherove bolesti otvorila je mogućnosti takvog pristupa liječenju i u drugih lizosomskih bolesti nakupljanja. Do sada je takva terapija odobrena za liječenje Pompeove bolesti, Fabryeve bolesti i mukopolisaharidoze tip I (13,14). U tijeku su različite faze

kliničkih studija za mukopolisaharidoze tip II, tip VI, i Niemann Pickove bolesti tip B.

Iako enzimska zamjenska terapija značajno poboljšava kvalitetu života liječenih bolesnika, nije idealan oblik liječenja. Uz visoku cijenu priprema, isključivo intravensko davanje (do četiri puta mjesečno), te mogućnost stvaranja protutijela i umjereno djelovanje na kosti, osnovni nedostatak je nemogućnost prolaza tako priređenog enzima kroz krvno moždanu barijeru. Zato se takav oblik terapije preporuča u bolesnika koji još nemaju neuroloških simptoma.

U Kliničkom zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta sveučilišta u Zagrebu od 1994. godine potvrđena je dijagnoza u 65 bolesnika s nekom od lizosomskih bolesti nakupljanja. Za sada enzimsku zamjensku terapiju prima 12 bolesnika: troje djece s mukopolisaharidozom tip I, osmero bolesnika s Gaucherovom bolesti tip I i jedan bolesnik s Fabryevom bolesti.

Posljednjih godina istraživanja su usmjerena i prema pokušajima smanjenja sinteze supstrata koji enzim treba razgraditi. Dosadašnji rezultati na životinjskim modelima pokazali su da takav pristup terapiji daje dobre rezultate posebice kod glikosfingolipidoza (Gaucherova bolest tip I, GM2 gangliozidoza, Niemann Pickova bolest tip C). Na smanjenje sinteze glikosfingolipida može se utjecati pomoću spojeva kao što su L-cikloserin, N-butildeoksinojirimicin i N-butildeoksigalaktonojirimicin (OGT-918) (15). Njihovo djelovanje temelji se na inhibiciji glukoziltransferaze, enzima neophodnog za sintezu glikosfingolipida. Prednost takvog pristupa je u mogućnosti oralne terapije i prolaza kroz krvno moždanu barijeru. Kako su glikosfingolipidi neophodni u nizu metaboličkih procesa, potrebna su opsežna predklinička ispitivanja prije same primjene. Za sada su u tijeku kliničke studije u bolesnika s Gaucherovom bolesti tip I i Fabryeve bolesti. Dosadašnji rezultati ukazuju da bi optimalan izbor terapije mogao biti kombinacija enzimske zamjenske terapije i inhibitora OGT-918.

Krvno moždana barijera i dalje ostaje veliki izazov u liječenju neurološki zahvaćenih bolesnika. Mogućnost ciljne genske terapije pomoću virusnih vektora koji se uvode direktno u mozak pokazala je u miševa s mukopolisaharidozom tip VII iznenađujuće dobre rezultate. U neurološki teško zahvaćenih životinja došlo je do razgradnje nakupljenog supstrata i potpunog oporavka (16). Traganje za optimalnim vektorima i održavanje ekspresije unešenog gena, osnovni su problemi genske terapije. U tijeku su pokusi na raznim životinjskim modelima koji bi trebali omogućiti i kliničku primjenu takvog oblika liječenja. Za sada je u tijeku samo klinička studija genske terapije Gaucherove bolesti tip I.

Razvoj novih terapijskih mogućnosti utječe i na promjenu dijagnostičke strategije lizosomskih bolesti nakupljanja. Rano otkrivanje lizosomskih bolesti nakupljanja koje se temelji na mjerenju lizosomskih membranskih proteina (LAMP1 i LAMP2) uz saponine pokazalo je do sada najbolje rezultate. Njihovo određivanje temelji se na činjenici da se u lizosomskih bolesti nakupljanja značajno poveća broj i veličina organele lizosoma, a proporcionalno tome i membranski proteini. Preliminarni programi sustavnog novorođenačkog traganja iz suhe kapi krvi na filter papiru pokazali su zadovoljavajuće rezultate (17). No uvrstanje lizosomskih bolesti nakupljanja u programe primarnog traganja otvara i niz još nerješanih etičkih dvojbi.

Unatoč značajnom napretku terapije, obitelji bolesnika s lizosomskim bolestima nakupljanja dnevno su suočene s nizom specifičnih problema vezanih uz kliničke simptome bolesnika. Zato su u većini zemalja osnovana društva koja okupljaju bolesnike, članove njihove uže obitelji i stručnjake raznih specijalnosti koji sudjeluju u dijagnostici i terapiji. I u Hrvatskoj od 2002. godine djeluje takvo društvo. Budući da je do sada je u organeli lizosomu poznato 60 enzima, za očekivati je da će razvoj novih tehnologija omogućiti i otkrivanje novih bolesti. Zato i dalje lizosomske bolesti

nakupljanja ostaju izazov moderne medicine.

Tablica 1.

Lizosomske bolesti nakupljanja uz najizrazitije i najčešće osobitosti kliničke slike, promjene osnovnih metaboličkih testova, dijagnostičke pretrage i testove potvrde

Table 1

Lysosomal storage disease: the most pronounced and the most frequent peculiarities of clinical picture; changes in basic metabolic tests; diagnostic and conformation tests

Bolest OMIM	Nataložena supstanca/ Najizrazitije i najčešće osobitosti kliničke slike/ Značajni pokazatelji osnovnih laboratorijskih pretraga	Dijagnostičke pretrage	Testovi potvrde
GM1 gangliozidoze 230500	GM1-gangliozidi/ ovisi o tipu: rani i kasni infantilni i adultni oblik; zaostatak u psihomotornom razvoju, hepatosplenomegalija	U-oligosaharidi	Lkc, FB-β-galaktozidaza
GM2-gangliozidoze 272800 Tay-Sachs	GM2-gangliozidi/ prejaka reakcija na zvuk, psihomotorno propadanje, konvulzije, slabljenje vida, makrocefalija, u fundusu pjega boje višnje		Lkc, FB - β-heksozaminidaza A
GM2-gangliozidoza AB varijanta 272750			FB- GM2-aktivacijski protein
GM2-gangliozidoza Sandhoff 268800	GM2-gangliozidi/ kao prethodne gangliozidoze uz čestu hepatosplenomegaliju		Lkc, FB - β-heksozaminidaza A i B
Fabryjeva bolest 301500 (X-vezana bolest)	<i>Globozidi u dječaka:</i> akroparestezije, angiokeratomi, zamućenje rožnice i leće <i>Globozidi u odrasloj dobi:</i> promjene na krvnim žilama: poremećaji bubrega, srca, cerebrovaskularne smetnje žene heterozigoti mogu imati blaže simptome!		Lkc, FB - α-galaktozidaza A
Gaucherova bolest tip 1-230800 tip 2-230900 tip 3-231000	Glukozilceramid/ tijekom bolesti ovisi o tipu: <i>tip 1</i> -ne-neuropatski, hepatosplenomegalija, koštane promjene <i>tipovi 2 i 3</i> - neurološko propadanje, hepatosplenomegalija, K-trombocitopenija	U-oligosaharidi S-hitotriozidaza <i>koštana srž</i> -u razmazu karakteristične stanice	Lkc, FB -glukocerebrozidaza
Metakromatska leukodistrofija 250100	Sulfatidi/ tijek bolesti ovisi o tipu (<i>infantilni, juvenilni i adultni</i>); leukodistrofija, tetrapareza	U-sulfatidi	Lkc, FB -arilsulfataza A
Krabeova bolest 245200	Galaktocerebrozid/ leukodistrofija, spasticitet, gluhoća, sljepoća	CST- proteini ↑	Lkc, FB -galaktozil ceramidaza
Niemann-Pickova bolest tipa A i B 257200	Sfingomijelin/ <i>tip A:</i> hepatosplenomegalija, infiltracija pluća, psihomotorno propadanje, gluhoća <i>tip B:</i> blaži tijek, rijetko blagi neurološki simptomi	<i>koštana srž</i> -u razmazu karakteristične stanice	Lkc, FB - kisela sfingomijelinaza
Niemann-Pickova bolest tip C 257200	Neesterificirani kolesterol/ ovisno o početku bolesti; najčešći početak simptoma u <i>dječjoj dobi</i> : neurološki simptomi, epilepsija, supranuklearna vertikalna paraliza bulbomotora, spastičnost	FB - Test filipinskog bojenja	FB - Poremećaj esterifikacije egzogenog kolesterola
Farberova bolest 228000	Ceramid/ gubitak sluha, otečeni zglobovi, čvorići na koži, psihomotorno propadanje		Lkc, FB - kisela ceramidaza
Wolmanova bolest 278000	Kolesterol esteri/ proljevi, povraćanja, steatoreja, hepatosplenomegalija, rentgenski vidljivi kalcifikati nadbubrežnih žlijezda		Lkc, FB - kisela lipaza

Tablica 1.

Lizosomske bolesti nakupljanja uz najizrazitije i najčešće osobitosti kliničke slike, promjene osnovnih metaboličkih testova, dijagnostičke pretrage i testove potvrde

Table 1

Lysosomal storage disease: the most pronounced and the most frequent peculiarities of clinical picture; changes in basic metabolic tests; diagnostic and conformation tests

Bolest OMIM	Nataložena supstanca/ Najizrazitije i najčešće osobitosti kliničke slike/ Značajni pokazatelji osnovnih laboratorijskih pretraga	Dijagnostičke pretrage	Testovi potvrde
MPS IH Hurler 252800	Heparan sulfat Dermatan sulfat/ Psihomotorno propadanje, grube crte lica, ukočeni zglobovi, zamućenje rožnice, deformacije kostura, nizak rast, hepatomegalija, hernija	K-pregled krvnog razmaza: vakuole u limfocitima U-glikozaminoglikani (kvalitativno i kvantitativno)	Lkc, FB - α -L-iduronidaza
MPS IS Scheie 252800	Heparan sulfat Dermatan sulfat/ kao MPS IH, ali blaži tijek; normalna inteligencija		Lkc, FB - α -L-iduronidaza
MPS IH/s Hurler-Scheie 252800	Heparan sulfat Dermatan sulfat/ između MPS I i MPS IS		Lkc, FB - α -L-iduronidaza
MPS II Hunter 309900	Heparan sulfat Dermatan sulfat/ slično kao MPS IH, ali bez zamućenja rožnice; mentalna retardacija		Lkc, FB - Iduronat-2-sulfataza
MPS IIIA Sanfilippo A 252900	Heparan sulfat/ blagi somatski simptomi; progresivno psihomotorno propadanje nakon 3. godine (govor, motorika, autoagresivnost, spastična tetrapareza)	U-glikozaminoglikani (kvalitativno i kvantitativno)	Lkc, FB - Heparan-N-sulfataza
MPS IIIB Sanfilippo B 252920	Heparan sulfat/ kao MPS III A		Lkc, FB, α -N-acetilglukozaminidaza
MPS III C Sanfilippo C 252930	Heparan sulfat/ kao MPS III A		Lkc, FB, - Acetil-CoA- lukozaminilacetil transferaza
MPS III D Sanfilippo D 252940	Heparan sulfat/ kao MPS III A		Lkc, FB - N-acetilglukozamin- -sulfataza
MPS IV A Morquio A 253000	Keratan sulfat/ normalna inteligencija, nizak rast, teške promjene kostura		Lkc, FB - N-acetilgalakto amin6-sulfataza
MPS IV B Morquio B 253010	Keratan sulfat/ kao MPS IVA ali blaži		Lkc, FB - β -galaktozidaza
MPS VI Maroteaux-Lamy 253200	Dermatan sulfat, heparan sulfat/ normalna inteligencija, koštane promjene, zamućenje rožnice, nizak rast		Lkc, FB - Arilsulfataza B
MPS VII Sly 253220	Dermatan sulfat Heparan sulfat Hondroitin sulfat/ normalna inteligencija, ostalo slično kao MPS IH		Lkc, FB - β -glukuronidaza
MPS IX Natowicz 601492	Hondroitin sulfat Hijaluronan/ normalna inteligencija; varijabilan tijek		Lkc, FB - Hijaluronidaza
α -Manozidoza 248500	Manoza Oligosaharidi/ slično MPS IH	K-pregled krvnog razmaza: vakuole u limfocitima U-oligosaharidi	Lkc, FB - α -Manozidaza
β -Manozidoza 248510	Manoza Oligosaharidi/ slično MPS IH; angiokeratomi		Lkc, FB - β -Manozidaza

Tablica 1.

Lizosomske bolesti nakupljanja uz najizrazitije i najčešće osobitosti kliničke slike, promjene osnovnih metaboličkih testova, dijagnostičke pretrage i testove potvrde

Table 1

Lysosomal storage disease: the most pronounced and the most frequent peculiarities of clinical picture; changes in basic metabolic tests; diagnostic and conformation tests

Bolest OMIM	Nataložena supstanca/ Najizrazitije i najčešće osobitosti kliničke slike/ Značajni pokazatelji osnovnih laboratorijskih pretraga	Dijagnostičke pretrage	Testovi potvrde
Fukozidoza 2300000	Fukozil oligosaharidi/ slično MPS IH		Lkc, FB - α -L-Fukozidaza
Aspartilglukozaminurija 208400	Aspartilglukozamini/ slično MPS IH, poremećaj govora		Lkc, FB, N-aspartil- β -glukozaminidaza
Sijalidoza Mukolipidoza I 256550	Sijaliloligosaharidi/ slično MPS IH <i>tipa I:</i> mioklone konvulzije, abnormalni hod, suženo vidno polje <i>tipa II:</i> varijabilan, promjene kostura		FB - α -neuraminidaza
Galaktosijalidoza 256540	Sijaliloligosaharidi/ slično MPS IH		FB - Lizosomski zaštitni protein (katepsin A)
Schindlerova bolest 104170	Oligosaharidi/ progresivni zastoj u psihomotornom razvoju		Lkc, FB, α -N-acetilgalaktozaminidaza
Mukolipidoza II Bolest I-stanica 252500	Heparan sulfat/ slično MPS IH	U-oligosaharidi S-katalitičke aktivnosti nekoliko lizosomskih hidrolaza \uparrow	FB, N-acetilglukozamin-1-fosfo- transferaza
Mukolipidoza III Pseudo-Hurler polidistrofija 252600	Heparan sulfat/ slično MPS IH no blaži tijek	U-oligosaharidi S-katalitičke aktivnosti nekoliko lizosomskih hidrolaza \uparrow	FB, N-acetilglukozamin-1-fosfo- transferaza
Cistinoza Infantilna nefropatska 219800 Adolescentna nefropatska 219900 Benigna ne-nefropatska 219750 (Poremećaj prijenosnog proteina cistina)	<i>varijabilan tijek i simptomi ovisno o tipu:</i> retinopatija, fotofobija, rahitis, disfunkcija proksimalnih tubula bubrega, slabo pigmentirana koža, svjetla kosa i oči, odlaganje kristala u rožnicu/ U-proteini, fosfati, kalcij, AK, glukoza \uparrow S, P- kalij, natrij, fosfati, karnitin \downarrow	punktat koštane srži, limfnog čvora, slezene ili bubrega - kristali cistina	Lkc, FB, Slobodan unutarstanični cistin
Nakupljanje sijalinske kiseline, Salla bolest - Finski oblik 604369	<i>prvi simptomi nakon 6 mjeseci:</i> hipotonija, ataksija, zastoj u psihomotornom razvoju, epilepsija, spastična tetraplegija	U - sijalinska kiselina	FB - Sijalin
Infantilni oblik nakupljanja sijalinske kiseline 604322 (Poremećaj proteina prijenosnika sijalinske kiseline)	<i>simptomi odmah nakon rođenja:</i> grube crte lica, deformacija kostura, epilepsija, kardiomegalija, hepatosplenomegalija	U - sijalinska kiselina	FB - Sijalin
Višestruki nedostatak sulfataza 272200	progresivan zastoj psihomotornog razvoja	U-glikozaminoglikani (kvanitativno i kvalitativno)	FB - Nedostatak barem 12 sulfataza
Mukolipidoza IV 252560	Ganglioziidi, Hijaluronska kiselina/ zastoj u razvoju, zamućenje rožnice	FB - autofluorescencija lipidina u fibroblastima	FB-Mukolipidin
Prosapozinoza 176801	progresivan zastoj psihomotornog razvoja		FB - Sapozini A, B, C i D
Piknodizostoza 601105	progresivan zastoj psihomotornog razvoja		FB - Katepsin K

Tablica 1.

Lizosomske bolesti nakupljanja uz najizrazitije i najčešće osobitosti kliničke slike, promjene osnovnih metaboličkih testova, dijagnostičke pretrage i testove potvrde

Table 1

Lysosomal storage disease: the most pronounced and the most frequent peculiarities of clinical picture; changes in basic metabolic tests; diagnostic and conformation tests

Bolest OMIM	Nataložena supstanca/ Najizrazitije i najčešće osobitosti kliničke slike/ Značajni pokazatelji osnovnih laboratorijskih pretraga	Dijagnostičke pretrage	Testovi potvrde
Juvenilna neuronska ceroidna lipofuscinoza, Battenova bolest CLN3-204200	Lipofuscini/ neurološki simptomi u predškolskoj dobi ili kasnije, ponekad izolirani pigmentozni retinitis, sljepoća između 10-12 godine		FB - Batenin
Infantilna neuronska ceroidna lipofuscinoza CLN1-600722	Lipofuscini / progresivna neurometabolička bolest, smrt u prvim godinama života		FB - Palmitoil-protein tioesteraza
Kasna infantilna ceroidna lipofuscinoza LINCL, CLN2 204500	Lipofuscini/ klinički tijek ovisi o varijanti: Finska CLN5, Turska CLN7, Mediteranska CLN6		FB - tripeptid-peptidaza
Glikogenoza tipa II Pompeova bolest 232300	<i>infantilni oblik:</i> kardiomegalija, hipotonija, hepatomegalija, povećan jezik <i>juvenilni/adultni oblik:</i> hipotonija i slabost mišića, ponekad ateroskleroza	U - oligosaharidi	FB - α -glukozidaza

OMIM: odgovarajući broj kataloga monogeniski nasljednih bolesti (*engl. Online Mendelian inheritance in Man*); \uparrow : povišeno; \downarrow : sniženo; U: urin; Lkc: leukociti; FB: kultura kožnih fibroblasta; K: krv; S: serum; CST: cerebrospinalna tekućina; AK: aminokiseline

Tablica 2.
Primjeri najčešćih pogrešaka u tumačenju nalaza mukopolisaharida i oligosaharida

Table 2
The most frequent errors in interpretation of mucopolysaccharide and oligosaccharide results

Primjer	Moguće pogreške	Objašnjenje	Preporuke
U laboratorij je poslan slučajan uzorak urina sa sumnjom na MPS	graničan ili negativan nalaz	GAG se ne izlučuju u urin ravnomjerno tijekom dana !	Za laboratorijsku dijagnostiku MPS slati isključivo 24-satni urin (oko 10 ml) Za analizu oligosaharida dovoljna je porcija urina
Uzorak 24-satnog urina na sobnoj temperaturi putovao dva dana do laboratorija	nespecifičan nalaz	GAG i oligosaharidi su sastavljeni od šećera i stoga podložni bakterijskoj razgradnji !	Uzorke slati zamrznute na -20°C koristiti brzu poštu!
U laboratorij poslan uzorak 24-satnog urina bez popratnih podataka o bolesniku	Nalaz: 15 mg/g kreatinina (DMB-Tris metoda**) 35 mg glukuronske kiseline/g kreatinina (Karbazol metoda*) Nalaz bez popratnog komentara	Izlučivanje GAG u urinu smanjuje se sa dobi! Ove vrijednosti su unutar eferentnog raspona za dijete od 4 godine, a patološke za dijete od 7 godina Referentni rasponi mogu se ovisno o metodi razlikovati između laboratorija!	Uz uzorak 24-satnog urina u laboratorij treba uputiti i popratni obrazac s osnovnim podacima o bolesniku i liječniku.
Laboratorij raspolaže samo test trakicama za GAG (pretraživanje)	negativan nalaz	Test trakice su nespecifične, podložne raznim interferencijama i daju lažno pozitivne i lažno negativne nalaze !	Dijagnoza se ne smije temeljiti na rezultatima dobivenim test trakicama ili papirićima!
Laboratorij je u mogućnosti izmjeriti GAG kvantitativno samo Karbazol metodom	Nalaz: 5 mg glukuronske kiseline/g kreatinina Referentni raspon <20 Mišljenje: Koncentracija GAG je u granicama referentnih raspona za dob.	Keratan sulfat nema u strukturi glukuronsku kiselinu i zato ne reagira s karbazolom! Napomena: Bolesnica ima MPS tip IV! 28 mg/g kreatinina Referentni raspon < 8 (DMB-Tris metoda)	Laboratorij mora imati mogućnost potpune dijagnostike GAG koja podrazumijeva primjenu obih metoda (Karbazol i DMB-Tris), te kvalitativno razdvajanje GAG
Laboratorij je u mogućnosti provesti samo kvantitativno mjerenje GAG	Nalaz: 168 mg/g kreatinina (Karbazol metoda) Mišljenje: Koncentracija GAG znatno iznad gornje granice za dob	Povišeni GAG mogu se izmjeriti i u urinu nekih bolesnika koji nemaju MPS: mioklona epilepsija reumatoidni artritis maligne bolesti cistična fibroza i dr.	MPS dijagnostika: Uz povišene vrijednosti glikozaminoglikana potrebno je i njihovo kvalitativno razdvajanje (dermatan sulfat, heparan sulfat, hondroitin sulfat, keratan sulfat) Potpuni nalaz podrazumjeva i komentar tako dobivenih vrijednosti!

* Karbazol metoda, referentna metoda; **DMB-Tris, metoda s dimetilen plavilom; GAG, glikozaminoglikani; MPS, mukopolisaharidi

LITERATURA

1. Hers HG. Inborn Lysosomal diseases. Gastroenterology 1965; 48: 625-33.
2. Fratantoni JC, Hall CW, Neufeld EF. Hurler and Hunter syndromes: mutual correction of the defect in cultured fibroblasts. Science 1968; 162: 570-2.
3. Meikle PJ, Hopwood JJ. Lysosomal storage disorders: Prevalence and newborn screening. Gaucher Clin Perspect 2000; 8: 1-5.
4. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. The metabolic and molecular basis of inherited diseases. 8. izd. New York:McGraw-Hill, 2001.
5. Conzelmann E, Sandhoff K. Partial enzyme deficiencies: Residual activities and the development of neurological disorders. Dev Neurosci 1983; 6: 58-66.
6. Blau N, Duran M, Blaskovics M, ur. Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases. Chapman&Hall Medical, London, 2003.
7. Barić I. Nasljedne metaboličke bolesti. U: Mardešić D i sur. Pedijatrija. Školska knjiga. Zagreb, 2003.
8. Wenger DA, Rafi MA, Luzi P, Datto J, Constantino-Ceccarini E. Krabbe disease: genetic aspects and progress toward therapy. Mol Genet Metab. 2000; 70: 1-9.
9. Gieselmann V, Fluharty AL, Tonnesen T, Von Figura K. Mutations in the arylsulfatase A pseudodeficiency allele causing metachromatic leukodystrophy. Am J Hum Genet 1991; 49: 407-13.
10. Gahl WA, Reed GF, Thoene JG. Cysteamine therapy for children with nephropathic cystinosis. N Engl J Med 1987; 316: 971-7.
11. Krivit W, Aubourg P, Shapiro E, Peters C. Bone marrow transplantation for globoid cell leukodystrophy, adrenoleukodystrophy, metachromatic leukodystrophy, and Hurler syndrome. Curr Opin Hematol 1999; 6: 377-82.
12. Barton NW, Brady RO, Murray GJ. Enzyme replacement therapy for Gaucher disease. N Engl J Med 1991; 325: 1811.
13. Kakkis ED, Muenzer J, Tiller GE. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis I. N Engl J Med 2001; 344: 182-8.
14. Schiffmann R, Kopp JB, Austin HA. Enzyme replacement therapy in Fabry disease: a randomized controlled trial. JAMA 2001; 285: 2743-9.
15. Andersson U, Butters TD, Dwek RA, Platt FM. N-butyldeoxygalactonojirimycin: a more selective inhibitor of glycosphingolipid biosynthesis than N-butyldeoxynojirimycin, in vitro and in vivo. Biochem Pharmacol 2000; 59: 821-829.
16. Bosch A, Perret E, Desmaris N, Trono D, Heard JM. Reversal of pathology in the entire brain of mucopolysaccharidosis type VII mice after lentivirus-mediated gene transfer. Hum Gene Ther 2000; 11: 1139-50.
17. Meikle PJ, Hopwood JJ. Lysosomal storage disorders: emerging therapeutic options require early diagnosis. Eur J Pediatr 2003; Suppl 1: 34-7.

Summary

LYSOSOMAL STORAGE DISEASES - CURRENT DIAGNOSIS AND NEW THERAPY

K. Fumić, I. Barić, M. Mrsić, M. Maradin

Lysosomal storage diseases are a group of more than 45 hereditary metabolic diseases that occur due to impossibility of degradation of macromolecules in lysosomes. Clinical data are remarkably heterogeneous, rendering the diagnosis of these diseases considerably difficult. Due to low frequency of individual disorders and exclusively symptomatic therapy, this group of hereditary metabolic disorders was considered rather insignificant for long time. During the last 10 years, new information on biochemical basis of disorders have led to the development of new therapy methods, with particularly interesting possibility of enzyme substitution therapy. Early diagnosis is a prerequisite of efficacy of any therapeutic approach. Diagnostic strategy and the most recent possibilities of therapy lysosomal storage diseases are described in this study.

Descriptors: LYSOSOMAL STORAGE DISORDERS, DIAGNOSTIC STRATEGY, THERAPY POSSIBILITIES