

Novosti u dijagnostici i liječenju Hunterovog sindroma

Ljubica Boban*

Mukopolisaharidoza tip II., (Hunterov sindrom, OMIM309900) nasljedni je poremećaj uzrokovan nedostatkom enzima iduronat 2-sulfataze. Nedostatak ovog enzima dovodi do nakupljanja glikozaminoglikana (GAG) u tkivima lokomotornog sustava, visceralnih organa i središnjeg živčanog sustava, uzrokujući njihovo progresivno oštećenje. Dijagnostika poremećaja temelji se na ranom prepoznavanju kliničkih znakova, a potvrda dijagnoze ostvaruje se nalazom snižene enzimске aktivnosti iduronat 2- sulfataze. Zahvaljujući unapređenju dijagnostičkih tehnika, omogućeno je brzo određivanje enzimске aktivnosti, što se može primjenjivati za probir bolesnika. Zasad je enzimsko nadomjesno liječenje jedina dokazana učinkovita metoda liječenja. Njena primjena dovodi do poboljšanja kakvoće života, smanjenja visceromegalije i urinarnog izlučivanja GAG-ova. Budući da enzim ne prolazi krvno-moždanu barijeru, enzimsko nadomjesno liječenje nema učinak na središnji živčani sustav. Opisuju se i prvi ohrabrujući rezultati liječenja matičnim stanicama te pokušaji liječenja redukcijom supstrata koji zahtijevaju daljnja istraživanja.

Cljučne riječi: mukopolisaharidoza II

UVOD

Mukopolisaharidoze su nasljedne metaboličke bolesti koje nastaju zbog nedostatne aktivnosti lizosomskih enzima koji razgrađuju molekule glikozaminoglikana (GAG). GAG-ovi su sastavni dio stanica različitih organa, čine okosnicu ekstracelularnog matriksa i vezivnih tkiva, sudjeluju u staničnom rastu i diferencijaciji, međustaničnim interakcijama i angiogenezi (1). Na molekularnoj razini GAG-ovi se sastoje od ponavljajućih disaharidnih jedinica bogatih sulfatnim skupinama čiji se polimeri kovalentno vežu na proteine, oblikujući proteoglikanske strukture. Suvišak GAG-ova u organizmu izlučuje se urinom. Dosad je opisano 11 kliničkih entiteta uzrokovanih nedostatkom enzima koji razgrađuju GAG-ove.

Mukopolisaharidoza tip II. ili Hunterov sindrom (OMIM 309900) X- vezani je nasljedni poremećaj uzrokovan nedostatkom lizosomskog enzima iduronat 2-sulfataze. Nedostatak ovog enzima dovodi do nakupljanja dermatan sulfata i heparan sulfata u lizosomima dišnog i mišićno-koštanog sustava, jetre, slezene, srca te središnjeg živčanog sustava (2). Nakupljanje dermatan sulfata i heparan sulfata u lizosomima različitim mehanizmima dovodi do progresivnog oštećenja stanica i višestrukog oštećenja organa (2). U literaturi se najčešće navode dvije fenotipske manifestacije bolesti: tip II.A, teški oblik bolesti kod kojeg postoji opsežno

zahvaćanje središnjeg živčanog sustava i tip II.B, blagi oblik u kojem središnji živčani sustav nije bitno zahvaćen.

Prevalencija Hunterovog sindroma iznosi od 1:65 000 do 1:165 000 muške djece (2). Budući da se bolest nasljeđuje X-vezano recesivno, u pravilu oboljevaju muška djeca. No Hunterov sindrom opisan je i kod ženske djece zbog nenasmične inaktivacije ili monosomije X kromosoma (3).

Klinička slika Hunterovog sindroma pokazuje naglašenu varijabilnost u težini zahvaćanja pojedinih organskih sustava. Iako su prvi simptomi i znakovi bolesti vidljivi već u dobi od 18 mjeseci, prosječna dob postavljanja dijagnoze je 4 godine i 8 mjeseci, pri čemu bolest najranije prepoznaju pedijatri i ortopedi (2). Makrocefalija, makroglosija i karakteristične dizmorfične crte lica, koje uključuju sinofris, naglašene frontalne tubere, uleknut korijen nosa, mogu biti različito izraženi. Kod većine oboljelih dominira zahvaćanje dišnog sustava koje se manifestira kroničnim rinitisom, čestim upa-

* Klinika za pedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, 10000 Zagreb

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Ljubica Boban, Klinika za pedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, 10000 Zagreb, e-mail: ljubica.odak7@gmail.com

Primljeno/Received: 26. 3. 2015., Prihvaćeno/Accepted: 28. 5. 2015.

lama uha, gubitkom sluha, znakovima opstrukcije gornjeg dišnog sustava i čestim respiratornim infekcijama (2). Opstrukcija gornjeg dišnog sustava, koja nastaje zbog nakupljanja GAG-ova u sluznicama, i cervikalna nestabilnost mogu uzrokovati poteškoće intubacije/ekstubacije za vrijeme kirurških zahvata. Zahvaćanje kardiovaskularnog sustava manifestira se kao valvularna bolest, a kod oboljelih je prisutna i ubrzana ateroskleroza, koja povećava rizik za razvoj ishemijske bolesti srca (4). Zbog nakupljanja GAG-ova u stanicama jetre i slezene već od rane dobi uočava se hepatosplenomegalija. Umbilikalna i ingvinalna hernija nastaju zbog slabosti vezivnoga tkiva (5). Koštane promjene u početku se zamjećuju kao ukočenost zglobova i ograničenje opsega pokreta. S vremenom se razvijaju deformacije kralježaka, kratke, široke i zašiljene metakarpalne kosti, te kratke i hipoplastične distalne falange. Ove promjene u literaturi označavaju se pojmom *dysostosis multiplex* (5). Tjelesni rast oboljele djece u pravilu nije poremećen do 3. ili 4. godine života, no s razvojem promjena na kralješcima i udovima dolazi do smanjenja rasta (6). Intelektualne poteškoće prisutne su u 2/3 oboljelih i variraju od blagih promjena u ponašanju i spoznajnom funkcioniranju do teškog razvojnog zaostajanja i poremećaja ponašanja. Komunicirajući hidrocefalus, konvulzije, kompresivni sindromi kralježničke moždine i sindrom karpalnog kanala najčešće su neurološke manifestacije (5). Simptomi i znakovi bolesti prisutni u prvim godinama života koji predstavljaju „znakove za uzbu“ su: grube crte lica, učestale infekcije dišnog sustava, kronična sekrecija iz nosa, znaci opstrukcije gornjeg dišnog sustava (hrkanje), česte upale uha i oštećenje sluha, šum na srcu, umbilikalna i ingvinalna hernija, vodenasti proljevi, ukočenost zglobova te razvojno zaostajanje različitog stupnja. Istodobna prisutnost nekoliko navedenih simptoma i znakova upućuje na povećanu vjerojatnost da osoba boluje od Hunterovog sindroma (7).

DIJAGNOSTIKA HUNTEROVOG SINDROMA

Nakon uzimanja detaljne osobne anamneze, analize obiteljskog stabla, kliničkog pregleda, evaluacije pojedinih organskih sustava i postavljanja kliničke sumnje na mukopolisaharidozu, pristupa se biokemijskoj obradi uzoraka krvi i urina (7, 8). Početna biokemijska obrada uključuje kvantitativnu i kvalitativnu analizu GAG-ova u urinu. Kvantitativno određivanje GAG-ova moguće je provoditi semikvantitativnim metodama (Berry *spot test*, Amesov test) ili kvantitativnim metodama (karbazolna reakcija, *dimetilen blue test*) (7, 8). Rezultati dobiveni ovim metodama ovise o koncentriranosti urina, bolesnikovoj dobi, dnevnim varijacijama u izlučivanju GAG-ova, pa mogu dati lažno pozitivne i lažno negativne rezultate. Povišen nalaz GAG-ova nađe se i kod

malignih bolesti, cistične fibroze, sistemskog lupusa, reumatoidnog artritisa, stoga njihov povišeni nalaz uvijek treba tumačiti u kontekstu kliničke slike (9). Kvalitativna analiza GAG-ova može se provoditi tehnikom tankoslojne kromatografije ili elektroforetskom metodom (8, 10). Ove metode nisu visokoosjetljive i specifične, stoga nerijetko treba učiniti tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (11). Ovom složenom metodom moguće je precizno detektirati sve tipove GAG-ova. Kvalitativno određivanje GAG-ova moguće je provesti i imunoenzijskom metodom ELISA (engl. *enzyme-linked immunosorbent assay*). Iako je riječ o brznoj i pouzdanoj metodi, ona se zbog visoke cijene troškova rjeđe primjenjuje.

U slučaju da biokemijskom obradom ne nalazimo kvantitativna ni kvalitativna odstupanja u razini GAG-ova, a klinička slika upućuje na bolest nakupljanja, preporuča se ponoviti određivanje GAG-ova iz triju uzoraka jutarnjeg urina (7).

Ako rezultati kvantitativne ili kvalitativne analize pokazuju povišene razine dermatan sulfata i heparan sulfata, indicirano je određivanje enzijske aktivnosti iduronat 2- sulfataze. Aktivnost enzima iduronat 2- sulfataze moguće je odrediti iz leukocita, seruma, plazme i fibroblasta.

Nakon utvrđivanja snižene aktivnosti iduronat 2- sulfataze potrebno je isključiti višestruki nedostatak sulfataza. Izolirani nedostatak iduronat 2- sulfataze, uz urednu aktivnost ostalih sulfataza, potvrđuje dijagnozu Hunterovog sindroma. Razina aktivnosti iduronat 2- sulfataze nije pretkazatelj težine kliničke slike kod oboljelih, što upućuje na mogućnost da je klinička slika dijelom uvjetovana i drugim čimbenicima.

Genska analiza omogućuje određivanje specifične patološke varijacije, te testiranje pojedinih članova obitelji kako bi se omogućila točna genetička informacija. U literaturi je opisano više od 340 patoloških varijacija gena za iduronat 2- sulfatazu, *IDS*. Najčešće su točkaste mutacije i u manjoj mjeri preraspodjele koje zahvaćaju različit broj nukleotida (12). Genska analiza je složena i uključuje sekvenciranje te prema potrebi dodatne analize koje bi utvrdile postojanje velikih delecija/duplikacija ili preraspodjela koje uključuju pseudogen *IDS-2*. Korelaciju između genotipa i fenotipa teško je utvrditi iz nekoliko razloga. Prvo, u obiteljima s istom mutacijom uočena je različita klinička ekspresija bolesti. Drugo, za pojedine mutacije nije sigurno je li riječ o patogenim varijantama ili polimorfizmima, stoga je određivanje enzijske aktivnosti zlatni standard za postavljanje dijagnoze. Smatra se da su velike delecije i složena preslaganja gena odgovorna za teži fenotip. U novijim istraživanjima opisani su oboljeli kod kojih je samo mali segment složene alteracije gena *IDS* odgovoran za težu fenotipsku ekspresiju bolesti, dok preostali dio genske promjene ne pridonosi fenotipu (13).

Prenatalna i preimplantacijska dijagnostika

Prenatalna dijagnoza Hunterovog sindroma u obiteljima s povećanim rizikom provodi se amniocentezom i biopsijom korionskih resica, pri čemu je moguće odrediti razinu enzimске aktivnosti i specifičnu mutaciju (14). U novije vrijeme preimplantacijskom genetičkom dijagnozom moguće je identificirati zahvaćenu spolnu stanicu prije oplodnje i implantacije u uterus (15).

Novije dijagnostičke metode

Metoda tandemске spektrometrije masa omogućuje brzu detekciju velikog broja metabolita koji sudjeluju u različitim enzimskim procesima, pa tako i u razgradnji GAG-ova (16). Ovom metodom identificiraju se metaboliti za 80-ak bolesti. Kombinacijom tankoslojne kromatografije i tandemске spektrometrije masa (LC-MS/MS- *liquid chromatography tandem mass spectrometry*) moguće je određivanje disaharidnih jedinica različitih vrsta GAG-ova (dermatan sulfata, keratan sulfata, heparan sulfata i hondroitin sulfata) iz urina, krvi i tkiva (17). Ova metoda daje mogućnost određivanja metabolita svih podtipova mukopolisaharidoza iz jednog uzorka. Određivanje GAG-ova ovom metodom može poslužiti i za praćenje njihove koncentracije u urinu za vrijeme primjene enzimskog nadomjesnog liječenja (17,18). Nedostatak spomenute metode je slabija osjetljivost u detekciji oboljelih s blagim fenotipom i vrijeme trajanja pretrage (≥ 4 min), zbog čega metoda nije pogodna za analizu većeg broja uzoraka (17). Kombinacija kromatografije visoke djelotvornosti i visokoautomatizirane tandemске spektrometrije masa (HT-MS/MS- *high throughput tandem mass spectrometry*) omogućuje kvantifikaciju GAG-ova u urinu i krvi za svega nekoliko sekundi (19). Osjetljivost i specifičnost ove metode gotovo je jednaka prethodno opisanoj (LC-MS/MS). Ovom metodom nije moguće razlikovati molekule iste molekularne mase, pa ova metoda nije primjenjiva za analizu svih GAG-ova (19, 20).

Primjenom eseja sa sintetskim supstratima pomoću tandemске spektrometrije masa moguće je odrediti razinu enzimске aktivnosti iz uzoraka suhe kapi krvi. Ova se mogućnost nastojala iskoristiti u procesu novorođenačkog probira na mukopolisaharidoze. Dosadašnja ispitivanja tandemске spektrometrije masa pokazala su njenu učinkovitost u identifikaciji oboljelih na malim uzorcima novorođenčadi (< 100 ispitanika) (21, 22).

Analiza enzimске aktivnosti iz suhe kapi krvi moguća je i fluorometrijskom metodom. Nedavna istraživanja fluorometrijske metode na većim uzorcima (više od 1000 novorođenčadi) utvrdila su da je ova metoda pogodna za probir na Hunterov sindrom zbog brze izvodljivosti i prihvatljive

stope lažno pozitivnih/negativnih nalaza (23). Ograničenje ove metode je visoka cijena troškova njene primjene.

Određivanje enzimске aktivnosti iduronat 2- sulfataze iz leukocita, plazme ili fibroblasta kože zlatni su standard za dijagnostiku Hunterovog sindroma. Enzimska aktivnost u leukocitima osjetljiva je na vanjske utjecaje (rukovanja prilikom dostave uzorka), a kultura fibroblasta zahtijeva biopsiju kože i vremenski je dugotrajan postupak. Enzimsku aktivnost iduronat 2-sulfataze moguće je određivati i iz suhe kapi krvi, što je znatno brže, zahtijeva male volumene krvi, koji ujedno mogu poslužiti i za molekularnu potvrdu dijagnoze. Rezultate dobivene ovom metodom svakako je potrebno provjeriti određivanjem enzimске aktivnosti standardnim postupcima. Spomenuta metoda može poslužiti kao metoda probira u područjima koja nemaju dostupnu kompletnu laboratorijsku dijagnostiku (24).

LIJEČENJE HUNTEROVOG SINDROMA

Imajući u vidu da Hunterov sindrom zahvaća mnoge organe i sustave, nužno je multidisciplinsko praćenje bolesnika i liječenje uočenih komplikacija. Ono uključuje tonzilektomiju i adenoidektomiju, ordiniranje slušnog pomagala, kirurško liječenje preponske kile, sindroma karpalnog tunela, hipertenzivnog hidrocefalusa te zamjenu valvula i kuka. Bolesnike je prijeko potrebno uključiti u odgovarajući fizikalni rehabilitacijski program kao i u odgovarajuće programe poticanja sveobuhvatnog razvoja.

Od metoda liječenja koje nam zasad stoje na raspolaganju dosad najviše rezultata pokazuje enzimsko nadomjesno liječenje.

Enzimsko nadomjesno liječenje

Enzimsko nadomjesno liječenje enzimom dobivenim tehnikom rekombinantnog DNA-a primjenjuje se već dulje vrijeme u Europi i Americi (25). Cilj ovog oblika liječenja je nadoknada enzima koji nedostaje u stanicama pojedinih tkiva i organa. Nažalost, enzim ne prolazi krvno-moždanu barijeru te ne dolazi u stanice središnjeg živčanog sustava. Protokol liječenja zahtijeva intravensku primjenu enzima jedan put na tjedan u dozi od 0,5 mg/kg. Dosadašnji rezultati primjene enzimskog nadomjesnog liječenja pokazali su da kod oboljelih dolazi do pada razine GAG-ova u urinu, smanjenja organomegalije te poboljšanje fizičke kondicije, što se očituje u boljim rezultatima izvedbe 6-minutnog testa hoda (25). Ispitivanja utjecaja na tjelesni rast pokazala su varijabilan učinak, ovisno o vremenu kad je započeto liječenje. Oboljeli kod kojih je liječenje započeto prije razvoja opsežnih promjena kralježnice i udova imali su manji zastoj u rastu (26). Budući da enzim ne prodire kroz krvno-mož-

danu barijeru, nije utvrđen utjecaj na simptome središnjega živčanog sustava. Iako liječenje ne utječe na središnji živčani sustav, ono kod svih pridonosi poboljšanju fizičke kondicije, pa ga je indicirano primijeniti i kod bolesnika s težom neurološkom simptomatologijom. Iznimka od navedenoga su oboljeli u vigilnoj komi, oni kod kojih se očekuje skora smrt, koji boluju od druge teške kronične/maligne bolesti kao i oni koji neredovito dolaze na liječenje (27). Odluku o uvođenju liječenja svakako donose liječnik i roditelji nakon detaljne analize korisnosti i mogućih štetnih učinaka ove metode liječenja. Učinci enzimskog nadomjesnog liječenja na osjet boli, sluh, imunogenost nisu poznati, što upućuje na potrebu daljnjeg praćenja.

Nuspojave enzimskog nadomjesnog liječenja ponajprije uključuju razvoj alergijskih reakcija, od blagih kožnih promjena do teških sistemskih reakcija tipa anafilaksije. Tijekom primjene lijeka kod dijela oboljelih razvijaju se i antitijela na enzim koja mogu, ali i ne moraju, imati alergogeni i neutralizirajući potencijal. Ukupno gledajući, životno ugrožavajuće alergijske reakcije kod oboljelih su rijetke (28).

Enzimsko nadomjesno liječenje moguće je primjenjivati i u kućnim uvjetima. Rezultati primjene lijeka u kućnim uvjetima pokazali su da ovaj način liječenja dovodi do poboljšanja suradljivosti obitelji i bolesnika, poboljšava kakvoću života oboljelog i smanjuje negativnu percepciju bolesti. Primjenom enzima u kućnim uvjetima smanjuju se i troškovi zdravstvenog sustava.

Dakako, preduvjet za liječenje u kućnim uvjetima je dobra educiranost roditelja o načinu primjene lijeka te ranom prepoznavanju nuspojava. Primjena enzima u kućnim uvjetima moguća je isključivo kod bolesnika kod kojih nisu zabilježene reakcije preosjetljivosti na lijek tijekom višemjesečne primjene lijeka u bolnici i kod kojih ne postoji teška opstruktivna plućna bolest.

Transplantacijske metode - liječenje hematopoetskim matičnim stanicama

Hematopoetske matične stanice imaju sposobnost samobnavljanja, proliferacije i diferencijacije u bilo koji tip stanice i postizanje njene funkcionalne zrelosti. Hematopoetske matične stanice primjenjuju se više od trideset godina u liječenju hematoloških malignih bolesti i nasljednih poremećaja hematopoeze. Pluripotentnost matičnih stanica iskorištena je i u liječenju nasljednih metaboličkih bolesti poput adrenoleukodistrofije, Krabbeove bolesti i metakromatske leukodistrofije (29). Temeljni mehanizam liječenja nasljednih metaboličkih bolesti matičnim stanicama je njihova sposobnost diferencijacije u stanicu koja je sposobna izlučivati nedostatni enzim. Za liječenje nasljednih

metaboličkih bolesti navedenom metodom potrebne su matične stanice HLA kompatibilnog srodnog davatelja. Kao izvor matičnih stanica može poslužiti periferna krv, koštana srž i pupkovina. Prije postupka transplantacije oboljeli se podvrgavaju agresivnom kemoterapijskom protokolu radi supresije imunološkog odgovora te antimikrobnoj profilaksi.

Pojedinačni opisi transplantacije koštane srži kod oboljelih od Hunterovog sindroma prisutni su u literaturi otprije dva desetaka godina. Među prvima opisan je dvogodišnji dječak kod kojega je primjena transplantacije koštane srži dovela do smanjenja organomegalije i izlučivanja GAG-ova u urinu te zaustavljanja neurološkog propadanja (30). Rezultati pak drugih autora upućivali su na progresivno neurološko propadanje bolesnika kod kojeg je primijenjena ova metoda liječenja (31). Retrospektivnim praćenjem osmero oboljele djece kojoj je transplantirana koštana srž utvrđen je povoljan učinak na serumsku aktivnost enzima iduronat 2-sulfataze, stabilizaciju kardiovaskularne bolesti, nestanak hepatosplenomegalije, smanjenje ukočenosti zglobova i smanjenje progresije slušnog oštećenja (32). Utjecaj na spoznajni razvoj bio je varijabilan. Kod djece s težim zaostajanjem došlo je do progresije duševnog propadanja, dok kod dvoje djece s blagim fenotipom nije došlo do daljnjeg intelektualnog oštećenja.

Transplantacija matičnih stanica iz pupkovine opisana je 2000. godine kod 10-mjesečnog dječaka (33). Bila je riječ o dojenčetu urednog tjelesnog i neuromotornog razvoja s blagom hepatomegalijom. Nakon obavljene transplantacije matičnih stanica pupkovine došlo je do smanjenja jetre, normalizacije urinarnog izlučivanja GAG-ova uz porast aktivnosti iduronat 2-sulfataze. Rast i razvoj nakon transplantacije bili su uredni.

U liječenju Hunterovog sindroma transplantacija hematopoetskih matičnih stanica (HSCT- *haematopoetic stem cell transplantation*) nije standardna metoda liječenja, za razliku od drugih tipova mukopolisaharidoza poput mukopolisaharidoze tip 1 (Hurlerov sindrom) kod koje je to metoda izbora za djecu mlađu od dvije godine. Mali broj oboljelih od Hunterovog sindroma podvrgnut je transplantaciji hematopoetskih matičnih stanica. Smatra se da navedena metoda omogućuje trajno izlučivanje iduronat 2-sulfataze u stanice svih tkiva i organa u kojima se metaboliziraju GAG-ovi, uključujući i stanice središnjeg živčanog sustava. Tanaka i sur. analizirali su rezultate primjene HSCT-a kod 21-og oboljelog od Hunterovog sindroma u Japanu i uočili stabilizaciju promjena središnjeg živčanog sustava i smanjenje valvularne regurgitacije (34). Prema rezultatima ovog istraživanja HSCT je učinkovita metoda ako se primijeni u ranoj fazi bolesti, dok ne postoje ireverzibilna oštećenja organa. Patel i sur. utvrdili su i povoljan učinak na tjelesni rast

ako se liječenje primijeni u ranijoj fazi bolesti (35). Nedavno istraživanje utjecaja HSCT-a na obavljanje svakodnevnih aktivnosti oboljelih utvrdilo je da nakon primjene ove metode oboljeli pokazuju značajan napredak u obavljanju svakodnevnih aktivnosti (36).

Nedostatkom transplantacijskih metoda liječenja smatraju se povećan rizik smrtnosti zbog razvoja oportunističkih infekcija, akutne i kronične reakcije odbacivanja i imunosupresija. Visok rizik smrtnosti zabilježen je u samim počecima primjene ove metode, pri čemu je iznosio i do 25%. Napretkom tehnologije i početkom liječenja u mlađoj dobi, prije razvoja teže kliničke slike bolesti, u posljednjih 15 godina nije zabilježen smrtni ishod zbog primjene HSCT-a. Cijena liječenja transplantacijskom metodom je niža u odnosu na doživotno enzimsko nadomjesno liječenje. Zbog svoje složenosti transplantaciju je moguće obavljati samo u specijaliziranim centrima s visokoeduciranim i iskusnim osobljem. Trenutno je u tijeku nekoliko studija koje bi trebale dati odgovor na pitanja učinkovitosti primjene matičnih stanica u liječenju nasljednih metaboličkih bolesti (37).

Liječenje redukcijom supstrata

Liječenje redukcijom sinteze supstrata pokazalo se korisnom kod nekih nasljednih metaboličkih bolesti. Molekula genisteina iz skupine izoflavonoida smanjuje sintezu i pohranu GAG-ova u lizosomima. Ispitivanje primjene genisteina na animalnim modelima utvrđeno je značajno smanjenje izlučivanja GAG-ova u urinu kao i smanjenje njihove koncentracije u srcu, mozgu, jetri, slezeni i kostima (38). U liječenju mukopolisaharidoze tip III. utvrđeno je poboljšanje u ponašanju bolesnika. Pilot studija utvrdila je da primjena genisteina poboljšava status lokomotornog sustava kod oboljelih od Hunterovog sindroma (39), no potrebno je daljnje praćenje liječenih bolesnika, kako bi se utvrdio stvaran učinak genisteina na tijek bolesti u ovom obliku mukopolisaharidoze.

Nove mogućnosti liječenja

Zahvaljujući razvoju molekularne biologije i tehnika genetičkog inženjerstva, opisano je nekoliko potencijalnih metoda liječenja na animalnim modelima kojima je cilj omogućiti funkciju enzima iduronat-2 sulfataze u svim stanicama organizma, uključujući i središnji živčani sustav. Od pokušaja liječenja za izdvojiti su: intratekalna primjena enzima, vektorom posredovani transfer gena u stanice, primjena fuzijskog proteina koji sadrži iduronat-2 sulfatazu i transfer protein kojim je moguć prolaz krvno-moždane barijere te transplantacija autolognih prethodno genetički modificiranih matičnih stanica (29).

ZAKLJUČAK

Iako je ostvaren značajan napredak u dijagnostici i liječenju Hunterovog sindroma, i dalje dio djece ostaje neprepoznat i bez odgovarajuće skrbi. Rano uvođenje enzimskog nadomjesnog liječenja značajno pridonosi poboljšanju tjelesnog statusa oboljelih, dovodi do smanjenja visceromegalije i urinarnog izlučivanja GAG-ova. Transplantacija matičnih stanica pokazuje ohrabrujuće rezultate kod dijela bolesnika. Dosadašnje terapijske opcije zahtijevaju dodatna istraživanja radi optimizacije liječenja i skrbi o oboljelima te izradu smjernica koje bi omogućile pravodobnu dijagnostiku i liječenje ovog složenog poremećaja.

Kratice:

GAG – glikozaminoglikani
 ELISA – enzyme-linked immunosorbent assay
 LC-MS/MS – liquid chromatography tandem mass spectrometry
 HT-MS/MS – high-throughput mass spectrometry
 HSCT – hematopoietic stem cell transplantation

NOVČANA POTPORA/FUNDING

Nema/None

ETIČKO ODOBRENJE/ETHICAL APPROVAL

Nije potrebno/None

DOPRINOSI AUTORA/DECLARATION OF AUTHORSHIP

Svi autori jednako su doprinijeli izradi rada/*All authors have equally contributed to a manuscript writing*

SUKOB INTERESA/CONFLICT OF INTEREST

Autori su popunili *the Unified Competing Interest form* na www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (dostupno na zahtjev) obrazac i izjavljuju: nemaju potporu niti jedne organizacije za objavljeni rad; nemaju financijsku potporu niti jedne organizacije koja bi mogla imati interes za objavu ovog rada u posljednje 3 godine; nemaju drugih veza ili aktivnosti koje bi mogle utjecati na objavljeni rad./*All authors have completed the Unified Competing Interest form at www.icmje.org/coi_disclosure.pdf (available on request from the corresponding author) and declare: no support from any organization for the submitted work; no financial relationships with any organizations that might have an interest in the submitted work in the previous 3 years; no other relationships or activities that could appear to have influenced the submitted work.*

LITERATURA

1. Barišić Ingeborg. Mukopolisaharidoze - genska i fenotipska heterogenost. *Paed Cro* 2005;3;141-150.
2. Martin R, Beck M, Eng C, et al. Recognition and diagnosis of mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). *Pediatrics*. 2008;121:e377-86. <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2007-1350>
3. Guillén-Navarro E, Domingo-Jiménez MR, Alcalde-Martin C et al. Clinical manifestations in female carriers of mucopolysaccharidosis type II: a Spanish cross-sectional study. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:92. <http://dx.doi.org/10.1186/1750-1172-8-92>
4. Lee SH, Kim J, Choi JH, et al. Severe mitral stenosis secondary to Hunter's syndrome. *Circulation*. 2013;128:1269-70.
5. Cohn GM, Morin I, Whiteman DA, Hunter Outcome Survey Investigators. Development of a mnemonic screening tool for identifying subjects with Hunter syndrome. *Eur J Pediatr*. 2013;172:965-70. <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-013-1967-x>

6. Patel P, Suzuki Y, Maeda M, et al. Growth charts for patients with Hunter syndrome. *Mol Genet Metab Rep.* 2014;1:5-18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgmr.2013.10.001>
7. Burton BK, Giugliani R. Diagnosing Hunter syndrome in pediatric practice: practical considerations and common pitfalls. *Eur J Pediatr.* 2012;171:631-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-012-1703-y>
8. Dembure PP, Roesel RA. Screening for mucopolysaccharidoses by analysis of urinary glycosaminoglycans. In: Hommes FA, editor. *Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics - A Laboratory Manual.* New York: Wiley-Liss, Inc;1991. pp. 77-86.
9. Biçer I, Aksu K, Parildar Z, Tanyalçin T, Doğanavşargil E, Kutay FZ. Increased excretions of glycosaminoglycans and heparan sulfate in lupus nephritis and rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2003;23:221-5. <http://dx.doi.org/10.1007/s00296-003-0294-3>
10. Coppa GV, Buzzega D, Zampini L et al. Agarose-gel electrophoresis for the diagnosis of mucopolysaccharidoses. *Clin Chem Lab Med.* 2011;50:589-92.
11. Kinoshita A, Sugahara K. Microanalysis of glycosaminoglycan-derived oligosaccharides labeled with a fluorophore 2-aminobenzamide by high-performance liquid chromatography: Application to disaccharide composition analysis and exosequencing of oligosaccharides. *Anal. Biochem.* 1999; 269:367-378. <http://dx.doi.org/10.1006/abio.1999.4027>
12. Beck M, Wijburg FA, Gal A. Clinical utility gene card for: mucopolysaccharidosis type II. *Eur J Hum Genet.* 2012;20 <http://dx.doi.org/10.1038/ejhg.2011.143>
13. Zanetti A, Tomanin R, Rampazzo A, et al. A Hunter Patient with a Severe severe Phenotype phenotype Reveals reveals Two two Large large Deletions deletions and Two two Duplications duplications Extending extending 1.2 Mb Distally distally to IDS Locuslocus. *JIMD Rep.* 2014;17:13-21. http://dx.doi.org/10.1007/8904_2014_317
14. Keulemans JL, Sinigerska I, Garritsen VH, et al. Prenatal diagnosis of the Hunter syndrome and the introduction of a new fluorimetric enzyme assay. *Prenat Diagn.* 2002;22:1016-1021. <http://dx.doi.org/10.1002/pd.457>
15. Altarescu G, Renbaum P, Eldar-Geva T, et al. Preventing mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): PGD and establishing a Hunter (46, XX) stem cell line. *Prenat Diagn.* 2011;31:853-60. <http://dx.doi.org/10.1002/pd.2786>
16. Zhang H, Young SP, Millington DS. Quantification of glycosaminoglycans in urine by isotope-dilution liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Curr Protoc Hum Genet.* 2013;Chapter 17: Unit 17.12 <http://dx.doi.org/10.1002/0471142905.hg1712s76>
17. Auray-Blais C, Bherer P, Gagnon R et al. Efficient analysis of urinary glycosaminoglycans by LC-MS/MS in mucopolysaccharidoses type I, II and VI. *Mol Genet Metab.* 2011;102:49-56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2010.09.003>
18. Chuang CK, Lin HY, Wang TJ, Tsai CC, Liu HL, Lin SP. A modified liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for predominant disaccharide units of urinary glycosaminoglycans in patients with mucopolysaccharidoses. *Orphanet J Rare Dis.* 2014;9:135. <http://dx.doi.org/10.1186/s13023-014-0135-3>
19. Tomatsu S, Shimada T, Mason RW, et al. Assay for Glycosaminoglycans glycosaminoglycans by tandem mass spectrometry and its applications. *J Anal Bioanal Tech.* 2014;2014(Suppl 2):006.
20. Tomatsu S, Shimada T, Mason RW, et al. Establishment of glycosaminoglycan assays for mucopolysaccharidoses. *Metabolites.* 2014;4:655-79. <http://dx.doi.org/10.3390/metabo4030655>
21. Wolfe BJ, Blanchard S, Sadilek M, Scott CR, Turecek F, Gelb MH. Tandem mass spectrometry for the direct assay of lysosomal enzymes in dried blood spots: application to screening newborns for mucopolysaccharidosis II (Hunter Syndrome). *Anal Chem.* 2011;83:1152-6. <http://dx.doi.org/10.1021/ac102777s>
22. Tomatsu S, Fujii T, Fukushi, M. et al. Newborn screening and diagnosis of mucopolysaccharidoses. *Minireview. Mol Genet Metab.* 2013;110: 42-53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2013.06.007>
23. Tolun AA, Graham C, Shi Q, et al. A novel fluorometric enzyme analysis method for Hunter syndrome using dried blood spots. *Mol Gen Metab.* 2012;105:519-521. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2011.12.011>
24. Cobos PN, Steglich C, Santer R, Lukacs Z, Gal A. Dried blood spots allow targeted screening to diagnose mucopolysaccharidosis and mucopolipidosis. *JIMD Rep.* 2015;15:123-32.
25. Muenzer J, Lamsa JC, Garcia A, Dacosta J, Garcia J, Treco DA. Enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a preliminary report. *Acta Paediatr Suppl.* 2002;91:98-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1651-2227.2002.tb03118.x>
26. Wraith JE, Scarpa M, Beck M, et al. Mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): a clinical review and recommendations for treatment in the era of enzyme replacement therapy. *Eur J Pediatr.* 2008;167:267-77. <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-007-0635-4>
27. Muenzer J, Bodamer O, Burton B, et al. The role of enzyme replacement therapy in severe Hunter syndrome-an expert panel consensus. *Eur J Pediatr.* 2012;171:181-8. <http://dx.doi.org/10.1007/s00431-011-1606-3>
28. Muenzer J, Beck M, Giugliani R et al. Idursulfase treatment of Hunter syndrome in children younger than 6 years: results from the Hunter Outcome Survey. *Genet Med.* 2011;13:102-109. <http://dx.doi.org/10.1097/GIM.0b013e318206786f>
29. Noh H, Lee JI. Current and potential therapeutic strategies for mucopolysaccharidoses. *J Clin Pharm Ther.* 2014;39:215-24. <http://dx.doi.org/10.1111/jcpt.12136>
30. Coppa GV, Gabrielli O, Zampini L et al. Bone marrow transplantation in Hunter syndrome (mucopolysaccharidosis type II): two-year follow-up of the first Italian patient and review of the literature. *Pediatrica Medica Chirurgica.* 1995;17:227-235.
31. McKinnis EJ, Sulzbacher S, Rutledge JC et al. Bone marrow transplantation in Hunter syndrome. *J Pediatr.* 1996;129:145-148. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476\(96\)70202-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-3476(96)70202-0)
32. Guffon N, Bertrand Y, Forest I, Fouilhoux A, Froissart R. Bone marrow transplantation in children with Hunter syndrome: outcome after 7 to 17 years. *J Pediatr.* 2009;154:733-7. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpeds.2008.11.041>
33. Mullen CA, Thompson JN, Richard LA, Chan KW. Unrelated umbilical cord blood transplantation in infancy for mucopolysaccharidosis type IIB (Hunter syndrome) complicated by autoimmune hemolytic anemia. *Bone Marrow Transplant.* 2000;25:1093-7. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bmt.1702397>
34. Tanaka A, Okuyama T, Suzuki Y, et al. Long-term efficacy of hematopoietic stem cell transplantation on brain involvement in patients with mucopolysaccharidosis type II: a nationwide survey in Japan. *Mol Genet Metab.* 2012;107:513-20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2012.09.004>
35. Patel P, Suzuki Y, Tanaka A, et al. Impact of Enzyme Replacement Therapy and Hematopoietic Stem Cell Therapy on Growth in Patients with Hunter Syndrome. *Mol Genet Metab Rep.* 2014;1:184-196. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgmr.2014.04.001>
36. Tanjuakio J, Suzuki Y, Patel P, et al. Activities of daily living in patients with Hunter syndrome: Impact of enzyme replacement therapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Genet Metab.* 2015;114:161. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymgme.2014.11.002>
37. <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=stem+cell+hunter+syndrome&Search=Search>
38. Friso A, Tomanin R, Salvailio M, Scarpa M. Genistein reduces glycosaminoglycan levels in a mouse model of mucopolysaccharidosis type II. *Br J Pharmacol.* 2010;159:1082-91. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00565.x>
39. Marucha J, Tylki-Szymańska A, Jakóbkiewicz-Banecka J, et al. Improvement in the range of joint motion in seven patients with mucopolysaccharidosis type II during experimental gene expression-targeted isoflavone therapy (GET IT). *Am J Med Genet A.* 2011;155A:2257-62. <http://dx.doi.org/10.1002/ajmg.a.34146>

SUMMARY

News in Hunter syndrome diagnosis and therapy

Lj. Boban

Mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome, OMIM309900) is an inherited disease caused by deficiency of the enzyme iduronate-2-sulfatase. Iduronate-2-sulfatase deficiency leads to the accumulation of glycosaminoglycans (GAG) in the tissues of the musculoskeletal system, visceral organs and central nervous system causing progressive damage. Diagnosis of mucopolysaccharidosis type II is based on early recognition of clinical signs and low enzyme activity necessary for diagnosis confirmation. Improvement of diagnostic techniques has provided fast detection of enzyme activity and their use in screening of patients at risk. Until now, enzyme replacement therapy is a proven and effective treatment option. Enzyme replacement therapy leads to an increase in the quality of life, and a decrease of visceromegaly and urinary GAG excretion. As enzyme replacement therapy does not cross the blood-brain barrier, there is no influence on the central nervous system. Encouraging reports of stem cell transplantation and attempts of substrate reduction therapy are also described, however, requiring further investigation.

Keywords: mucopolysaccharidosis II