



Suvremeni pogled na lizosomske bolesti nakupljanja

Lysosomal storage disorders: a modern perspective

Danijela Petković Ramadža^{1,2} , Tamara Žigman^{1,2}, Ivo Barić^{1,2}

¹ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

² Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb, Zagreb

Ključne riječi

LIZOSOMSKE BOLESTI NAKUPLJANJA; KLINIČKA SLIKA;
LIZOSOM; ENZIMSKA NADOMJESNA TERAPIJA;
GENSKA TERAPIJA

Keywords

LYSOSOMAL STORAGE DISEASES; CLINICAL SIGNS;
LYSOSOME; ENZYME REPLACEMENT THERAPY;
GENE THERAPY

SAŽETAK. Lizosomske bolesti nakupljanja su skupina od oko sedamdeset nasljednih bolesti koje nastaju zbog disfunkcije lizosoma i posljedičnog nakupljanja supstrata te pokretanja sekundarnih patoloških procesa. Klinička slika je vrlo heterogena, a ovisi o vrsti poremećaja i ostatnoj funkciji enzima/proteina. Većinom su to progresivne i multisistemske bolesti, često neurodegenerativnog tijeka. Iako su pojedinačno vrlo rijetke, ukupna incidencija je relativno visoka i iznosi 1:5.000 živorođenih. Uz transplantaciju matičnih hematopoetskih stanica koja je bila prva etiološka terapija za liječenje nekih lizosomskih bolesti, zadnjih trideset godina postupno su za brojne bolesti iz ove skupine postale dostupne enzimska nadomjesna terapija i druge vrste farmakološke terapije. Međutim, usprkos značajnom razvoju terapijskih mogućnosti, za većinu ovih bolesti do danas nema specifičnog liječenja. Uz to, pojavila se potreba za dodatnim poboljšanjima postojećih i razvojem novih terapijskih opcija, a sve s ciljem učinkovitijeg liječenja i poboljšanja ishoda bolesti. Novije znanstvene spoznaje o ulogama lizosoma u kontroli različitih staničnih metaboličkih procesa i složenoj patogenezi lizosomskih bolesti nakupljanja ključne su za razvoj novih i učinkovitijih terapijskih pristupa. Zadnjih godina u velikom je zamahu razvoj genske terapije i danas smo svjedoci započinjanja njezine primjene u pojedinim lizosomskim bolestima. Zbog značajnog kašnjenja u postavljanju dijagnoze i posljedično lošijih terapijskih ishoda, u više zemalja neke liječive bolesti iz ove skupine uvedene su u programe novorođenačkog probira. Uz kratki podsjetnik na kliničku sliku lizosomskih bolesti nakupljanja, naputke kada posumnjati na ove bolesti i koje dijagnostičke alate koristiti, kratko ćemo se osvrnuti i na trenutne terapijske mogućnosti.

SUMMARY. Lysosomal storage disorders comprise a group of about 70 hereditary diseases that arise due to lysosome dysfunction and the consequent accumulation of substrates that initiates secondary pathological processes. Clinical presentation is very heterogeneous and depends on the type of disorder and residual enzyme activity. Most of disorders are progressive and multisystem diseases, often with a neurodegenerative course. Although individual diseases are very rare, the overall incidence of lysosomal disorders is about 1:5000 live births. Along with hematopoietic stem cell transplantation, which was the first etiological therapy, during the last 30 years, enzyme replacement therapy and other types of pharmacological treatment have gradually become available for numerous lysosomal storage diseases. However, despite the significant development of therapeutic options, there is still no specific treatment for many lysosomal disorders. In addition, there is the need for additional improvements of existing and development of new therapies for treatable diseases, with the goal to improve the patient outcomes. Novel scientific knowledge about the roles of lysosomes in the control of various cellular metabolic processes and the complex pathogenesis of lysosomal storage diseases is crucial for the development of new and more efficient therapeutic approaches. In the recent years, we are witnessing development of gene therapy and the beginning of its application in certain lysosomal diseases. Due to the significant delay between the symptom onset and established diagnosis, which leads to poorer therapeutic efficiency, some treatable diseases from this group have been introduced into the newborn screening programs in several countries. Along with a brief reminder of the clinical signs of lysosomal storage diseases, clues when to suspect and how to diagnose them, we will briefly review the current therapeutic options.

Lizosomske bolesti nakupljanja su skupina nasljednih multisistemskih bolesti koje nastaju uslijed nakupljanja različitih supstrata u lizosomima i posljedičnog pokretanja sekundarnih patoloških procesa unutar stanice. Do danas je poznato sedamdesetak različitih poremećaja.¹ Prva je bila opisana Gaucherova bolest 1882. godine, potom Fabryjeva bolest, a zatim su početkom dvadesetog stoljeća opisane još neke lizosomske bolesti. No, tek nakon što su DeDuve i surad-

nici u drugoj polovini 20. stoljeća otkrili lizosome i objasnili njihovu ulogu u razgradnji i recirkulaciji staničnih makromolekula, Hers je 1965. godine, otkrivši da je manjak alfa-glukozidaze uzrok Pompeove bole-

Adresa za dopisivanje:

Dr. sc. Danijela Petković Ramadža, dr. med., <https://orcid.org/0000-0002-8562-153X>,
Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb, Kišpatićeva 12, 10000 Zagreb,
e-pošta: dpetkovi@kbc-zagreb.hr

TABLICA 1. LIZOSOMSKE BOLESTI NAKUPLJANJA PODIJELJENE PREMA SUPSTRATU KOJI SE NAKUPLJA. U ZAGRADAMA JE NAPISAN GEN ČIJE MUTACIJE UZROKUJU BOLEST. MPS = MUKOPOLISAHARIDOZA, NCL = NEURONSKA CEROID LIPOFUSCINOZA.

TABLE 1. LYSOSOMAL STORAGE DISORDERS CLASSIFIED ACCORDING TO THE STORED SUPSTRATE. IN PARENTHESES IS THE CAUSATIVE GENE. MPS = MUCOPOLYSACCHARIDOSIS, CLN = NEURONAL CEROID LIPOFUSCINOSIS.

Sfingolipidoze / Sphingolipidoses	Neuronske ceroidne lipofuscinoze / Neuronal ceroid lipofuscinoses
Fabryjeva bolest (GLA) / Fabry disease (GLA) Gaucherova bolest (GBA) / Gaucher disease (GBA) GM1 gangliozidoza (GLB1) / GM1 gangliosidosis (GLB1) GM2 gangliozidoza; Tay-Sachs (HEXA) / GM2 gangliozidoza; Tay-Sachs (HEXA) GM2 gangliozidoza; Sandhoff (HEXB) / GM2 gangliosidosis; Sandhoff (HEXB) Manjak GM2 aktivatora (GM2A) / GM2 activator deficiency (GM2A) Globoidna leukodistrofija; Krabbe (GLC) / Globoid cell leukodystrophy; Krabbe (GLC) Metakromatska leukodistrofija (ARSA) / Metachromatic leukodystrophy (ARSA) Multipli manjak sulfataza (SUMF1) / Multiple sulfatase deficiency (SUMF1) Manjak kisele sfingomijelinaze (SMPD1) / Acid sphingomyelinase deficiency (SMPD1) Niemann-Pickova bolest tipa C (NPC1 i NPC2) / Niemann-Pick disease type C (NPC1 and NPC2) Farberova lipogranulomatoza (ASAHI) / Farber lipogranulomatosis (ASAHI) Manjak prosapozina (PSAP) / Prosaposin deficiency (PSAP)	NCL1 (PPT1) / CLN1 (PPT1) NCL2 (TPP1) / CLN2 (TPP1) NCL3 (CLN3) / CLN3 (CLN3) NCL4 (DNAJC5) / CLN4 (DNAJC5) NCL5 (CLN5) / CLN5 (CLN5) NCL6 (CLN6) / CLN6 (CLN6) NCL7 (MFSD8) / CLN7 (MFSD8) NCL8 (CLN8) / CLN8 (CLN8) NCL9 (nepoznat gen) / CLN9 (unknown gene) NCL10 (CTSD) / CLN10 (CTSD) NCL11 (GRN) / CLN11 (GRN) NCL12 (ATP13A2) / CLN12 (ATP13A2) NCL13 (CTSF) / CLN13 (CTSF) NCL14 (KCTD7) / CLN14 (KCTD7)
Mukopolisaharidoze / Mucopolysaccharidoses	Mukolipidoze i oligosaharidoze / Mucolipidoses and oligosaccharidoses
MPS I; Hurler, Hurler/Scheie, Scheie (IDUA) / MPS I; Hurler, Hurler/Scheie, Scheie (IDUA) MPS II; Hunter (IDS) / MPS II; Hunter (IDS) MPS IIIA; Sanfilippo (SGSH) / MPS IIIA; Sanfilippo (SGSH) MPS IIIB; Sanfilippo (NAGLU) / MPS IIIB; Sanfilippo (NAGLU) MPS IIIC; Sanfilippo (HGSNAT) / MPS IIIC; Sanfilippo (HGSNAT) MPS IIID; Sanfilippo (GNS) / MPS IIID; Sanfilippo (GNS) MPS IVA; Morquio A (GALNS) / MPS IVA; Morquio A (GALNS) MPS IVB; Morquio B (GLB1) / MPS IVB; Morquio B (GLB1) MPS VI; Maroteaux-Lamy (ARSB) / MPS VI; Maroteaux-Lamy (ARSB) MPS VII; Sly (GUSB) / MPS VII; Sly (GUSB) MPS IX (HYAL1) / MPS IX (HYAL1)	Sijalidoza tipa I (NEU1) / Sialidosis type I (NEU1) Mukolipidoza I; sijalidoza tipa II (NEU1) / Mucolipidoses I; sialidosis type II (NEU1) Mukolipidoza II; bolest I-stanica (GNPTAB) / Mucolipidoses II; I-cell disease (GNPTAB) Mukolipidoza III; pseudo-Hurler polidistrofija (GNPTG) / Mucolipidoses III; pseudo-Hurler polydystrophy (GNPTG) Mukolipidoza IV (MCOLN1) / Mucolipidoses IV (MCOLN1) Alfa-manozidoza (MAN2B1) / Alpha-mannosidosis (MAN2B1) Beta-manozidoza (MANBA) / Beta-mannosidosis (MANBA) Fukozidoza (FUCA1) / Fucosidosis (FUCA1) Galaktosijalidoza (CTSA) / Galactosialidosis (CTSA) Bolesti nakupljanja slobodne sijalične kiseline (SLC17A5) / Free sialic acid storage diseases (SLC17A5) Aspartilglukozaminurija (AGA) / Aspartylglucosaminuria (AGA) Bolest Schindler (NAGA) / Schindler disease (NAGA)
Ostale lizosomske bolesti nakupljanja Other lysosomal storage diseases	
Pompeova bolest (GAA) / Pompeova disease (GAA) Danonova bolest (LAMP2) / Danon disease (LAMP2) Manjak lizosomske kisele lipaze (LIPA) / Lysosomal acid lipase deficiency (LIPA) Cistinoza (CTNS) / Cystinosis (CTNS) Piknodisostoza (CTSK) / Pyknodysostosis (CTSK)	

sti, razjasnio osnovni patofiziološki mehanizam nastanka lizosomskih bolesti nakupljanja.² S vremenom je bolje razumijevanje staničnih procesa dovelo do novih spoznaja o patofiziologiji, a otkrivanje novih bolesti i pokušaj iznalaska načina njihovog liječenja pridonijeli su novim saznanjima o ulogama lizosoma u održavanju homeostaze bioloških procesa u stanici.

Do nakupljanja makromolekula u lizosomima može doći zbog nedostatne aktivnosti lizosomskih enzima, manjka proteina aktivatora enzima, poremećaja post-translacijske modifikacije i transporta lizosomskih enzima te manjka transmembranskih transportera i regulatornih proteina.³ Prema patogenezi poremećaja, lizosomske bolesti mogu se podijeliti u pet velikih sku-

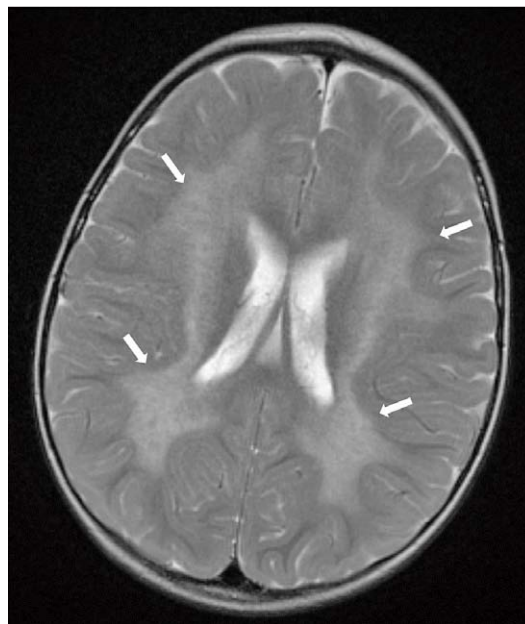
pina: 1. poremećaji razgradnje glikana; 2. poremećaji razgradnje lipida; 3. poremećaji razgradnje proteina; 4. nedostatak lizosomskih transportnih proteina i 4. poremećaj prijenosa proteina u lizosome.⁴ Kako postoji preklapanje i neke bolesti se mogu svrstati u dvije skupine, jednostavnija je podjela prema vrsti supstrata koji se nakuplja (tablica 1). Nagomilavanjem nerazgrađenog supstrata lizosomi postaju uvećani i brojni, dolazi do strukturnih i biokemijskih promjena unutar stanice, što uzrokuje oštećenja stanica i okolnih tkiva te u konačnici rezultira disfunkcijom organa. Osim spaciokompresivnog učinka na stanične komponente, mehanizam kojim nakupljeni supstrati ometaju staničnu funkciju uključuje poremećenu homeostazu

unutarstaničnog kalcija, poremećaj autofagije i unutarstaničnog transporta, aktivaciju signalnih puteva i pokretanje upalnih procesa.⁵ Nova istraživanja su pokazala da uz ove dugo poznate patološke mehanizme izražaju bolesti pridonose i sekundarna mitohondrijska disfunkcija praćena oksidativnim stresom i sekundarno nakupljanje drugih makromolekula neovisno o primarnom enzimskom defektu.⁶ Pretpostavlja se da sekundarno nakupljanje gangliozida i lipida, koje je dokazano u više lizosomskih bolesti nakupljanja, pridonosi nastanku neurodegenerativnog procesa.⁷

Lizosomske bolesti nakupljanja nasljeđuju se autosomno recesivno, s izuzetkom Fabrijeve, Hunterove i Danonove bolesti koje se nasljeđuju X-vezano. Zbog toga je incidencija viša u zatvorenim i konsangvinim populacijama. Prema epidemiološkim studijama ukupna incidencija lizosomskih bolesti nakupljanja je oko 1:5.000 živorođenih. Pojavnost pojedinih bolesti veća je u nekim populacijama (npr. Gaucherova bolest u Židova Aškenaza, Pompeova bolest u Tajvanu i Nizozemskoj).⁸ Iako su lizosomske bolesti brojne, većina pacijenata, njih 75%, boluje od 15 najčešćih bolesti.⁹ Upravo su te bolesti najviše proučavane i stoga za njih danas imamo dostupno liječenje.

Klinička slika lizosomskih bolesti nakupljanja

Klinička slika lizosomskih bolesti izrazito je heterogena. Ovisi o supstratu koji se nakuplja i njegovoj distribuciji u tkivima, a težina kliničke slike može varirati od sasvim blagih do vrlo teških oblika s intrauterinom prezentacijom. Većina ovih poremećaja tradicionalno se prema težini kliničke slike koja ovisi o ostatnoj enzimskoj aktivnosti dijeli u infantilni, juvenilni i adultni oblik. U infantilnim oblicima bolest se očituje vrlo rano i progresivnog je tijeka, dok je u adultnim oblicima klinička slika blaža. Prijelazni oblik se naziva juvenilnim. Međutim, jasnu granicu nije lako postaviti pa se danas u nekim bolestima češće govori o kliničkom kontinuumu.¹⁰ Na teškom je kraju fenotipskog spektra razvijena klinička slika u fetusa, često u obliku neimunoga fetalnog hidropsa i hepatosplenomegalije. Pretpostavlja se da je u 10% slučajeva neimunoga fetalnog hidropsa uzrok lizosomska bolest nakupljanja, a u diferencijalnu dijagnozu ulaze mukopolisaharidoze (MPS) tipa I, IVA i VII, mukolipidoza tipa I, GM1 gangliozidoza, Gaucherova bolest, Niemann-Pickova bolest tipa C, sijalidoza, galaktosijalidoza, bolest nakupljanja slobodne sijalične kiseline i multipli manjak sulfataza.¹¹ Ipak, najčešće se pacijenti rode bez simptoma i znakova bolesti, a klinička slika se postupno razvija. Većina pacijenata prve simptome razvija u dječjoj dobi, uključujući pacijente s adultnim oblicima, ali su u njih simptomi slabije izraženi i stoga zanemareni. Pacijenti s manifestacijom bolesti u odrasloj



SLIKA 1. MAGNETSKA REZONANCIJA MOZGA (T2 MJERENA SNIMKA, TRANSVERZALNI PRESJEK) TROGODIŠNJEG DIJETETA S METAKROMATSKOM LEUKODISTROFIJOM PRIKAZUJE KONFLUENTNE, CENTRIPETALNE PROMJENE BIJELE TVARI OBLIKA LEPTIRA (OZNAČENO STRELICAMA)

FIGURE 1. BRAIN MRI IMAGE (T2 WEIGHTED, TRANSVERSE PLANE) OF THREE-YEAR-OLD SUFFERING FROM METACHROMATIC LEUKODYSTROPHY SHOWS CONFLUENT, CENTRIPETAL, AND BUTTERFLY-SHAPED WHITE MATTER CHANGES (ARROWS)

dobi imaju blažu kliničku sliku ili atipične simptome koji se mogu preklapati sa simptomima češćih bolesti pa je postavljanje dijagnoze vrlo često odgođeno.¹²

Većina lizosomskih bolesti nakupljanja jesu multisistemske bolesti. Obilježja koja su često povezana s lizosomskim bolestima jesu dismorfija, grube crte lica, uvećan jezik, hepatosplenomegalija, kardiomiopatija, promjene na koži ili kosi, zamućenje rožnica ili leća, oštećenje vida i sluha, slabost vezivnog tkiva, mišićna slabost, niski rast i zahvaćenost koštano-zglobnog sustava, npr. gibus, kontrakture, *dysostosis multiplex*. U čak dvije trećine lizosomskih bolesti zahvaćen je središnji živčani sustav (SŽS). Pacijenti mogu imati različite neurološke simptome kao što su usporen psihomotorički razvoj, zakašnjeni razvoj govora, hipotonija, ataksija, distonija, epilepsija, psihijatrijske simptome te progresivno kognitivno i motoričko propadanje.¹³ U nekim poremećajima dominantno je zahvaćen SŽS, npr. u Krabbeovoj bolesti i neuronskim ceroidnim lipofuscinozama (NCL). U pacijenata sa zahvaćenim SŽS-om nađu se na magnetskoj rezonanciji (MR) promjene mozga u vidu atrofije mozga ili leukodistrofije, a u nekim su slučajevima promjene specifične i jasno upućuju na dijagnozu, npr. centripetalne promjene bijele tvari u obliku leptira u metakromatskoj leukodistrofiji (slika 1).¹⁴ Dodatno obilježje koje može uputiti na neuropatski oblik nekih lizosomskih bolesti

TABLICA 2. KLINIČKA OBLIJEŽJA KOJA TREBAJU POBUDITI SUMNJU NA LIZOSOMSKE BOLESTI NAKUPLJANJA.

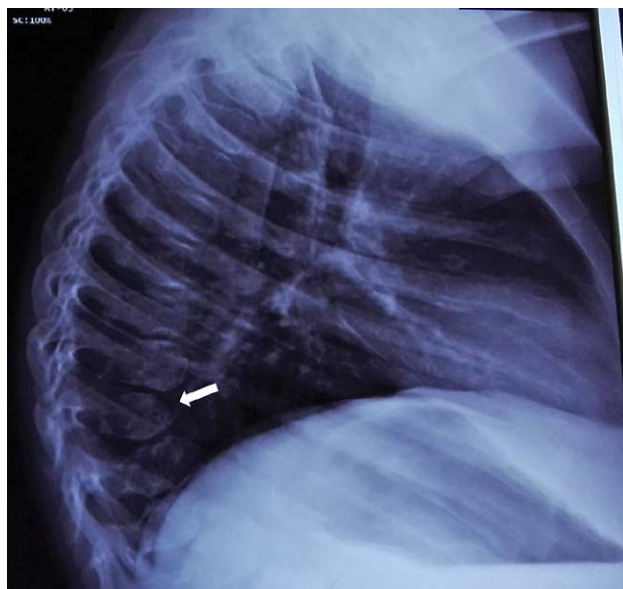
TABLE 2. CLINICAL CHARACTERISTICS INDICATING LYSOSOMAL STORAGE DISORDERS.

Osobitosti anamneze / Traits from medical history	Klinički simptomi i znakovi / Clinical signs and symptoms
Slični simptomi u obitelji / <i>Similar symptoms in family members</i> Srodstvo roditelja / <i>Consanguineous parents</i> Pripadnost zatvorenoj populaciji ili populaciji u kojoj su češće lizosomske bolesti nakupljanja / <i>Origin from closed population or population with higher incidence of lysosomal diseases</i> Progresivno pogoršanje bolesti / <i>Progressive course of disease</i> Neurodegenerativni tijek / <i>Neurodegenerative course</i> Simptomi zahvaćenosti više organskih sustava / <i>Multiple organ involvement</i>	Dismorfija / <i>Dysmorphia</i> Gruba i suha kosa / <i>Coarse and dry hair</i> Makroglosija / <i>Macroglossia</i> Promukli glas / <i>Hoarse voice</i> Hepatosplenomegalija / <i>Hepatosplenomegaly</i> Koštana displazija / <i>Bone dysplasia</i> Kontrakture zglobova / <i>Joint contractures</i> Ihtioza / <i>Ichthyosis</i> Gluhoća ili naglušost / <i>Deafness or hearing impairment</i> Oštećenje vida / <i>Vision impairment</i> Zamućenje rožnice ili leće / <i>Corneal or lens clouding</i> Fotofobija / <i>Photophobia</i> Mišićna slabost / <i>Muscle weakness</i> Kardiomiopatija / <i>Cardiomyopathy</i> Fanconijev sindrom / <i>Fanconi syndrome</i> Fetalni hidrops / <i>Fetal hydrops</i> Neonatalna kolestaza / <i>Neonatal cholestasis</i> Česte respiratorne infekcije / <i>Recurrent respiratory infections</i> Ingvinalne i umbilikalna hernija / <i>Inguinal and umbilical hernia</i> Angiokeratomi / <i>Angiokeratoma</i> Potkožni čvorici iznad zglobova / <i>Subcutaneous nodules near joints</i> Sindrom karpalnog ili tarzalnog tunela / <i>Carpal or tarsal tunnel syndrome</i> Periferna neuropatija / <i>Peripheral neuropathy</i> Bolovi u trbuhu, proljev / <i>Abdominal pain, diarrhea</i> Distonija / <i>Dystonia</i> Ataksija / <i>Ataxia</i> Mioklona epilepsija / <i>Myoclonic epilepsy</i> Psihijatrijski simptomi / <i>Psychiatric symptoms</i> Katapleksija / <i>Cataplexy</i> Pareza pogleda (vertikalna/horizontalna) / <i>Vertical or horizontal gaze palsy</i> Okulomotorna apraksija / <i>Oculomotor apraxia</i> Bulbarni simptomi / <i>Bulbar symptoms</i> Usporen psihomotorički razvoj / <i>Delayed psychomotor development</i> Sklonost krvarenju / <i>Bleeding diathesis</i> Rani moždani udar / <i>Early-onset stroke</i> Kronična bubrežna bolest / <i>Chronic kidney disease</i> Dispneja, opstruktivna plućna bolest / <i>Dyspnea, obstructive lung disease</i>
Osobitosti laboratorijskih nalaza i rezultata drugih pretraga / Results of biochemical and other diagnostic testing	
Povišena aktivnost kreatin kinaze / <i>Increased activity of creatin kinase</i> Povišene aktivnosti aminotransferaza / <i>Increased activities of aminotransferases</i> Dislipidemija / <i>Dyslipidemia</i> Hipofosfatemija / <i>Hypophosphatemia</i> Trombocitopenija / <i>Thrombocytopenia</i> Anemija / <i>Anemia</i> Hiperferitinemija / <i>Hyperferritinemia</i> Proteinurija / <i>Proteinuria</i> Pjenušave stanice u razmazu periferne krvi / <i>Foamy cells in peripheral blood smear</i> Pjenušave stanice u punktatu koštane srži ili limfnog čvora / <i>Foamy cells in bone marrow or lymph node aspiration sample</i> Pjenušave Kupfferove stanice u histološkom preparatu jetre / <i>Foamy Kupffer cells in liver histology sample</i> Promjene na kostima <i>dysostosis multiplex</i> / <i>Dysostosis multiplex bone changes</i> Demineralizacija kostiju, osteopenija / <i>Bone demineralization, osteopenia</i> Pjega boje višnje na očnom dnu / <i>Cherry red spot on fundus examination</i> Organomegalija / <i>Organomegaly</i> Promjene na srčanim zaliscima / <i>Valvular heart disease</i> Hipertrofija miokarda / <i>Myocardial hypertrophy</i> Intersticijske promjene na plućima / <i>Interstitial lung changes</i> Atrofija mozga / <i>Brain atrophy</i> Promjene bijele tvari mozga (leukodistrofija) / <i>White matter changes (leukodystrophy)</i> Prošireni perivaskularni prostori na MR mozga / <i>Enlarged perivascular spaces on brain MRI</i>	

(sfingomijelinoze, oligosaharidoze) jest pjega boje višnje na očnom dnu koja nastaje zbog nakupljanja lipida u ganglijskim stanicama, zbog čega je područje oko makule svjetlije. Vrlo lako se otkrije jednostavnim pregledom očnog dna i to je jedan od razloga zbog kojega u svih pacijenata s nejasnim neurološkim simptomima treba napraviti oftalmološki pregled.¹⁵ Druga klinička obilježja navedena su u tablici 2, a slijedi kratak opis češćih i lječivih lizosomskih bolesti.

Skupini mukopolisaharidoza pripadaju poremećaji razgradnje glikozaminoglikana. Ukupno je sedam tipova od kojih se neki dijele na podtipove. Mukopolisaharidoze su multisistemske i progresivne i praktički su zahvaćeni svi organi i tkiva. Klinička slika se postupno razvija od nespecifičnih simptoma u dojenačkoj dobi,

kao što su česte respiratorne infekcije, ingvinalne i umbilikalne hernije, a kasnije se zamjećuju grube crte lica, zadebljan jezik i gingive, gruba kosa, hepatosplenomegalija i kontrakture zglobova. Često je zahvaćeno i srce, a tipična je valvularna bolest. Na oku se vidi zamućenje rožnice i degeneracija mrežnice, a česte su i provodna i zamjedbena naglušost. Zbog koštane displazije pacijenti imaju deformitete kostiju i niskog su rasta. Na rendgenogramima kostiju vide se tipične promjene koje se nazivaju *dysostosis multiplex*, a uključuju zadebljane kosti lubanje, široka rebra, promijenjen oblik kralježaka, kraće i zadebljane kosti šaka i stopala (slika 2). Zbog bujanja veziva, česti su sindromi karpalnog i tarzalnog tunela i pritisak na leđnu moždinu. Dio pacijenata ima neurodegenerativni tijek



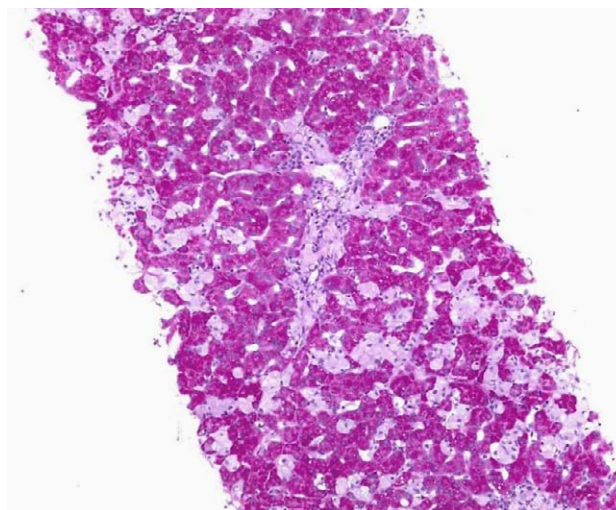
SLIKA 2. NA RENTGENOGRAMU PRSNOG KOŠA (PROFILNA SNIMKA) PACIJENTA S MUKOPOLISAHARIDOZOM TIPA IVB VIDE SE KIFOSKOLOZIJA, ŠIROKA REBRA I PROMIJENJEN OBLIK KRALJEŽAKA S „KLJUNASTIM“ PREDNJIM DIJELOM (STRELICA)

FIGURE 2. LATERAL CHEST X-RAY OF A PATIENT SUFFERING FROM MUCOPOLYSACCHARIDOSIS TYPE IVB SHOWS KYPHOSCOLIOSIS, WIDENED RIBS, AND ABNORMALLY SHAPED VERTEBRAL BODIES WITH THE INFERIOR BEAKING OF THE ANTERIOR MARGIN (ARROW)

bolesti. Tipične promjene na MR-u mozga, ali ne i patognomonične, jesu prošireni perivaskularni prostori. Klinička slika se u pojedinim tipovima dosta preklapa, uz neke manje razlike. Izuzetak su podtipovi MPS IV u kojima je dominantno zahvaćen koštano-zglobni sustav i MPS III u kojima dominira neurodegenerativni tijek uz blaže sistemske simptome i znakove.^{16,17}

Alfa-manozidoza nastaje zbog manjka istoimenog enzima i jedina je oligosaharidoza za koju trenutno imamo dostupnu specifičnu terapiju. Klinička slika je donekle slična onoj u mukopolisaharidozama i uključuje grube crte lica, oštećenje sluha, zakašnjeli govor, promjene na kostima i mentalnu retardaciju. Dodatno obilježje su učestale respiratorne infekcije zbog imunodeficijencije.¹⁸

Pompeova bolest nastaje zbog manjka enzima alfa-glukozidaze koji hidrolizira glikogen u lizosomima. Stoga se svrstava i u skupinu glikogenoza. Dva su tipa bolesti. Infantilni oblik je karakteriziran hipotonijom, mišićnom slabošću i progresivnom kardiomiopatijom. Ako se ne liječi dovodi do smrtnog ishoda, najčešće u prvoj godini života. Kasni oblik obilježen je progresivnim propadanjem mišića, mišićnom slabošću, dominantnije proksimalnih i paravertebralnih mišića, zahvaćenošću dišne muskulature i zatajenjem disanja. Važan biokemijski biljeg je trajno povišena aktivnost kreatin kinaze (i u presimptomatskih pacijenata). Premda su dominantno zahvaćeni mišići, pacijenti



SLIKA 3. UZORAK JETRE DOJENČETA S AKUTNIM NEUROPATSKIM OBLIKOM GAUCHEROVE BOLESTI, BOJENJE PERIODIC ACID-SCHIFF (PAS), POVEĆANJE 100 X. PRIKAZANE SVIJETLE STANICE U SINUSOIDAMA I PORTALNIM POLJIMA SU PJENUŠAVI MAKROFAGI, A TAMNE STANICE SU HEPATOCITI S PAS-POZITIVNIM GLIKOGENOM U CITOPLAZMAMA.

FIGURE 3. LIVER SAMPLE OF AN INFANT SUFFERING FROM ACUTE NEURONOPATHIC GAUCHER DISEASE, PERIODIC ACID-SCHIFF (PAS) STAINING, MAGNIFICATION 100X. LIGHTER CELLS IN THE SINUSOIDAL AND PORTAL SPACES ARE FOAMY MACROPHAGES, AND DARKER CELLS ARE HEPATOCYTES WITH PAS-POSITIVE GLYCOGEN IN THE CYTOPLASM.

imaju znakove zahvaćenosti centralnoga i perifernoga živčanog sustava, vaskulopatiju, gastrointestinalne i genitourinarne probleme te sklonost aritmijama.^{16,19}

Fabryjeva bolest nastaje zbog manjka alfa-galaktozidaze, što dovodi do nakupljanja globotriaolizceramida u vaskularnim endotelnim, glatkim mišićnim i živčanim stanicama. Prvi simptomi su nespecifični i počinju u djece u vidu akroparestezija dlanova i tabana, bolova u trbuhu, hipohidroze i angiokeratoma kože (male vaskularne tvorbe s blagom hiperkeratozom na površini, najčešće u predjelu trupa i anogenitalne regije). Rano obilježje je i *cornea verticillata*, nježno vrtložasto zamućenje rožnice koje ne stvara probleme s vidom pa se otkrije slučajno ili ciljanim oftalmološkim pregledom. Kao prvi znak zahvaćanja bubrega razvija se proteinurija. Nепреpoznata i neliječena bolest u odrasloj dobi dovodi do kroničnoga bubrežnog zatajenja, hipertrofične kardiomiopatije s aritmijama i zatajenjem srca te ranog moždanog udara. Iako je X-vezana, ovisno o stupnju inaktivacije X-kromosoma žene mogu imati u cijelosti razvijenu kliničku sliku.^{16,20}

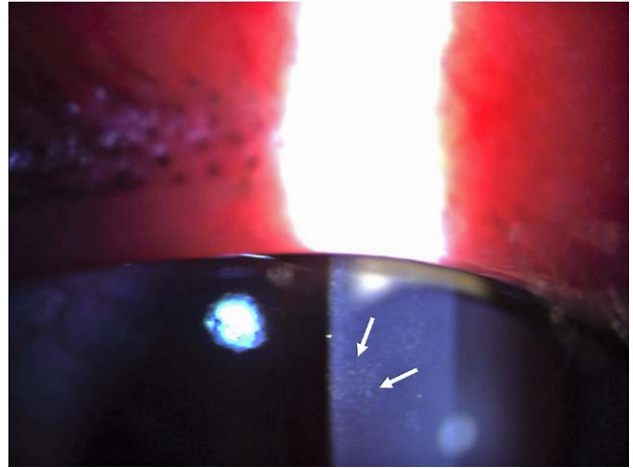
Gaucherova bolest nastaje uslijed manjka enzima glukocerebrosidaze i posljedičnog nakupljanja glukozilceramida u stanicama monocitno-makrofagnog reda u koštanoj srži, jetri, slezeni, limfnim čvorovima i SŽS-u. Stanice s nakupljenim glukozilceramidom su uvećane i poprimaju izgled pjenušavih stanica (slika 3). Tri su glavna tipa bolesti. Ne-neuropatski ili adultni

oblik (tip 1) može se očitovati od djetinjstva do odrasle dobi, a karakteriziran je trombocitopenijom i anemijom, hepatosplenomegalijom, limfadenopatijom i promjenama na kostima u vidu osteopenije, avaskularne nekroze, patoloških fraktura, bolnih koštanih infarkta, kroničnom plućnom bolešću, sklonošću krvarenju i malignomima. Akutni neuropatski oblik (tip 2) očituje se u dojenačkoj dobi, a karakteriziran je brzo progresivnim neurološkim propadanjem (stridor, poteškoće gutanja, strabizam, apneje, spasticitet), organomegalijom, anemijom i trombocitopenijom. Perinatalni oblik je podtip ovog oblika, a očituje se po rođenju ihtiozom, hidropsom, kolestazom i organomegalijom. Kronični neuropatski oblik (tip 3) može se manifestirati prethodno spomenutim znakovima uz koje se mogu javiti i distonija, ataksija, okulomotorna apraksija, vertikalna pareza pogleda i epilepsija, a visceralni simptomi su slični tipu 1 bolesti, uz izraženiju intersticijsku bolest pluća.^{16,21}

Manjak kisele sfingomijelinaze uzrokuje nakupljanje sfingomijelina u visceralnim organima i mozgu. Bolest se naziva i Niemann-Pickova bolest tipa A i B. Tip A je infantilni neurovisceralni oblik obilježen masivnom hepatosplenomegalijom, limfadenopatijom, slabim somatskim napredovanjem, hipotonijom i progresivnim neurološkim propadanjem te ranom smrću. Tip B je visceralni oblik u kojem se simptomi mogu javiti od rane dječje do odrasle dobi, a karakteriziran je hepatosplenomegalijom, intersticijskom bolesti pluća, zaostajanjem u rastu i zakašnjelim pubertetom. Tip A/B je intermedijarni, kronični neurovisceralni oblik u kojemu pacijenti uz visceralne imaju i neurološke simptome kao što su kognitivne poteškoće, epilepsija, poremećaji pokreta i psihijatrijski poremećaji.^{16,22}

Niemann-Pickova bolest tipa C nastaje zbog poremećenoga unutarstaničnog prijenosa kolesterola uslijed nedostatka lizosomskih membranskih proteina NPC1 ili rjeđe NPC2. U stanicama se uz kolesterol nakupljaju i sfingolipidi, a bolest je dobila ime jer se krivo mislilo da se radi o podtipu manjka sfingomijelinaze. U dojenčadi se može razviti kolestatska žutica i hepatosplenomegalija, a potom se javljaju neurološki simptomi kao hipotonija, kašnjenje u razvoju, zakašnjeli govor, ataksija, katapleksija, epileptički napadaji. Ako se simptomi pojave kasnije, uz neurološke simptome može biti prisutna samo splenomegalija. U odrasloj dobi češći su distonija, ataksija i psihijatrijski problemi, a visceralnih znakova ne mora biti.²³ Prvi klinički znak zahvaćenosti SŽS-a jest supranuklearna pareza pogleda koja se može otkriti jednostavnim kliničkim pregledom.²⁴

Manjak lizosomske kisele lipaze dovodi do poremećaja razgradnje kolesterola u lizosomima i nakupljanja kolesterolskih estera i triglicerida u jetri, slezeni, limfnim čvorovima i crijevima te dislipidemije koja uzrokuje preuranjenu aterosklerozu. Rani oblik, Wolmanova bolest, karakteriziran je masivnom hepato-



SLIKA 4. KRISTALIĆI CISTINA U ROŽNICI DOJENČETA S CISTINOZOM PRIKAZANI BIOMIKROSKOPSKIM PREGLEDOM OKA
FIGURE 4. CRYSTALS OF CYSTINE IN THE CORNEA OF AN INFANT WITH CYSTINOSIS SHOWN BY BIOMICROSCOPIC EYE EXAMINATION

splenomegalijom, proljevima i malapsorpcijom u malog dojenčeta. Tipično su obilježje kalcifikacije nadbubrežnih žlijezda vidljive na radiogramu. Tijek je brzo progresivan i, ako se ne liječi, završava smrću. Kasni oblik, bolest nakupljanja kolesterolskih estera, karakteriziran je hepatosplenomegalijom s povišenim aminotferazama i dislipidemijom (hiperkolesterolemija, povišen LDL-kolesterol i snižen HDL-kolesterol). Bolest jetre može napredovati u cirozu.²⁵

Kasno infantilni oblik neuronske ceroidne lipofuscinoze (NCL2) nastaje zbog manjka enzima tripeptidil peptidaze 1 i obično se očituje zakašnjelim razvojem govora, usporenjem psihomotoričkog razvoja, motoričkom nespretnošću i početkom epilepsije u dobi od dvije do četiri godine. U elektroencefalografskom zapisu karakterističan je paroksizmalni odgovor tijekom intermitentne fotostimulacije niskim amplitudama. Neuroslikovnom obradom nađe se atrofija malog mozga i promjene u bijeloj tvari te rjeđe smanjen volumen velikog mozga. U neliječenih pacijenata ubrzo nakon početka epilepsije slijede progresivno neurološko propadanje, kortikalna sljepoća i gubitak kognitivnih funkcija sa smrtnim ishodom oko desete godine života.²⁶

Metakromatska leukodistrofija nastaje zbog manjka arilsulfataze A i posljedičnog nakupljanja sulfatida, što uzrokuje demijelinizaciju SŽS-a i perifernih živaca. Neurološki simptomi se javljaju nakon inicijalno normalnog razvoja u vidu motoričke regresije, ataksije, dizartrije, spasticiteta, hiporefleksije i atrofije vidnog živca. U juvenilnom obliku, uz navedeno, mogu se razviti epilepsija i intelektualno propadanje, dok su u adultnom obliku češći psihijatrijski problemi i demencija.^{16,27}

Cistinoza nastaje zbog manjka cistinozina, membranskog prijenosnika cistina, zbog čega se cistin na-

kuplja u obliku kristala koji oštećuju tkiva. Najjače su zahvaćeni rožnica i bubrežni tubuli. U češćem infantilnom obliku (nefropatska cistinoza) prvi se simptomi javljaju u dojenčadi, a posljedica su Fanconijevog sindroma (najčešće su to dehidracija, slabo napredovanje na masi, hipofosfatemijski rahitis) i ulaganja cističnih kristala u rožnice, zbog čega se razvija fotofobija (slika 4). Oštećenje bubrega vodi u terminalno bubrežno zatajenje. U ranoj odrasloj dobi pacijenti razvijaju znakove zahvaćenosti endokrinih organa, mišića i SŽS-a. U adultnom obliku cistinoze prisutne su samo promjene na očima.²⁸

Dijagnostika lizosomskih bolesti nakupljanja

Dijagnostika lizosomskih bolesti nakupljanja počinje osnovnim laboratorijskim i dijagnostičkim pretragama koje će pokazati zahvaćenost pojedinih organa. Korisno je učiniti i druge dostupne pretrage koje mogu usmjeriti na dijagnozu, kao što su citološki razmaz periferne krvi kojim se može otkriti nakupljanje supstrata u leukocitima (npr. vakuole u limfocitima u Pompeovoj bolesti), ciljani oftalmološki pregled, kardiološki pregled, rendgensko snimanje, ultrazvučne i neuroslikovne pretrage. Daljnja dijagnostika nastavlja se u specijaliziranom laboratoriju za metaboličke bolesti, gdje se izvode testovi probiranja ili enzimska analiza. U našoj državi jedini je takav laboratorij u Kliničkom bolničkom centru Zagreb. Specifični testovi uključuju analizu **biokemijskih biljega** koji su, osim za dijagnostiku, korisni u praćenju učinka liječenja. Glikozaminoglikane u 24-satnom urinu (kvantitativnu i kvalitativnu analizu) i oligosaharide u uzorku urina indicirano je analizirati pri sumnji na mukopolisaharidoze i oligosaharidoze. Cistinoza se može dokazati nalazom povišenog cistina u leukocitima, ali ta pretraga nije široko dostupna i kod nas se ne radi. Aktivnost hitotriozidaze koristan je biljeg u dijagnostici bolesti s nakupljanjem supstrata u stanicama monocitno-makrofagnog reda, prvenstveno Gaucherove bolesti i manjka kisele sfingomijelinaze. Pri interpretaciji rezultata treba znati da oko 5% populacije ima manjak ovog enzima zbog genske varijante, što može dati lažno negativan nalaz. U dijagnostici i praćenju pacijenata s Fabryjevom bolešću koristan je biomarker globotriaosilfingnozina, u Pompeovoj bolesti tetrasaharidi glukoze u urinu, a od drugih biomarkera čija je analiza trenutno dostupna samo u inozemnim laboratorijima valja izdvojiti oksisterole u plazmi i lizosfingomijelin-509 (manjak kisele sfingomijelinaze i Niemann-Pickova bolest tipa C), glukozilfingnozina (Gaucherova bolest), lizosfingomijelin (manjak kisele sfingomijelinaze) i galaktozilfingnozina (Krabbeova bolest).²⁹ Razvojem dijagnostičkih metoda, proteomike i metabolomike otkriveni su brojni drugi biomarkeri u plaz-

mi, suhoj kapi krvi, urinu i cerebrospinalnom likvoru, čija se pouzdanost u kliničkoj upotrebi za predviđanje težine bolesti i odgovora na specifično liječenje tek treba procijeniti. Analizom metaboloma prema dobivenom uzorku metabolita (*metabolic fingerprint*) jasno se mogu razlikovati i lizosomske bolesti za koje trenutno nemamo specifičan biomarker pa bi ova dijagnostika u budućnosti mogla koristiti u rutinskoj dijagnostici lizosomskih, ali i drugih nasljednih metaboličkih bolesti.³⁰

Mjerenjem **enzimske aktivnosti** pouzdano se mogu dijagnosticirati brojne lizosomske bolesti jer ih je većina uzrokovana manjkom lizosomskih hidrolaza. Analiza enzimske aktivnosti može se učiniti u leukocitima ili fibroblastima, a rjeđe drugim tkivima. Kod nas je dostupna enzimska analiza na najčešće bolesti. Već godinama se provodi enzimsko testiranje u suhoj kapi krvi koje je pogodno za probir rizičnih populacija i članova obitelji pacijenta (selektivni probir), kao i za novorođenački probir.³¹ Patološki nalaz u suhoj kapi krvi treba provjeriti mjerenjem aktivnosti u drugim tkivima, najčešće leukocitima, ili genskom analizom. Pri tumačenju nalaza enzimske aktivnosti treba imati na umu da zbog pseudodeficijenije ona može biti niska u laboratorijskim uvjetima, a da pacijent nema bolest. S druge strane, pacijent s jasnom kliničkom slikom može imati urednu aktivnost enzima ako je bolest uzrokovana manjkom proteina aktivatora (npr. Gaucherova bolest uzrokovana manjkom sapozina C zbog mutacija gena *PSAP*).³² U oba navedena slučaja genska analiza će najčešće razjasniti situaciju.

Nakon postavljene dijagnoze enzimskim testiranjem, obično se dijagnoza potvrdi **genskom analizom**. Sve češće se koriste genski paneli za lizosomske bolesti nakupljanja.³³ Genska analiza je danas nezaobilazna u dijagnostici nasljednih bolesti, a osim za potvrdu dijagnoze, potrebna je i za prenatalnu dijagnozu. U nekim se slučajevima na temelju genotipa može predvidjeti tijek bolesti i dodatno klasificirati o kojem se podtipu radi, no često ne postoji jasna korelacija genotipa i fenotipa.³⁴ Ta činjenica je osobito izazovna u savjetovanju presimptomatskih pacijenata.

Dostupnošću etiološke terapije za lizosomske bolesti povećala se potreba za njihovim ranim otkrivanjem jer kasni početak liječenja rezultira lošijim učincima terapije. Zbog toga se već dugo razmatra testiranje novorođenčadi na lječive lizosomske bolesti, a posljednjih nekoliko godina to se sve više i ostvaruje. Razvojem tandemske spektrometrije masa, zadnjih dvadesetak godina dogodila se ekspanzija u razvoju **novorođenačkog probira**, a posljednjih godina navedena metoda se koristi i za mjerenje aktivnosti lizosomskih enzima u okviru novorođenačkog probira.³⁵ Lizosomske bolesti na koje se u pojedinim državama provodi probir jesu Pompeova bolest, MPS tipa I i II, Krabbeo-

va, Gaucherova i Fabryjeva bolest i manjak kisele sfingomijelinaze.³⁶ U Sjedinjenim Američkim Državama među preporučene bolesti za uključanje u programe novorođenačkih probira (engl. *Recommended Uniform Screening Panel*, RUSP) uvrštene su Pompeova bolest, MPS I i II, a aktualno je prihvaćena i Krabbeova bolest.³⁷ Ovaj pozitivan napredak, koji će brojnim bolesnicima omogućiti rano prepoznavanje i liječenje te značajno bolji ishod, nosi i etičke dileme zbog otkrivanja bolesnika s blažim oblicima bolesti, onih s kasnom prezentacijom i onih za koje nije sigurno hoće li razviti ikakve simptome.³⁸

Liječenje lizosomskih bolesti nakupljanja

Prevladavajući terapijski pristupi kojima se može nadomjestiti manjkavi enzim te tako smanjiti nakupljanje supstrata i zaustaviti ili usporiti razvoj bolesti jesu: enzimska nadomjesna terapija (ENT), transplantacija matičnih hematopoetskih stanica, inhibicija sinteze supstrata, farmakološki šaperoni i genska terapija.³⁹

Enzimska nadomjesna terapija zasniva se na primjeni enzima koji je dobiven tehnikom rekombinirane DNA i glikoziliran kako bi nakon intravenske primjene putem endocitoze posredovane receptorima ušao u stanice, a potom u lizosome gdje će nadomjestiti funkciju manjkavog enzima. ENT se daje svaki ili svaki drugi tjedan. S obzirom na dugogodišnje iskustvo, sigurnost i učinkovitost terapije i danas je zlatni standard za liječenje lizosomskih bolesti nakupljanja. Glavni je nedostatak to što intravenski primijenjen lijek nema učinka na SŽS, a minimalnog je djelovanja na očne promjene, hrskavično tkivo i koštano-zglobni sustav.⁴⁰ Danas je ENT dostupan za mukopolisaharidoze tipa I, II, IIIA, IVA, VI i VII, Gaucherovu, Fabryjevu i Pompeovu bolest, manjak kisele sfingomijelinaze i lizosomske kisele lipaze te alfa-manozidozu. Za neke bolesti imamo na izbor više vrsta enzima slične učinkovitosti (npr. za Gaucherovu i Fabryjevu bolest), a odnedavno su za Pompeovu bolest dostupna dva lijeka druge generacije ENT-a koji su bolje biodistribucije zbog poboljšanog glikoprofila, odnosno kombinirane primjene s farmakološkim šaperonom.⁴¹

Glavna prepreka za učinkovito liječenje neuropatskih bolesti jest krvno-moždana barijera (KMB). Naime, KMB omogućava propusnost samo malih molekula koje prolaze difuzijom, hranjive tvari se prenose posebnim transportnim proteinima, veće molekule transcitozom posredovanom receptorima ili stanicama, lipofilne molekule transcelularnim putem, dok velike hidrofilne molekule ne mogu prijeći KMB, što otežava prolaz lijekova. Dva su moguća pristupa primjene terapije u SŽS-u: 1. intratekalna ili intraventrikularna primjena, 2. periferna primjena modificiranog

lijeka koji će kroz KMB proći transcitozom posredovanom receptorima i stanicama ili unutar lipidnih nanočestica.⁴² Trenutno je u primjeni intratekalna ENT za kasno infantilni tip NCL-a, u Japanu je dostupna intratekalna ENT za MPS II, a u tijeku su studije za MPS IIIb.⁴¹ Za redovitu i jednostavniju intraventrikularnu primjenu nužno je postaviti rezervoar Ommaya putem kojega je moguća isporuka lijeka u cerebrospinalnu tekućinu.

Transplantacija matičnih hematopoetskih stanica bila je prva specifična terapija za lizosomske bolesti nakupljanja i provodila se prije dostupnosti ENT-a. I danas je terapija izbora za Hurlerin tip MPS I i Krabbeovu bolest. Djeluje tako da dio donorskih stanica prolazi KMB gdje se diferencira u mikrogliju koja potom stvara enzim. Enzim izlučen u međustanični prostor ulazi u neurone te se tako zaustavlja proces neurodegeneracije. Pritom je važno transplantaciju napraviti u presimptomatskoj fazi ili što ranije, jer to utječe na neurološki ishod, a pogotovo u brzo progresivnim neurodegenerativnim bolestima. Nedostatak je značajan peritransplantacijski rizik.⁴³

Terapija malim molekulama uključuje farmakološke šaperone i inhibitore sinteze supstrata. Prednosti su što ove molekule zbog male veličine imaju dobru biodistribuciju i što se primjenjuju peroralno. Molekule pratitelji ili **farmakološki šaperoni** selektivno se i reverzibilno vežu za mutirani protein i omogućavaju njegovu pravilnu konformaciju te ga tako stabiliziraju, što sprječava njegovu razgradnju i omogućava prijenos do lizosoma. Ova terapija je učinkovita u mutacijama pogrešnog smisla koje ne utječu na sintezu proteina i ne zahvaćaju aktivno mjesto enzima.⁴⁴ **Inhibitori sinteze supstrata**, kao što im ime kaže, smanjuju stvaranje supstrata i tako sprječavaju njegovo nakupljanje. Inhibitori sinteze supstrata su dostupni su za Niemann-Pickovu bolest tipa C (miglustat) i Gaucherovu bolest (miglustat i eliglustat), dok je za Fabryjevu bolest dostupan farmakološki šaperon (migalastat), ali samo za pacijente s određenim mutacijama.^{45,46} Iako nije registriran za tu indikaciju i koristi se u *off-label* primjeni, ambroksol se pokazao učinkovitim šaperonom u liječenju sistemskih simptoma i sprječavanju neurološke progresije Gaucherove bolesti.^{47,48}

Genska terapija je obećavajući modalitet liječenja lizosomskih bolesti nakupljanja jer je dostatno relativno malo podići enzimsku aktivnost, na manje od 10% od normalne, da se izbjegne prekomjerno nakupljanje supstrata i klinički izražaj bolesti. Velika prednost je parakrino djelovanje lizosomskih enzima pa transfekcija dijela stanica omogućava da se iz njih enzimom opskrbe i okolne stanice.⁴⁹ Primjena može biti *ex vivo*, što se odnosi na transfekciju vlastitih matičnih stanica virusnim vektorom koji nosi gen ili uređivanjem (editiranjem) gena pomoću endonukleaza, nakon čega se

stanice vraćaju u organizam. Prednost u odnosu na alogenu transplantaciju hematopoetskih matičnih stanica jest izostanak imunološkog odgovora i regenerativni potencijal vlastitih pluripotentnih stanica. *In vivo* genska terapija bazirana je na direktnom injektiranju virusnog vektora koji nosi gen u krvotok ili organ. Transgen se ne ugrađuje u DNA domaćina, nego je u obliku episoma (mala kružna DNA) smješten u jezgri gdje koristi stanične mehanizme replikacije. Princip djelovanja je sličan kao u ENT-u, ali se enzim stvara endogeno. Prednosti su učinkovitost u liječenju neuropatske bolesti (bilo intravenskom primjenom ili direktno u SZS) i to što je najčešće dostatna jednokratna primjena.⁴¹ Genska terapija je u fazama kliničkih istraživanja za više bolesti (Gaucherova, Fabryjeva, Pompeova i Krabbeova bolest, GM1 i GM2 gangliozidoza, MPS I, II, IIIA, IIIB i IV, NCL2 i neke druge neuronske ceroidne lipofuscinoze), dok je za brojne druge bolesti u pretkliničkim fazama istraživanja.⁵⁰ Unazad godinu dana dostupna je *ex vivo* genska terapija za metakromatsku leukodistrofiju koja je u kliničkim studijama pokazala sigurnost i učinkovitost.⁵¹

Različitim mehanizmom od prethodno spomenutih djeluje cisteamin koji se koristi u liječenju cistinoze. Ovaj lijek stvara disulfidni spoj s cistinom i omogućuje njegov prijenos iz lizosoma te tako smanjuje nakupljanje cistina i usporava progresiju bolesti.⁵³

Uz specifično liječenje vrlo je važno pacijentima osigurati simptomatsku i potpurnu terapiju, redovitu fizikalnu i respiratornu terapiju, nutritivnu potporu, zaštitu od infekcija i drugo, ovisno o simptomima i zahvaćenim organskim sustavima. Najčešće je za to potreban multidisciplinarni pristup i dodatna znanja specijalista o lizosomskim bolestima. Zbog toga je dobro da se pacijenti prate u specijaliziranim centrima, dok se primjena ENT-a može provoditi u najbližim zdravstvenim ustanovama.

Zaključak

Lizosomske bolesti nakupljanja su velika skupina bolesti raznolike kliničke slike, a većinom su multisistemske bolesti progresivnog tijeka. Zahvaljujući napretku u biotehnologiji, za najčešće bolesti imamo dostupnu specifičnu terapiju, učinkovitost koje ovisi o zahvaćenosti pojedinih tkiva i njezinoj uznapredovalosti. Zbog nespecifičnih simptoma i heterogene kliničke slike velik je izazov na vrijeme prepoznati ove bolesti. Zato se posljednjih godina provodi selektivni probir u obliku testiranja enzimske aktivnosti iz suhe kapi krvi u pacijenata s određenim kliničkim znakovima, a sve više država ove bolesti uključuje u programe novorođenačkog probira. Svjesnost o lizosomskim bolestima i nama dostupne mogućnosti dijagnostike osigurat će ranije postavljanje dijagnoze i bolji ishod liječenja.

Zahvala

Danijela Petković Ramadža, Tamara Žigman i Ivo Barić članovi su Europske mreže referentnih centara za rijetke nasljedne metaboličke bolesti (*European Reference Network for Rare Hereditary Metabolic Disorders – MetabERN – Project ID #739543*).

Hvala dr. sc. Mariji Barišić Kutija na ustupljenoj fotografiji cistinskih kristala u rožnici i prof. dr. sc. Marijani Čorić na fotografiji histološkog preparata.

LITERATURA

1. Platt FM, d'Azzo A, Davidson BL, Neufeld EF, Tiffit CJ. Lysosomal storage diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2018;4(1):27.
2. Mehta A, Beck M, Linhart A, Sunder-Plassmann G, Widmer U. History of lysosomal storage diseases: an overview. U: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, ur. *Fabry disease: perspectives from 5 years of FOS*. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006.
3. Futterman AH, van Meer G. The cell biology of lysosomal storage disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2004;5:554–65.
4. Greiner-Tollersrud OK, Berg T. Lysosomal Storage Disorders. U: Madame Curie Bioscience Database [Internet]. Austin (TX): Landes Bioscience; 2000–2013. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6177/>
5. Ballabio A, Gieselmann V. Lysosomal disorders: from storage to cellular damage. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1793:684–96.
6. Parenti G, Medina DL, Ballabio A. The rapidly evolving view of lysosomal storage diseases. *EMBO Mol Med*. 2021;13(2):e12836.
7. Breiden B, Sandhoff K. Mechanism of secondary ganglioside and lipid accumulation in lysosomal disease. *Int J Mol Sci*. 2020;21(7):2566.
8. Kingma SD, Bodamer OA, Wijburg FA. Epidemiology and diagnosis of lysosomal storage disorders; challenges of screening. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2015;29(2):145–57.
9. Fletcher JM. Screening for lysosomal storage disorders – a clinical perspective. *J Inher Metab Dis* 2006;405–8.
10. Roshan Lal T, Sidransky E. The spectrum of neurological manifestations associated with Gaucher disease. *Diseases*. 2017;5(1):10.
11. Wenger DA, Coppola S, Liu SL. Lysosomal storage disorders: diagnostic dilemmas and prospects for therapy. *Genet Med*. 2002;4(6):412–9.
12. Xiao C, Koziura M, Cope H, Spillman R, Tan K, Hisama FM i sur. Adults with lysosomal storage diseases in the undiagnosed diseases network. *Mol Genet Genomic Med*. 2022;10(9):e2013.
13. Pará C, Bose P, Pshezhetsky AV. Neuropathophysiology of lysosomal storage diseases: synaptic dysfunction as a starting point for disease progression. *J Clin Med*. 2020;9(3):616.
14. Maegawa GHB. Lysosomal leukodystrophies lysosomal storage diseases associated with white matter abnormalities. *J Child Neurol*. 2019;34(6):339–58.
15. Chen H, Chan AY, Stone DU, Mandal NA. Beyond the cherry-red spot: ocular manifestations of sphingolipid-mediated neurodegenerative and inflammatory disorders. *Surv Ophthalmol*. 2014;59(1):64–76.
16. Blau N, Dionisi Vici C, Ferreira C, Vianey-Saban C, van Karnebeek K, ur. *Physician's guide to the diagnosis, treatment,*

- and follow-up of inherited metabolic diseases. 2 izd. Springer Nature Switzerland; 2022. Poglavlje 7: Storage disorders.
17. Zhou J, Lin J, Leung WT, Wang L. A basic understanding of mucopolysaccharidosis: incidence, clinical features, diagnosis, and management. *Intractable Rare Dis Res.* 2020;9(1):1–9.
 18. Wiesinger T, Schwarz M, Mechtler TP, Liebmann-Reindl S, Streubel B, Kasper DC. α -Mannosidosis – an underdiagnosed lysosomal storage disease in individuals with an ‘MPS-like’ phenotype. *Mol Genet Metab.* 2020;130(2):149–52.
 19. Petković Ramadža D. Pompeova bolest – progresivna multi-organska bolest: dijagnostički i terapijski izazovi. *Paediatr Croat.* 2020; 64(2):253–9.
 20. Bašić Kes V, Kes P. Dijagnostika i praćenje bolesnika s Anderson Fabryjevom bolešću. *Acta Med Croatica.* 2019;73:355–66.
 21. Weinreb NJ, Goker-Alpan O, Kishnani PS, Longo N, Burrow TA, Bernat JA i sur. The diagnosis and management of Gaucher disease in pediatric patients: Where do we go from here? *Mol Genet Metab.* 2022;136(1):4–21.
 22. McGovern MM, Avetisyan R, Sanson BJ, Lidove O. Disease manifestations and burden of illness in patients with acid sphingomyelinase deficiency (ASMD). *Orphanet J Rare Dis.* 2017;12(1):41.
 23. Newton J, Milstien S, Spiegel S. Niemann-Pick type C disease: The atypical sphingolipidosis. *Adv Biol Regul.* 2018;70:82–8.
 24. Salsano E, Umeh C, Rufa A, Pareyson D, Zee DS. Vertical supranuclear gaze palsy in Niemann-Pick type C disease. *Neurol Sci.* 2012;33(6):1225–32.
 25. Ramadža DP, Čuk M, Zibar K, Barić M, Sarnavka V, Bilić K i sur. Manjak lizosomske kisele lipaze u djece: vlastita iskustva i nova mogućnost enzimskoga nadomjesnog liječenja. *Lijec Vjesn.* 2015;137(3-4):81–7.
 26. Prpić I. Rana dijagnoza neuronske ceroidne lipofuscinoze tip 2 – mit ili stvarnost? *Paediatr Croat.* 2020;64:223–8.
 27. Shaimardanova AA, Chulpanova DS, Solovyeva VV, Mullagulova AI, Kitaeva KV, Allegrucci C i sur. Metachromatic leukodystrophy: diagnosis, modeling, and treatment approaches. *Front Med (Lausanne).* 2020;7:576221.
 28. Elmonem MA, Veys KR, Soliman NA, van Dyck M, van den Heuvel LP, Levchenko E. Cystinosis: a review. *Orphanet J Rare Dis.* 2016;11:47.
 29. Fumić K. Uloga laboratorijske dijagnostike u dijagnostičkoj obradi djece pri sumnji na rijetke neurometaboličke bolesti. *Paediatr Croat.* 2020;64:269–75.
 30. Elmonem MA, Abdelazim AM. Novel biomarkers for lysosomal storage disorders: Metabolomic and proteomic approaches. *Clin Chim Acta.* 2020;509:195–209.
 31. Reuser AJ, Verheijen FW, Bali D, van Diggelen OP, Germain DP, Hwu WL i sur. The use of dried blood spot samples in the diagnosis of lysosomal storage disorders-current status and perspectives. *Mol Genet Metab.* 2011;104(1-2):144–8.
 32. Tamargo RJ, Velayati A, Goldin E, Sidransky E. The role of saposin C in Gaucher disease. *Mol Genet Metab.* 2012;106(3):257–63.
 33. Zanetti A, D’Avanzo F, Bertoldi L, Zampieri G, Feltrin E, De Pascale F i sur. Setup and validation of a targeted next-generation sequencing approach for the diagnosis of lysosomal storage disorders. *J Mol Diagn.* 2020;22(4):488–502.
 34. Maire I. Is genotype determination useful in predicting the clinical phenotype in lysosomal storage diseases? *J Inherit Metab Dis.* 2001;24:57–61.
 35. Gelb MH, Basheeruddin K, Burlina A, Chen HJ, Chien YH, Dizikes G i sur. Liquid chromatography-tandem mass spectrometry in newborn screening laboratories. *Int J Neonatal Screen.* 2022;8(4):62.
 36. Wasserstein MP, Orsini JJ, Goldenberg A, Caggana M, Levy PA, Breilyn M i sur. The future of newborn screening for lysosomal disorders. *Neurosci Lett.* 2021;760:136080.
 37. <https://www.hrsa.gov/advisory-committees/heritable-disorders/rusp>
 38. Gragnaniello V, Cazzorla C, Guerardi D, Puma A, Loro C, Porcù E i sur. Light and shadows in newborn screening for lysosomal storage disorders: eight years of experience in Northeast Italy. *Internat J Neonatal Screen.* 2024;10(1):3.
 39. Fernández-Pereira C, San Millán-Tejado B, Gallardo-Gómez M, Pérez-Márquez T, Alves-Villar M, Melcón-Crespo C i sur. Therapeutic approaches in lysosomal storage diseases. *Biomolecules.* 2021;11(12):1775.
 40. Concolino D, Deodato F, Parini R. Enzyme replacement therapy: efficacy and limitations. *Ital J Pediatr.* 2018;44(2):120.
 41. Ellison S, Parker H, Bigger B. Advances in therapies for neurological lysosomal storage disorders. *J Inherit Metab Dis.* 2023; 46(5):874–905.
 42. Scarpa M, Bellettato CM, Lampe C, Begley DJ. Neuronopathic lysosomal storage disorders: Approaches to treat the central nervous system. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2015; 29(2):159–71.
 43. Biffi A. Hematopoietic Stem Cell Gene Therapy for Storage Disease: Current and New Indications. *Mol Ther.* 2017;25(5): 1155–62.
 44. Liguori L, Monticelli M, Allocca M, Hay Mele B, Lukas J, Cubellis MV i sur. Pharmacological chaperones: A therapeutic approach for diseases caused by destabilizing missense mutations. *Int J Mol Sci.* 2020;21(2):489.
 45. Peterschmitt MJ, Freisens S, Underhill LH, Foster MC, Lewis G, Gaemers SJM. Long-term adverse event profile from four completed trials of oral eliglustat in adults with Gaucher disease type 1. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14(1):128.
 46. van der Veen SJ, Hollak CEM, van Kuilenburg ABP, Langeveld M. Developments in the treatment of Fabry disease. *J Inherit Metab Dis.* 2020;43(5):908–21.
 47. Ramadža DP, Zekušić M, Žigman T, Škaričić A, Bogdanić A, Mustać G i sur. Early initiation of ambroxol treatment diminishes neurological manifestations of type 3 Gaucher disease: A long-term outcome of two siblings. *Eur J Paediatr Neurol.* 2021;32:66–72.
 48. Weinreb NJ, Goker-Alpan O. Ambroxol as therapy for Gaucher disease – ambitious but ambivalent. *JAMA Netw Open.* 2023;6(6):e2319336.
 49. Parenti G, Andria G, Ballabio A. Lysosomal storage diseases: from pathophysiology to therapy. *Annu Rev Med.* 2015;66: 471–86.
 50. Kido J, Sugawara K, Nakamura K. Gene therapy for lysosomal storage diseases: Current clinical trial prospects. *Front Genet.* 2023;14:1064924.
 51. Calbi V, Fumagalli F, De Mattia F, Zambon A, Gallo V, Recupero S i sur. Atidarsagene autotemcel (autologous hematopoietic stem cell gene therapy) preserves cognitive and motor development in early-onset metachromatic leukodystrophy with up to 12 years follow-up. *J Inherit Metab Dis.* 2023; 46(S1):A33.
 52. Cherqui S. Cysteamine therapy: a treatment for cystinosis, not a cure. *Kidney Int.* 2012;81(2):127–9.