

Univerzita Karlova
1. lékařská fakulta
Autoreferát disertační práce



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

Neurologické projevy u lyzozomálně střeďavých onemocnění

MUDr. Jitka Májovská

2023

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova a Akademie věd České republiky

Obor: Preventivní medicína a epidemiologie

Předseda oborové rady: doc. MUDr. Jan Polák, Ph.D., MBA

Školící pracoviště: Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1.LF a
UK VFN v Praze

Školitel: doc. MUDr. Martin Magner, Ph.D.

Konzultant: doc. MUDr. Petr Dušek, Ph.D.

Abstrakt

Úvod: Lyzozomálně strádává onemocnění (LSD) jsou vzácnou příčinou neurologických symptomů v dětském i dospělém věku. Cílem této práce bylo klinicky charakterizovat pacienty s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci (late-onset form of Tay-Sachs disease – LOTS) a alfa-mannosidózou (AM) a identifikovat typické neuroradiologické nálezy při zobrazení mozku magnetickou rezonancí (MR).

Materiál a metody: Do studie jsme zahrnuli pacienty s geneticky či enzymologicky prokázanou LOTS a AM, kteří podstoupili zobrazení mozku MR.

Výsledky: Publikovali jsme souhrnné informace v kohortě 14 českých pacientů s LOTS. Ve spolupráci se zahraničními centry jsme dále publikovali analýzu neuroradiologických nálezů – u 16 pacientů s LOTS a 14 pacientů s AM. LOTS se u našich pacientů klinicky manifestovala triádou příznaků cerebelárních, v kombinaci se symptomy z postižení dolního motoneuronu a psychiatrickými symptomy. U dvou českých pacientů s LOTS byla popsána nová patogenní varianta c.754C>T v genu pro hexosaminidázu A. Tito pacienti se vyznačovali pomalým průběhem onemocnění, s mírnou slabostí dolních končetin, mírnými cerebelárními příznaky a normální kognicí. Nejvýznamnějším neuroradiologickým nálezem u LOTS i AM byl nález cerebelární atrofie. U LOTS se jedná o pontocerebelární atrofii, která je mimo jiné typická také pro spinocerebelární ataxii či multisystémovou atrofii. Při současné přítomnosti pontocerebelární atrofie spolu s klinicky vyjádřenými mozečkovými příznaky by proto v diferenciální diagnostice mělo být vedle dalších v dospělosti počínajících ataxií pomýšleno i na LOTS. U AM jsme dále potvrdili snížený signál bazálních ganglií a thalamů v T2 vážené MR, který je obvykle způsoben akumulací železa. AM se dle výsledků naší studie neřadí mezi neurodegenerativní onemocnění s akumulací železa. Svědčí pro to výsledky profilu normalizovaného T2 signálu, které demonstrovaly, že signál zdánlivě hypointenzních thalamů a globus pallidus nebyl odlišný mezi pacienty s AM a kontrolami.

Závěr: Naše studie pomohla identifikovat typické klinické a neuroradiologické nálezy u pacientů se dvěma vzácnými LSD. Tyto informace mohou pomoci časné diagnostice nových pacientů a tím jejich přístupu k léčbě či genetickému poradenství.

Klíčová slova: adultní forma Tay-Sachsovy nemoci, alfa-mannosidóza, lyzozomálně strádává onemocnění, pontocerebelární atrofie

Abstract

Objective: Lysosomal storage disorders (LSD) represent a rare cause of neurologic impairment in childhood and adulthood. The aim of our study was to characterize patients with late-onset form of Tay-Sachs disease (LOTS) and alpha-mannosidosis (AM) and to identify typical brain MRI findings.

Methods: Patients with a genetically or enzymatically confirmed diagnosis of LOTS or AM and at least one brain MRI examination were included in the study.

Results: We have characterized the clinical manifestation in a unique cohort of 14 Czech patients with LOTS. As results of international cooperation, we also published analysis of neuroradiological findings in 16 patients with LOTS disease and 14 patients with AM. Patients with LOTS clinically manifested by cerebellar symptoms, progressive motor neuron disease and psychiatric symptoms. A novel pathogenic variant c.754C>T in HEXA gene was described in two brothers. Disease was outlined by the slower disease course, milder weakness of lower limbs, milder cerebellar symptomatology and normal cognitive function in them. The hallmark of neuroradiological findings was the cerebellar atrophy in both LOTS and AM. It was the pontocerebellar atrophy in LOTS, the finding which is also typical for spinocerebellar ataxia or multiple system atrophy. The concurrent presence of pontocerebellar atrophy with cerebellar symptoms imply that LOTS should be considered the differential diagnosis of adult-onset cerebellar ataxias. We could confirm the decreased signal in basal ganglia and thalamus in T2 weighted brain MRI in AM, commonly interpreted as a result of iron accumulation. However, based on results of our study, AM should not be included in neurodegeneration with brain iron accumulation disorders. The signal intensity profiling demonstrated that the hypointense appearance of thalami and globus pallidus did not differ between AM patients and controls.

Conclusion: Our studies helped to identify the typical clinical and neuroradiological findings in patients with two rare LSD. This knowledge can help in early diagnosis of new patients and in accelerating their approach to the treatment and genetic counseling.

Key words: alpha-mannosidosis, late-onset form of Tay-Sachs disease, lysosomal storage disorders, pontocerebellar atrophy

Obsah

1. ÚVOD	6
1.1. ADULTNÍ FORMA TAY-SACHSOVY NEMOCI	7
1.2. ALFA-MANNOSIDÓZA	7
2. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE	8
3. MATERIÁL A METODIKA	9
3.1. PACIENTI	9
3.2. STATISTIKA	9
3.3. ETIKA	9
4. VÝSLEDKY	9
4.1. STUDIE I - KLINICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI V ČR.....	9
4.2. STUDIE II - NEURORADIOLOGICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI	11
4.3. STUDIE III - KVANTITATIVNÍ ANALÝZA NEURORADIOLOGICKÝCH NÁLEZŮ U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI.....	14
4.4. STUDIE IV - KLINICKÉ A NEURORADIOLOGICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ALFA-MANNOSIDÓZOU	17
6. ZÁVĚR	22
7. POUŽITÁ LITERATURA	23
8. SEZNAM PUBLIKACÍ	24
8. 1. PUBLIKACE, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTAČNÍ PRÁCE	24
8.2. PUBLIKACE BEZ VZTAHU K DISERTACI	25

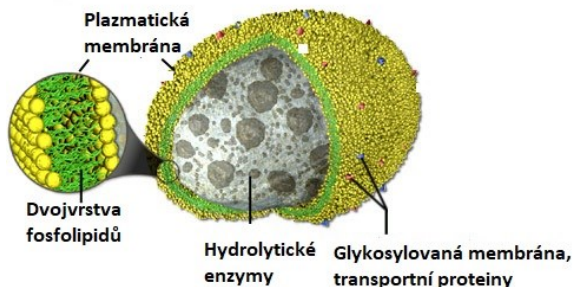
1. ÚVOD

Lysozomy (obr.1) jsou membránou ohraničené organely uložené v cytoplasmě všech eukaryotických buněk (Trivedi P.C. et al., 2020). Přestože jsou známé již více než šedesát let, poslední desetiletí neustále přinášejí nové objevy o jejich dalších funkcích (Parenti G. et al., 2021).

Geneticky podmíněné poruchy lysozomálních enzymů, jejich aktivátorů či lysozomálních membránových proteinů jsou příčinou více než 70 lysozomálně strádavých onemocnění (LSD) (Platt F.M. et al., 2018). Přestože se jedná o onemocnění s často velmi variabilními multisystémovými projevy, nezářídka bývají v popředí symptomy vyplývající z postižení centrálního (CNS) či periferního nervového systému (PNS) (Giugliani R. et al., 2018). Právě neurologické příznaky mívají často na kvalitu života pacientů s LSD největší dopad, přičemž terapeuticky jsou jen obtížně ovlivnitelné.

Ačkoliv se jedná o vzácná onemocnění, celková prevalence není nezanedbatelná (Parenti G. et al., 2015). Diagnostika bývá bohužel často o mnoho let opožděna. Včasná diagnostika je přitom zásadní pro zahájení terapie, možnosti prenatální diagnostiky, genetického poradenství v rodinách či případné účasti v klinických studiích.

Cílem disertační práce je popis neurologických a psychiatrických symptomů a charakteristických neuroradiologických nálezů při zobrazení CNS u pacientů s LSD, a to zejména s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci a alfa-mannosidózou.



Obr.

1:Struktura lysozomu.

Lysozom ohraničuje plazmatická membrána tvořená z dvojvrstvy fosfolipidů. V membráně jsou zabudovány transmembránové proteiny. Uvnitř lysozomu jsou desítky hydrolytických enzymů.

Zdroj: <https://micro.magnet.fsu.edu/cells/lysosomes/lysosomes.html>.

1.1. ADULTNÍ FORMA TAY-SACHSOVY NEMOCI

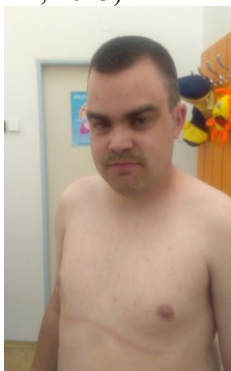
Adultní forma Tay-Sachsovy nemoci (late-onset Tay-Sachs disease - LOTS) se manifestuje v adolescenci či časně dospělosti. Charakteristickými symptomy jsou pomalu progredující neurologické symptomy zahrnující slabost dolních končetin, cerebelární příznaky jako je dysartrie, tremor nebo inkoordinace či dystonie (Toro C. et al., 2020). U některých pacientů se nemoc manifestuje primárně psychiatrickými příznaky, a to zejména hebefrenní schizofrenií nebo depresí (Streifler J. et al., 1989).

Variabilní klinické příznaky, vzácnost onemocnění i různý věk v době manifestace je pravděpodobnou příčinou poddiagnostikování této nemoci (Neudorfer O. et al., 2005). Pacienti jsou často vyšetřováni pro spinální muskulární atrofii III. typu, amyotrofickou laterální sklerózu, spinocerebelární či Friedreichovu ataxii.

1.2. ALFA-MANNOSIDÓZA

Alfa-mannosidóza (AM) je pomalu progredující lyzozomálně strádavé onemocnění zapříčiněné mutací v genu *MAN2B1* a vedoucí k poruše aktivity enzymu alfa-D-mannosidázy. Vlivem defektního enzymu dochází k akumulaci oligosacharidů obsahujících mannózu (Magner M. et al., 2008). Jedná se o autozomálně recesivní onemocnění s udávanou incidencí 1:500 000 – 1:000 000 (Magner M. et al., 2008).

AM se klinicky manifestuje poruchou růstu, hepatomegalií, kostními deformitami s radiologickými projevy dysostosis multiplex, opakovanými infekty zapříčiněnými imunodeficitem, faciálními abnormalitami (obr. 2) či poruchou sluchu. (Beck M. et al., 2013).



Obr. 2: 25letý pacient s alfa-mannosidózou.

Přítomné jsou hrubší rysy obličeje, protuberující nadočnicové oblouky, širší kořen nosu. Obrázek z archivu doc. MUDr. Magnera, Ph.D., publikováno se souhlasem rodičů.

2. HYPOTÉZY A CÍLE PRÁCE

Vzhledem k novým možnostem terapie a dostupnosti prenatalní diagnostiky je u pacientů s LSD klíčová časná diagnostika. Ta bývá však zejména u pacientů s pozdním nástupem onemocnění či necharakteristickými příznaky o řadu let opožděna. Neurologické a psychiatrické projevy jsou často prvními příznaky, díky kterým bychom měli na LSD pomýšlet.

V práci jsme se zaměřili na dvě onemocnění – alfa-mannosidózu a adultní formu Tay-Sachsovy nemoci. Jedná se o vzácná, málo prozkoumaná a jednoznačně poddiagnostikovaná onemocnění, jejichž význam podporuje fakt, že je pro ně nově dostupná již schválená léčba (AM) nebo probíhá klinická studie s nově navrženou terapií (LOTS).

V práci jsme si proto stanovili následující cíle:

1) Popis přirozeného průběhu a frekvence neurologických a psychiatrických příznaků českých pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci (GM2 gangliosidózou).

V České republice byla diagnostikována unikátní kohorta pacientů s LOTS. Cílem tohoto bodu práce je podrobný popis klinické manifestace v této skupině pacientů.

2) Popis a kvantitativní analýza nálezů magnetické rezonance centrálního nervového systému u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci (GM2 gangliosidózou).

V kohortě pacientů zmíněných v bodě 1 dosud nebyly blíže charakterizovány neuroradiologické nálezy. Zobrazení mozku pomocí MR bývá jedním z prvních vyšetření při manifestaci neurologických potíží a samotný neuroradiologický nálezy může vznést podezření na tuto diagnózu. V tomto bodě jsme si stanovili za cíl podrobně popsat neuroradiologické nálezy u pacientů s LOTS včetně kvantitativní analýzy.

3) Popis klinických symptomů a nálezů magnetické rezonance centrálního nervového systému u pacientů s alfa-mannosidózou.

Alfa-mannosidóza je ultravzácné onemocnění. Navzdory dominantní neurologické symptomatologii pacientů bylo publikováno pouze několik studií zaměřených na neuroradiologické nálezy. Cílem naší práce proto bylo komplexně charakterizovat nálezy při zobrazení MR mozku.

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1. PACIENTI

Ve studiích byla publikována anonymizovaná klinická a laboratorní data pacientů s prokázaným lyzozomálním onemocněním potvrzeným na enzymatické a/nebo molekulárně-genetické úrovni. Definice jednotlivých příznaků a použité radiodiagnostické protokoly jsou uvedeny v každé studii zvlášť.

3.2. STATISTIKA

Rozdíly mezi LOTS pacienty a kontrolní skupinou byly provedeny za použití jednocestného obecného lineárního modelu. Shoda mezi hodnotiteli byla hodnocena pomocí Spermanova korelačního koeficientu. P-hodnota $<0,05$ (pro oboustranný test) byla stanovena jako statisticky signifikantní. Pro statistickou analýzu byl použit program IBM SPSS statistika verze 25 (IBM, Armonk, NY, USA). Grafy byly zakresleny pomocí Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

3.3. ETIKA

Veškeré informace byly získány v souladu s doporučeními Helsinské deklarace, revidované v roce 2000. Všichni vyšetřovaní pacienti podepsali informovaný souhlas s genetickým testováním. Neuroradiologické studie pacientů s LOTS a alfa-mannosidózou byly schválená Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v Praze (Etická komise, schvalovací číslo:1471/19).

4. VÝSLEDKY

4.1. STUDIE I - KLINICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI V ČR

Metodika

Do studie byli zahrnuti pacienti s diagnózou adultní formy Tay-Sachsovy nemoci, kterým byla definitivní diagnóza stanovena na Klinice pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF a UK v Praze (KPDPM 1.LF a UK v Praze). U dvou pacientů byla diagnóza primárně potvrzena metodou celoexomového sekvenování na Ústavu biologie a lékařské genetiky 2. LF a UK FN Motol v Praze. Klinická vyšetření byla provedena na KPDPM ve

spolupráci s ošetřujícími neurology v místě bydliště. Vyšetření MR a elektromyografií byla provedena ošetřujícími neurology v místě bydliště.

Výsledky

V České republice bylo v letech 2002 až 2018 diagnostikováno celkem 14 pacientů (9 žen, 5 mužů) s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci. Vypočítaná frekvence výskytu LOTS pro ČR je 1:325 175 živě narozených. Prevalence všech forem Tay-Sachsovy nemoci v ČR je pak 1: 212 071 živě narozených. Žádný z pacientů nebyl aškenazského původu. Medián věku prvních symptomů byl 21 let (rozmezí 10-33 let). Medián diagnostického zpoždění byl 10.5 let (rozmezí 0-29 let). U dvou bratrů byla nalezena dříve nepopsaná nová patogenní varianta c.754C>T (p.Arg.252Cys).

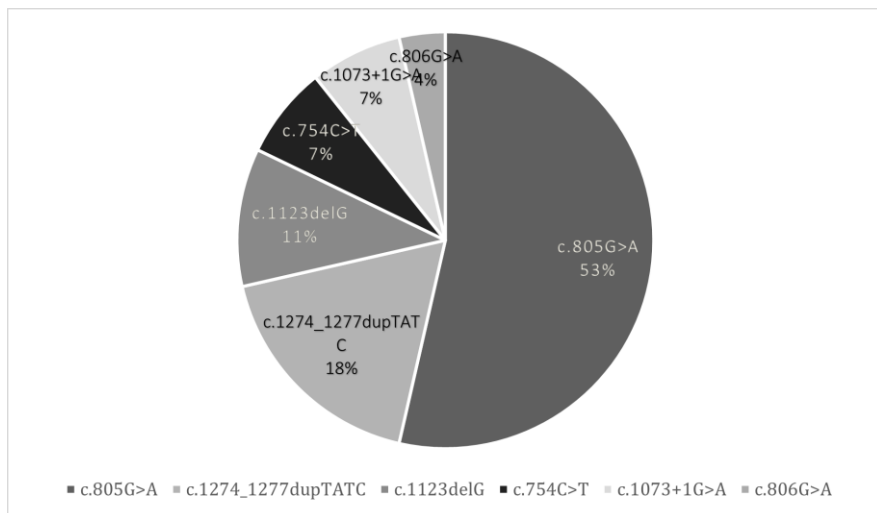
Klinická manifestace

Hlavní klinické příznaky v době manifestace zahrnovaly mírné artikulační potíže (9 pacientů), proximální svalovou slabost dolních kočetin limitující chůzi nahoru a dolů po schodech (9 pacientů) a dysmetrii, tremor a nestabilní chůzi s četnými pády (8 pacientů). Z psychiatrických příznaků v době manifestace se vyskytlo psychotické a/nebo maniodepresivní onemocnění (3 pacienti). U všech 14 pacientů byl na MR mozku nález cerebelární atrofie.

Laboratorní nálezy

Reziduální enzymová aktivita dosahovala 1.8-4.1% aktivity zdravých kontrol. Všichni pacienti byli nositeli pro LOTS typické patogenní varianty c.805G>A (p.Gly269Ser) alespoň na jedné alele genu *HEXA*, u jednoho z pacientů pak byla přítomna na obou alelách.

U poloviny pacientů byla nalezena složená heterozygotita pro c.805G>A a dříve popsanou nulovou patogenní variantu (c.1073+1G>A nebo c.1274_1277dupTATC). U tří pacientů byla nalezena posunová patogenní varianta c.1123delG. U dvou bratrů byla nalezena dříve nepopsaná nová patogenní varianta c.754C>T (p.Arg.252Cys) (obr. 3).



Obr. 3: Frekvence patogenních variant u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci.

4.2. STUDIE II - NEURORADIOLOGICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI

Metodika

Do retrospektivní studie jsme zahrnuli 16 pacientů ze 13 rodin s geneticky potvrzenou diagnózou LOTS nemoci a alespoň s jedním dostupným vyšetřením MR mozku. Pacienti byli rekrutováni ze dvou center – KPDPM 1. LF a UK v Praze (n=14) a Kliniky neurologie Ludwig-Maximiliansovy univerzity v Mnichově (n=2). Jako kontrolní skupina bylo do studie zahrnuto 16 pacientů, kteří podstoupili MR pro bolesti hlavy a měli strukturálně normální nález mozku.

Celkem bylo hodnoceno 32 zobrazení MR. Všechna MR zobrazení zahrnovala standardní T1, T2 a FLAIR pulzní sekvence. Kontrolní skupina pacientů měla normální neuroradiologický nález a sekvence podobné skupině pacientů s LOTS.

Dva na sobě nezávislé hodnotitelné skórovali předem definované markery: přítomnost „vertical line/hot cross bun sign“ v pontu, závažnost cerebelární kortikální atrofie, transverzální průměr 4. komory mozkové, průměry horního a středního mozečkového stonku, středosagitální plochu středního mozku, pontu a prodloužené míchy.

Výsledky

Charakteristika pacientů

Medián věku nástupu prvních symptomů byl 21.5 let (rozmezí 6-33 let) a medián diagnostického zpoždění byl 12.5 roku (0-31 let). Medián věku v době vyšetření mozku MR užitou ve studii byl 34.5 let (rozmezí 17-54 let).

Z neurologických symptomů byla nejčastější proximální svalová slabost dolních končetin a dysartrie. Oba symptomy byly přítomny u 15/16 pacientů (94%). Další neurologické symptomy zahrnovaly ataxii (13/16; 81%), tremor (11/16; 69%) a dystonii (3/16; 19%). Psychiatrické symptomy nejčastěji zahrnovaly psychózu (5/16; 31%), kognitivní deficit (6/16; 38%) a depresi (4/16; 25%).

MR nálezy

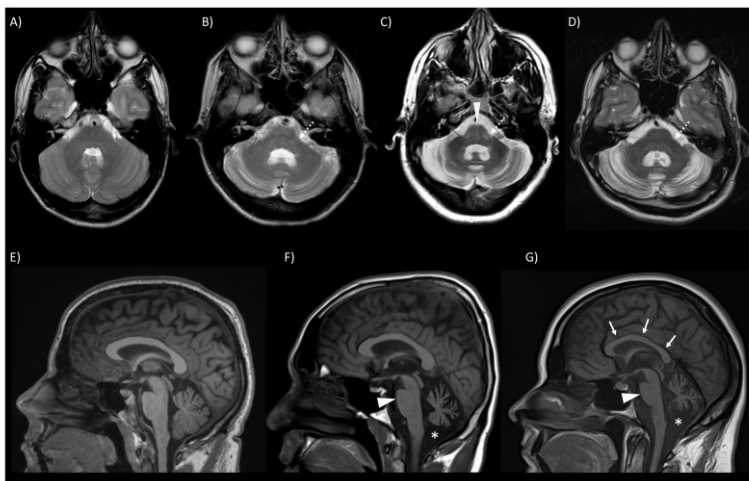
Shoda mezi hodnotiteli pro semikvantitativní měření mozkového kmene a cerebelární atrofie byla dobrá až excelentní s korelačním koeficientem v rozmezí od 0.8 až 0.97 (tab.1).

Vertikální linie v pontu byla přítomna u tří pacientů (19%) (obr. 4), zatímco hot cross bun sign nebyl přítomen u žádného z pacientů. Cerebelární kortikální atrofie byla popsána u všech pacientů a byla hodnocena jako lehká u 1 (6%), střední u 6 (38%) a těžká u 9 (56%) pacientů.

Ve srovnání s kontrolami, pacienti s LOTS měli signifikantně menší průměr středního ($p<0.0001$) a horního mozečkového stonku ($p=0.0002$), sagitální plochu mesencephala ($p=0.002$), sagitální plochu pontu ($p<0.0001$) a větší průměr 4.komory mozkové ($p<0.0001$).

Neshledali jsme žádnou korelaci mezi stupněm cerebelární atrofie a klinickými symptomy, dokonce dva pacienti se střední až těžkou cerebelární kortikální atrofií byli bez klinického nálezu cerebelární ataxie. Stejně tak jsme nenašli asociaci mezi délkou trvání nemoci a ostatními neuroradiologickými nálezy.

Další neuroradiologické nálezy zahrnovaly mírné ztenčení corpus callosum u 6 pacientů (38%), mírnou kortikální atrofií u 3 pacientů (19%) a abnormality intenzity v supratentoriální oblasti u 2 pacientů.



Obr. 4: Neuro-radiologické nálezy u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci.

Reprezentativní axiální T2 obrazy v úrovni čtvrté komory mozkové u A) zdravé kontroly a pacienta s adultní formou TSD s B) mírnou, C) střední a D) těžkou cerebelární kortikální atrofií.

Sagitální T1 obraz E) zdravé kontroly a pacienta s adultní formou TSD se F) střední a G) těžkou cerebelární kortikální atrofií.

Tab. 1: Srovnání MR měření LOTS pacientů a kontrol.

	LOTS pacienti	Kontroly	p-hodnota*	Effect size (Cohen's D)	Shoda mezi hodnotiteli
	Mean (SD)	Mean (SD)			
MCP průměr (mm)	13.06 (1.12)	16.45 (1.55)	<0.0001 (<0.0001)	2.5	0.97
SCP průměr (mm)	1.87 (0.24)	2.35 (0.45)	0.0002 (0.0008)	1.3	0.83
4.komora mozková průměr (mm)	23.22 (3.03)	14.44 (1.22)	<0.0001 (<0.0001)	3.8	0.97
Mesencephalon sagitální plocha (cm ²)	1.67 (0.13)	1.85 (0.18)	0.002 (0.0033)	1.1	0.80
Pons sagitální plocha (cm ²)	4.66 (0.43)	5.73 (0.55)	<0.0001 (<0.0001)	2.2	0.94
Medulla oblongata sagittal area (cm ²)	2.65 (0.23)	2.61 (0.26)	0.555 (0.5797)	0.2	0.95

SD standard deviation, MCP střední cerebelární stonek, SCP horní cerebelární stonek, * p-hodnoty jsou adjustovány na věk a pohlaví (neadjustované hodnoty v závorkách). Signifikantní p-hodnoty po korekci zvýrazněny.

4.3. STUDIE III - KVANTITATIVNÍ ANALÝZA NEURORADIOLOGICKÝCH NÁLEZŮ U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI

Metodika

Do retrospektivní studie bylo zařazeno celkem 14 pacientů (8 mužů, 6 žen) sledovaných ve 3 centrech – na KPDPM 1. LF a UK v Praze (n=9), Univerzitě v Minnesotě (n=4) a na Klinice neurologie Ludwig-Maximiliansovy univerzity v Mnichově (n=1). Jako kontrolní skupina bylo do studie zahrnuto 28 věkově a pohlavím srovnatelných zdravých osob vyšetřených na 1. LF UK bez strukturální abnormality při zobrazení mozku MR.

Obrazy MR pořízené v DICOM formátu byly konvertovány do NifTI za použití programu MRICroGL (www.nitrc.org). Pro zpracování dat a analýzu pomocí voxel-based morfometrie (VBM), deformation-based morfometrie (DBM) a surface-based morfometrie (SBM) byl použit software Statistical Parameter Mapping 12 (SPM12; verze 7771) a Computational Anatomy Toolbox 12 (CAT12; verze CAT12.8.2, r2159).

Výstupy výše uvedených metod byly porovnány pro pacienty s LOTS a zdravé kontroly pomocí neparametrického testu TFCE (threshold-free cluster enhancement) s 10 000 permutacemi (Salimi-Khorshidi G. et al. 2011). Za statisticky významný rozdíl byla považována p hodnota $p < 0.05$ korigovaná na mnohočetné testování FWE – family-wise error).

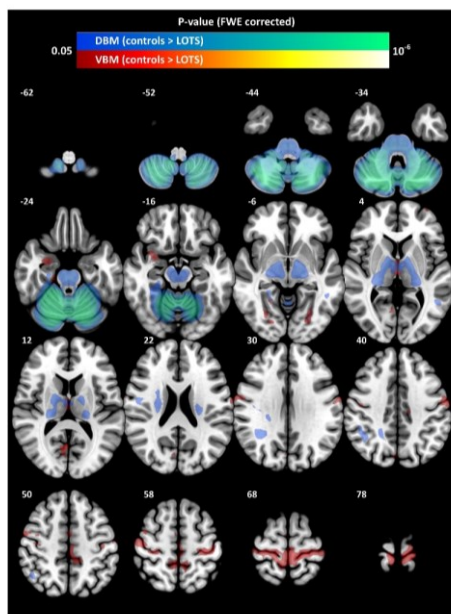
Výsledky

VBM

VBM analýza prokázala atrofii mozečku, anteriorních jader thalamu a části okcipitálního a parietálního kortexu u LOTS pacientů v porovnání s kontrolami ($p < 0.05$, FWE korigovaná; obr.5).

DBM

DBM prokázala pontocerebelární atrofii a dále úbytek mozkové hmoty v oblasti thalamu, capsula interna, tractus corticospinalis a v pravém parietálním laloku ($p < 0.05$, FWE korigovaná).



Obr. 5: Výsledky VBM a DBM pro kontrast LOTS < kontroly.

Mozeček znázorněn pouze metodou DBM pro výrazný překryv s VBM.

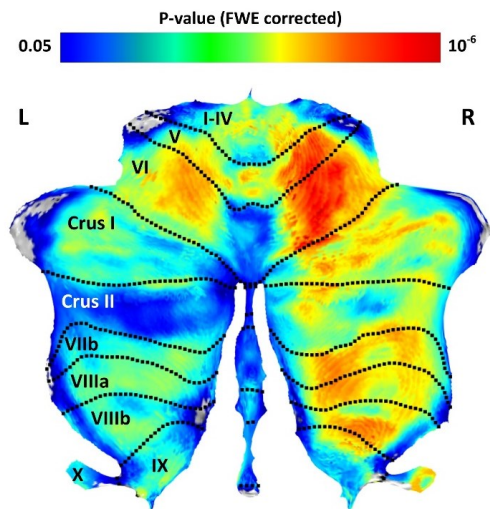
Tloušťka mozkové kůry

V tloušťce mozkové kůry nebyl prokázán žádný signifikantní rozdíl mezi LOTS pacienty a kontrolami. Průměrná kortikální tloušťka LOTS pacientů byla 2.50 mm ve srovnání s 2.49 mm u zdravých kontrol.

SUIT

Analýza cerebelární oblasti pomocí SUIT prokázala ve shodě s dříve publikovanými daty atrofii celého mozečku, přičemž více je postižena pravá hemisféra s nejvýraznějším úbytkem v lobulech V, VI a méně pak v lobulech VII a VIII (obr.6).

Objemová analýza mozečkových struktur dle SUIT atlasu potvrdila, že nejvýraznější atrofie (velikost účinku dle Hedgesova g) postihuje cerebelární lobulus V (Hedgesovo g 2.58) a lobulus VI (Hedgesovo g 2.62) (Tab.2).



Obr.6: Rozbalená, tzv. „plochá mapa“ mozečku znázorňující větší postižené pravé strany (R – pravá, L – levá). Nejvýraznější postižení je patrné v oblasti lobulů V a VI.

Tab. 2: Volumetrické srovnání mozečkových struktur LOTS pacientů a kontrol.

Mozečková struktura	Objem [cm ³]		p-hodnota	Hedgesovo g
	LOTS pacient	kontrola		
Lobulus I-IV	2.96 (0.97)	4.36 (0.39)	<0.001	2.19
Lobulus V	3.63 (1.72)	6.30 (0.41)	<0.001	2.58
Lobulus VI	7.52 (4.06)	13.98 (1.03)	<0.001	2.62
Crus I	11.76 (5.50)	19.99 (1.94)	<0.001	2.34
Crus II	8.90 (4.00)	14.95 (1.55)	<0.001	2.32
Lobulus VIIb	4.69 (2.56)	8.28 (0.93)	<0.001	2.18
Lobulus VIIIa	4.57 (2.39)	7.73 (0.89)	<0.001	2.04
Lobulus VIIIb	3.58 (1.75)	5.83 (0.76)	<0.001	1.91
Lobulus IX	2.27 (1.32)	4.27 (0.68)	<0.001	2.13
Lobulus X	0.69 (0.14)	0.88 (0.10)	<0.001	1.66
Vermis VI	0.80 (0.30)	1.20 (0.10)	<0.001	2.11
Vermis Crus I	0.01 (0.00)	0.01 (0.00)	<0.001	1.22
Vermis Crus II	0.18 (0.06)	0.28 (0.03)	<0.001	2.27
Vermis VIIb	0.08 (0.04)	0.15 (0.03)	<0.001	2.13
Vermis VIIIa	0.54 (0.16)	0.76 (0.07)	<0.001	2.03
Vermis VIIIb	0.30 (0.10)	0.40 (0.05)	<0.001	1.45
Vermis IX	0.34 (0.11)	0.50 (0.08)	<0.001	1.70
Vermis X	0.14 (0.05)	0.20 (0.03)	<0.001	1.64

4.4. STUDIE IV - KLINICKÉ A NEURORADIOLOGICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ALFA-MANNOSIDÓZOU

Metodika

Do retrospektivní studie jsme zahrnuli pacienty s enzymologicky či geneticky prokázanou diagnózou alfa-mannosidóza a s alespoň jedním zobrazením mozku pomocí MR. Pacienti byli sledováni ve třech centrech – na KPDPM VFN a 1. LF UK v Praze (n=5), na Univerzitě v Minnesotě (n=4) a na Univerzitní nemocnici v Bratislavě (n=4). K hodnocení nálezů jsme použili 16 věkově a pohlavím adekvátních kontrol s MR vyšetřením mozku bez nálezu strukturálních abnormalit.

Pro celkem 13 pacientů jsme měli k dispozici 22 zobrazení mozku pomocí MR. Jako kontroly bylo použito 16 zobrazení MR provedených ve stejných centrech a na stejných přístrojích se stejnými parametry při zobrazení.

Tři specialisté v oblasti neuroradiologie se zkušenostmi v hodnocení vzácných onemocnění systematicky vyhodnocovali jednotlivé nálezy a přítomnost předdefinovaných markerů vybraných na základě dříve popsanych nálezů u pacientů s AM: cerebelární a kortikální atrofie, ztenčení corpus callosum, zvětšení cisterna magna, rozšíření perivaskulárních prostor, difúzní a fokální/periventrikulární abnormality signálu bílé hmoty, T2 hypointenzity v jádrech šedé hmoty mozkové, ztlustění perioptických prostor, hypoplázie a ztlustění mukózy paranazálních dutin, ztlustění diploe, abnormality kraniocervikální junkce a sella turcica. Některé z popsanych abnormalit jsou zobrazeny na obrázku 7. Všechny abnormality byly skórovány na tříbodové škále jako (-) chybějící, (+) abnormální a (++) silně abnormální.

Ve studii byla dále vyhodnocována následující klinická data: porucha intelektu, ataktická chůze, postižení sluchu a řeči, hrubé rysy obličeje, nízká postava, onemocnění srdce, hepatomegalie, splenomegalie, adenotomie a tonzilektomie a časté infekty. Porucha intelektu byla hodnocena na čtyřstupňové škále jako (-) chybějící, (+) lehká, (++) mírná a (+++) těžká až hluboká. Ostatní klinické nálezy byly hodnoceny jako (-) chybějící, (+) abnormální a (++) silně abnormální. Nízká postava byla definována jako výška pacienta pod 3. percentil.

Výsledky

Medián věku nástupu prvních příznaků byl 9 měsíců (rozmezí narození – 4 roky). Medián diagnostického zpoždění byl 4,5 roku (rozmezí 8 měsíců – 35 let). U všech pacientů byla přítomna porucha intelektu – lehká u 3 pacientů, středně těžká u 5 pacientů a těžká u 5 pacientů. Další časté neurologické

příznaky zahrnovaly poruchu řeči (12/13 pacientů; 92%) a ataktickou chůzi (9/13 pacientů; 69%). U všech pacientů byla přítomna porucha sluchu a hrubé rysy obličeje. Mezi další časté příznaky patřily postižení srdce (5/9; 56%), nízká postava (6/13; 46%), hepatomegalie (6/13; 46%) a splenomegalie (4/13; 31%). Časté infekty byly pozorovány u (11/13; 85%) pacientů.

Deset pacientů (10/13) podstoupilo adenoidektomii a 4 pacienti (4/13; 31%) pak tonzilektomii.

Neuroradiologické nálezy

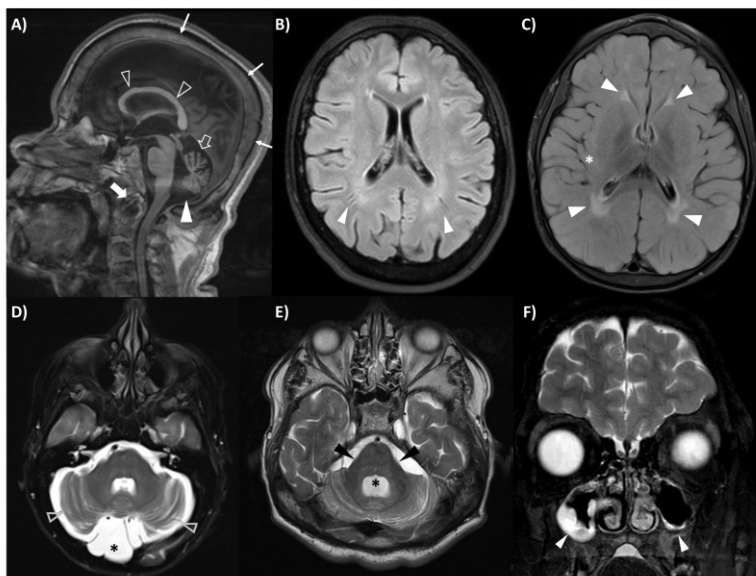
Difúzně zvýšený T2 signál v bílé hmotě byl hodnocen jako abnormální nebo velmi abnormální u 11 pacientů (85%) a vedl ke snížení kontrastu mezi šedou a bílou hmotou mozkovou na T2 vážených a/nebo T2 FLAIR obrazech. Analýza normalizovaného signálu ukázala, že signál v oblasti globus pallidus a thalamu není u pacientů s AM odlišný od kontrol. T2 hypointenzní obraz thalamů a globus pallidus je tedy jen zdánlivý a je způsoben zvýšeným T2 signálem okolní bílé hmoty.

Fokální zvýšení intenzity T2 signálu pozorované v centrum semiovale nebo v periventrikulární bílé hmotě okolo okcipitálních rohů postranních komor bylo popsáno u 11 pacientů (85%).

Mozečková a difúzní kortikální atrofie byla pozorována u 8 pacientů (62%). Zvětšení cisterna magna bylo popsáno u 11 pacientů (85%).

Rozšíření perivaskulárních prostor v bílé hmotě bylo pozorováno u 5 pacientů (38%) a rozšíření perioptických likvorových prostor u 8 (62%) pacientů.

Z dalších abnormalit se vyskytovaly ztlustění diploe u všech pacientů (100%) a ztlustění mukózy paranazálních sinů u 9 (69%). Hypoplázie paranazálních sinů byla přítomna u 7 z 9 pacientů (78%). Bazilární imprese a další abnormality kraniocervikální junkce byly pozorovány u 3 pacientů (23%). Sella turcica ve tvaru J se zvětšenou supraselární cisternou byla zaznamenána pouze u 1 pacienta (8%). Progrese rozšíření perioptických likvorových prostor, zvětšení perivaskulárních prostor, ztlustění diploe a ztenčení corpus callosum byly zaznamenány každý u jednoho pacienta (17%) ze 6 pacientů.



Obr. 7: Reprezentativní nálezy typických MR abnormalit u alfa-mannosidózy.

A) Ztenčecení corpus callosum, atrofie vermis cerebelli, zvětšení cisterna magna, abnormální kraniocervikální junkce díky dysplázii dens axis, ztlustění diploe na středosaagitálním T1 obraze. B) Rozšíření perivaskulárních prostor na T2-FLAIR snímku. C) Difúzně zvýšený T2 signál s fokálními T2 hyperintenzitami v periventrikulární bílé hmotě na axiálním T2 FLAIR snímku. D) Cerebelární atrofie a retrocerebelární cysta na axiálním T2 obraze. E) Cerebelární atrofie se ztenčením středního mozečkového stonku a zvětšená IV. komora mozková na T2 axiálním obraze. F) Ztlustění mukózy a hypoplázie maxilárních sinů na koronálním T2 obraze.

5. DISKUSE

Ačkoliv jsou lyzozomálně strádavá onemocnění vzácnou příčinou neurologických symptomů v dětském i dospělém věku, jejich znalost může pomoci včasné diagnostice těchto pacientů.

Adultní forma Tay-Sachsovy nemoci je považována za velmi vzácné onemocnění, v České republice bylo za posledních 20 let dostupné diagnostiky potvrzeno celkem 14 pacientů s tímto onemocněním.

Vzhledem k dlouhému časovému intervalu mezi začátkem symptomů a stanovením definitivní diagnózy lze předpokládat, že se jedná o poddiagnostikovanou příčinu neurodegenerativního postižení u dospělých pacientů.

V diferenciální diagnostice bylo ve skupině našich pacientů často pomýšleno na amyotrofickou laterální sklerózu, spinální muskulární atrofii III. typu, spinocerebelární a Friedreichovu ataxii či Pompeho nemoc.

Dle výsledku naší studie majoritní příznaky zahrnují progresivní příznaky vyplývající z postižení motoneuronů v předních rozích míšních, cerebelární degenerace a nezanedbatelná část pacientů má rovněž příznaky psychiatrické. Výsledek naší studie ukazuje, že na tuto diagnózu by mělo být pomýšleno právě u pacientů s kombinací těchto příznaků. Na diagnózu může rovněž upozornit charakteristický neuroradiologický nález cerebelární atrofie.

Ve shodě s literaturou byl typický nález patogenní varianty *c.805G>T* alespoň na jedné alele.

V kohortě našich pacientů byla u dvou bratrů popsána nová, dosud nepopsaná patogenní varianta *c.754C>T*. Onemocnění se u nich manifestovalo ve 3.dekadě a vyznačovalo se pomalým průběhem nemoci.

Výsledky naší neuroradiologické studie prokázaly u všech vyšetřovaných pacientů s LOTS nález výrazné atrofie mozečku, pontu a středních mozečkových stonků podmiňující zvětšení čtvrté mozkové komory. Nekonstatním nálezem byl nález atrofie mesencephala a horních mozečkových stonků. Další nálezy zahrnovali mírné ztenčení corpus callosum u 38% pacientů a mírnou kortikální atrofii u 19% pacientů.

Nález mozečkové atrofie byl popsán i u pacientů bez klinických projevů ataxie. Lze tak předpokládat, že cerebelární atrofie předchází vzniku klinických projevů. Nepozorovali jsme ani korelaci mezi stupněm cerebelární atrofie a tíží klinických symptomů.

Současná přítomnost mozečkových příznaků a neuroradiologický nález pontocerebelární atrofie by měl vést v diferenciální rozvaze ke zvažování

adultní formy Tay-Sachsovy nemoci mezi dalšími v dospělosti počínajícími mozečkovými ataxiemi.

Morfometrická analýza potvrdila nález pontocerebelární atrofie, který je ve shodě s našimi dříve publikovanými výsledky získanými semikvantitativním měřením (Májovská J. et al. 2021). Morfometrická analýza pomocí DBM dále prokázala úbytek hmoty v thalamu, capsula interna, kortikospinálním traktu a v parietálním laloku. Komplementární analýza pomocí VBM zjistila úbytek hmoty v thalamu, v části okcipitálního a temporálního laloku.

Morfometrická analýza tak potvrdila poškození zejména motorických kortikálních a subkortikálních struktur a drah v bílé hmotě u LOTS pacientů.

Analýza morfologických změn mozečku pomocí SUIIT potvrdila nález celkové atrofie, s výraznějším postižením pravé hemisféry. Nejvýraznější nález atrofie byl zaznamenán v lobulech V a VI, které jsou dle somatotopické cerebelární mapy odpovědné za motorické funkce. Tento nález je ve shodě s dominantními klinickými příznaky, kterými jsou u LOTS pacientů mozečková ataxie, dysartrie a tremor.

Alfa-mannosidóza je velmi vzácné progresivní onemocnění a studie zaměřené na neuroradiologické nálezy těchto pacientů jsou velmi ojedinělé. Současná studie je t.č. největší a charakterizuje prevalenci a závažnost hlavních patologických rysů u 13 pacientů s AM ze 3 center.

Nejčastější nálezy u našich pacientů zahrnovaly fokální a difúzní změny bílé hmoty, cerebelární a kortikální atrofii. U některých pacientů s větším počtem dostupných vyšetření MR byla zaznamenána progresivní atrofie mozku (33%) a mozečku (50%).

Bazální ganglia a thalamy se ve srovnání s okolní bílou hmotou zdály hypointenzní. Nicméně normalizace profilu intenzity signálu ukázala, že T2 signál v centrální šedi je pacientů s AM srovnatelný s kontrolami a že je naopak vyšší T2 signál sousední bílé hmoty u pacientů s AM než u kontrol. Abnormálně vyšší T2 signál bílé hmoty byl téměř univerzálním nálezem ve skupině našich pacientů.

Nález kortikální atrofie byl zaznamenán už u nejmladšího 13měsíčního pacienta. Dle tohoto nálezu můžeme usuzovat že supratentoriální degenerativní změny mohou začínat již v časném dětství a dále se v čase zhoršují.

Hlavní limitací naší studie je její retrospektivní charakter, který nedovolil harmonizaci MR protokolu. Vyšetření MR proběhla ve 3 centrech na různých přístrojích s 1,5 či 3T magnetickým polem a odlišnými parametry pulzních sekvencí.

6. ZÁVĚR

Naše práce zabývající se výzkumem neurologických projevů u lyzozomálně střádavých onemocnění popisuje typické klinické a neuroradiologické nálezy u dvou vzácných onemocnění – adultní formy Tay-Sachsovy nemoci a alfa-mannosidózy.

Právě znalost těchto příznaků může u dalších pacientů pomoci dříve objasnit příčinu jejich potíží a stanovit diagnózu. Právěčasné stanovení diagnózy je totiž zásadní nejen pro eventuelní zahájení terapie, ale také pro možnost genetického poradenství či prenatální diagnostiky v rodinách.

Na příkladech pacientů z naší kohorty jsme demonstrovali, že diagnóza byla často stanovena s velkým časovým odstupem od vzniku prvních klinických symptomů, výjimkou není ani 20-30letý odstup určení diagnózy od manifestace onemocnění. V případě adultní formy Tay-Sachsovy nemoci nebyl u našich pacientů výjimečný nástup příznaků již v dětském či dospívajícím věku.

Třebaže zcela jednoznačně efektivní kauzální terapie není t.č. zatím dostupná, naši pacienti jsou zapojeni do multicentrických mezinárodních studií s novými preparáty. Nezbytná je tak nadále multioborová komplexní symptomatická péče s cílem udržení co nejlepšího funkčního stavu při známém chronickém charakteru nemoci.

Hlavní výsledky disertační práce jsou následující:

1. Na diagnózu adultní formy Tay-Sachsovy nemoci bychom měli pomyslet u pacientů s mozečkovými příznaky v kombinaci se symptomy z postižení dolního motoneuronu a psychiatrickými symptomy.
2. Nález těžké pontocerebelární atrofie je hlavním neuroradiologickým znakem u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci. Tento nález není specifický pro Tay-Sachsovu nemoc, ale vyskytuje se také u některých spinocerebelárních ataxií či multisystémové atrofie. Může však zúžit okruh zvažovaných onemocnění při diferenciální diagnóze. Současná přítomnost mozečkových příznaků a neuroradiologický nález pontocerebelární atrofie by v diferenciální rozvaze v dospělosti počínajících mozečkových ataxií měly vést ke zvažování adultní formy Tay-Sachsovy nemoci.

3. Nejčastější neuroradiologické abnormality u pacientů s alfa-mannosidózou zahrnovaly fokální či difúzní hyperintenzity bílé hmoty, cerebelární a kortikální atrofii, ztlustění perioptických likvorových prostor, zvětšení cisterna magna či ztenčení corpus callosum. Alfa-mannosidóza se dle výsledků naší studie neřadí mezi neurodegenerativní onemocnění s akumulací železa. Výsledky profilu normalizace signálu demonstrovaly, že signál zdánlivě hypointenzních thalamů nebyl odlišný mezi pacienty s AM a kontrolami. Tento nález je podporován i nálezem okolní hyperintenzní bílé hmoty. Zdánlivé T2 hypointenzity v šedé hmotě mozkové jsou tak konsekvencí abnormálního signálu okolní bílé hmoty než patologie hluboké šedé hmoty.

7. POUŽITÁ LITERATURA

- Beck M., Olsen K. J., Wraith J. E., Zeman J., Michalski J. C., Saftig P., Fogh J., Malm D. (2013) Natural history of alpha mannosidosis a longitudinal study. *Orphanet J Rare Dis* 8, 88.
- Giugliani R. Vairo F., Kubaski F., Poswar F., Riegel M., Baldo G., Saute J. A. (2018) Neurological manifestations of lysosomal disorders and emerging therapies targeting the CNS. *Lancet Child Adolesc. Health* 2(1):56-68.
- MacQueen G. M., Rosebush P. I., Mazurek M. F. (1998) Neuropsychiatric aspects of the adult variant of Tay-Sachs disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 10(1):10-19.
- Magner M., Buganová M., Asfaw B., Poupětová H., Ledvinová J., Brantová O., Stesland H. M.; Zeman J. (2008) Klinické projevy a výsledky laboratorních vyšetření u čtyř pacientů s alfa-manosidózou. *Čes-slov. Pediat.* 63(12):677-682.
- Neudorfer, O., Pastores G. M., Zeng B. J., Gianutsos J., Zaroff C. M., Kolodny E. H. (2005) Late-onset Tay-Sachs disease: phenotypic characterization and genotypic correlations in 21 affected patients. *Genet. Med.* 7(2):119–123.
- Parenti G., Andria G., Ballabio A. (2015): Lysosomal Storage Diseases: From pathophysiology to Therapy. *Annu. Rev. Med.* 66: 471-486.

- Parenti G. Medina D. L., Ballabio A. (2021): The rapidly evolving view of lysosomal storage diseases. *EMBO Mol Med.*13(2):e12836.
- Pastores G. M.; Maegawa G. H. (2013) Clinical neurogenetics: Neuropathic lysosomal storage disorders. *Neurol. Clin.* 31, 1051–1071.
- Platt F. M., d'Azzo A., Davidson B. L., Neufeld E. F., Tiffit C. J. (2018). Lysosomal storage diseases. *Nat Rev Dis Primers.* 4(1):27.
- Toro C., Shirvan L., Tiffit C. (1999, updated 2020). HEXA Disorders. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, et al., editors. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2023. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1218/>.
- Streifler J., Golomb M., Gadoth N. (1998) Psychiatric features of adult GM2 gangliosidosis. *Br J Psychiatry.* 155:410-413.
- Zdroj obrázku: <https://micro.magnet.fsu.edu/cells/lysosomes/lysosomes.html>.

8. SEZNAM PUBLIKACÍ

8. 1. PUBLIKACE, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTAČNÍ PRÁCE

1. **Májovská J.**, Nestrašil I., Paulson A., Nascene D., Juříčková K., Hlavatá A., Lund T., Orchard P. J., Vaněčková M., Zeman J., Magner M., Dušek P. White matter alteration and cerebellar atrophy are hallmarks of brain MRI in alpha-mannosidosis. *Mol Genet Metab.* 2021;132(3):189-197. **IF 4.10.**
2. **Májovská J.**, Hennig A., Nestrašil I., Schneider S. A., Jahnová H., Vaněčková M., Magner M., Dušek P. Pontocerebellar atrophy is the hallmark neuroradiological finding in late-onset Tay-Sachs disease. *Neurol Sci.* 2022;43(5):3273-3281. **IF 3.83.**
3. Jahnová H., Poupětová H., **Jirečková J.**, Vlášková H., Košťálová E., Mazanec R., Zumrová A., Mečíř P., Mušová Z., Magner M. Amyotrophy, cerebellar impairment and psychiatric disease are the main symptoms in a cohort of 14 Czech patients with the late-onset form of Tay-Sachs disease. *Journal of Neurology* 2019; 266 (8): 1953-1959. **IF 3.78.**

4. Magner M., **Jirečková J.** Pompeho nemoc. Neurologie pro praxi 2018; 19 (3): 224-227.
5. Magner M., **Jirečková J.** Léčba Pompeho nemoci. Acta medicinae, 2018; 13: 38-40.
6. **Májovská J.**, Malinová V., Dostálová G., Murgašová L., Poupětová H., Zeman J., Magner M. Muskuloskeletální postižení u pacientů s lyzozomálním strádavým onemocněním. Česká revmatologie 2019; 27(4). 204-210.

8.2. PUBLIKACE BEZ VZTAHU K DISERTACI

1. **Jirečková J.**, Magner M., Lambert L., Baxová A., Leiská A., Kopečková L., Fajkusová L., Zeman J. The age dependent progression of Hajdu-Cheney syndrome in two families. Prague Medical Report 2018; 4. 156-160.
2. Pařízková P., Danková N., Frühauf P., **Jirečková J.**, Zeman J., Magner M. Associations between breastfeeding rates and infant disease: A survey of 2338 Czech children. Nutrition Dietetics 2019; 22. **IF 1.08.**