

Univerzita Karlova

1. lékařská fakulta

Studijní program: Preventivní medicína a epidemiologie

Studijní obor: Preventivní medicína a epidemiologie



UNIVERZITA KARLOVA
1. lékařská fakulta

MUDr. Jitka Májovská

Neurologické projevy u lyzozomálně strádavých onemocnění

Neurological manifestation of lysosomal storage disorders

Disertační práce

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

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

Praha 2023

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 26. 4. 2023

Jitka Májovská

Identifikační záznam:

MÁJOVSKÁ, Jitka: Neurologické projevy u lyzozomálně střeďavých onemocnění [Neurological manifestation of lysosomal storage disorders]. Praha, 2023. Počet stran 83, počet příloh 3. Disertační práce. (PhD.) Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN. Školitel Magner, Martin. Konzultant Dušek, Petr.

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 časně 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

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat svému školiteli doc. MUDr. Martinu Magnerovi, Ph.D. za velkou trpělivost, cenné rady a vlídný přístup nejen při vedení mé disertační práce, ale také během celého postgraduálního studia. Dále bych chtěla poděkovat svému konzultantovi doc. MUDr. Petru Duškovi, Ph.D., který mě s velkou trpělivostí a zájmem zasvětil do základů neuroradiologie a byl mi vždy ochotný pomoci. Velmi si vážím jejich odborného i lidského přístupu a jsem vděčná, že právě oni dva mi byli nejlepšími učiteli.

Dále bych chtěla poděkovat přednostovi Kliniky pediatrie dědičných poruch metabolismu panu prof. MUDr. Tomášovi Honzíkovi, Ph.D. a jeho předchůdci prof. MUDr. Jiřímu Zemanovi, Ph.D. nejen za inspiraci ve vědecké práci, ale také za odborný růst v klinické medicíně. Ráda bych také poděkovala paní MUDr. Heleně Jahnové, Ph.D., která mi umožnila poznat ojedinělou kohortu českých pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci.

Ráda bych na tomto místě poděkovala i mým prvním mentorům dětské neurologie z mého předchozího pracoviště – paní doc. MUDr. Haně Ošlejškové, Ph.D. a primáři MUDr. Ondřejovi Horákovi z Kliniky dětské neurologie FN Brno za možnost poznání krásy tohoto oboru.

V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině za nekončící podporu a pomoc během celého studia.

ZKRATKY

<i>AM</i>	alfa-mannosidóza
<i>CAT12</i>	Computational Anatomy Toolbox 12
<i>CCAS</i>	cerebellar cognitive affective syndrome
<i>CLEAR</i>	coordinated lysosomal expression and regulation network
<i>CNS</i>	centrální nervový systém
<i>DAMPs</i>	danger-associated molecular patterns
<i>ERT</i>	enzymová substituční terapie
<i>FWE</i>	family-wise error
<i>FWHM</i>	full width at half maximum
<i>HSCT</i>	transplantace hematopoetických kmenových buněk
<i>IGF</i>	insuline-like growth factor
<i>LAMP</i>	lysosome-associated membrane protein
<i>LIMP</i>	lyzozomální integrální membránový protein
<i>LOTS</i>	adultní forma Tay-Sachsovy nemoci
<i>LSD</i>	lyzozomálně střídává onemocnění
<i>MR</i>	magnetická rezonance
<i>mTORC1</i>	mammalian target of rapamycin complex 1
<i>NBIA</i>	neurodegeneration with brain iron accumulation
<i>NCL</i>	neuronální ceroidlipofuscinóza
<i>PNS</i>	periferní nervový systém
<i>SBM</i>	surface-based morfometrie
<i>SPM12</i>	Statistical Parameter Mapping 12
<i>SRT</i>	substrát redukční terapie
<i>SUIT</i>	a spatially unbiased atlas template of the cerebellum and brainstem
<i>TFCE</i>	threshold-free cluster enhancement
<i>TFEB</i>	transkripční faktor EB
<i>TIV</i>	total intracranial volume
<i>VBM</i>	voxel-based morfometrie

OBSAH

1. ÚVOD.....	10
1.1. PŘEHLED O LYZOSOMECH.....	11
1.1.1. Historie objevu lyzozomu.....	11
1.1.2. Struktura lyzozomu.....	12
1.1.3. Endozomálně-lyzozomální systém.....	14
1.1.4. Funkce lyzozomů.....	15
1.2. LYZOMÁLNĚ STŘÁDAVÁ ONEMOCNĚNÍ.....	18
1.2.1. Charakteristika lyzozomálně střádavých onemocnění.....	18
1.2.2. Incidence a prevalence lyzozomálně střádavých onemocnění.....	18
1.2.3. Genetika lyzozomálně střádavých onemocnění.....	19
1.2.4. Klinická manifestace lyzozomálně střádavých onemocnění.....	19
1.2.5. Diagnostika lyzozomálně střádavých onemocnění.....	20
1.2.6. Terapie lyzozomálně střádavých onemocnění.....	21
1.2.7. Klasifikace lyzozomálně střádavých onemocnění.....	23
1.3. NEUROLOGICKÉ PROJEVY U LYZOMÁLNĚ STŘÁDAVÝCH ONEMOCNĚNÍ.....	26
1.3.1. Patofyziologie neurodegenerativního postižení u lyzozomálně střádavých onemocnění.....	27
1.3.2. Neuropatologické změny neuronů.....	29
1.3.3. Radiologické nálezy při zobrazení centrální nervové soustavy.....	31
1.4. GM2 GANGLIOSIDÓZY.....	33
1.4.1. Základní charakteristika onemocnění.....	33
1.4.2. Tay-Sachsova nemoc.....	34
1.4.3. Adultní forma Tay-Sachsovy nemoci.....	34
1.5. ALFA-MANNOSIDÓZA.....	36
1.5.1. Základní charakteristika onemocnění.....	36
2. CÍLE PRÁCE.....	38
3. METODIKA.....	40
3.1. PACIENTI.....	40
3.2. STATISTIKA.....	40
3.3. ETIKA.....	40
3.4. FINANČNÍ PODPORA.....	40
4. VÝSLEDKY.....	41

4.1. STUDIE I - KLINICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI.....	41
4.1.1. ÚVOD.....	41
4.1.2. METODIKA.....	41
4.1.3. VÝSLEDKY.....	42
4.1.4. DISKUZE.....	46
4.2. STUDIE II – NEURORADIOLOGICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI.....	47
4.2.1. ÚVOD.....	47
4.2.2. METODIKA.....	47
4.2.3. VÝSLEDKY.....	49
4.2.4. DISKUZE.....	54
4.3. STUDIE III – KVANTITATIVNÍ ANALÝZA NEURORADIOLOGICKÝCH NÁLEZŮ U PACIENTŮ S ADULTNÍ FORMOU TAY-SACHSOVY NEMOCI.....	55
4.3.1. ÚVOD.....	55
4.3.2. METODIKA.....	55
4.3.3. VÝSLEDKY.....	57
4.3.4. DISKUZE.....	61
4.4. STUDIE IV - KLINICKÉ A NEURORADIOLOGICKÉ NÁLEZY U PACIENTŮ S ALFA-MANNOSIDÓZOU.....	62
4.4.1. ÚVOD.....	62
4.4.2. METODIKA.....	63
4.4.3. VÝSLEDKY.....	64
4.4.4. DISKUZE.....	71
5. ZÁVĚR.....	72
6. SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORKY.....	73
6.1. PUBLIKACE, KTERÉ JSOU PODKLADEM DISERTAČNÍ PRÁCE ...	73
6.2. PUBLIKACE BEZ VZTAHU K DISERTACI.....	73
7. LITERATURA.....	74
8. PŘÍLOHY.....	83

1. ÚVOD

Lyzozomy jsou membránou ohraničené organely uložené v cytoplazmě 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 lyzozomálních enzymů, jejich aktivátorů či lyzozomálních membránových proteinů jsou příčinou více než 70 lyzozomálně střeďavých onemocnění (LSD) (Platt F. M. et al., 2018). Přestože se jedná o onemocnění s často velmi variabilními multisystémovými projevy, nezřídka 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.

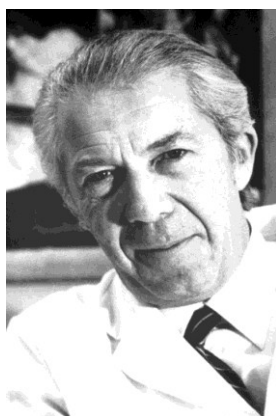
Cílem disertační práce je popis neurologických a psychiatrických symptomů a charakteristických neuroradiologických nálezů při zobrazení centrální nervové soustavy u pacientů s lyzozomálně střeďavým onemocněním, a to zejména s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci a alfa-mannosidózou.

1.1. PŘEHLED O LYZOZOMECH

1.1.1. Historie objevu lyzozomu

Ačkoliv některá lyzozomálně strádavá onemocnění jsou známá již více než století, objev samotného lyzozomu jako buněčné organely se datuje až do padesátých let minulého století. Lyzozom, v překladu z řeckého spojení "trávicí tělísko", byl objeven a popsán v roce 1955 belgickým biochemikem a cytologem Christianem de Duve na Univerzitě v Liege (de Duve C. et al., 1955; Novikoff A. B. et al., 1956).

De Duve (obr. 1) se primárně zabýval studiem funkce inzulínu v játrech, jeho objevy ho však odvedly od původního záměru zkoumání inzulínu ke studiu struktury buňky (Čech P., 2012). De Duve separoval buněčné komponenty pomocí centrifugace (de Duve C. et al., 1949), metody vynalezené Albertem Claudem (Bowers W. E., 1998). Při té došlo k narušení plazmatické membrány buňky, ale dopad na intracelulární struktury byl minimální. De Duve centrifugací separoval čtyři frakce - nukleární, obrovskogranulární frakci obsahující zejména mitochondrie, malogranulární frakci, kterou pojmenoval "mikrozomy" a finální supernatant. Zjistil, že jím zkoumaný enzym glukóza-6-fosfatáza musí být uchovávan právě v membránou uzavřených partikulích, kterou asocioval s mikrozomy (Berthet J. et al., 1951). Ve stejných partikulích de Duve se svojí skupinou objevil i další enzymy - ribonukleázy, deoxyribonukleázy, glukoronidázu a proteázu katepsin. Díky trávicí funkci organel je pojmenoval jako "trávicí nebo-li lytická tělíška", lyzozomy (de Duve C. et al., 1955).



Obr. 1: Profesor Christian de Duve (1917-2013).

Nositel Nobelovy ceny za fyziologii a medicínu, z roku 1974.

Zdroj: <https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1974/duve/facts>.

Existenci lyzozomu následně morfologicky potvrdil v elektronovém mikroskopu i Alexander B. Novikoff (Novikoff A. B. et al., 1956). Christian de Duve, Albert Claude a George Palade byli v roce 1974 za svůj objev lyzozomů oceněni Nobelovou cenou za fyziologii a medicínu (Raju T. N., 1999).

Následující desetiletí byly lyzozomy spojovány zejména se svojí katabolickou funkcí a na lyzozomálně strádavá onemocnění bylo proto nahlíženo jako na onemocnění způsobená právě akumulací komplexních substrátů (Vellodi A., 2005).

Objev mechanismu transportu proteinů do lyzozomu pomocí manóza-6-fosfátu byl klíčovým krokem k prvním pokusům o enzymovou substituční terapii, která proběhla v 90. letech minulého století (Barton N. W. et al., 1990; Barton N. W. et al., 1991).

V následujících dekádách proběhla celá řada studií, která změnila náš pohled na lyzozomy. Dnes víme, že lyzozomy jsou vysoce dynamické organely zapojené do celé řady buněčných funkcí jako je mimo jiné buněčná signalizace nebo schopnost adaptace metabolismu buňky (Perera R. M., Zoncu R., 2016).

1.1.2. Struktura lyzozomu

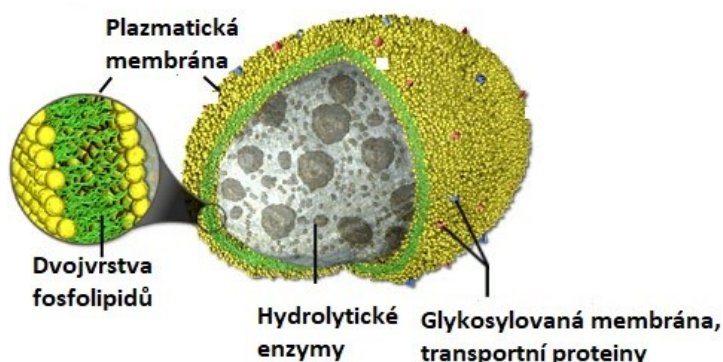
Lyzozomy (obr. 2) jsou v průměru 0,2-2 μm malé, membránou ohraničené, většinou sférické organely uložené v cytoplazmě všech eukaryotických buněk (Trivedi P. C. et al., 2020). Obsahují minimálně 60 kyselých hydroláz, 300 integrálních membránových proteinů a 55 s membránou asociovaných proteinů (Journet A. et al., 2002; Bagshaw R. D. et al., 2005; Schwake M. et al., 2013).

Lyzozomální enzymy vyžadují k dosažení maximální enzymatické aktivity nízké pH, které je uvnitř lyzozomu kolem 4.8 oproti cytozolovému pH 7.2 (Boya P., 2012). Nízké pH uvnitř lyzozomu je udržováno pomocí protonových pump, které aktivně za spotřeby ATP odčerpávají protony z cytoplazmy dovnitř lyzozomu (Saftig P., Klumperman J., 2009). Jedná se o energeticky náročný proces, protože uvnitř lyzozomu je koncentrace H^+ oproti cytozolu stokrát vyšší (Cooper G. M., 2000). Membrána lyzozomu spolu s nutností nízkého pH pro optimální funkci lyzozomálních hydroláz zaručuje dvojitou ochranu před nekontrolovanou digescí složek cytozolu. Pokud by došlo k porušení lyzozomální membrány a uvolnění hydroláz, v neutrálním pH cytozolu by zůstaly inaktivní (Cooper G. M., 2000).

Lyzozomy obsahují desítky hydrolytických enzymů, zahrnujících proteázy, lipázy, nukleázy, glykosidázy, fosfolipázy, fosfatázy či sulfatázy, které mají katabolickou

funkci. Enzymy jsou syntetizovány na ribozomech drsného endoplazmatického retikula. Odtud jsou následně transportovány přes Golgiho aparát, ve kterém jsou glykosylovány nebo sulfatovány. Proteiny určené pro inkorporaci do lyzozomů jsou specificky rozpoznány a modifikovány pomocí manóza-6-fosfátu.

Membrána lyzozomů je tvořena jednou dvojrůstvou bisfosfolipidů, ve které jsou zabudovány transmembránové proteiny (Perera R. M., Zoncu R., 2016). Nejvíce zastoupenými proteiny jsou lyzozomálně asociované membránové proteiny LAMP1 a LAMP2 (lysosome-associated membrane protein), které dohromady tvoří 80% všech lyzozomálních membránových proteinů (Saftig P., Klumperman J., 2009). Další proteiny zahrnují například lyzozomální integrální membránový protein 2 (LIMP2) nebo protein CD63. Všechny membránové proteiny jsou na své lumenální straně bohatě glykosylovány a tvoří tak protektivní 7-10 nm tlustý glykokalyx, který je chrání proti autodigesti lyzozomálními hydrolytickými enzymy (Saftig P., Klumperman J., 2009). Konečné produkty lyzozomální digesce jsou aktivně nebo pasivně transportovány pomocí integrálních membránových proteinů do cytoplazmy, kde jsou následně využívány v biosyntetických reakcích (Jezegou A. et al., 2012). Membránové proteiny lyzozomů regulují pohyb lyzozomů, celulární distribuci a také exocytózu (Saftig P., Klumperman J., 2009). Většina integrálních membránových proteinů nemá katalytickou funkci (Elleder M., Sikora J., 2018).



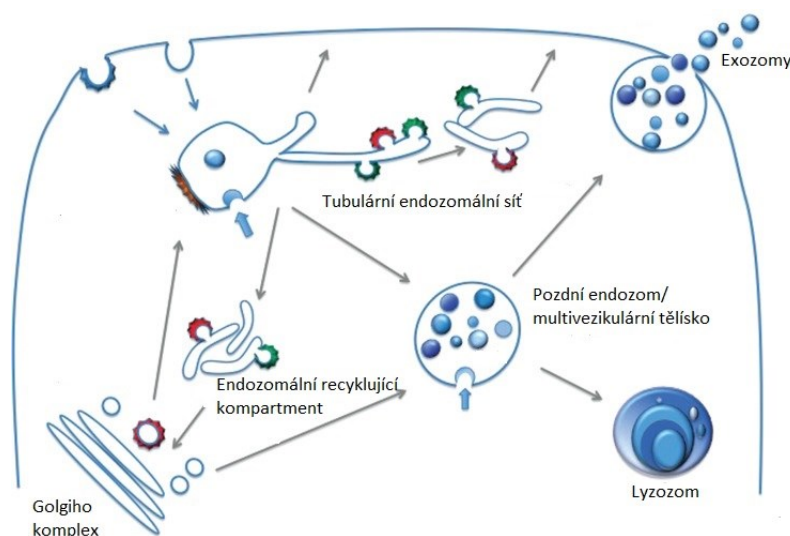
Obr. 2: Struktura lyzozomu.

Lyzozom ohraničuje plazmatická membrána tvořená z dvojrůstvy fosfolipidů. V membráně jsou zabudovány transmembránové proteiny. Uvnitř lyzozomu jsou desítky hydrolytických enzymů.

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

1.1.3. Endozomálně-lyzozomální systém

S narůstajícím množstvím znalostí se pohled na lyzozom jako na “recyklační centrum” buňky opouští a na lyzozom dnes nahlížíme spíše jako na součást endozomálně-lyzozomálního systému (Santra S., Ramaswami U., 2015; Elleder M., Sikora J., 2018; Klumperman J., Raposo G., 2014). Endozomálně-lyzozomální nebo také endolyzozomální systém (obr. 3) je komplexní a vysoce dynamická síť interagujících komponent uvnitř živých buněk, nezbytná pro řadu funkcí, zejména však udržování intracelulární homeostázy (Klumperman J., Raposo G., 2014).



Obr. 3: Endozomálně-lyzozomální systém.

Schematické znázornění endozomálně-lyzozomálního systému znázorňující jednotlivé organely. Tvorba endocytické vezikuly z cytoplazmatické membrány. Z tubulů odštěpovaných z vezikul vznikají recyklační endozomy, které mohou být distribuovány do oblasti Golgiho komplexu či periferie buňky. Pozdní endozomy nebo-li multivezikulární tělíska jsou naplněna intraluminálními vezikulami. Pozdní endozomy splývají s lyzozomy. Modré šipky znázorňují invaginaci endozomální membrány časných endozomů a multivezikulárních tělísek, kde je invaginace nezbytná pro tvorbu intraluminálních vezikul. Šedé šipky znázorňují směr transportu/maturace jednotlivých kompartmentů. Zdroj: Klumperman J., Raposo G. (2014).

Samotná endocytóza začíná formací 60-120 nm malých clathrinem obalených či neobalených endocytických vezikul z cytoplazmatické membrány (Mayor S., Pagano

R. E., 2007). Ty jsou následně transportovány sítí časných endozomů, tedy stovek dynamicky interagujících endozomů lokalizovaných na periférii buňky (Klumperman J., Raposo G., 2014). Komponenty membrány jsou recyklovány v průběhu maturace endozomů. Endocytické vezikuly splývají s již preexistujícími časnými endozomy. Časné endozomy postupně vyzárají do pozdních endozomů, které jsou prekurzorem lyzozomů. Jednou ze zásadních změn při maturaci endozomů je snižování pH, které je pro fungování lyzozomálních kyselých hydroláz zásadní (Cooper G.M., 2000). Transportní vezikuly obsahující kyselá hydrolázy z Golgiho aparátu splývají s pozdními endozomy za vzniku lyzozomů. Kyselá hydrolázy přitom odštěpují manóza-6-fosfátové receptory, které jsou následně recyklovány zpět do Golgiho aparátu (Cooper G. M., 2000).

1.1.4. Funkce lyzozomů

Zatímco dříve se lyzozomy považovaly především za organely klíčové pro katabolické děje, dnes již víme, že se jedná o vysoce dynamické organely účastnící se mnoha dalších buněčných funkcí (Parenti G. et al., 2021). Mimo známou funkci degradace makromolekul a buněčných komponent se podílí i na celé řadě dalších komplexních funkcí jako je udržování homeostázy vápníku, regulace autofagie, apoptóza či buněčná signalizace (Bosch M. E., Kielian T., 2015). Mimo jiné se úloha lyzozomů ukázala klíčová i v patogenezi řady běžných onemocnění jako jsou neurodegenerativní a infekční onemocnění, obezita nebo nádorová onemocnění (Ballabio A., 2016).

Dobře a dlouho známou funkcí lyzozomu je degradace a recyklace buněčného odpadu. Zatímco extracelulární materiál se do lyzozomu dostává především endocytózou a fagocytózou, intracelulární materiál je do lyzozomu dopravován prostřednictvím autofagie (Ballabio A., 2016). Endocytóza označuje proces, při kterém je invaginací do cytoplazmatické membrány transportován extracelulární materiál, který je následně tříděn, distribuován a recyklován (Elleder M., Sikora J., 2018). Endocytóza je zprostředkována receptory a je indukována vazbou ligandu na příslušný receptor. Touto vazbou se vytváří endocytický váček.

Specifickým typem endocytózy je fagocytóza. Jedná se o proces, při kterém specializované buňky jako např. makrofágy vychytávají a degradují velké částice zahrnující např. bakterie, buněčný detritus nebo staré a poškozené buňky. Partikule jsou zavzaty do fagozomů, které následně fúzí s lyzozomy. Tyto tzv. fagolyzozomy

mohou být výrazně větší a heterogenní v tvaru a velikosti v závislosti na materiálu, který degradují (Cooper G. M., 2000).

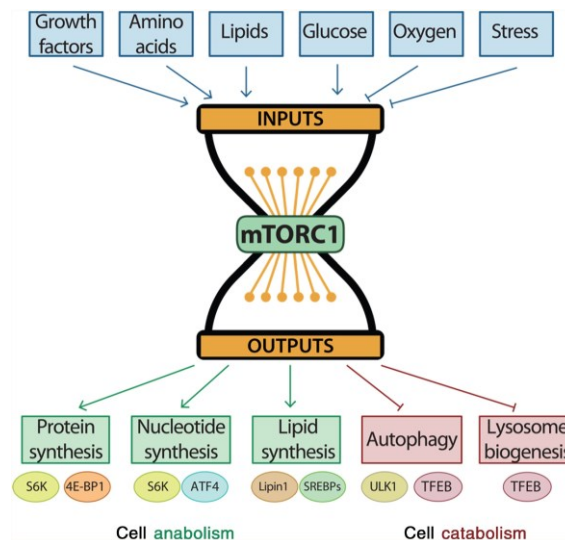
Dále se lyzozomy účastní autofagie, která je odpovědná za obrat vlastních buněčných komponent. Proces autofagie je aktivován širokou škálou podnětů způsobujících buněčný stres a zprostředkovává degradaci proteinových agregátů, poškozených organel nebo intracelulárních patogenů. Při autofagii se buněčná organela např. mitochondrie obalí do membrány z endoplazmatického retikula za vzniku autofagozomu, který následně splývá s lyzozomem (Cooper G. M., 2000; Perera R. M., Zoncu R., 2016). Obsah autofagozomu je následně degradován lyzozomálními hydrolázami a zbylý materiál je využit k tvorbě nových buněčných komponent a energie v závislosti na nutričních potřebách buňky.

Protože lyzozom byl dlouho znám jako organela určena primárně ke katabolickým procesům v buňce, převratným byl nález asociace této organely s proteinkinázou mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1), která funguje jako hlavní spouštěč anabolického stavu buňky (Lawrence R. E., Zoncu R. 2019).

Proteinkináza mTORC1 (obr. 4) je při sníženém množství nutrientů v inaktivní formě difúzně rozmístěna v cytoplazmě (Sancak Y. et al., 2010). Pro její aktivaci, pro kterou jsou nezbytné zároveň růstové faktory (inzulín, IGF – insuline-like growth factor) i nutrienty (aminokyseliny, glukóza, cholesterol), se přemísťuje na povrch lyzozomů (Napolitano G. et al., 2022; Perera R. M., Zoncu R., 2016).

Aktivace probíhá formou fosforylace na povrchu lyzozomu a mTORC následně aktivuje ribozomální protein S6kinázu, která spouští biosyntézu lipidů a nukleotidů, biogenezi ribozomů a rovněž přepíná metabolismus na zpracování glukózy (Duvel K. et al., 2010).

Na povrchu lyzozomu mTORC1 fosforyluje a tím inhibuje transkripční faktor EB (TFEB), který je hlavním regulátorem lyzozomální biogeneze a autofagie. Fosforylací mTORC1 je TFEB udržován v cytoplazmě. Při inaktivaci mTORC1 je naopak indukována defosforylace TFEB, který je následně translokován do jádra. TFEB aktivuje síť CLEAR (coordinated lysosomal expression and regulation network), která pozitivně reguluje expresi lyzozomálních genů, řídí počet lyzozomů a podporuje degradaci lyzozomálních substrátů. Regulace pomocí osy mTORC1-TFEB tak umožňuje lyzozomům se adaptovat na rozdílné fyziologické a patologické podmínky (Parenti G. et al., 2015).



Obr. 4: Schematické znázornění aktivity proteinkinázy mTORC1.

V přítomnosti růstových faktorů a nutrientů mTORC1 fosforyluje ribozomální protein S6kinázu a aktivuje tak buněčný anabolismus – syntézu proteinů, nukleotidů a lipidů. a přitom je zároveň inhibován transkripční faktor EB (TFEB), který je jinak důležitý pro aktivaci autofagie a biogeneze lyzozomů. Zdroj: Napolitano G. et al. Di Malta C., (2022).

Lyzozomy se mimo jiné účastní také homeostázy vápníku. Fungují jako intracelulární zásobárna, přičemž koncentrace volných Ca^{2+} v lyzozomu je obdobná jako v endoplazmatickém retikulu (Christensen K. A. et al., 2002). V membráně lyzozomů jsou přítomny vápníkové kanály, které zprostředkují signály z intracelulárních kompartmentů a mohou uvolnit Ca^{2+} do cytozolu. Signalizace Ca^{2+} se účastní mnohačetných buněčných procesů jako je např. lyzozomální acidifikace, fúze lyzozomů s ostatními buněčnými organelami, autofagie nebo tvorba kontaktních míst mezi lyzozomem a endoplazmatickým retikulem (Lloyd-Evans E., Waller-Evans H., 2019).

1.2. LYZOMÁLNĚ STŘÁDAVÁ ONEMOCNĚNÍ

1.2.1. Charakteristika lyzozomálně střeáavých onemocnění

Lyzozomálně střeáavá onemocnění jsou skupinou více než 70 onemocnění, která v souhrnném počtu tvoří přibližně 14% všech dědičných poruch metabolismu (Platt F. M. et al., 2018; Wolf D. A. et al., 2015). Jedná se o geneticky podmíněná onemocnění zapříčiněná mutacemi v genech kódujících hydrolázy, integrální membránové proteiny, aktivátory proteinů, transportní proteiny nebo nelyzozomální proteiny, které jsou nezbytné pro funkci lyzozomů (Parenti G. et al., 2015). Důsledkem je deficit některého z lyzozomálních hydrolytických enzymů, jejich aktivátoru či lyzozomálního membránového proteinu (Platt F. M. et al., 2018).

Primárním dopadem narušené funkce enzymu je intralyzozomální akumulace nedegradovatelného substrátu. Akumulace začíná v dětství a progresivně se zhoršuje v čase. Střeádání postihuje často více orgánů a obvykle tak u pacientů nacházíme multisystémové projevy se širokou škálou klinických projevů.

1.2.2. Incidence a prevalence lyzozomálně střeáavých onemocnění

Ačkoliv jsou jednotlivá lyzozomálně střeáava onemocnění vzácná, jejich kumulativní prevalence je ve srovnání s ostatními skupinami vzácných onemocnění relativně vysoká (Parenti G. et al., 2015). V České republice je prevalence všech lyzozomálně střeáavých onemocnění 12,25:100 000 (Poupětová H. et al., 2010).

Incidence LSD jako skupiny onemocnění je v Evropě, Spojených státech a Austrálii odhadována na 1:5 000-1:8 000, naproti tomu incidence konkrétních jednotlivých LSD je 1:50 000 až 1: 500 000 (Poorthuis B. J. et al., 1999; Meikle P. J. et al., 1999).

Některá lyzozomálně střeáavá onemocnění mají incidenci vyšší u některých etnik nebo ve specifických geografických oblastech. Příkladem může být vyšší výskyt Tay-Sachsovy nemoci v populaci Aškenazských Židů či v oblasti Francouzské Kanady nebo vyšší incidence neuronální ceroidlipofuscinózy typu 5 a 8 ve Finsku (Persaud-Sawin D., 2007; Nita D. A. et al., 2016).

Mezi nejčastější LSD se v České republice řadí Gaucherova choroba, Fabryho nemoc, Niemannova-Pickova nemoc, neuronální ceroidlipofuscinóza (NCL), různé typy mukopolysacharidóz a metachromatická leukodystrofie (tab. 1) (Poupětová H. et al., 2010).

Tab. 1: Prevalence nejčastějších lyzozomálně strádavých onemocnění v České republice, upraveno podle Poupětová H. et al., (2010).

Onemocnění	Počet onemocnění na 100 000 živě narozených dětí
Gaucherova nemoc	1.13
Fabryho nemoc	1.00
Niemannova-Pickova nemoc C	0.91
Mukopolysacharidóza III	0.91
Neuronální ceroidlipofuscinóza 7	0.85
Mukopolysacharidóza IV	0.73
Mukopolysacharidóza I	0.72
Metachromatická leukodystrofie	0.69
Mukopolysacharidóza typu II	0.43

1.2.3. Genetika lyzozomálně strádavých onemocnění

Dědičnost většiny lyzozomálně strádavých onemocnění je autozomálně recesivní, výjimkou jsou mukopolysacharidóza typu II, Fabryho a Danonova nemoc, které jsou X-vázaná (Boustany R. M., 2013).

Většina pacientů s LSD jsou složení heterozygoti. Genotypová fenotypová korelace však není přímočará. Není výjimkou, že u sourozenců, včetně monozygotních dvojčat se může klinický obraz i při nálezů identických patogenních variant lišit (Platt F. M., 2017). Roli v tom mohou hrát modifikující geny, epigenetické faktory, infekční onemocnění, ale také environmentální nebo dietní faktory (Platt. F. M., 2017).

Genetické vyšetření a následná genetická konzultace zásadní k určení predikce rizika u dalších těhotenství, včasné prenatální diagnóze a informování ostatních rodinných příslušníků stran možného rizika vzniku onemocnění je naprosto zásadní (Wenger D. A. et al., 2002).

1.2.4. Klinická manifestace lyzozomálně strádavých onemocnění

Klinický obraz a věk nástupu jednotlivých symptomů může být u LSD značně variabilní. Závisí na typu strádané molekuly, místě strádání a také reziduální aktivitě enzymu závislé od konkrétní patogenní varianty (Platt F. M. et al., 2012). Většina lyzozomálních proteinů jsou produkty genů, které jsou široce exprimovány v celém organismu, ale akumulace substrátu se projeví pouze v těch buňkách, které obsahují specifický substrát (Wang R. Y. et al., 2011). LSD jsou onemocnění progresivní (Santra S., Ramaswami U., 2015). Symptomy se mohou manifestovat v kterémkoliv věku.

Ačkoliv v některých případech jsou příznaky onemocnění přítomny již prenatálně nebo v novorozeneckém období, jako je tomu např. u fetálního hydropsu, nejčastěji se pacienti s LSD jeví v době narození jako zdraví jedinci a klinické příznaky se projeví později, někdy dokonce až v pozdní dospělosti (Parenti G. et al., 2015). Obecným znakem lyzozomálně střeďavých onemocnění je, že čím pozdější je nástup klinických příznaků, tím mírnější bývá jejich průběh (Walkley S. U., 2007). U řady LSD tak rozlišujeme spektrum zahrnující těžké infantilní formy s časným rozvojem klinických příznaků a rychlou progresí a pozdní adultní formy s pozdějším nástupem a chronickým průběhem nemoci. Časnost nástupu klinických příznaků se odvíjí od množství exprimovaného defektního proteinu a tím související jeho reziduální aktivity (Walkley S. U., 2007).

Zatímco některé klinické známky a symptomy nacházíme napříč různými LSD, jiné mohou být pro konkrétní onemocnění specifické (Peters H. et al., 2020). Mezi typické klinické projevy pacientů s LSD patří příznaky viscerální (hepatosplenomegalie), oční (korneální opacity, dystrofie retiny, třešňová skvrna, atrofie nervus opticus, glaukom, porucha zraku), muskuloskeletální (generalizovaná kostní dysplázie charakteru dysostosis multiplex, kloubní kontraktury), hematologické (anémie, cytopenie) či dysmorfické rysy (Parenti G. et al., 2021; Kingma S. D. et al., 2015; Boustany R. M., 2013). Dále u LSD nacházíme postižení srdce (kardiomegalie, arytmie, srdeční selhání), kůže (angiokeratomy, hypohidróza), ledvin (proteinurie) či respiračního traktu (Parenti G. et al., 2015). Ve dvou třetinách případů nacházíme rovněž postižení centrálního nebo periferního nervového systému (Bellettato C. M., Scarpa M., 2010; Boustany R. M., 2013).

1.2.5. Diagnostika lyzozomálně střeďavých onemocnění

V některých případech je klinická manifestace natolik nápadná, že diagnostika onemocnění je velmi promptní. Příkladem je např. faciální dysmorfie u mukopolysacharidóz, která dává pacientům charakteristický vzhled hrubých rysů obličeje (Parenti G. et al., 2015).

Jakkoliv však může být diagnostika v případě vyjádření charakteristických klinických symptomů přímočará, častěji je pro vzácný charakter těchto onemocnění a nespecifické příznaky jen málokdy na diagnózu pomýšeno pouze na základě klinického obrazu (Platt F. M. et al., 2010). Na diagnózu LSD bychom měli mimo jiné vyslovit podezření

u každého dítěte s iniciálně normálním vývojem, následovaným zástavou či dokonce jeho regresem (Platt F. M. et al., 2018). Obecně bychom pak měli na LSD pomýšlet u všech pacientů s multisystémovými projevy a progresivním charakterem nemoci (Malinová V., Honzík T., 2013).

U pacientů s vybranými LSD nacházíme vyšší hladiny biomarkerů – např. u Gaucherovy choroby je to kyselá fosfatáza a chitotriosidáza, tj. enzymy, jejichž hladina se zvyšuje při aktivaci makrofágového systému (Malinová V., Honzík T., 2013).

Diagnóza LSD se stanovuje na základě biochemických vyšetření a následně může být potvrzena na genetické úrovni. Základním biochemickým vyšetřením je enzymologické vyšetření. Biochemické vyšetření je většinou prováděno z leukocytů nebo plazmy, dnes už výjimečně v tkáňové kultuře fibroblastů (Wenger D. A. et al., 2002). Ke screeningovému vyšetření při suspekci na mukopolysacharidózu či některé LSD ze skupiny oligosacharidóz lze využít i vyšetření moči na přítomnost glykosaminoglykanů a oligosacharidů.

Genetické vyšetření může odhalit specifickou patogenní variantu a v případě již dříve popsaných patogenních variant a známé genotypově-fenotypové korelaci může pomoci odhadnout prognózu pacienta (Platt F. M. et al., 2018). Stále častěji se v diagnostice LSD uplatňují metody sekvenování nové generace (Platt F. M. et al., 2018).

Naneštěstí v mnoha případech bývá diagnostika často o mnoho let opožděna a rodičům se narodí další dítě před stanovením diagnózy staršího sourozence (Kingma S. D. et al., 2015). Ačkoliv příčiny pozdního stanovení diagnózy jsou multifaktoriální, obecně lze předpokládat, že největší roli hraje pravděpodobně nedostatek klinického povědomí pro vzácnost výskytu těchto onemocnění (Cismondí I. A., 2015).

1.2.6. Terapie lyzozomálně střeďavých onemocnění

Vzhledem k omezeným terapeutickým možnostem jsou nadále klíčové možnosti screeningových programů, genetických konzultací a prenatální diagnostiky (Boustany R. M., 2013). Aby měla terapie maximální možný efekt, musí být zahájena co nejdříve ještě před ireverzibilním poškozením tkání (Peters H. et al., 2020). Možnosti terapeutického ovlivnění LSD aktuálně zahrnují enzymovou substituční terapii (ERT enzyme replacement therapy), substrát redukční terapii (SRT substrate reduction therapy), terapii pomocí chaperonů, genovou terapii a transplantaci hematopoetických

kmenových buněk (HSCT hematopoetic stem cell transplantation) (Parenti G. et al., 2015; Boustany R. M., 2013).

Při ERT je defektní či chybějící enzym nahrazen rekombinantním enzymem aplikovaným pomocí intravenózní infúze. Využívá se v terapii Gaucherovy nemoci, Fabryho nemoci, mukopolysacharidóz typu I – Scheie syndrom a Hurler/Scheie, II, IV, IVA, VI, VII či Pompeho nemoci (Boustany R. M., 2013; Malinová V., Honzík T. 2013).

Další možností terapie je SRT. SRT inhibuje specifické kroky v biosyntéze substrátu a tím přenastavuje rovnováhu mezi syntézou substrátu a jejich degradací pomocí lyzozomálních enzymů (Platt F. M., Jeyakumar M., 2008). Mezi dnes užívané léky patří miglustat v léčbě Gaucherovy nemoci a Niemannovy-Pickovy nemoci typu C, eliglustat v léčbě Gaucherovy nemoci a flavonoid genistein v terapii mukopolysacharidózy typu III (Patterson M. C. et al., 2007; Lukina E. et al., 2010; Piotrowska E. et al., 2008).

Při transplantaci hematopoetických kmenových buněk získaných od zdravého dárce se využívá schopnosti sekrece funkčních lyzozomálních enzymů dárcovských buněk. Terapie je účinná pokud je aplikována časně před rozvojem neurologických příznaků (Parenti G. et al., 2015). V současné době je metodou volby v terapii mukopolysacharidózy typu I, syndromu Hurlerové (Malinová V., Honzík T., 2013).

Léčba pomocí malých molekul, chaperonů je v současné době ve fázi klinických studií a vychází z předpokladu, že chaperony interagují s mutovanými proteiny, mění jejich konformaci a zvyšují stabilitu (Parenti G. et al., 2015).

Genová terapie pomocí virového vektoru je zvažována zejména u nejtěžších neurodegenerativních LSD jako je Sanfilippo syndrom či metachromatická leukodystrofie. V současné době probíhá s genovou terapií řada klinických studií (Santra S., Ramaswami U., 2015).

Ačkoliv celá řada lyzozomálně strádavých onemocnění může být úspěšně léčena, léčba neurologických symptomů je současnými možnostmi terapie jen obtížně ovlivnitelná. Důvodem je nejenom přítomnost hematoencefalické bariéry, která výrazně omezuje možnost průniku léčiva do CNS, ale také komplexní patologické kaskády vedoucí k neurologickému onemocnění (Kolodny E., 2007). Hematoencefalická bariéra zabraňuje vstupu velkých molekul do mozku a znemožňuje tak jejich terapeutický efekt na příznaky vyplývající z postižení CNS (Sato Y. et al., 2022).

Kauzální terapie neurologických příznaků je t.č. dostupná u neuronální ceroidlipofuscinózy typu 2, u které je od roku 2017 dostupná ERT pomocí cerliponázy alfa (Brineura®). Ta je v pravidelných intervalech aplikována pomocí Ommay rezervoáru intraventrikulárně (Schulz A. et al., 2018). K ovlivnění většiny neurologických příznaků je tak nadále nezbytná symptomatická terapie. Příkladem mohou být neurochirurgické operace při řešení hydrocefalu, dekompresní operace při myelopatii nebo řešení syndromu karpálního tunelu, dále farmakologická léčba epilepsie či poruch spánku (Scarpa M. et al., 2017).

1.2.7. Klasifikace lyzozomálně střeďavých onemocnění

Lyzozomálně střeďavá onemocnění způsobená deficitem enzymu se tradičně klasifikují na základě typu střeďané molekuly a zahrnují sfingolipidózy, mukopolysacharidózy, glykogenózy či lipidózy (Platt F. M. et al., 2018). Další skupinou jsou LSD způsobená poruchou integrálních membránových proteinů, mezi které se řadí například Niemannova-Pickova nemoc typu C či Danonova nemoc. Samostatnou skupinou LSD jsou pak neuronální ceroidlipofuscinózy (tab. 2). Jedná se o celkem 14 onemocnění, pro která je typická intralyzozomální akumulace autofluorescentního materiálu lipofuscinu a ceroidu, jejich podklad je však heterogenní (Platt F. M. et al., 2018; Mole S. E. et al., 2018).

Vzhledem ke skutečnosti, že u mnohých LSD dochází ke střeďání několika různých substrátů je dnes často nahrazována novou klasifikací na základě mechanismu podmiňující střeďání nedegradovatelných molekul (Giugliani R. et al., 2018).

Tab. 2: Klasifikace lyzozomálně střeďavých onemocnění

upraveno podle Boustany R. M., (2013); Giugliani R. et al., (2018).

O onemocnění	Defektní protein	Střeďaná molekula	Neurologická symptomatologie
SFINGOLIPIDÓZY			
Fabryho nemoc	alfa-galaktosidóza	globotriasylceramid	cerebrovaskulární postižení, akroparestezie
Farberova nemoc	acid-ceramidáza	ceramid	-
GM1 gangliosidóza	betagalaktosidáza	GM1 gangliosid	epileptické záchvaty, extrapyramidová symptomatologie
GM2 gangliosidóza	hexosaminidáza, GM2 aktivátor	GM2 gangliosid	epileptické záchvaty, cerebelární příznaky
Gaucherova nemoc	glukocerebrosidáza	glukosylceramid	Parkinsonova nemoc, opožděný vývoj
Krabbeho nemoc	betagalaktosylceramidáza	galaktosylceramid	demence, cerebelární příznaky
Metachromatická leukodystrofie	arylsulfatáza A	sulfatidy	epileptické záchvaty, behaviorální symptomy, demence
Niemannova-Pickova nemoc	sfigomyelináza	sfigomyelin	hypotonie, regres vývoje
MUKOPOLYSACHARIDÓZY			
MPS I	α-L-iduronidáza	heparansulfát, dermatansulfát	demence, syndrom karpálního tunelu
MPS II	iduronát-sulfatáza	heparansulfát, dermatansulfát	epileptické záchvaty, behaviorální symptomy
MPS III A	heparan-sulfamidáza	heparansulfát	epileptické záchvaty, demence, poruchy spánku a chování
MPS III B	acetyl-α-glukosaminidáza	heparansulfát	
MPS III C	α-glukosaminid-N-acetyltransferáza	heparansulfát	
MPS III D	nacetylglukosamin-6-sulfatáza	heparansulfát	
MPS IV A	acetylglukosamin-6-sulfatáza	keratansulfát, chondroitin-6-sulfát	kompresivní myelopatie
MPS IV B	β-galaktosidáza	keratansulfát	-
MPS VI	acetyl galaktosamin-4-sulfatáza	dermatansulfát	kompresivní myelopatie
MPS VII	β-glukuronidáza	heparansulfát, dermatansulfát, chondroitin-6-sulfát	hydrocefalus, syndrom karpálního tunelu
MPS IX	hyaluronidáza	hyaluronan	-

OLIGOSACHARIDÓZY			
Fukosidóza	α -fukosidóza	glykosfingolipidy glykoproteiny	opoždění vývoje, epileptické záchvaty
Alfa-mannosidóza	α -mannosidóza	oligomannosidy	cerebelární příznaky, kongnitivní deficit
Beta-mannosidóza	β -mannosidóza	oligosacharidy	epileptické záchvaty, mozečkové symptomy
Schindlerova nemoc	N-acetyl- galaktosaminidáza	O-vázané glykopeptidy	myoklonus, epileptické záchvaty, optická atrofie
Sialidóza	neuraminidáza	oligosacharidy obsahující kyselinu sialovou	myoklonus, epileptické záchvaty, cerebelární příznaky
GLYKOGENÓZY			
Pompeho nemoc	α -1,4-glukosidóza	glykogen	myopatie
LIPIDÓZY			
Wolmanova nemoc	acidlipáza	estery cholesterolu	-
ONEMOCNĚNÍ ZPŮSOBENÁ PORUCHOU INTEGRÁLNÍCH MEMBRÁNOVÝCH PROTEINŮ			
Danonova nemoc		glykogen	myopatie
mukolipidóza IV	mukolipin	lipidy	kognitivní deficit, retinopatie
Niemannova-Pickova nemoc I	NPC I	cholesterol, sfingolipidy	epileptické záchvaty, demence
Niemannova-Pickova nemoc II	NPC II	cholesterol, sfingolipidy	
Cystinóza	cystinosin	cystin	-
OSTATNÍ LSD			
Mnohočetný deficit sulfatázy	mnohočetná sulfatáza	sulfatidy, glykolipidy, glykosamino-glykany	myoklonus, epileptické záchvaty
NEURONÁLNÍ CEROIDLIPOFUSCINÓZY			
NCL I	PPT-1	saposin A a D	optická atrofie, retinopatie, myoklonus, epileptické záchvaty, demence, cerebelární příznaky
NCL II	TPP-1	subjednotka c ATP syntázy	
NCL III	CLN3 protein	subjednotka c ATP syntázy	
NCL IV	DNAJC5	DNAJC5	
NCL V	protein CLN5	subjednotka c ATP syntázy	
NCL VI	protein CLN6	subjednotka c ATP syntázy	
NCL VII	MFSD8	subjednotka c ATP syntázy	
NCL VIII	protein CLN8	subjednotka c ATP syntázy	
NCL X	katepsin D	saposin A a D	
NCL XI	Granulin	progranulin	
NCL XIII	katepsin F	katepsin F	
NCL XIV	KCTD7	dosud nespecifikováno	

1.3. NEUROLOGICKÉ PROJEVY U LYZOSOMÁLNĚ STŘÁDAVÝCH ONEMOCNĚNÍ

Neurologické symptomy jsou u LSD časté a nacházíme je přibližně u dvou třetin pacientů (Boustany R. M., 2013). Neuronální ceroidlipofuscinózy jsou nejčastější příčinou demence v dětském věku (Schulz A. et al., 2013).

Ačkoliv se lyzozomálně střeďavá onemocnění manifestují často multisystémovými projevy, u některých z nich zejména neuronopatických forem, nacházíme výhradně postižení nervového systému nebo neurologické příznaky v klinickém obraze dominují jako je tomu např. u Tay-Sachsovy nemoci, Krabbeho nemoci, metachromatické leukodystrofie nebo neuronální ceroidlipofuscinózy (Boustany R. M., 2013). Neurologické příznaky bývají téměř vždy progresivní a obtížně ovlivnitelné terapií (Jardim L. B. et al., 2010). Neurologickou manifestaci typicky nacházíme u mukopolysacharidóz typu I, II, III a VII, sfingolipidóz (GM1 a GM2 gangliosidóza, Gaucherova nemoc, Niemannova-Pickova nemoc, metachromatická leukodystrofie, Krabbeho nemoc, Farberova nemoc), mukolipidóz, oligosacharidóz (alfa-mannosidóza, beta-mannosidóza, fukosidóza), mnohočetného sulfatázového deficitu a neuronální ceroidlipofuscinózy (Jardim L. B. et al., 2010). Jsou to často právě neurologické příznaky, které mají zásadní dopad na kvalitu života pacientů a jejich rodin.

Neurologické postižení může být primární vlivem přímého poškození nervového systému či sekundární způsobené např. akumulací substrátu v okolních tkáních jako je tomu např. při vzniku cervikální myelopatie u mukopolysacharidózy typu IV nebo cerebrovaskulárních příhod u Fabryho nemoci (Jardim L. B. et al., 2010).

Příznaky vyplývající z postižení nervového systému mohou být velmi variabilní a často závislé na věku manifestace. Zatímco u dětských pacientů se lyzozomálně střeďavá onemocnění neurologicky projeví nejčastěji epileptickými záchvaty, opožděním či regresem psychomotorického vývoje, poruchou sluchu a zraku, hypotonií či extrapyramidovými symptomy, adultní formy se častěji manifestují pod obrazem demence či různých psychiatrických příznaků jako je deprese či schizofrenie. (Pastores G. M., Maegawa G. H., 2013; Neudorfer O. et al., 2005). U dospělých pacientů bývá nástup onemocnění plíživý a častými prezentujícími příznaky jsou mimo jiné dysartrie, ataxie, slabost či abnormální pohyby, tj. příznaky typické i pro celou řadu běžnějších neurodegenerativních onemocnění dospělého věku (Platt F. M. et al., 2018).

Psychomotorický vývoj u dětí s LSD, typicky u mukopolysacharidózy typu I, II a III se nejprve zpomaluje, následuje fáze plateau a následně dochází k jeho regresi (Shapiro E. G. et al., 2017).

Postižení zraku je charakteristické pro pacienty s NCL, u kterých v důsledku pigmentové retinopatie dochází k zániku světločivných buněk (Birch D. G., 1999). Typický nález třešňové skvrny na sítnici nacházíme u pacientů, u kterých dochází k akumulaci lipidů jako jsou gangliosidózy, Niemannova-Pickova nemoc typu A a B, sialidóza či galaktosialidóza (Suvarna J. C., Hajela S. A., 2008). Pro metachromatickou dystrofii či Krabbeho nemoc je naopak charakteristická atrofie optiku (Debs R. et al., 2013).

U značného počtu pacientů s LSD se rozvíjí poruchy hybnosti (Ebrahimi-Fakhari D. et al., 2018). Častým projevem u řady LSD, která postihují mozeček, je pomalu progredující ataxie, kterou pozorujeme typicky např. u pacientů s Niemannovou-Pickovou nemocí C či NCL (Ebrahimi-Fakhari D. et al., 2019). Postižení periferního nervového systému nacházíme např. u Fabryho nemoci v podobě akroparestézií. Senzorická a motorická neuropatie je častá u Krabbeho nemoci a metachromatické leukodystrofie. Neuromuskulární postižení je pak typické pro Pompeho nemoc (Magner M., Jirečková J., 2018).

1.3.1. Patofyziologie neurodegenerativního postižení u lyzozomálně strádavých onemocnění

Ačkoliv se dříve předpokládalo, že neurologické projevy jsou přímým důsledkem akumulace nedegradovatelného substrátu, dnes již víme, že strádání je pouze spouštěčem celé kaskády sekundárních změn, které jsou ve skutečnosti odpovědné za klinickou manifestaci. (Parenti G. et al., 2021). Koncentrace strádaného materiálu u většiny lyzozomálně strádavých onemocnění v centrálním nervovém systému je často dokonce nižší než v jiných orgánech (Bellettato C. M., Scarpa M., 2010). U některých LSD nacházíme kromě primární akumulace dané deficitem specifické hydrolázy také sekundární strádání, které nesouvisí s primární absencí proteinu. U Niemannovy-Pickovy nemoci nebo některých typů mukopolysacharidóz tak dochází sekundárně k akumulaci GM2 a GM3 gangliosidů (Giugliani R. et al., 2018).

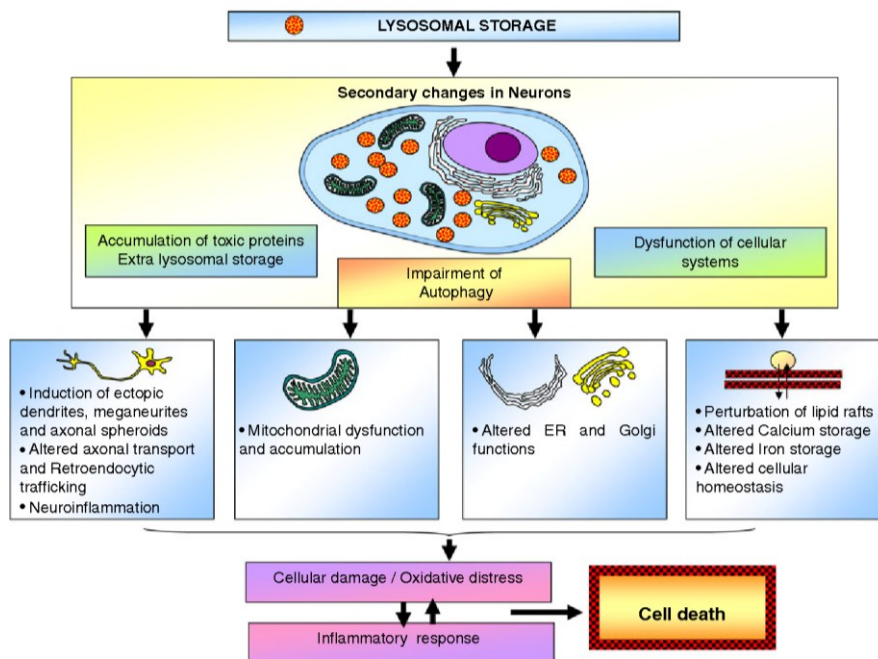
Neurodegenerativní postižení je popisováno u více než 60% lyzozomálně strádavých onemocnění (Bellettato C. M., Scarpa M. 2010; Boustany R. M., 2013). Vysoká

vulnerabilita nervového systému k lyzozomálně střeďavým onemocněním může být vysvětlena nižším regeneračním potenciálem neuronů, jejich vysokou senzitivitou k poškození nebo nedostatkem kompenzatorních mechanismů. Akumulace nedegradovatelného substrátu v neuronech spouští celou kaskádu sekundárních změn jako je porucha axonálního transportu, mitochondriální dysfunkce, porucha homeostázy vápníku a funkce endoplazmatického retikula nebo zánětlivé změny (obr. 5), které vedou ve svém důsledku k dysfunkci neuronů, méně často pak k jejich buněčné smrti (Bellettato C. M., Scarpa M., 2010).

Zatímco u některých typů lyzozomálně střeďavých onemocnění nacházíme primární postižení oligodendroglíí a myelinizaci axonů vedoucích k abnormitám bílé hmoty (např. leukodystrofie), většina lyzozomálně střeďavých onemocnění se projevuje postižením neuronů a šedé hmoty mozkové (Walkley S. U., 2007).

Neurony s abnormální intralyzozomální akumulací se v elektronovém mikroskopu manifestují přítomností střeďavých tělísek a to zejména v oblasti perikarya. U různých typů LSD nacházíme různé charakteristické obrazy těchto tělísek. U primárních gangliosidóz se jeví membranózní a jsou proto označovány jako “membranozní cytoplazmatická tělíška”, u mukopolysacharidóz nacházíme útvary, pro své charakteristické pruhování označovány jako tzv. “zebra bodies”, u neuronální ceroidlipofuscinózy zase tzv. “fingerprint bodies” (Walkley S. U., 2007).

Společným znakem mnoha LSD postihující centrální nervový systém jsou zánětlivé změny s aktivací mikroglíí a astrocytů (Bosch M. E., Kielian T., 2015). Lyzozomální dysfunkce spouští aktivaci tzv. DAMPs (danger-associated molecular patterns) z poškozených či usmrcených buněk (Thundyil J., Lim. K. L., 2014). DAMPs následně aktivují okolní glie, které produkují mediátory zánětu v podobě chemokinů, cytokinů či reaktivního kyslíku (Bosch M. E., Kielian T., 2015).



Obr. 5: Patofyziologie mechanismu neurodegenerace u lyzozomálně strádavých onemocnění. *Proces neurodegenerace je komplexní děj, kdy vlivem intralyzozomální akumulace dochází k sekundárním změnám v neuronech, zahrnující extralyzozomální strádání, poruchu autofagie a dysfunkci buněčných systémů, které vedou k buněčnému poškození, oxidativnímu stresu a zánětlivé odpovědi. Výsledkem je pak buněčná smrt. Převzato z Bellettato C.M., Scarpa J. (2010).*

1.3.2. Neuropatologické změny neuronů

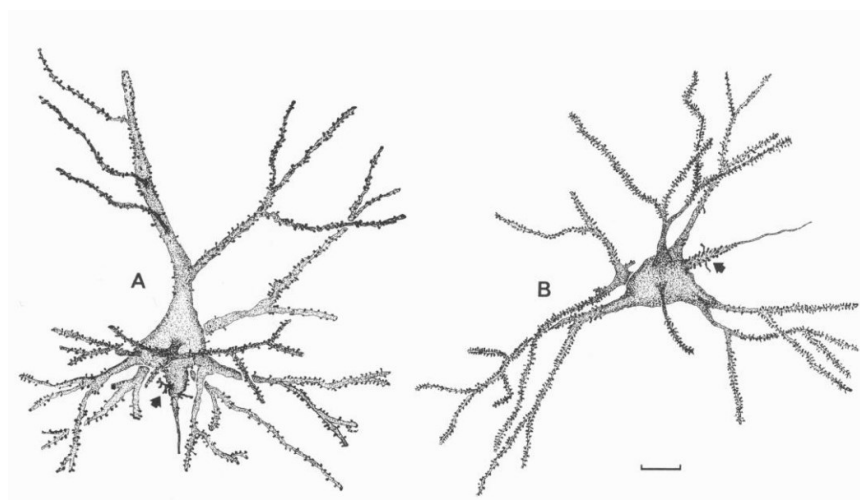
Postižení neuronů se u lyzozomálně strádavých onemocnění manifestuje především neuronální dysfunkcí spíše než jejich ztrátou. Buněčná smrt neuronů charakterizuje častěji pozdní stadia onemocnění (Giugliani R. et al., 2018). Výjimkou je např. masivní ztráta neuronů u neuronální ceroidlipofuscinózy (Bellettato C. M., Scarpa M. 2010).

Na postižených neuronech nacházíme dva základní typy morfologických změn nebo poruch dendritogeneze, a to meganeurity a axonální sferoidy (Giugliani R. et al., 2018).

1.3.2.1. Meganeurity

Meganeurity jsou velká zvětšení axonového hrbolku obsahující nastřádaný materiál. (Bellettato C. M., Scarpa M., 2010). Jejich velikost často přesahuje sousední oblast perikarya (Giugliani R. et al., 2018). Meganeurity jsou spojovány se zvýšenou expresí GM2 gangliosidů, která hraje zásadní roli v regulaci dendritogeneze v kortikálních pyramidových neuronech. Akumulace GM2 gangliosidů iniciuje růst ektopických

dendritů a působí tak jako růstový faktor u lyzozomálně střídavých onemocnění asociovaných s akumulací GM2 gangliosidů, ale i celé řady dalších onemocnění jako jsou mukopolysacharidóza či alfa-mannosidóza (Walkley S. U., March P. A., 1993). U některých neuronů můžeme namísto meganeuritů pozorovat růst nových dendritů z oblasti axonového hrbolku (obr. 6). Tento fenomén se označuje jako ektopická dendritogeneze (Walkley S. U., 2007).



Obr. 6: Ektopická dendritogeneze.

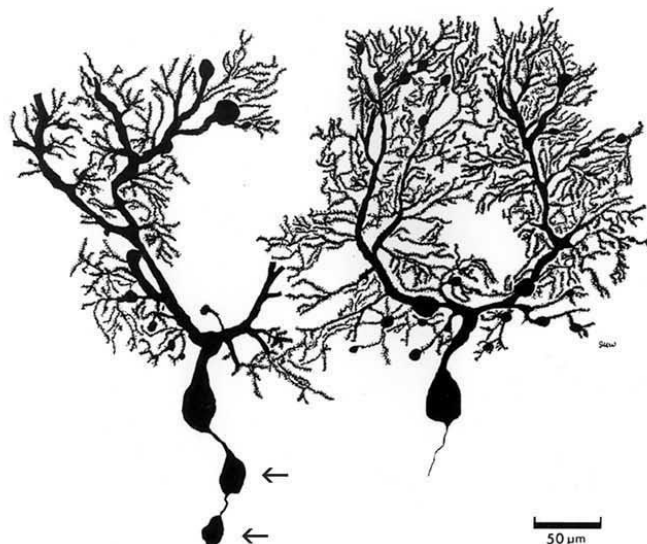
Camera lucida kresby ilustrující ektopickou dendritogenezi v oblasti axonových hrbolků u alfa-mannosidózy, zvětšení 20 μ m. A Kortikální pyramidový neuron demonstrující zvětšený axonový hrbolok a ektopickou dendritogenezi. B Multipolární neuron z amygdaly. Upraveno podle Walkley S.U. et al. (1988).

1.3.2.2. Axonální sferoidy, neuroaxonální dystrofie

Další morfologickou abnormalitou jsou takzvané axonální sferoidy (známé také pod pojmem neuroaxonální dystrofie), které nacházíme zejména v GABAergních neuronech kortexu a v Purkyňových buňkách mozečku. Jedná se o baňatá vyklenutí podél axonů, nacházející se distálně od oblasti iniciálního segmentu (obr. 7). Tím se jednoznačně odlišují od meganeuritů, které se nachází proximálně od iniciálního segmentu (Walkley S. U., Pierok A. L., 1986).

Tato fokální zvětšení obsahují mitochondrie, autofagozomy, multivezikulární tělíska, tubulovezikulární kompartmenty (Walkley S. U. et al., 2010). Axonální sferoidy nacházíme u celé řady lyzozomálně střídavých onemocnění a jejich výskyt tak pravděpodobně souvisí s generickým defektem zahrnujícím axoplazmatický transport

(Walkley S. U., 1988). Incidence a distribuce axonálních sferoidů koreluje s nástupem a progresí neurologických příznaků (Siegel D. A., Walkley S. U., 1994). Sferoidy mohou zapříčinit časný zánik neuronů jako konsekvenci bloku retrográdního transportu růstového faktoru, nutného pro buněčné přežití. Výskyt sferoidů je tak asociován s klinickými symptomy lyzozomálně střeďavých onemocnění jako je ataxie, tremor, poruchy hybnosti či epileptické záchvaty (Walkley S. U. et al., 2010).



Obr. 7: Neuroaxonální dystrofie.

Kresba pomocí Camera lucida Purkyňovy buňky mozečku zvířecího modelu alfa-mannosidózy. Výrazná zvětšení v oblasti proximálního axonu představují axonální sferoidy nebo-li neuroaxonální dystrofii. Upraveno podle Walkley S. U. (2007).

1.3.3. Radiologické nálezy při zobrazení centrální nervové soustavy

Při zobrazení CNS u pacientů s lyzozomálně střeďavým onemocněním nacházíme celou řadu neuroradiologických nálezů. Zatímco některé z nich jsou nespecifické a nacházíme je i u celé řady dalších onemocnění, některé typické nálezy mohou vznést podezření na LSD. Příkladem může být nález leukodystrofie u metachromatické leukodystrofie a Krabbeho nemoci nebo nález cerebrální atrofie u neuronální ceroidlipofuscinózy (Jardim L. B. et al., 2010).

U celé řady LSD nacházíme na MR mozku nález hypointenzit v T2 vážených obrazech v oblasti thalamů (Fagan N. et al., 2016; Autti T. et al., 2007). Tento nález se vysvětluje akumulací makromolekul a lipidů, které následně zvyšují viskozitu tkáně a dochází tak ke zkrácení T1 a T2 signálu (van der Voorn J. P. et al., 2005). Při zobrazení CNS pak

nacházíme obraz T2 hypointenzit a T1 hyperintenzit. V literatuře je nález T2 hypointenzit v oblasti thalamu popsán u GM1 a GM2 gangliosidózy, Krabbeho nemoci, mannosidózy, fukosidózy, mukopolisaccharidózy IV nebo neuronálních ceroidlipofuscinóz (Autti T. et al., 2007).

Mezi další časté neuroradiologické nálezy patří rozšířené perivaskulární prostory, abnormality bílé hmoty či nález atrofie různých struktur.

Pro Fabryho nemoc je charakteristický specifický nález vaskulopatií v podobě tortuozit či elongací. Poměrně častým nálezem bývá nález atrofie mozečku, kterou nacházíme např. u neuronální ceroidlipofuscinózy, Niemannovy-Pickovy choroby typu C či gangliosidóz (Steinlein M. et al., 1998; Fagan N. et al., 2017).

1.4. GM2 GANGLIOSIDÓZY

1.4.1. Základní charakteristika onemocnění

GM2 gangliosidózy jsou skupinou onemocnění charakterizovanou intralyzozomální akumulací GM2 gangliosidů. Jedná se o geneticky podmíněná onemocnění, zapříčiněná mutací v genu pro α nebo β podjednotku enzymu β -hexosaminidáza nebo v mutaci genu kódujícím protein GM2 aktivátor. Rozlišujeme tak celkem tři typy GM2 gangliosidóz: Tay-Sachsovu nemoc (mutace v genu *HEXA*), Sandhoffovu nemoc (mutace v genu *HEXB*) a AB variantu (mutace v genu *GM2A*). (Leal A. F. et al., 2020).

Gangliosidy jsou skupinou glykosfingolipidů, která je lokalizována především v membráně neuronů a která je klíčová pro správnou funkci centrálního nervového systému (Sandhoff K., Harzer K., 2013). Gangliosidy se podílí na neuronální diferenciaci, buněčné adhezi, transdukcii signálu, ale účastní se i dynamického neurovývojového procesu při tvorbě neuritů, axonů či synapsí (Biebrich E. et al., 2001; Fang Y. et al., 2000; Yu R. K. et al., 2012; Walkley S. U. et al., 2000, Yu R. K. et al., 2009).

Za normálních okolností jsou GM2 gangliosidy katabolizovány lyzozomální hydrolázou β -hexosaminidázou, složenou z izoenzymů z α a β podjednotek a za účasti GM2 aktivátoru (Cachon-Gonzalez M. B. et al., 2018). Intralyzozomální akumulace GM2 gangliosidů má na neurony cytotoxický efekt, který zapříčiňuje často buněčnou smrt (Virgolini M. J. et al., 2019; Sandhoff K., Harzer K., 2013). Charakteristickým znakem u GM2 gangliosidóz je tak progresivní postižení centrálního nervového systému, projevující se motorickým deficitem, hypotonií, poruchou zraku či epileptickými záchvaty (Masingue M. et al., 2020).

Ačkoliv jednotlivá onemocnění jsou zapříčiněná mutacemi odlišných genů, klinická manifestace neurologických příznaků u jednotlivých onemocnění je podobná. Typické neurologické příznaky bývají asociovány v souvislosti s časovou vazbou nástupu onemocnění – u akutních forem se manifestují zejména epileptické záchvaty, hypotonie a regres psychomotorického vývoje, u subakutních forem regres motorických schopností, psychotické epizody a poruchy intelektu, u adultních forem pak dysfagie, cerebelární ataxie, svalová slabost nebo manická deprese (Bley A. E. et al., 2011; Maegawa G. H. et al., 2006; Masingue M. et al. 2020). U Sandhoffovy nemoci na rozdíl od zbylých dvou však bývají vyjádřeny i systémové příznaky jako je kardiomegalie, hepatosplenomegalie, makroglosie a skeletální abnormality (Sandhoff K.,

Harzer K., 2013). Důvodem je snížená aktivita podjednotky HexB, která je mimo jiné odpovědná i za degradaci glykosaminoglykanů jako je keratansulfát a chondroitinsulfát (Gushulak L. et al., 2012).

1.4.2. Tay-Sachsova nemoc

Tay-Sachsova nemoc (OMIM 272800) je autozomálně recesivní neurodegenerativní onemocnění zapříčiněné mutací v genu *HEXA*, který vede k deficitu enzymu β -hexosaminidáza A. Důsledkem snížené aktivity enzymu je intralyzozomální akumulace glykosfingolipidu, GM2 gangliosidu (Kaback M., Desnick R. J., 2018). Na základě reziduální enzymové aktivity známe celé kontinuum klinických obtíží zahrnující akutní infantilní formu, subakutní juvenilní formu a chronickou adultní formu.

Diagnóza se stanovuje na základě enzymologického vyšetření β -hexosaminidázy A, kdy nacházíme její sníženou aktivitu. Následně ji lze potvrdit molekulárně-genetickým vyšetřením, při kterém nacházíme dvě patogenní varianty v genu *HEXA*.

Ačkoliv probíhají některé klinické studie, kauzální terapie není t.č. dostupná. Léčba je proto zatím pouze symptomatická.

Klasická infantilní forma se manifestuje již v kojeneckém věku a projevuje se progresivní slabostí, ztrátou motorických funkcí, poruchou zraku, epileptickými záchvaty a rychlou deteriorací. Tyto děti obvykle umírají do dvou let věku (Toro C. et al., 2020). Charakteristickým nálezem při zobrazení očního pozadí je třešňová skvrna na sítnici.

U dětí se subakutní nebo-li juvenilní formou se zpočátku psychomotorický vývoj jeví normální, ale později v dětském věku se objevují první symptomy jako jsou poruchy chůze, dysartrie, ztráta dříve nabytých dovedností nebo kognitivní deteriorace. V dalším průběhu nemoc postupuje rozvojem spasticity a záchvatů. Pacienti obvykle umírají v druhé dekádě života kvůli aspiraci. (Toro C. et al., 2020).

1.4.3. 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 (Kugelberg-Welanderové syndrom), amyotrofickou laterální sklerózu, spinocerebelární či Friedreichovu ataxii. Při primární psychiatrické manifestaci jsou pak dlouhodobě sledováni a léčeni na psychiatrických klinikách. A to i přesto, že některá neuroleptika zhoršují průběh nemoci (MacQueen G. M. et al., 1998).

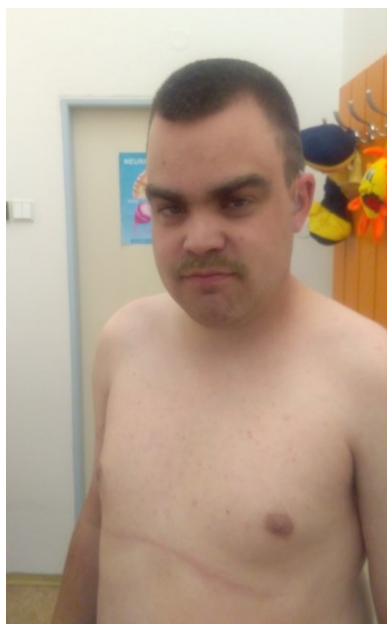
1.5. ALFA-MANNOSIDÓZA

1.5.1. Základní charakteristika onemocnění

Alfa-mannosidóza (OMIM 248500) je pomalu progredující lyzozomálně střídaté 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).

Ačkoliv se tradičně dle rychlosti progresu rozlišovaly tři formy – mírná, středně těžká a těžká, dnes na alfa-mannosidózu nahlížíme spíše jako na kontinuální spektrum tíže onemocnění (Beck M. et al., 2013).

Alfa-mannosidóza se klinicky manifestuje poruchou růstu, hepatomegalií, kostními deformitami s radiologickými projevy dysostosis multiplex, opakovanými infekty zapříčiněnými imunodeficitem, faciálními abnormalitami (obr. 8) či poruchou sluchu. (Beck M. et al., 2013).



Obr. 8: 25letý pacient s alfa-mannosidózou.

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

Z neurologických projevů je typické opoždění či regres psychomotorického vývoje, opožděný vývoj řeči či ataxie (Malm D., Nilssen O., 2008). Abnormality při neuroradiologickém zobrazení zahrnují změny bílé hmoty mozkové, opožděnou myelinizaci nebo hydrocefalus (Borgwardt L. et al., 2016).

Screeningovým vyšetřením při suspekci na alfa-mannosidózu je vyšetření profilu oligosacharidů v moči. Diagnóza se následně stanovuje na základě stanovení snížené aktivity enzymu alfa-mannosidázy v leukocytech či kultivovaných fibroblastech (Honzík T. et al., 2016). Molekulárně genetické vyšetření se využívá nejen ke confirmaci diagnózy, ale může být využito k prenatální diagnostice a genetickému poradenství (Malm D., Nilssen O., 2008).

Současné možnosti terapie představují transplantace hematopoetických kmenových buněk a enzymová substituční terapii.

2. CÍLE PRÁCE

Vzhledem k novým možnostem terapie a dostupnosti prenatální diagnostiky je u pacientů s lyzozomálně strádavým onemocněním 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 lyzozomálně strádavá onemocnění 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 (alfa-mannosidóza) nebo probíhá klinická studie s nově navrženou terapií (Tay-Sachsova nemoc).

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 adultní formou Tay-Sachsovy nemoci. Cílem tohoto bodu práce byl 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 nálezn může vznést podezření na tuto diagnózu. V tomto bodě jsme si stanovili za cíl podrobně popsat neuroradiologické nálezy u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci 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. 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 sledovaných v metabolickém centru Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze. Ve studiích II, III a IV byli dále zahrnuti pacienti ze spolupracujících zahraničních pracovišť.

Definice jednotlivých příznaků a použité radiodiagnostické protokoly jsou podrobně 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 schváleny Etickou komisí Všeobecné fakultní nemocnice v Praze (Etická komise, schvalovací číslo:1471/19).

3.4. FINANČNÍ PODPORA

Studie byly finančně podpořeny granty RVO-VFN 64165/2012 a PROGRES Q32/LF2.

4. VÝSLEDKY

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

Výsledky komplexní analýzy studia klinických nálezů pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci (GM2 gangliosidózy) byly publikovány v práci:

Jahnová H., Poupětová H., **Jirečková J.**, Vlášková H., Košťálová E., Mazanec R., Zumrová A., Mečír 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.** J Neurol. 2019;266(8):1953-1959. **IF 3.956.**

4.1.1. ÚVOD

Adultní forma Tay-Sachsovy nemoci je vzácné geneticky podmíněné neurodegenerativní onemocnění. Množství informací o klinickém průběhu je v odborné literatuře vzhledem k vzácnosti onemocnění omezené. Cílem naší studie bylo zmapovat výskyt adultní formy Tay-Sachsovy nemoci v České republice a blíže charakterizovat její typické klinické příznaky.

4.1.2. METODIKA

Pacienti

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. 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 Klinice pediatrie a dědičných poruch metabolismu ve spolupráci s ošetřujícími neurology v místě bydliště. Vyšetření magnetickou rezonancí a elektromyografií byla provedena ošetřujícími neurology v místě bydliště.

Enzymologické vyšetření

Vyšetření enzymové aktivity beta-hexosaminidázy A a beta-D-galaktosidázy (kontrolní enzym) byla stanovena fluorometrickým měřením v séru, plazmě a bílých krvinkách (Wenger D., Williams C. 1991).

Molekulárně-genetické vyšetření

Genomová DNA pacientů byla izolována z krve. U 12 pacientů byla provedena genetická analýza metodou přímého sekvenování všech kódujících exonů *HEXA* genu za použití 3500xL Genetic Analyzer capillary sequencer. U dvou pacientů diagnostikovaných pomocí metody celoexomového sekvenování byly použity Focused Exome a SureSelect Reagen Kit a sekvenace byla provedena pomocí Illumina HiSeq1500 system.

4.1.3. VÝSLEDKY

Pacienti

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 adultní formy Tay-Sachsovy nemoci pro Českou republiku je 1:325 175 živě narozených. Prevalence všech forem Tay-Sachsovy nemoci v České republice 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).

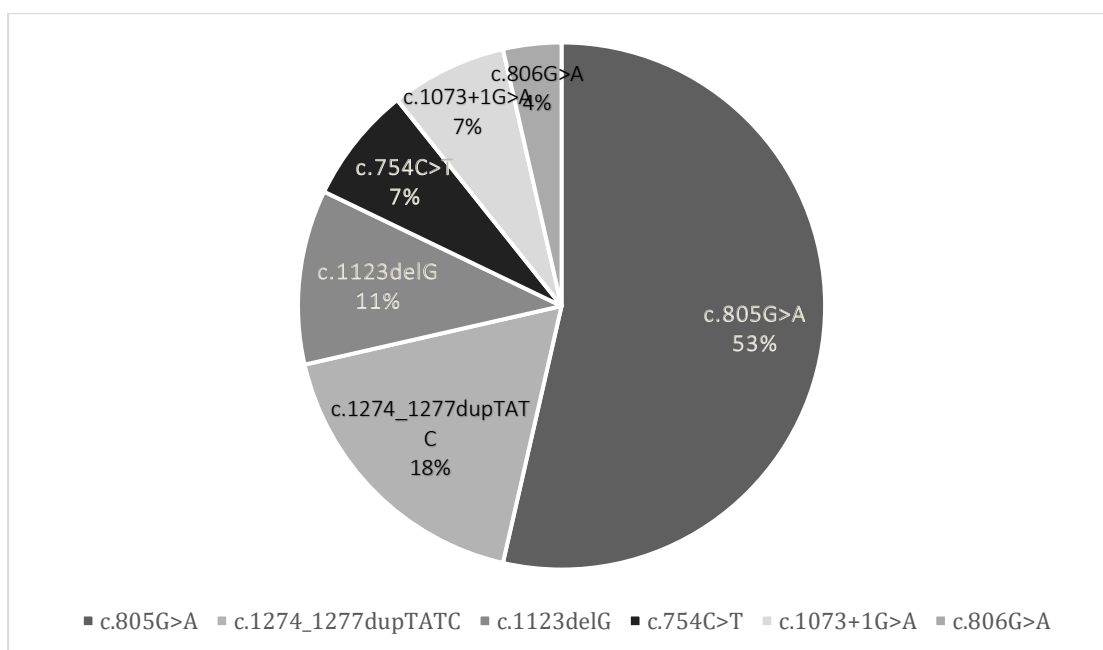
Klinická manifestace

Hlavní klinické příznaky v době manifestace (shrnuty v tabulce 3) 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 nález cerebelární atrofie (tab. 4).

Laboratorní nálezy

Reziduální enzymová aktivita dosahovala 1.8-4.1% aktivity zdravých kontrol. Všichni pacienti byli nositeli pro adultní formu Tay-Sachsovy nemoci typické patogenní varianty c.805G>A (p.Gly269Ser) alespoň na jedné alele genu *HEXA*, u jednoho z pacientů pak byla přítomna na obou alelách (obr. 9).

U poloviny pacientů byla nalezena složená heterozygozita 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. 9: Frekvence patogenních variant u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci.

Tab. 3: Nástup příznaků, enzymová aktivita a patogenní varianty v *HEXA* genu u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci.

Pacient	Pohlaví	Věk nástupu symptomů	První symptomy	Věk v době diagnózy	Diagnostické zpoždění	Reziduální enzym. aktivita v leukocytech (%)	Patogenní varianta (gen <i>HEXA</i>), defektní protein
1 ^a	Ž	10	setřelá řeč	30	20	2.2	c.805G>A/c.1123delG p.G269S/p.E375Rfs*7
2 ^a	Ž	15	setřelá řeč, proximální slabost DKK	18	3	2.5	c.805G>A/c.1123delG p.G269S/p.E375Rfs*7
3	M	30	ataxie, pády, dysartrie	46	16	2.3	c.805G>A/c.1073+1G>A p.G269S/missplicing
4 ^a	Ž	30	deprese, proximální slabost DKK, dysfonie	38	8	3.3	c.805G>A/c.1274_1277du pTATC p.G269S/p.Y427Ifs*5
5 ^a	Ž	30	deprese, proximální slabost DKK, dysartrie	33	3	3.7	c.805G>A/c.1274_1277du pTATC p.G269S/p.Y427Ifs*5
6	M	18	schizofrenii podobné onemocnění	31	13	4.1	c.805G>A/c.806G>A p.G269S/p.G269D
7	M	33	tremor, ataxie, dysartrie	37	4	1.8	c.805G>A/c.805G>A p.G269S/p.G269S
8	Ž	20	ataxie, tremor	45	25	2.4	c.805G>A/c.1274_1277du pTATC p.G296S/p.Y427Ifs*5
9	Ž	23	ataxie, proximální slabost DKK, tremor HKK	38	15	2.6	c.805G>A/c.1123delG p.G269S/p.E375Rfs*7
10 ^a	M	25	slabost DKK, pády, mírná dysartrie	46	21	3.8	c.805G>A/c.754C>T ^b p.G269S/p.R252C ^b
11 ^a	M	25	slabost DKK, pády, mírná dysartrie	54	29	3.5	c.805G>A/c.754C>T ^b p.G269S/p.R252C ^b
12 ^a	Ž	17	mírná dysartrie, proximální slabost DKK, pády	24	7	3.3	c.805G>A/c.1274_1277du pTATC p.G296S/p.Y427Ifs*5
13 ^a	Ž	17	proximální slabost DKK, pády	20	3	3.7	c.805G>A/c.1274_1277du pTATC p.G296S/p.Y427Ifs*5
14	Ž	25	dysartrie, proximální slabost DKK tremor	25	0	2.9	c.805G>A/c.1073+1G>A p.G296S/ missplicing

Ž – žena, M - muž, DKK – dolní končetiny, HKK – horní končetiny

Tab. 4: Neuropsychiatrické příznaky ve skupině 14 českých pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci.

P	slabost a/nebo amyotrofie DKK	neuropatie (EMG)	dysmetrie, akční tremor HKK	cerebelární dysartrie, kocktavost	cerebelární ataxie, nestabilita chůze	dystonie, dyskinezy	psychóza	mírné kognitivní postižení	postižení očních pohybů	cerebelární atrofie (MR)
1	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+
2	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
3	-	N	+	+	+	-	-	-	+	+
4	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
5	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
6	-	N	+	+	+	-	+	-	+	+
7	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
8	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+
9	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
10	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
11	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
12	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
13	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
14	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+

P - pacient, DKK – dolní končetiny, EMG – elektromyografie, MR – magnetická rezonance, HKK – horní končetiny, N - neprovedeno

4.1.4. DISKUZE

Ačkoliv je adultní forma Tay-Sachsovy nemoci 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 výsledků 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.

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

Výsledky studie neuroradiologických nálezů u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci byly publikovány v práci:

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 May;43(5):3273-3281. IF 3.83.

4.2.1. ÚVOD

Ačkoliv je dnes diagnóza adultní formy Tay-Sachsovy nemoci potvrzována pomocí genetického vyšetření, nezbytná je klinická suspekce na základě klinického obrazu a neuroradiologických nálezů.

Cílem této studie bylo blíže popsat charakteristické neuroradiologické nálezy u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci. Zaměřili jsme se zejména na typizaci cerebelární atrofie a semikvantitativní měření atrofie mozečku a mozkového kmene.

4.2.2. METODIKA

Pacienti

Do retrospektivní studie jsme zahrnuli 16 pacientů ze 13 rodin s geneticky potvrzovanou diagnózou adultní formy Tay-Sachsovy nemoci a alespoň s jedním dostupným vyšetřením MR mozku. Pacienti byli rekrutováni ze dvou center – Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu 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.

Magnetická rezonance a její hodnocení

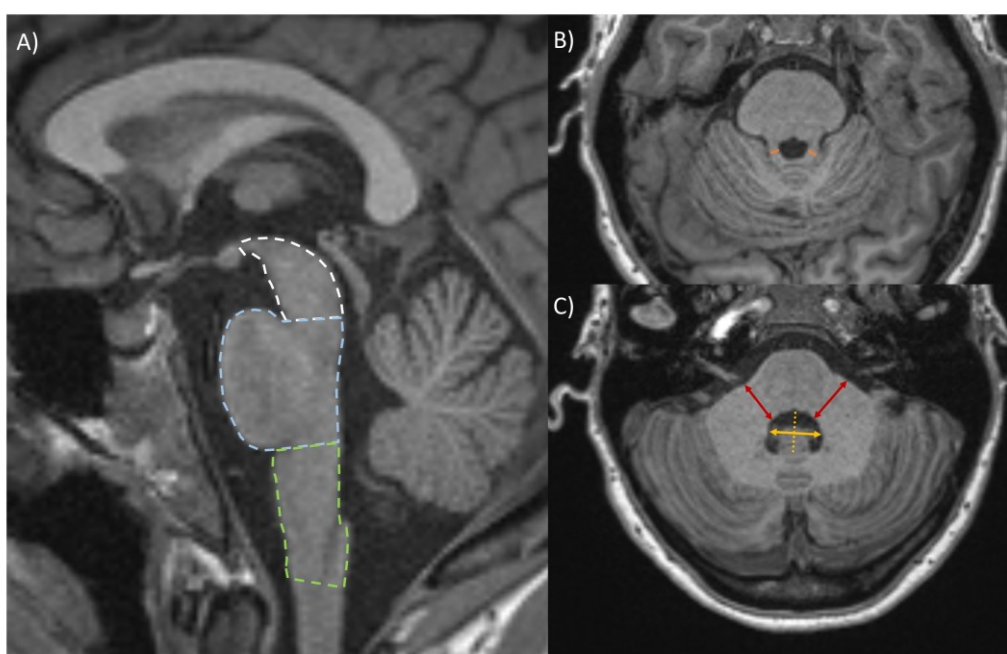
Celkem bylo hodnoceno 32 zobrazení MR, přičemž 21 vyšetření bylo provedeno na 1.5T a 11 vyšetření na 3T přístrojích. Všechna MR zobrazení zahrnovala standardní T1, T2 a FLAIR pulzní sekvence. Kontrolní skupina pacientů měla normální

neuroradiologický nález a sekvence podobné skupině pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci.

Dva na sobě nezávislí hodnotitelé 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, středosaagitální plochu středního mozku, pontu a prodloužené míchy.

Hodnocení MR zahrnující semikvantitativní měření je vysvětleno na obr. 10.

Cerebelární kortikální atrofie byla hodnocena na čtyřstupňové škále jako nepřítomná (-), mírná (+), středně těžká (++) a těžká (+++). Hodnocení atrofie bylo založeno na stupni ztenčení mozečkových listů, rozšíření mozečkových fisur a subarachnoidálních prostor v zadní jámě lebni.



Obr. 10: Hodnocení neuroradiologických nálezů.

A) Reprezentativní středosaagitální T1 obraz zdravého pacienta. Střední mozek, pons a prodloužená mícha byly manuálně odděleny metodou popsanou v Oba et al. (2005) a Reetz et al. (2018). Reprezentativní axiální T1 obrazy v úrovni B) horního a C) středního mozečkového stonku u zdravé kontroly.

Klinické nálezy

Z lékařských zpráv byla retrospektivně zaznamenána přítomnost těchto klinických nálezů: tremor, dysartrie, ataxie, dystonie, proximální slabost dolních končetin, deprese, psychóza a kognitivní deficit.

4.2.3. VÝSLEDKY

Charakteristika pacientů

Klinické nálezy 16 pacientů (10 mužů, 6 žen) jsou shrnuty v tabulce číslo 5. 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). Medián rozestupu mezi vyšetřením MR a klinickým vyšetřením ve specializovaném centru byl 0.5 roku (rozmezí 0-9let). 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

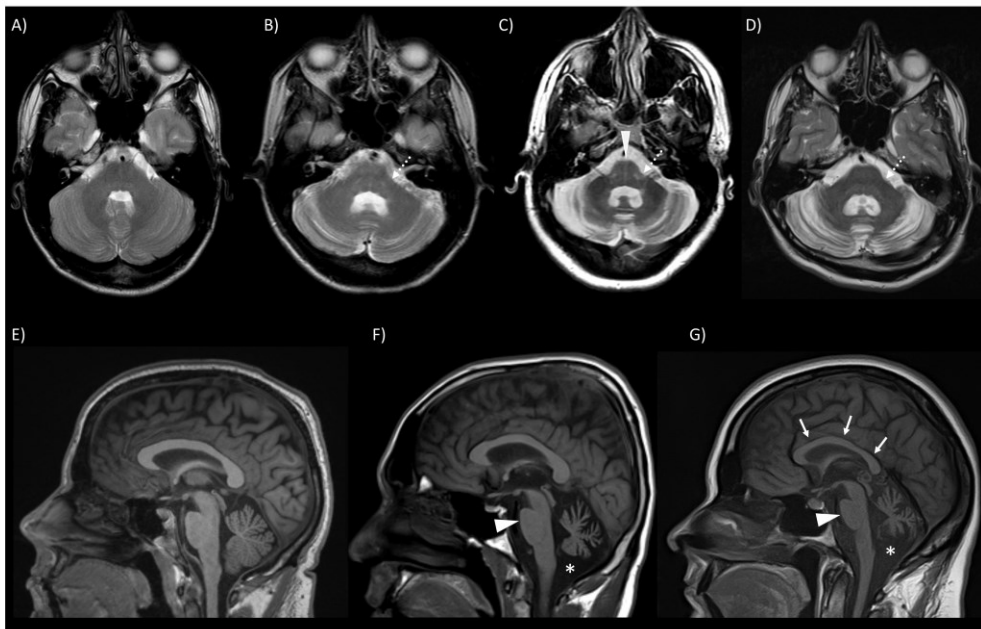
Shoda mezi hodnotiteli pro semikvantitativní měření mozkového kmene a cerebelární atrofie byla dobrá až excelentní s korelačním koeficientem v rozmezí od 0.8 až 0.97 (tab. 6).

Výsledky neuroradiologických nálezů pacientů jsou shrnuty v tabulce 6. Vertikální linie v pontu byla přítomna u tří pacientů (19%) (obr. 11), 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 čtvrté komory mozkové ($p<0.0001$) (tab. 6). Sagitální plocha pontu byla u 11 (69%) a střední mozečkový stonek u 15 (94%) LOTS pacientů nižší než u jakékoliv kontroly (obr. 12).

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 atrofii u 3 pacientů (19%) a abnormality intenzity v supratentoriální oblasti u 2 pacientů.



Obr. 11: Neuroradiologické 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 LOTS s B) mírnou, C) střední a D) těžkou cerebelární kortikální atrofii. Patrné je zvětšení 4.komory mozkové a atrofie středního mozečkového stonku (tečkované bílé šipky) u všech LOTS pacientů bez ohledu na stupeň cerebelární kortikální atrofie. Na obrázku C je patrná vertikální linie (bílé šipka). Sagitální T1 obraz E) zdravé kontroly a pacienta s LOTS se F) střední a G) těžkou cerebelární kortikální atrofii. Zřejmé je zvětšení cisterna magna (hvězdička) a předo-zadní zploštění pontu (bílé hroty šipek) u obou pacientů. Na obrázku G je pak patrné ztenčení corpus callosum (bílé šipky).

Tab. 5: Klinické a neuroradiologické nálezy u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci.

Pacient	Pohlaví	Věk v době nástupu	Věk v době diagnózy	Věk v době MR	Současný věk	HEXA patogenní varianty	Klinické příznaky								MR nálezy		
							Tremor	Dysartrie	Ataxie	Dystonie	Proximální slabost DKK	Deprese	Psychóza	Kognitivní deficit	Příznak hot cross bun sign/vertikální linie	Cerebelární atrofie	Další nálezy
Pacient 1	M	30	46	43	53	c.805G>A/c.1073+1G>A p.G269S/missplicing	+	+	+	-	-	+	-	-	VL	+++	mírné ztenčení CC
Pacient 2 ^a	Ž	10	30	29	39	c.805G>A/c.1123delG p.G269S/p.E375Rfs*7	+	+	+	-	+	-	+	-	-	++	periventrikulární T2 hyperintenzita bílé hmoty frontálně vlevo
Pacient 3 ^a	Ž	15	18	17	28	c.805G>A/c.1123delG p.G269S/p.E375Rfs*7	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-
Pacient 4	M	20	30	30	41	c.805G>A/c.1274_1277dupTATC p.G269S/p.Y427Ifs*5	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+++	-
Pacient 5 ^b	M	25	46	49	51	c.805G>A/c.754C>T p.G269S/p.R252C	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+++	-
Pacient 6 ^b	M	25	54	54	56	c.805G>A/c.754C>T p.G269S/p.R252C	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+++	mírná kortikální atrofie
Pacient 7	M	33	37	37	43	c.805G>A/c.805G>A p.G269S/p.G269S	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+++	mírná kortikální atrofie
Pacient 8	Ž	19	42	39	45	c.805G>A/c.1444G>A p.G269S/p.E482K	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+++	mírné ztenčení CC
Pacient 9	Ž	30	38	38	46	c.805G>A/c.1274_1277dupTATC p.G269S/p.Y427Ifs*5	-	-	-	+	+	-	+	-	-	++	-
Pacient 10	Ž	25	25	28	31	c.805G>A/c.1073+1G>A p.G296S/ missplicing?	+	+	-	-	+	+	-	-	-	++	-
Pacient 11	Ž	30	33	35	40	c.805G>A/c.1274_1277dupTATC p.G269S/p.Y427Ifs*5	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+++	T2 hyperintenzita bílé hmoty frontálně
Pacient 12	Ž	17	24	21	28	c.805G>A/c.1274_1277dupTATC p.G269S/p.Y427Ifs*5	+	+	+	-	+	+	-	+	VL	++	-
Pacient 13	Ž	12	42	41	42	c.805G>A/c.1330+1G>A p.G269S/ missplicing	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+++	mírné ztenčení CC
Pacient 14	Ž	23	38	28	43	c.805G>A/c.1123delG p.G269S/p.E375Rfs*7	+	+	+	-	+	-	-	+	-	++	mírné ztenčení CC
Pacient 15	Ž	6	37	34	39	c.805G>A/ c.1073+1G>A p.G269S/ missplicing?	+	+	+	-	+	-	+	+	VL	++	mírné ztenčení CC
Pacient 16	M	16	25	28	29	c.805G>A/c.947dupA p.G269S/p.T316 *	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+++	mírné ztenčení CC, mírná kortikální atrofie

Pacienti 2^a a 3^a, 5^b a 6^b jsou sourozenci, VL – vertikální linie, CC – corpus callosum

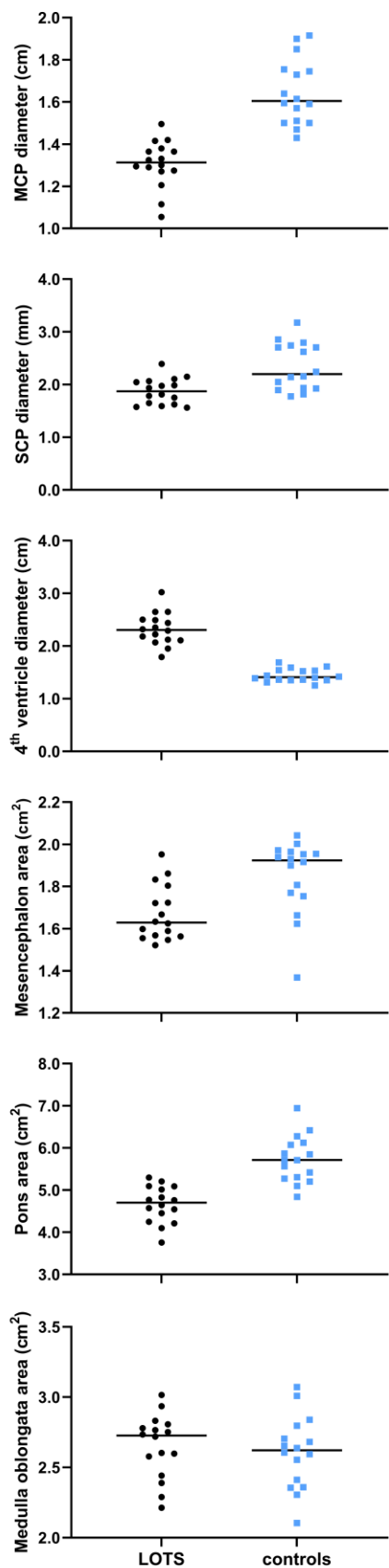
Tab. 6: Srovnání MR měření LOTS pacientů a kontrol.

	LOTS pacienti	Kontroly	p-hodnota*	Effect size (Cohenovo D)	Shoda mezi hodnotiteli (ICC)
	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 sagitální plocha (cm ²)	2.65 (0.23)	2.61 (0.26)	0.555 (0.5797)	0.2	0.95

SD standardní odchylka, **MCP** střední mozečkový stonek, **SCP** horní mozečkový stonek, **ICC** – koeficient vnitrotřídní korelace

* p-hodnoty jsou adjustovány na věk a pohlaví (neadjustované hodnoty v závorkách).

Signifikantní p-hodnoty po korekci zvýrazněny.



Obr. 12: Bodové grafy semikvantitativních měření LOTS pacientů a kontrol. Bodové grafy jednotlivých hodnot LOTS pacientů jsou nalevo (černá kolečka) a kontrol napravo (modré čtverečky). MCP – střední mozečkový stonek, SCP – horní mozečkový stonek.

4.2.4. DISKUZE

Z výsledků naší studie vyplývá, že pontocerebelární atrofie je typickým nálezem u pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci. U tří pacientů byl nález atrofie pontu doprovázen nálezem vertikální linie v pontu.

U všech pacientů byl 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 zahrnovaly mírné ztenčení corpus callosum u 38% pacientů a mírnou kortikální atrofii u 19% pacientů.

Ačkoliv je klinický průběh pacientů s adultní formou Tay-Sachsovy nemoci velmi variabilní, v kontextu s literaturou zahrnovaly nejčastější příznaky v naší kohortě pacientů mozečkové symptomy (ataxie, tremor, dysartrie) společně s proximální svalovou slabostí a psychiatrickými projevy.

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.

Ve srovnání s dříve publikovanými studiemi byla v naší studii zaznamenána vyšší frekvence výskytu dystonie a psychiatrické manifestace, která může být vysvětlena delším trváním nemoci u našich pacientů.

Limitací naší práce je vzhledem k vzácnosti onemocnění malý počet pacientů a pořízení MR snímků mozku na různých přístrojích s rozlišnými parametry.

Nález těžké pontocerebelární atrofie je hlavním neuroradiologickým znakem u pacientů s LOTS. Tento nález ale není specifický, jelikož bývá přítomen u spinocerebelárních ataxií či multisystémové atrofie. 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. Na diagnózu adultní formy Tay-Sachsovy nemoci bychom pak měli pomyslet zejména v případech, kdy se mozečkové příznaky kombinují s příznaky vyplývajícími z postižení dolního motoneuronu či psychiatrickými symptomy.

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

Výsledky jsou součástí t.č. připravované publikace.

Májovská J., Nestrašil I., Klempíř J., Jahnová H., Schneider S. A., Ješina P., Magner M., Dušek P.

4.3.1. ÚVOD

Atrofie mozečku je dobře známým charakteristickým znakem pacientů s LOTS podle neurozobrazovacích i histopatologických studií. Nekonzistentně je popisována také kortikální atrofie a ztenčení corpus callosum. Cílem naší práce bylo detailně charakterizovat vzorec mozkové atrofie a morfologii změn mozečku u pacientů s LOTS.

4.3.2. METODIKA

Pacienti

Do retrospektivní studie bylo zařazeno celkem 14 pacientů (8 mužů, 6 žen) sledovaných ve 3 centrech – na Klinice pediatrie a dědičných poruch metabolismu 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.

Voxel-based morfometrie, deformation-based morfometrie, surface-based morfometrie, SUIT

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).

VBM

T1-vážené MR obrazy s vysokým prostorovým rozlišením (1 mm³ izotropní voxel) byly normalizovány do společného stereotaktického prostoru a následně segmentovány

na bílou a šedou hmotu mozkovou a mozkomíšní mok. Segmentované obrazy šedé hmoty byly vyhlazeny pomocí Gaussovského filtru o síle 8 mm FWHM (full width at half maximum). Vyhlazené obrazy šedé hmoty byly následně použity ve statistické analýze. Jako kovariáty byly použity věk, pohlaví a celkový celkový objem krania (TIV – total intracranial volume).

DBM

Pro DBM byla použita Jacobiho determinanta nelineární deformace MR obrazu při jeho registraci na templát. Jako kovariáty byly použity věk a pohlaví.

SBM

Kortikální tloušťka byla spočítána podle dříve publikované metody (Dahnke et al. 2013). Povrchová data byla vyhlazena pomocí Gaussovského filtru o síle 12 mm FMWH. Ve statistické analýze byly jako kovariáty použity věk a pohlaví.

SUIT

SUIT (a spatially unbiased atlas template of the cerebellum and brainstem), toolbox pro Matlab byl vyvinut pro analýzu zobrazovacích dat lidského mozečku (Diedrichsen, J. 2006). Segmentovaná data byla transformována do prostoru atlasu Dartel. Obrazy byly vyhlazeny cestou SPM12 pomocí Gaussovského filtru o síle 3 mm FMWH. Z původní segmentace provedené programem CAT12 byla provedena objemová analýza mozečkových struktur dle SUIT atlasu.

Statistická analýza

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).

Klinické nálezy

U LOTS pacientů byla vyhodnocována následující klinická data: věk nástupu příznaků, jednotlivé neurologické a psychiatrické příznaky a *HEXA* patogenní varianty.

4.3.3. VÝSLEDKY

Charakteristika pacientů

Klinická data 14 pacientů jsou shrnuta v tabulce č.7. Medián věku nástupu příznaků byl 21.5 roku (rozmezí 12-46 let). Medián věku v době diagnózy byl 37.5 let (rozmezí 20-69 let). Medián věku v době provedení vyšetření MR mozku byl 42.5 let (rozmezí 20-70 let). Nejčastější neurologické symptomy zahrnovaly proximální svalovou slabost u 13/14 pacientů (93%), ataxii u 9/14 pacientů (64%), dysartrii a tremor u 8/14 pacientů (57%). Další příznaky zahrnovaly dystonii (2/14; 14%) a bolesti hlavy (2/14; 14%). Mezi psychiatrickými příznaky byly nejčastěji popisovány deprese 4/14 (29%), kognitivní deficit 4/14 (29%), úzkost 3/14 (21%) a psychóza 1/14 (7%).

Dále byla použita data od 28 věkově a pohlavím vázaných kontrol (16 mužů, 12 žen) s mediánem věku 43 let (rozmezí 21-73 let).

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. 13).

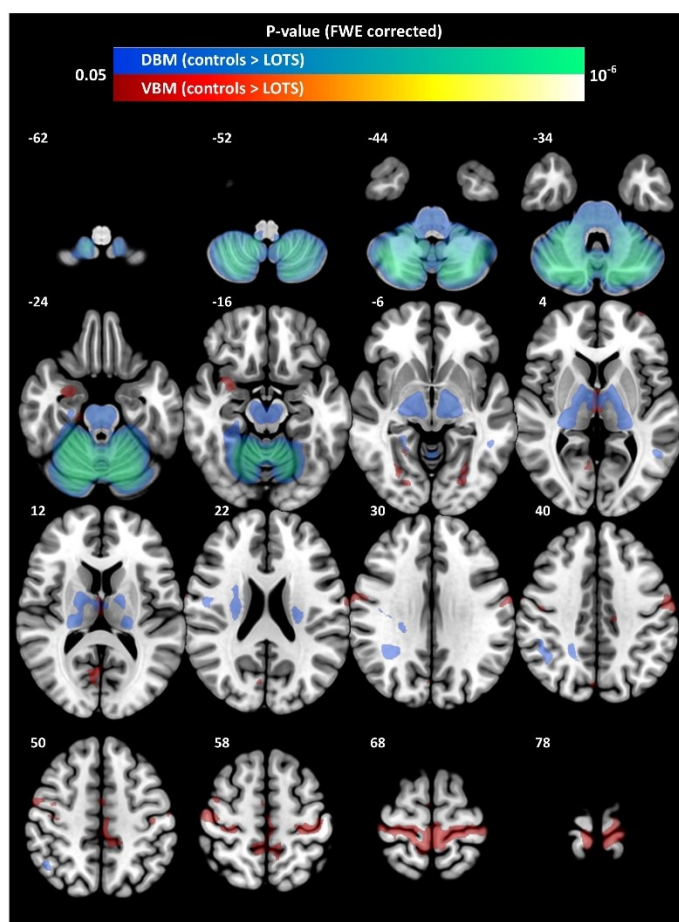
DBM

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. 13).

Tab 7: Klinická data pacientů s LOTS.

Pacient	Pohlaví	Věk v čase manifestace	Věk v čase stanovení diagnózy	Věk v čase provedení MR	HEXA patogenní varianty	Neurologické symptomy	Psychiatrické symptomy
Pacient 1	M	20	30	42	c.805G>c-1274_1277dupTATC	tremor, dysartrie, ataxie, proximální slabost DKK	deprese, úzkost
Pacient 2	M	46	69	70	c.805G>A/ c.805G>A	proximální slabost DKK tremor, ataxie	-
Pacient 3	Ž	12	42	43	c.805G>A/ c.805G>A	dystonie, proximální slabost DKK	psychóza, kognitivní deficit
Pacient 4	M	25	54	52	c.805G>A/c.754C>T	ataxie, proximální slabost DKK	-
Pacient 5	M	25	46	57	c.805G>A/c.754C>T	dysartrie, ataxie, proximální slabost DKK	kognitivní deficit
Pacient 6	Ž	17	20	24	c.805G>A/c.1274_1277dupTATC	ataxie, proximální slabost DKK	-
Pacient 7	Ž	17	24	28	c.805G>A/c.1274_1277dupTATC	tremor, dysartrie, ataxie, proximální slabost DKK	deprese, kognitivní deficit
Pacient 8	M	16	25	28	c.805G>A/ c.805G>A	tremor, dysartrie, ataxie, dystonie, proximální slabost DKK	-
Pacient 9	M	30	46	47	c.805G>A/ c.805G>A	tremor, proximální slabost DKK	-
Pacient 10	M	19	47	50	c.806-7 G>A/ c.1073+1 G>A	proximální slabost DKK, fascikulace, tremor	deprese, úzkost
Pacient 11	Ž	34	34	38	c.806-7 G>A / c.1073+1 G>A	tremor, bolest hlavy, proximální slabost DKK, dysartrie	úzkost, kognitivní deficit
Pacient 12	M	35	41	43	c.806-7 G>A /c.1274_1277dup	tremor, dysartrie, bolest hlavy	úzkost, deprese
Pacient 13	Ž	22	23	23	c.805G>A/c.1510C>T	tremor, ataxie, dysartrie, proximální slabost DKK	-
Pacient 14	Ž	19	20	20	c.805G>A/c.1510C>T	ataxie, dysartrie, proximální slabost DKK	-

Ž – žena, M – muž; pacienti 4 a 5; pacienti 6 a 7 a pacienti 13 a 14 jsou sourozenci, DKK – dolní končetiny



Obr. 13: Výsledky VBM a DBM pro kontrast LOTS < kontroly.
Mozeček znázorněn pouze metodou DBM pro výrazný překryv s VBM.

Tloušťka mozkové kůry

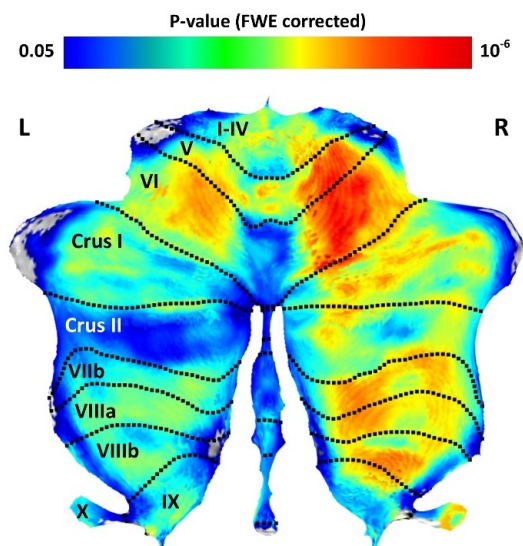
V tloušťce mozkové kůry nebyl prokázán žádný signifikantní rozdíl mezi LOTS pacienty a kontrolami. Průměrná kortikální tloušťka LOTS pacientů byla 2.50 mm ve srovnání s 2.49 mm u zdravých kontrol.

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. 14). 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. 7).

Tab. 7: 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



Obr. 14: Rozbalená, tzv. „plochá mapa“ mozečku znázorňující větší postižené pravé strany. Nejvýraznější postižení je patrné v oblasti lobulů V a VI. R – pravá, L – levá.

4.3.4. DISKUZE

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.

Cerebelární kognitivní afektivní syndrom (CCAS – cerebellar cognitive affective syndrome), který je charakterizován poškozením exekutivních, vizuálně-prostorových a jazykových schopností s afektivními poruchami od deprese k poruchám chování s desinhibicí a psychotickým rysům (Schmahmann J. D. 2004) může vysvětlit některé aspekty neuropsychiatrických symptomů u LOTS pacientů (Toro C. et al., 2021).

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

Výsledky studie klinických a neuroradiologických nálezů u pacientů s alfa-mannosidózou byly publikovány v práci:

Májovská J., Nestražil I., Paulson A., Nascene D., Juříčková K., Hlavata 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 4.1.**

4.4.1. ÚVOD

Alfa-mannosidóza (OMIM 248500) je vzácné autozomálně recesivní lyzozomálně střídatvé onemocnění. Příčinou vzniku onemocnění je deficit enzymu α -D-mannosidáza, který je způsoben patogenními variantami v genu *MAN2B1* a který vede k akumulaci nedegradovaných oligosacharidů v buňkách mnoha orgánových systémů, včetně postižení CNS. Neurologické symptomy se u pacientů nejčastěji manifestují jako poruchy intelektu, ataxie, hypotonie nebo epilepsie. Dále se může onemocnění projevit psychiatrickými příznaky jako je deprese či úzkost. Onemocnění je klinicky velmi variabilní s kontinuem klinických příznaků od těžkých forem s časným úmrtím až po mírné formy s přežitím do dospělosti (Malm D., Nilssen O. 2008).

Dříve publikované studie popisují spektrum neuroradiologických nálezů při zobrazení CNS u pacientů s alfa-mannosidózou. Nejčastějšími patologickými nálezy jsou atrofie mozku a mozečku, hypoplázie vermis, rozšířené perivaskulární prostory v bílé hmotě a změny lebky jako např. ztlustění diploe (Ara J. R. et al. 1999; Dietamann J. I. et al. 1990; Patlas M. et al. 2001). Dále byl popsán zvýšený T2 signál v bílé hmotě mozkové, predominantně v parieto-okcipitální oblasti a snížený T2 signál v bazálních gangliích, který bývá způsoben akumulací železa a některými autory tak byla alfa-mannosidóza zařazována k neurodegenerativním onemocněním s akumulací železa (NBIA – neurodegeneration with brain iron accumulation) (Zoons E. et al., 2016). Cílem naší studie bylo systematicky analyzovat charakteristické neuroradiologické nálezy, odhadnout jejich prevalenci a navrhnout potenciální neurozobrazovací markery pro budoucí klinické studie u pacientů s alfa-mannosidózou.

4.4.2. METODIKA

Pacienti

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 – ve 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.

Parametry MR a vyhodnocení

Pro celkem 13 pacientů jsme měli k dispozici 22 zobrazení mozku pomocí MR, 7 pacientů mělo provedeno 1 vyšetření MR, 4 pacienti měli 2 vyšetření MR, jeden pacient celkem 3 a jeden pacient 4 zobrazení. 10 vyšetření bylo provedeno na 1.5T přístrojích a 12 vyšetření na 3T přístrojích. 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 popsáných nálezů u pacientů s alfa-mannosidózou: 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 popsáných abnormalit jsou zobrazeny na obrázku 15. Všechny abnormality byly skórovány na tříbodové škále jako (-) chybějící, (+) abnormální a (++) silně abnormální.

Klinické nálezy

Ve studii byla 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.

4.4.3. VÝSLEDKY

Charakteristika klinických nálezů

Klinická data pacientů s AM jsou shrnuta v tabulce č. 8. Medián věku nástupu prvních příznaků byl 9 měsíců (rozmezí narození – 4 roky). Medián diagnostického zpoždění byl 4.5 roku (rozmezí 8 měsíců – 35 let). Medián věku v době provedení posledního klinického vyšetření a MR mozku byl 17 let (rozmezí 13 měsíců – 36 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; 77%) podstoupilo adenoidektomii a 4 pacienti (4/13; 31%) pak tonzilektomii. Žádný z pacientů v době provedení MR mozku nebyl léčen HSCT ani ERT.

Tab. 8: Klinická data 13 pacientů s alfa-mannosidózou.

	Pacient 1	Pacient 2	Pacient 3	Pacient 4	Pacient 5	Pacient 6	Pacient 7	Pacient 8	Pacient 9	Pacient 10	Pacient 11	Pacient 12	Pacient 13
Pohlaví	M	Ž	Ž	M	Ž	M	M	M	M	M	Ž	M	Ž
Věk v době manifestace	9 měsíců	4 měsíce	6 měsíců	2 roky	3 měsíce	0 měsíců	3 roky	4 roky	9 měsíců	1 rok	3 roky	6 měsíců	1 měsíc
Věk v době stanovení dg.	17 měsíců	4 roky	2 roky	4 roky	7 let	9 let	5 let	13 let	15 let	3 roky	22 let	5 let	36 let
Současný věk (v době poslední MR)	13 měsíců	4 roky	5 let	6 let	8 let	9 let	18 let	17 let	17 let	28 let	32 let	27 let	36 let
Psychomotorická retardace	++	+	+++	++	+	++	+	++	++	+++	+++	+++	+++
Ataktická chůze	-	+	++	-	-	-	+	+	+	++	++	++	++
Porucha sluchu	++	+	+	++	++	++	+	++	++	++	++	++	++
Porucha řeči	+	+	++	-	+	+	+	+	+	+	++	++	+
Hrubé rysy obličeje	+ kranio- synostóza	+ kranio- synostóza	+	+	++	+	+ kranio- synostóza	++	++	++	++	++	++
Nízká postava	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-
Onemocnění srdce	-	n	-	virová myokarditida tx. srdce ve 4 měsících	n	-	perikardi- ální výpotek	pulmonál. insuficience I. stupně	n	hyperecho- genní chlopeč aorty	-	Insuficien- ce aorty I. stupně	n
Hepatomegalie	+	-	-	-	-	-	++	+	-	+	-	+	+
Splenomegalie	+	-	-	-	++	-	-	+	-	-	-	-	+
Adenoidektomie	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Tonzilektomie	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-
Časté infekty	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ověření diagnózy – geneticky/enzymologicky	nízká enzym. aktivita, genet.analýz a v běhu	c.2248C>T/ c.2248C>T	nízká enzym. aktivita, genet. analýza neprovede na	p.Y401X/ge- nová delece	c.979_980 delAT/ c.979_980 delAT	c.2248C> T/ c.2248C> T	nízká enzym. aktivita, genet. analýza neprovedena	c.856G>A/ c.856G>A	c.979_980 delAT/ c.979_980 delAT	c.2248C> T/ c.2248C> T	nízká enzym. aktivita, genet. analýza neprovede na	c.2248C> T/ c.2248C> T	c.979_980de IAT/ c.2248C>T

M – muž, Ž – žena, dg. – diagnóza, tx. – transplantace, n - neprovedeno

Neuroradiologické nálezy

Neuroradiologické nálezy pacientů jsou shrnuty v tabulce 9 a reprezentativní ukázky jsou zobrazeny na obrázku 15.

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 (obr. 16A a 16B). 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 (obr. 17).

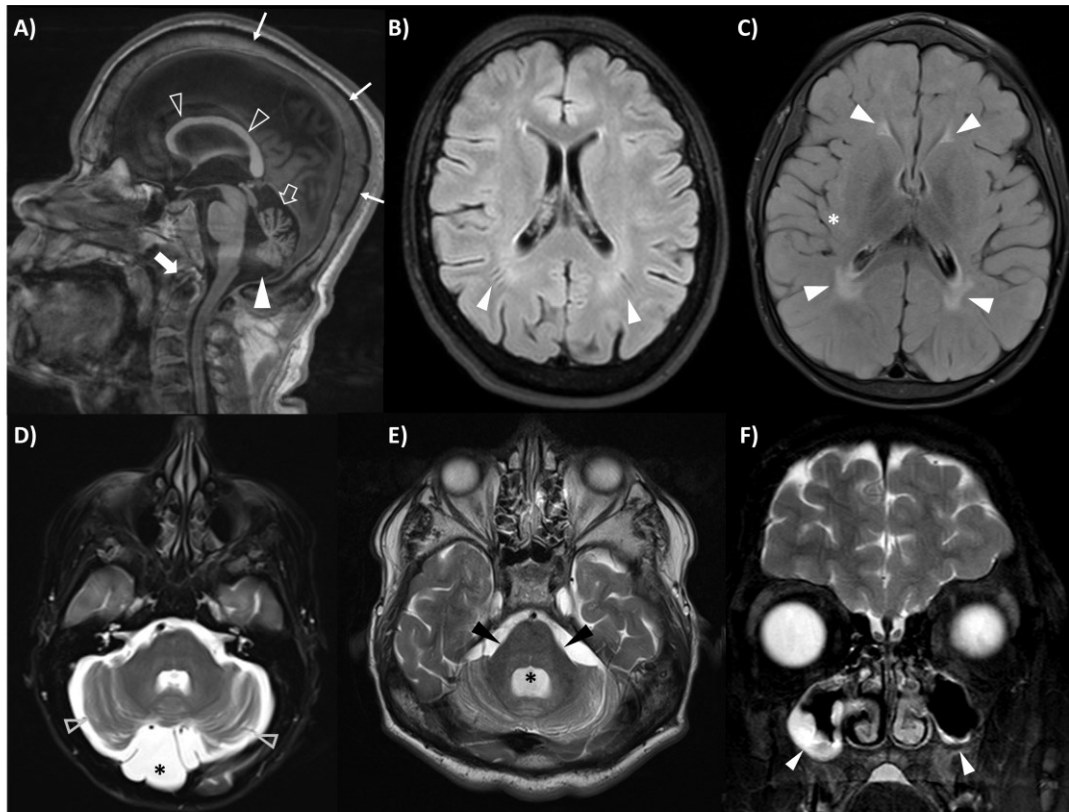
Fokální zvýšení intenzity T2 signálu pozorované v centrum semiovale nebo v periventrikulární bílé hmotě okolo okcipitálních rohů postranních komor bylo popsáno u 11 pacientů (85%).

Mozečková a difúzní kortikální atrofie byla pozorována u 8 pacientů (62%). Zvětšení cisterna magna bylo popsáno u 11 pacientů (85%). Absence mozečkové atrofie a zvětšení cisterny magna bylo pozorováno pouze u dvou nejmladších pacientů ve věku 1 a 3 let.

Progrese mozečkové atrofie byla zaznamenána u dvou pacientů (33%) a progrese kortikální atrofie u 3 pacientů (50%) z celkem 6 pacientů, u kterých bylo k dispozici vícero zobrazení v čase.

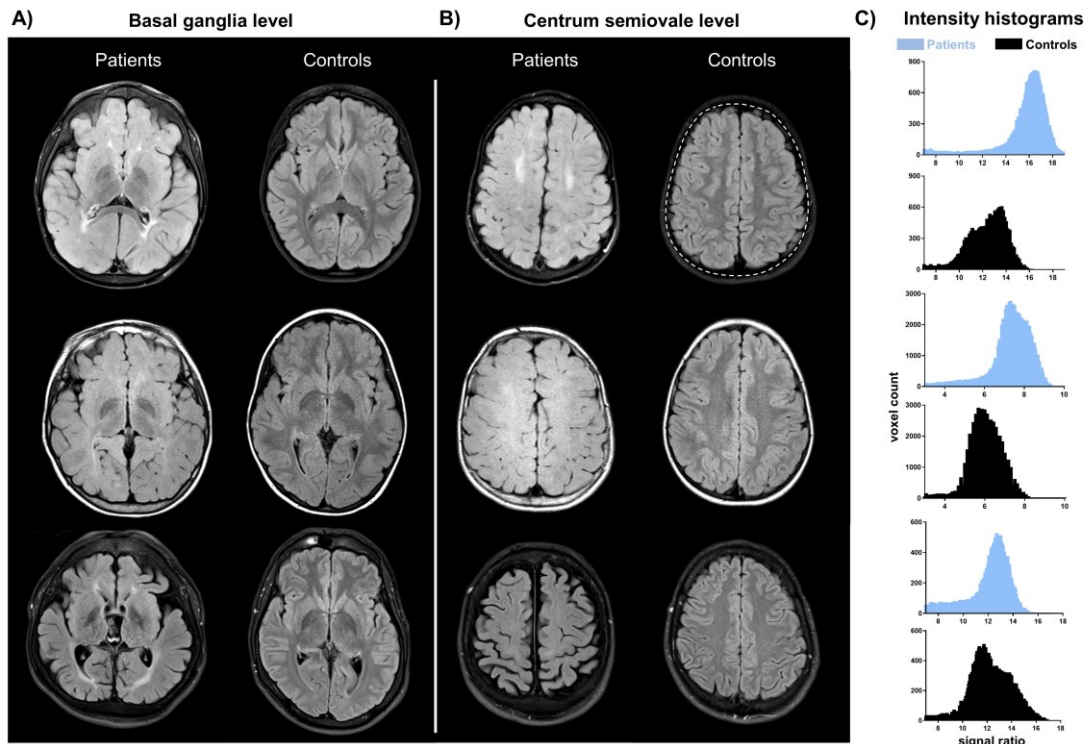
Rozšíření perivaskulárních prostor v bílé hmotě bylo pozorováno u 5 pacientů (38%) a rozšíření perioptických likvorových prostor u 8 (62%) pacientů.

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 kranio-cervikální junkce byly pozorovány u 3 pacientů (23%). Sella turcica ve tvaru J se zvětšenou suprasellární 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.



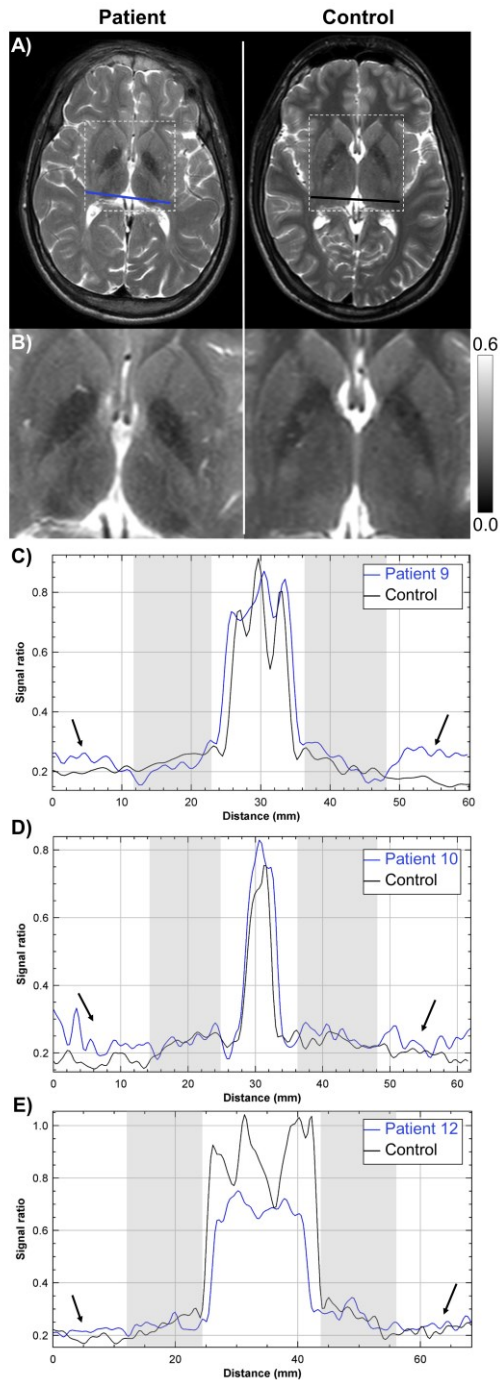
Obr. 15: Reprezentativní nálezy typických MR abnormalit u alfa-mannosidózy.

A) Ztenčecní corpus callosum (prázdný trojúhelník), atrofie vermis cerebelli (prázdná šipka), zvětšení cisterna magna (bílý trojúhelník), abnormální kranio cervikální junkce díky dysplázii dens axis (tlustá bílá šipka), ztlustění diploe na středosaagitálním T1 obraze (tenké bílé šipky). B) Rozšíření perivaskulárních prostor na T2-FLAIR snímku (bílé trojúhelníky). C) Difúzně zvýšený T2 signál s fokálními T2 hyperintenzitami v periventrikulární bílé hmotě na axiálním T2 FLAIR snímku (bílé trojúhelníky), slabý kontrast mezi cerebrální šedou a bílou hmotou a zdánlivě hypointenzní hluboká šedá hmota mozková u 6letého pacienta (bílá hvězdička). D) Cerebelární atrofie (bílé trojúhelníky) a retrocerebelární cysta (černá hvězdička) na axiálním T2 obraze. E) Cerebelární atrofie se ztenčením středního mozečkového stonku (černé trojúhelníky) a zvětšená 4. komora mozková na T2 axiálním obraze (černá hvězdička). F) Ztlustění mukózy a hypoplázie maxilárních sinů na koronálním T2 obraze (bílé trojúhelníky).



Obr. 16: Porovnání kontrastu šedé/bílé hmoty mozkové a intenzity normalizovaného signálu u pacientů s AM a kontrol na T2-FLAIR obrazech.

A) Řezy na úrovni bazálních ganglií a B) centrum semiovale C) Histogramy intenzity signálu celého mozku v úrovni centrum semiovale (analyzovaná oblast vyznačena čárkovanou linií). Histogramy prezentované na obrázku C (pacienti – modrá barva, kontroly – černá barva) korespondují identickému páru ve stejné řadě prezentované na obr. B. Distribuce voxelů je posunuta k vyšším hodnotám intenzity s užším rozmezím u pacientů s AM ve srovnání s kontrolami. Obrázky párů pacient/kontrola v pořadí shora dolů byly získány ve věku 6/8/27 let.



Obr. 17: Normalizovaný profil intenzity signálu jader hluboké šedé hmoty mozkové.

A) Axiální T2 obrazy se signálem intenzity normalizovaným na signál mozkomíšního moku u pacienta s alfa-mannosidózou (vlevo) a zdravé kontroly (vpravo). B) Detailní pohled na oblast bazálních ganglií a thalamu. C) Profil signálu pacienta 9 ve věku 17 let a příslušné kontroly. D) Profil signálu u pacienta 10 ve věku 28 let a příslušné kontroly. E) Profil signálu u pacienta 12 ve věku 27 let a příslušné kontroly.

Tab. 9: Neuroradiologické nálezy pacientů s alfa-mannosidózou.

	Pacient 1	Pacient 2	Pacient 3	Pacient 4	Pacient 5	Pacient 6	Pacient 7	Pacient 8	Pacient 9	Pacient 10	Pacient 11	Pacient 12	Pacient 13
Pohlaví	M	Ž	Ž	M	Ž	M	M	M	M	M	Ž	M	Ž
Věk v době MR	13 měsíců	4 roky	5 let	5/6 let	8 let	9 let	9/10/16/18 let	13/17 let	13/17 let	22/24/28 let	23/32 let	27 let	36 let
Difúzní zvýšení T2 signálu bílé hmoty	+	+	++	++	++	+	-	+	++	+	-	+	+
Fokální T2 hyperintenzity v periventrikulární bílé hmotě	+	+	+	++	+	+	-	++	+	+	-	+	+
Zvětšení cisterna magna	-	-	+	+	+	+	+	++	++	+	++	++	+
Atrofie mozečku	-	-	+	-/+	-	-	-	+	+	+/+	+	+	++
Kortikální atrofie	+	-	+	-/+	-	-	-/-/+	+	-	-/+	+	++	-
Ztenčení corpus callosum	+	-	-	-/+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Rozšíření perivaskulárních prostor bílé hmoty	-	+	-	-	-	+	-/-/+	-	+	-	-	-	+
Rozšíření perioptických likvorových prostor	+	+	+	+	++	-	+	-/+	++	-	-	-	-
Hypoplázie sinů/ lokalizace	n/a	n/a	n/a	n/a	-	+ maxilární, frontální, sfenoidální	+ frontální, mastoidální	++ maxilární, sfenoidální	+ maxilární, frontální, sfenoidální mastoidální	+ mastoidální	-	+ maxilární	+ mastoidální
Ztluštění sliznic/ lokalizace	-	+ sfenoidální	-	+ ethmoidální	+ maxilární, ethmoidální	-	+ sfenoidální	+ ethmoidální	+ maxilární, ethmoidální	+ maxilární, ethmoidální	-	+ maxilární, ethmoidální	+ ethmoidální
Bazilární imprese/abnormality kraniocervikální junctce	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
Ztluštění diploe	+	+	+	+	++	+	++	+/>++	+	+	+	++	++
Abnormality sella turcica	-	-	-	-	-	-	+ tvar J, zvětšená supraselární cisterna	-	-	-	-	-	-

M – muž, Ž – žena, n - neprovedeno

4.4.4. DISKUZE

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 1.5T či 3T magnetickým polem a odlišnými parametry pulzních sekvencí.

5. ZÁVĚR

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.

6. SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORKY

6.1. 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 medicae*, 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.

6.2. 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.**

7. LITERATURA

Ara J. R., Mayayo E., Marzo M. E., Guelbenzu S., Chabás A., Pina M. A., Calderón C. (1999). Neurological impairment in alpha-mannosidosis: a longitudinal clinical and MRI study of a brother and sister. *Child's nervous system: ChNS : official journal of the International Society for Pediatric Neurosurgery*, 15(8): 369–371.

Autti T., Joensuu R., Aberg L. (2007) Decreased T2 signal in the thalami may be a sign of lysosomal storage disease. *Neuroradiology* 49(7): 571-578.

Bagshaw R. D., Mahuran D. J., Callahan J. W. (2005) Lysosomal membrane proteomics and biogenesis of lysosomes. *Mol Neurobiol* 32(1): 27-41.

Ballabio A. (2016) The awesome lysosome. *EMBO Mol Med* 8(2): 73–76.

Barton N. W., Furbish F. S., Murray G. J., Garfield M., Brady R. O. (1990) Therapeutic response to intravenous infusions of glucocerebrosidase in a patient with Gaucher disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 87(5): 1913–1916.

Barton N. W., Brady R. O., Dambrosia J. M., Di Bisceglie A. M., Doppelt S. H., Hill S. C., Mankin H. J., Murray G. J., Parker R. I., Argoff C. E., et al. (1991) Replacement therapy for inherited enzyme deficiency–macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. *N Engl J Med*. 324(21): 1464–1470.

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.

Bellettato C. M., Scarpa M. (2010) Pathophysiology of neuropathic lysosomal storage disorders. *J Inherit Metab Dis*. 33(4): 347-362.

Berthet, J., Berthet L., Appelmans F., de Duve C. (1951) Tissue fractionation studies. II. The nature of the linkage between acid phosphatase and mitochondria in rat-liver tissue. *Biochem. J*. 50(2): 182–189.

Bieberich E. MacKinnon S., Silva J., Yu R. K. (2001) Regulation of apoptosis during neuronal differentiation by ceramide and b-series complex gangliosides. *J Biol Chem* 276(48): 44396-44404.

Birch, D. G. (1999) Retinal degeneration in retinitis pigmentosa and neuronal ceroid lipofuscinosis: an overview. *Mol. Genet. Metab*. 66(4), 356–366.

Bley, A. E., Giannikopoulos O. A., Hayden D., Kubilus K., Tiffit C. J., Eichler F. S. (2011) Natural History of Infantile G(M2) Gangliosidosis. *Pediatrics* 2011, 128(5): e1233–e1241.

Borgwardt L., Danielsen E. R., Thomsen C., Månsson J. E., Taouatas N., Thuesen A. M., Olsen K. J., Fogh J., Dali C. I., Lund A. M. (2016) Alpha-mannosidosis: characterization of CNS pathology and correlation between CNS pathology and cognitive function. *Clin Genet*.89(4):489-494.

- Bosch M. E., Kielian T. (2015) Neuroinflammatory paradigms in lysosomal storage diseases. *Front. Neurosci.* 9:417.
- Boustany, R. M. (2013) Lysosomal storage diseases-the horizon expands. *Nat. Rev. Neurol.* 9(10): 583–598.
- Bowers W. E. (1998) Christian de Duve and the discovery of lysosomes and peroxisomes. *Trends Cell Biol.* 8(8):330-333.
- Boya P. (2012) Lysosomal Function and dysfunction: Mechanism and Disease. *Atioxid. Redox. Signal.* 17(5): 766-774.
- Cachon-Gonzalez, M. B., Zaccariotto E., Cox T .M. (2018) Genetics and Therapies for GM2 Gangliosidosis. *Curr. Gene Ther.* 18(2): 68–89.
- Cismondi, I. A., Kohan R., Adams H., Bond M., Brown R., Cooper J. D., de Hidalgo P. K., Holthaus S. M., Mole S. E., Mugnaini J., de Ramirez A. M., Pesaola F., Rautenberg G., Platt F. M., Noher de Halac I. (2015) Guidelines for incorporating scientific knowledge and practice on rare diseases into higher education: neuronal ceroid lipofuscinoses as a model disorder. *Biochim. Biophys. Acta* 1852(10): 2316–2323.
- Cooper G. M., (2000) *The Cell: A Molecular Approach*. 2nd edition. Sunderland (MA): Sinauer Associates; 2000. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9839/>.
- Čech P. (2012) Christian René de Duve. *Čas. Lék. čes.* 151: 503-504.
- Dahnke R., Yotter R. A., Gaser C. (2013) Cortical thickness and central surface estimation. *Neuroimage.* 15(65):336-48.
- Debs R., Froissart R., Aubourg P., Papeix C., Douillard C., Degos B., Fontaine B., Audoin B., Lacour A., Said G., Vanier M. T., Sedel F. (2012). Krabbe disease in adults: phenotypic and genotypic update from a series of 11 cases and a review. *J. Inherit. Metab. Dis.* 36(5):859-68.
- de Duve, Ch. (2005) The lysosome turns fifty, *Nature Cell Biology* 7(9): 847-849.
- de Duve Ch., Berthet J., Hers H. G., Dupret L-(1949) Le système hexose-phosphatasique: 1. Existence d'une glucose-6-phosphatase spécifique dans le foie. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 31, 1242–1253. de Duve, C., Pressman B. C., Gianetto, R. Wattiaux R., Appelmans F. (1955) Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J.* 1955 60(4):604-617.
- Diedrichsen, J., Zotow, E. (2015). Surface-based display of volume-averaged cerebellar data. *PLoS One.* 31;10(7):e0133402.
- Dietemann J. L., Filippi de la Palavesa M. M., Tranchant C., Kastler B. (1990). MR findings in mannosidosis. *Neuroradiology,* 32(6): 485–487.
- Dubland, J. A.; Francis, G. A. (2015) Lysosomal acid lipase: at the crossroads of normal and atherogenic cholesterol metabolism. *Front. Cell Dev. Biol.* 3, 3.

- Duvel K., Yecies J. L., Menon S., Raman P., Lipovsky A. I., Souza A. L., Triantafellow E., Ma Q., Gorski R., Cleaver S., Vander Heiden M. G., MacKeigan J. P., Finan P. M., Clish C. B., Murphy L. O., Manning B. D. (2010) Activation of a metabolic gene regulatory network downstream of mTOR complex 1. *Mol. Cell* 39(2): 171–183.
- Ebrahimi-Fakhari D., Hildebrandt C., Davis P.E., Rodan L.H., Anselm I., Bodamer O. (2018) The Spectrum of Movement Disorders in Childhood-Onset Lysosomal Storage Diseases. *Mov Disord Clin Pract*: 5(2):149-155.
- Ebrahimi-Fakhari D., Van Karnebeek C., Münchau A. (2019) Movement Disorders in Treatable Inborn Errors of Metabolism. *Movement Disorders*, 34(5): 598-613.
- Elleder M., Sikora J. (2008) Biologie a patologie lysosomálního systému, výukový text 1.LF UK, volně dostupný: <https://www1.lf1.cuni.cz/udmp/web2/cell/els/els2.htm>.
- Fagan N., Alexander A., Irani N., Saade C., Naffaa L. (2017) Magnetic resonance imaging findings of central nervous system in lysosomal storage diseases. A pictorial review. *J Med Imaging Radiat Oncol* 61(3): 344-352.
- Fang Y., Wu G., Xie X., Lu Z. H., Ledeen R. W. (2000) Endogenous GM1 ganglioside of the plasma membrane promotes neuritogenesis by two mechanisms. *Neurochem Res* 25(7): 931-40.
- Ferreira C. R., Gahl W. A. (2017) Lysosomal storage diseases. *Translational Science of Rare Diseases* 25(2):1-71.
- 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.
- Gushulak L., Hemming R., Martin D., Seyrantepe V., Pshezhetsky A., Triggs-Raine B. (2012) Hyaluronidase 1 and β -hexosaminidase have redundant functions in hyaluronan and chondroitin sulfate degradation. *J Biol Chem.* 11; 287(20):16689-16697.
- Hanson, S. R., Best M. D., Wong C. H. (2004) Sulfatases: structure, mechanism, biological activity, inhibition, and synthetic utility. *Angew. Chem.* 43(43): 5736–5763.
- Honzík T., Zeman J. et al. (2016) Dědičné poruchy metabolismu v kazuistikách. Praha: Mladá fronta, 278 s. Aeskulap. ISBN 978-80-204-4187-4.
- Christensen K. A., Myers J. T., Swanson J. A. (2002) pH-dependent regulation of lysosomal calcium in macrophages. *J Cell Sci* 115(3): 599–607.
- Jardim L. B., Villanueva M. M., de Souza C. F., Netto C. B. (2010) Clinical aspects of neuropathic lysosomal storage disorders. *J Inherit Metab Dis* 33(4):315-329.
- Jezegou A. Llinares E., Anne C., Kieffer-Jaquinod S., O'Regan S., Aupetit J., Chabli A., Sagné C., Debacker C., Chadefaux-Vekemans B., Journet A., André B., Gasnier B. (2012) Heptahelical protein PQLC2 is a lysosomal cationic amino acid exporter underlying the action of cysteamine in cystinosis therapy. *PNAS* 109(50):E3434–E3443.

- Journet A., Chapel A., Kieffer S., Roux F., Garin J. (2002) Proteomic analysis of human lysosomes: application to monocytic and breast cancer cells, *Proteomics* 2(8):1026-1040.
- Kaback M., Desnick R. J. (2018): Hexosaminidase A Deficiency. In: Pagon R., Adam M. (eds) *GenReviews*, 1993-2018.
- Kingma S. D., Bodamer O. A., Wijburg F. A. (2015) Epidemiology and diagnosis of lysosomal storage disorders; challenges of screening. *29(2):145-157*.
- Klumperman J., Raposo G. (2014) The complex ultrastructure of the endolysosomal system. *Cold Spring Harb Perspect Biol*6(10).
- Kolodny E. (2007) Neuropathology of LSD. *Acta paediatrica* 96(455), 25.
- Leal A. F., Benincore-Flórez E., Solano-Galarza D., Garzón Jaramillo R. G., Echeverri-Peña O. Y., Suarez D. A., Alméciga-Díaz C. J., Espejo-Mojica A. J. (2020) GM2 Gangliosidosis: Clinical Features, Pathophysiological Aspects, and Current Therapies. *Int J Mol Sci.* 21(17):3-27.
- Lloyd-Evans E, Waller-Evans H (2019) Lysosomal Ca²⁺ Homeostasis and Signaling in Health and Disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 12(6):a035311.
- Lukina E., Watman N., Arreguin E. A., Dragosky M., Iastrebnier M., Rosenbaum H., Phillips M., Pastores G. M., Kamath R. S., Rosenthal D. I., Kaper M., Singh T., Puga A. C., Peterschmitt M. J. (2010) Improvement in hematological, visceral, and skeletal manifestations of Gaucher disease type 1 with oral eliglustat tartrate (Genz-112638) treatment: 2-year results of a phase 2 study. *Blood* 116(20):4095–4098.
- Luzio J. P., Pryor P. R., Bright N. A. (2007) Lysosomes: Fusion and function. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8(8): 622–632.
- 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.
- Maegawa, G. H., Stockley T., Tropak M., Banwell B., Blaser S., Kok F., Giugliani R., Mahuran D., Clarke J. T. (2006) The Natural History of Juvenile Or Subacute GM2 Gangliosidosis: 21 New Cases and Literature Review of 134 Previously Reported. *Pediatrics.* 118(5): 550–562.
- 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.
- Magner M., Jirečková J. (2018) Pompeho nemoc. *Neurol. praxi;* 19(3):224-227.
- Malm D., Nillsen O. (2008) Alpha-mannosidosis, *Orphanet J Rare Dis* 3, 21.
- Malinová V., Honzík T. (2013) Lysosomální onemocnění – současné možnosti diagnostiky a terapie. *Pediatr.praxi* 14.99-103.

- Masingue M., Dufour L., Lenglet T., Saleille L., Goizet C., Aygnac X., Ory-Magne F., Barth M., Lamari F., Mandia D., Caillaud C., Nadjar Y. (2020) Natural History of Adult Patients with GM2 Gangliosidosis. *Ann Neurol.* 87(4):609-617.
- Mayor S., Pagano R.E. (2007). Pathways of clathrin-independent endocytosis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8:603–612.
- Meikle P. J., Hopwood J. J., Clague A.E., Carey W. F. (1999) Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 281:249–254.
- Mole S. E., Anderson G., Band H. A., Berkovic S. F., Cooper J. D., Kleine Holthaus S. M., McKay T. R., Medina D. L., Rahim A. A., Schulz A., Smith A. J. (2018) Clinical challenges and future therapeutic approaches for neuronal ceroid lipofuscinosis. *Lancet Neurol.* 18(1):107-116.
- Napolitano G. Di Malta C., Ballabio A. (2022) Non-canonical mTORC1 signaling at the lysosome. *Trends Cell Biol.*32(11):920-931.
- Neudorfer, O., Pastores G. M., Zeng B. J., Gianutsos J., Zaroff C. M., Kolodny E. H. (2004) Late-onset Tay-Sachs disease: phenotypic characterization and genotypic correlations in 21 affected patients. *Genet. Med.* 7(2):119–123
- Nita D. A., Mole S. E., Minassian B. A. (2016) Neuronal ceroid lipofuscinosis. *Epilept. Disord.* 18(S2):73-88.
- Novikoff A. B., Beaufay H., de Duve C. (1956) Electron microscopy of lysosome rich fractions from rat liver. *J Biophys Biochem Cytol.* 2: 179–184.
- Oba H., Yagishita A., Terada H., Barkovich A. J., Kutomi K., Yamauchi T., Furui S., Shimizu T., Uchigata M., Matsumura K., Sonoo M., Sakai M., Takada K., Harasawa A., Takeshita K., Kohtake H., Tanaka H., Suzuki S. (2005). New and reliable MRI diagnosis for progressive supranuclear palsy. *Neurology*, 64(12):2050–2055.
- Pará C., Bose P., Pshezhetsky A. V. (2020) Neuropathophysiology of Lysosomal Storage Diseases: Synaptic Dysfunction as a Starting Point for Disease Progression. *J Clin Med* Feb 25;9(3):616.
- 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.
- Patlas M., Shapira M. Y., Nagler A., Sheffer R., Gomori J. M. (2001). MRI of mannosidosis. *Neuroradiology*, 43(11): 941–943.
- Patterson M. C., Vecchio D., Prady H., Abel L., Wraith J. E. (2007) Miglustat for treatment of Niemann-Pick C disease: a randomised controlled study. *Lancet Neurol.* 6(9):765–72.

- Perera R. M., Zoncu R. (2016). The Lysosome as a Regulatory Hub. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 32(1):223–253.
- Persaud-Sawin D. A., Mousallem T., Wang C., Zucker A., Kominami E., Boustany R. M. (2007) Neuronal ceroid lipofuscinosis: a common pathway? *Pediatr Res*. 61(2):146-152.
- Peters H., Ellaway C., Nicholls K., Reardon K., Szer J. (2020) Treatable lysosomal storage diseases in the advent of disease-specific therapy. *Intern Med J* 50 Suppl 4:5-27.
- Piotrowska E., Jakóbkiewicz-Banecka J., Tylki-Szymanska A., Liberek A., Maryniak A., Malinowska M., Czartoryska B., Puk E., Kloska A., Liberek T., Baranska S., Wegrzyn A., Wegrzyn G. (2008) Genistin-rich soy isoflavone extract in substrate reduction therapy for Sanfilippo syndrome: an open-label, pilot study in 10 pediatric patients. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 69:166–79.
- Platt F. M. (2012). Lysosomal storage disorders: The cellular impact of lysosomal dysfunction *The cell biology of disease*, *J Mol Biol.* 432(8): 2714–2734.
- 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.
- Platt F. M., Jeyakumar M. (2008) Substrate reduction therapy. *Acta Paediatr.* 97: 88–93.
- Poorthuis B. J., Wevers R. A., Kleijer W. J., Groener J. E., de Jong J. G., van Weely S., Niezen-Koning K. E., van Diggelen O. P. (1999) The frequency of lysosomal storage diseases in the Netherlands. *Hum Genet* 105:151–156.
- Poupětová H., Ledvinová J., Berná L., Dvorská L., Kozich V., Elleder M. (2010) The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech Republic: comparison with data in different populations *J Inherit Metab Dis* 33:387-396.
- Puertellano R. (2014) mTOR and lysosome regulation. *F1000Prime Rep.*6.52.
- Raju T. N. (1999) The Nobel chronicles. 1974: Albert Claude (1899-1983), George Emil Palade (b 1912), and Christian René de Duve (b 1917). *Lancet* 354(9185):1219.
- Reetz K., Rodríguez-Labrada R., Dogan I., Mirzazade S., Romanzetti S., Schulz J. B., Cruz-Rivas E. M., Alvarez-Cuesta J. A., Aguilera Rodríguez R., Gonzalez Zaldivar Y., Auburger G., Velázquez-Pérez L. (2018). Brain atrophy measures in preclinical and manifest spinocerebellar ataxia type 2. *Annals of clinical and translational neurology*, 5(2):128–137.
- Salimi-Khorshidi G., Smith S. M., Nichols T. E. (2011) Adjusting the effect of nonstationarity in cluster-based and TFCE inference. *Neuroimage*. 54(3):2006-2019.
- Sandhoff K., Harzer K. (2013) Gangliosides and gangliosidoses: principles of molecular and metabolic pathogenesis. *J Neurosci.* Jun 19; 33(25):10195-208.
- Santra S., Ramaswami U. (2015) Lysosomal disorders. *Pediatrics and child health.* 25(3):123-132.

- Saftig P., Klumperman J. (2009) Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10(9): 623–635.
- Sancak Y., Bar-Peled L., Zoncu R., Markhard A. L., Nada S., Sabatini D. M. (2010) Ragulator–Rag complex targets mTORC1 to the lysosomal surface and is necessary for its activation by amino acids. *Cell* 141(2):290–303.
- Sato Y., Minami K., Hirato T., Tanizawa K., Sonoda H., Schmidt M. (2022) Drug delivery for neuronopathic lysosomal storage diseases: evolving roles of the blood brain barrier and cerebrospinal fluid. *Met Brain Dis* 37(6): 1745-1756.
- Scarpa M., Orchard P. J., Schulz A., Dickson P. I., Haskins M. E., Escolar M. L., Giugliani R. (2017) Treatment of brain disease in the mucopolysaccharidoses. *Mol Gen and Met.* 122:25-34.
- Scott, S. A., Liu B., Nazarenko I., Martis S., Kozlitina J., Yang Y., Ramirez C., Kasai Y., Hyatt T., Peter I., Desnick R. J. (2013) Frequency of the cholesteryl ester storage disease common LIPA E8SJM mutation (c.894G>A) in various racial and ethnic groups. *Hepatology* 58, 958–965.
- Shapiro E. G., Escolar M. L., Delaney K. A., Mitchell J. J. Assessments of neurocognitive and behavioral function in the mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab.* 122S:8-16.
- Schmahmann J. D. (2004) Disorders of the cerebellum: ataxia, dysmetria of thought, and the cerebellar cognitive affective syndrome. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci.* 16(3):367-378.
- Schulz A., Kohlschütter A., Mink J., Simonati A., Williams R. (2013) NCL diseases—clinical perspectives. *Biochim Biophys Acta.*;1832:1801–6.
- Schulz A., Ajayi T., Specchio N., de Los Reyes E., Gissen P., Ballon D., Dyke J. P., Cahan H., Slasor P., Jacoby D., Kohlschütter A. (2018) Study of intraventricular cerliponase alfa for CLN2 disease. *N Engl J Med.* 378:1898–907.
- Schwake, M., Schroder, B., Saftig, P. (2013) Lysosomal membrane proteins and their central role in physiology. *Traffic* 14, 739–748.
- Siegel D. A., Walkley S.U . (1994) Growth of ectopic dendrites on cortical pyramidal neurons in neuronal storage diseases correlates. *J Neurochem;* 62:1852-1862.
- Steinlein M., Blaser S., Boltshauser E. (1998) Cerebellar involvement in metabolic disorders: a pattern-recognition approach. *Neuroradiology* 40 (6):347-354.
- Streifler J., Golomb M., Gadoth N. (1998) Psychiatric features of adult GM2 gangliosidosis. *Br J Psychiatry.* 155:410-413.
- Suvarna, J. C., Hajela, S. A. (2008) Cherry-red spot. *J. Postgrad. Med.* 54, 54–57.
- Toro C., Shirvan L., Tiff 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/>.

- Toro C., Zainab M., Tiffit C. J. (2021) The GM2 gangliosidoses: Unlocking the mysteries of pathogenesis and treatment. *Neurosci Lett.* 764: 136195.
- Thundyil J., Lim K. L. (2014) DAMPs and Neurodegeneration. *Ageing Res. Rev.* 24:17-28.
- Trivedi P. C., Bartlett J. J., Pulinilkunnil T. (2020) Lysosomal Biology and Function: Modern View of Cellular Debris Bin. *Cells.*;9(5):1131.
- van der Voorn J. P., Pouwels P. J., Kamphorst W., Powers J. M., Lammens M., Barkhof F., van der Knaap M. S. (2005) Histopathologic correlates of radial stripes on MR Images in Lysosomal Storage Disorders. *26(3): 442–446.*
- Vellodi A. (2005) Lysosomal storage disorders. *Br J Haematol.* 128: 413–431.
- Verity C., Winstone A. M., Stellitano L., Will R., Nicoll A. (2010) The epidemiology of progressive intellectual and neurological deterioration in childhood. *Arch Dis Child* 95:361-364.
- Virgolini M. J., Feliziani C., Cambiasso M. J., Lopez P. H., Bollo M. (2019) Neurite atrophy and apoptosis mediated by PERK signaling after accumulation of GM2-ganglioside. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res.* 1866(2):225-239.
- Walkley S. U., March P. A. (1993) Biology of neuronal dysfunction in storage disorders. *J. Inher. Metab. Dis.* 16. 284-287.
- Walkley S. U., Pierok A. L. (1986) Ferric ion-ferrocyanide staining in ganglioside storage disease establishes that meganeurites are of axon hillock origin. *Brain Res.* 24;(382):379-386.
- Walkley S. U., Sikora J., Micsenyi M., Davidson C., Dobrenis K. (2010) Lysosomal compromise and brain dysfunction: examining the role of neuroaxonal dystrophy. *Biochem Soc Trans.* 38: 1436-1441.
- Walkley S. U., Zervas M., Wiseman S. (2000) Gangliosides as modulators of dendritogenesis in normal and storage disease-affected pyramidal neurons. *Cereb Cortex* 10(10): 1028-37.
- Walkley S. U. (2007): Lysosomal disorders of the nervous system, *Neurobiology of Disease.* 1-18.
- Walkley S. U. (1988) Pathobiology of neuronal storage disease. *Int Rev Neurobiol.* 29; 191-244.
- Walkley S. U., Siegel D. A., Wurzelmann S. (1988) Ectopic dendritogenesis and associated synapse formation in swainsonine-induced neuronal storage disease. *J Neurosci* 8:445-457.
- Wang R. Y., Bodamer O. A., Watson M. S., Wilcox W. R. (2011) Lysosomal storage diseases: diagnostic confirmation and management of presymptomatic individuals. *Genet Med* 13(5):457-84.

Wenger D., Williams C. (1991) Screening for lysosomal disorders. In: Hommes FA (ed) Techniques in diagnostic human biochemical genetics. Willey-Liss, New York, 587-616.

Wenger D. A., Coppola S., Liu S. L. (2002) Lysosomal storage disorders: Diagnostic dilemmas and prospects for therapy. *Genet Med* 4(6): 412-419.

Wolf D. A., Banerjee S., Hackett P. B., Whitley C. B., McIvor R. S., Low W. C. (2015) Gene therapy for neurologic manifestations of mucopolysaccharidoses. *Expert Opin. Drug. Deliv.* 12, 283-296.

Woychik, N. A., Cardelli J. A., Dimond R. L. (1986) A conformationally altered precursor to the lysosomal enzyme alpha-mannosidase accumulates in the endoplasmic reticulum in a mutant strain of *Dictyostelium discoideum*. *J. Biol. Chem.* 261, 9595–9602.

Yu R. K., Nakatani Y., Yanagisawa M. (2009) The role of glycosphingolipid metabolism in the developing brain. *J Lipid Res* 50(Suppl): S440-5.

Yu R. K., Tsai Y. T., Ariga T. (2012) Functional roles of gangliosides in neurodevelopment: an overview of recent advances. *Neurochem Res* 37(6): 1230-44.

Zoons E., de Koning T. J., Abeling N. G., Tijssen M. A. (2012). Neurodegeneration with Brain Iron Accumulation on MRI: An Adult Case of α -Mannosidosis. *JIMD reports*, 4: 99–102.

Zdroje obrázků:

<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/1974/duve/facts>.

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

8. PŘÍLOHY

1. 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.

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.

3. Májovská J., Nestrašil I., Paulson A., Nascene, D., Juříčková K., Hlavata, 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.