

**Univerzita Karlova**

**1. lékařská fakulta**

Studijní program: Preventivní medicína a epidemiologie

Studijní obor: Preventivní medicína a epidemiologie



**UNIVERZITA KARLOVA**  
1. lékařská fakulta

**MUDr. Lenka Murgašová**

ORL problematika lysosomálních střeďacích onemocnění

ENT manifestations in lysosomal storage disease

Disertační práce

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

Konzultant: MUDr. Jakub Sikora, Ph.D.

Praha 2024

**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, 11.1.2024

Lenka Murgašová

**Identifikační záznam:**

MURGAŠOVÁ, Lenka. *ORL problematika lysosomálních střeďadacích onemocnění. [ENT manifestations in lysosomal storage disease]*. Praha, 2024. Počet stran 101, počet příloh 4. Disertační práce. (PhD). Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN. Školitel Magner, Martin. Konzultant Sikora, Jakub.

## **Abstrakt**

**Úvod:** Postižení v ORL oblasti je u lysosomálních střádacích onemocnění (LSD) časté, přičemž u celé řady nemocných se jedná o první manifestaci onemocnění. Jde především o problematiku otologickou, hypertrofii adenotonzilární tkáně a progresivní obstrukci dýchacích cest. Cílem této práce bylo zhodnotit ORL příznaky a jejich výskyt v průběhu základního onemocnění v souboru českých pacientů s mukopolysacharidózou (MPS), popsat rizika a komplikace spojené s podáním celkové anestezie a komplexně charakterizovat změny v adenotonzilárních tkáních pacientů s MPS.

**Materiál a metody:** Do studií byli zahrnuti pacienti s geneticky potvrzenou formou MPS. V rámci celé skupiny LSD je práce zaměřena na podskupinu mukopolysacharidóz.

**Výsledky:** Publikovali jsme soubor 61 pacientů s různými typy MPS, ve kterém jsme podrobně popsali projevy a chirurgické výkony v ORL oblasti, věk při jejich výskytu a časovou souvislost se stanovením základní diagnózy. Alespoň jeden ORL příznak byl přítomen u 90 % pacientů. Chirurgický výkon v ORL oblasti byl proveden u 57 % pacientů. U třech čtvrtin pacientů se ORL příznaky projeví před stanovením diagnózy MPS. Věkový medián v čase objevení se prvního ORL příznaku byl u všech typů MPS nižší než věkový medián v čase stanovení základní diagnózy. Nejčastější ORL manifestací byla chronická/rekurentní rinosinitida (77 %), obstrukce horních cest dýchacích (65 %) a porucha sluchu (53 %). Nejčastějším chirurgickým výkonem byla adenotomie (56 %).

U pacienta s MPS II jsme popsali zavedení tracheálního stentu k řešení tracheomalacie. Sepsali jsme doporučení při vedení anestezie u pacientů s MPS.

V histopatologické studii jsme za využití histologických, imunohistochemických, imunofluorescenčních a ultrastrukturálních mikroskopických technik charakterizovali změny adenotonzilárních tkání u pacientů s MPS. Identifikovali jsme nový (imuno)histochemický a ultrastrukturální fenotyp podmíněný lysosomálními střádacími změnami ve specifickém podtypu adenotonzilárních parakortikálních buněk u 8 MPS pacientů. Abnormální buňky byly dobře detekovatelné pomocí protilátky cílící na lysosomální membránový tetraspanin CD63. Tyto CD63 pozitivní střádací vakuoly postrádaly monocytární/makofágový marker CD68.

**Závěr:** Vzhledem k velmi častému výskytu ORL příznaků u pacientů s MPS je pro otorinolaryngologa znalost problematiky MPS důležitá nejen pro včasné rozpoznání nemoci a tím možnost zahájit specifickou terapii ale i v následném sledování a specializované léčbě těchto pacientů. Histopatologické vyšetření odebrané lymfoepiteliální tkáně může vzhledem k typickému nálezu ulehčit diagnostiku a napomoci hodnocení efektu terapie MPS.

## **Abstract**

**Objective:** Otorhinolaryngological (ENT) symptoms are frequent and often the first signs of lysosomal storage diseases (LSD). The most common are otological problems, adenotonsillar hypertrophy and progressive airway obstruction. The aims of this work were to evaluate ENT symptoms and their occurrence in a group of Czech patients with mucopolysaccharidosis (MPS), to describe the risks and complications associated with administration of general anaesthesia, and to characterize adenotonsillar tissue changes in patients with MPS.

**Methods:** Patients with a genetically confirmed MPS were included in the studies. Within the entire group of LSDs, the work is focused on the subgroup of MPS.

**Results:** We published a study of 61 patients with different MPS types. We described ENT manifestations and surgical procedures in detail. We identified the time relationship between ENT presentation, first ENT procedure and the age at which the MPS diagnosis was established. At least one ENT symptom was present in 90 % and ENT surgery was performed in 57 % of patients. In three quarters of patients, ENT symptoms appeared before the diagnosis of MPS. The median age at the time of the first ENT symptom was in all MPS subtypes lower than the median age at the time of MPS diagnosis. The most common ENT manifestations were chronic/recurrent rhinosinusitis (77 %), upper airway obstruction (65 %) and hearing impairment (53 %). Adenotomy was the most common surgical procedure (56 %).

In MPS II patient, we described the insertion of a tracheal stent to resolve tracheomalacia. We summarized recommendations for managing anaesthesia in MPS patients.

In a histopathological study, we characterized adenotonsillar tissue changes in MPS using histological, immunohistochemical, immunofluorescence and ultrastructural analyses. We identified a new (immuno)histochemical and ultrastructural phenotype of lysosomal storage changes in a specific subtype of adenotonsillar paracortical cells in 8 MPS patients. Abnormal cells were effectively detected using an antibody targeting the lysosomal membrane tetraspanin CD63. These CD63 positive storage vacuoles lacked the monocyte/macrophage marker CD68.

**Conclusions:** High and early occurrence of ENT symptoms in MPS patients highlights the role of otorhinolaryngologists in prompt recognition of the disease allowing early initiation of a specific therapy and effective follow-up of these patients. Histopathological examination of the lymphoepithelial tissue can, due to typical findings, facilitate diagnosis and help evaluate the effects of MPS therapy.

## **Poděkování**

Děkuji svému školiteli doc. MUDr. Martinu Magnerovi, Ph.D. za možnost absolvovat postgraduální studium pod jeho vedením, za provázení a podporu během celého období doktorského studia. Děkuji odbornému asistentovi MUDr. Jakubu Sikorovi, Ph.D. z Kliniky pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. LF UK a VFN v Praze za konzultantství a vedení histopatologické části disertační práce.

Děkuji MUDr. Michalu Jurovčikovi z ORL kliniky 2. LF UK a FN v Motole a MUDr. Věře Biskupové z Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 2. LF UK a FN v Motole za odborný dohled a vstřícnou spolupráci v péči o pacienty s mukopolysacharidózami.

Děkuji svému manželovi za nekonečnou podporu a celé rodině za víru a trpělivost.

## Seznam zkratek

<i>6MWT</i>	six-minute walk test, šestiminutový test chůze
<i>ABR</i>	auditory brainstem responses, sluchové kmenové potenciály
<i>AT</i>	adenotomie
<i>ATP</i>	adenosintrifosfát
<i>CLN3</i>	lysosomální/endosomální transmembránový protein, Battenin, ceroid lipofuscinosis type 3
<i>CNS</i>	centrální nervový systém
<i>CPAP</i>	continuous positive airway pressure, dechová podpora kontinuálním přetlakem dýchacích cest
<i>CS</i>	chondroitinsulfát
<i>DC</i>	dýchací cesty
<i>DCD</i>	dolní cesty dýchací
<i>DS</i>	dermatansulfát
<i>EMA</i>	European Medicines Agency, Evropská agentura pro léčivé přípravky
<i>ERT</i>	enzyme replacement therapy, enzymová substituční terapie
<i>FBI</i>	fibroskopická intubace
<i>FD</i>	Fabry disease, Fabryho nemoc
<i>FDA</i>	Food and Drug Administration, Americký úřad pro schvalování léků a potravin
<i>FEV 1</i>	forced expiratory volume in the first second, usilovně vydechnutý objem vzduchu za jednu vteřinu
<i>FLM</i>	flexibilní laryngeální maska
<i>FVC</i>	forced vital capacity, usilovná vitální kapacita
<i>GAG</i>	glykosaminoglykany
<i>GD</i>	Gaucher disease, Gaucherova nemoc
<i>GP</i>	glykoproteinózy
<i>GS</i>	Griselliho syndrom
<i>GSD II</i>	Glycogen storage disease Type II, Pompe disease, glykogenóza typu II, Pompeho choroba
<i>HCD</i>	horní cesty dýchací
<i>HOS</i>	Hunter Outcome Survey, registr pacientů s Hunterovým syndromem
<i>HPS</i>	Heřmanského-Pudlákův syndrom
<i>HS</i>	heparansulfát
<i>HSCT</i>	haematopoietic stem cell transplant, transplantace hematopoetických kmenových buněk
<i>CHO</i>	Chines hamster ovary, linie buněk ovarií čínských křečků
<i>CHS</i>	Chediakův-Higashiho syndrom
<i>IDS</i>	iduronát 2-sulfatáza
<i>IDUA</i>	$\alpha$ -L-iduronidáza
<i>IVSd</i>	interventricular septum thickness, tloušťka mezikomorového septa v diastole
<i>KS</i>	keratansulfát
<i>LAMP</i>	lysosomal-associated membrane protein, lysosomálně asociovaný membránový protein
<i>LM</i>	laryngeální maska

<i>LRO</i>	lysosome-related organelles, organely příbuzné lysosomům
<i>LSD</i>	lysosomal storage disease, lysosomální střeďací onemocnění
<i>LVMI</i>	left ventricular mass index, index hmotnosti levé komory
<i>M6PR</i>	manóza 6-fosfátový receptor
<i>ML</i>	mukolipidóza
<i>MLPA</i>	Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification, detekce rozsáhlých intragenových delecí/duplikací postihujících celé exony/geny
<i>MPS</i>	mukopolysacharidóza
<i>MPS I-H</i>	mukopolysacharidóza typu I, syndrom Hurlerové
<i>MPS I-HS</i>	mukopolysacharidóza typu I, syndrom Hurlerové-Scheieův
<i>MPS I-S</i>	mukopolysacharidóza typu I, syndrom Scheie
<i>MSD</i>	multiple sulfatase deficiency, mnohopočetný sulfatázový deficit
<i>NCL, NCL 2</i>	neuronální ceroidlipofuscinóza, neuronální ceroidlipofuscinóza typu 2
<i>OME</i>	otitis media with effusion, sekretorická otitida
<i>ORL</i>	otorinolaryngologie, otorinolaryngologický
<i>OSAS</i>	obstructive sleep apnea syndrome, syndrom obstrukční spánkové apnoe
<i>PAS</i>	histologické barvení polysacharidů, Periodic Acid-Schiff base
<i>PEEP</i>	positive end-expiratory pressure, pozitivní tlak na konci výdechu
<i>RPE</i>	retinal pigment epithelium, pigmentový epitel sítnice
<i>SRT</i>	substrate reduction therapy, substrát redukující terapie
<i>TST</i>	tympanostomie
<i>VC</i>	vital capacity, vitální kapacita plic



## OBSAH

1	ÚVOD .....	11
1.1	Historie lysosomálních stádacích onemocnění .....	13
1.2	Endosomálně lysosomální systém .....	15
1.3	Patofyziologie LSD .....	17
1.4	Incidence lysosomálních stádacích onemocnění .....	21
1.5	Léčba lysosomálních stádacích onemocnění .....	24
1.5.1	Enzymová substituční terapie .....	25
1.5.2	Transplantace hematopoetických kmenových buněk .....	29
1.5.3	Substrát redukující terapie .....	29
1.5.4	Efekt časného zahájení terapie .....	29
1.6	Mukopolysacharidózy .....	30
1.6.1	Klinický obraz MPS .....	32
1.6.2	Diagnostika mukopolysacharidóz .....	39
1.6.3	Jednotlivé typy mukopolysacharidóz .....	40
1.7	Otorinolaryngologické manifestace u pacientů s mukopolysacharidózami .....	46
1.7.1	Otologická problematika .....	46
1.7.2	Postižení dýchacích cest u MPS .....	49
1.8	Celková anestezie u pacientů mukopolysacharidózami .....	54
2	CÍLE PRÁCE .....	55
3	MATERIÁL A METODIKA .....	56
3.1	Klinické studie .....	56
3.2	Histopatologické studie .....	57
4	VÝSLEDKY .....	58
4.1	Klinická manifestace, zhodnocení přirozeného průběhu onemocnění a charakteristika ORL manifestace v souboru českých pacientů s mukopolysacharidózami (MPS) .....	58
4.1.1	Výsledky .....	58
4.1.2	Diskuze .....	64
4.1.3	Závěr .....	68
4.2	Popis anesteziologického rizika u pacientů s MPS .....	69
4.2.1	Praktické aspekty a postup při anestezii dětí s MPS .....	69
4.2.2	Vzácná kazuistika implantace tracheálního stentu u dospělého pacienta s Hunterovým syndromem .....	71
4.3	Histologická studie lymfoepiteliální tkáň odebrané v rámci ORL výkonů u pacientů s MPS .....	76

4.3.1	Výsledky .....	76
4.3.2	Diskuze .....	84
5	SHRNUTÍ A PRAKTICKÝ DOPAD PRÁCE .....	86
6	SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORKY .....	87
7	LITERATURA .....	90
8	PŘÍLOHY .....	101

## 1 ÚVOD

Lysosomální střeďací onemocnění (LSD) tvoří významnou skupinu dědičných metabolických poruch (Burton B.K., 1998; Platt F.M. a Walkley S.U., 2004; Ballabio A. a Gieselmann V., 2009). V současnosti je známých přes 70 LSD vázaných na mutace v 58 genech kódujících převážně hydrolytické lysosomální enzymy (WORLDSymposium 2018). Nicméně vzhledem k vysokému počtu dalších proteinových komponent (až 300-500) uvnitř a v membráně lysosomu se lze domnívat, že celkový počet dosud nepopsaných lysosomálních onemocnění je vyšší (Marques A.R.A. a Saftig P., 2019). Nedostatečná aktivita některého z lysosomálních hydrolytických enzymů vede ke střeďání nedegradovatelných molekul v endosomálně-autofagosomálně-lysosomálním systému. Onemocnění jsou klasifikována podle typu střeďaného materiálu; např. poruchy metabolismu lipidů, mukopolysacharidózy, glykoproteinózy apod. Přesto, že metabolická porucha souvisí nejčastěji s deficitem jednoho specifického koncového enzymu, u většiny LSD dochází k akumulaci více než jednoho substrátu (Ballabio A. a Gieselmann V., 2009). Primární střeďání v buňce zároveň vede k řadě sekundárních patofyziologických mechanismů. Výsledný klinický obraz je variabilní, závisí na střeďání konkrétních molekul a kombinaci orgánového postižení typického pro jednotlivé LSD (Valle D. et al., 2014). Porucha v jedné metabolické cestě může vést k několika příbuzným onemocněním, a to v závislosti na tom, která část metabolické kaskády je postižena. Proto mnohé z lysosomálních střeďacích onemocnění biochemické a klinické rysy sdílí. Společné klinické příznaky LSD zahrnují mj. kostní anomálie, zvětšení parenchymatózních orgánů, poruchy centrálního a periferního nervového systému.

Dědičnost je u většiny LSD autosomálně recesivní. K výjimkám patří mukopolysacharidóza typu II (MPS II), Fabryho nemoc a Danonova nemoc, jejichž dědičnost je vázaná na X chromozom (Mehta A. et al., 2006) a adultní forma neuronální ceroidlipofucinózy (NCL) s autosomálně dominantní formou dědičnosti, jejíž genetická podstata byla popsána na našem pracovišti (Jedličková I. et al., 2020).

Incidence LSD se odhaduje na 1:7000 až 1:8000 živě narozených (Meikle P.J. et al., 1999; Porthuis B.J. et al., 1999) (viz. kapitola – 1.4 Incidence lysosomálních střeďacích onemocnění). Významnou součástí klinické manifestace LSD, zejména ze skupiny mukopolysacharidóz, jsou projevy z ORL oblasti. I když je ORL symptomatika přítomná u velkého procenta pacientů s MPS, povědomí o ní je i mezi odborníky nízké. Cílem této práce je podrobně zpracovat projevy z oblasti hlavy a krku u pacientů s MPS, poukázat na jejich vysoký a časný výskyt. Zvýšení povědomí mezi otorinolaryngology může přispět k časnému rozpoznání a diagnostice

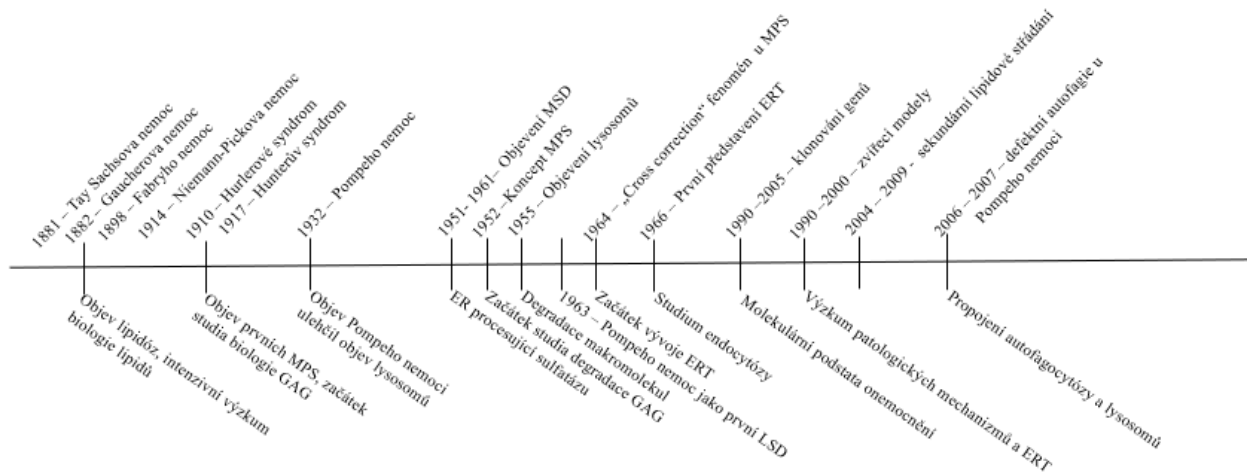
těchto závažných onemocnění a k časnému zahájení léčby nezbytné pro dosažení vyššího terapeutického efektu. Vzhledem k chronickému charakteru LSD, a tedy i ORL projevů, jsou otorinolaryngologové i po stanovení diagnózy důležitými členy multidisciplinárních týmů, které o tyto pacienty pečují.

## 1.1 Historie lysosomálních střeďacích onemocněn

První klinické popisy LSD byly v odborné literatuře publikovány již v 19. století (Obr. 1.1.1). Jednalo se o Gaucherovu (1882) (Gaucher P.C.E., 1882) a Andersonovu-Fabryho nemoc, dále jen jako Fabryho nemoc (1898) (Anderson W., 1898, Fabry J., 1898). U některých nemocí byla povaha střeďaného materiálu známa již dlouho před objevením samotných lysosomů. Např. střeďání glukosylceramidu u Gaucherovy nemoci bylo objeveno již v roce 1924. Ke klasifikaci těchto klinicky odlišných jednotek jako lysosomálních střeďacích onemocněn však došlo až po objevení lysosomů belgickým cytologem a biochemikem Christianem de Duvem v roce 1955 (de Duve C., 2005). Christian de Duve byl výjimečným vědcem, který kromě lysosomů objevil i peroxisomy a v roce 1974 byl za tyto objevy oceněn Nobelovou cenou za fyziologii a lékařství. Zajímavostí je, že de Duve lysosom nezobrazil, ale doložil na základě frakcionačních technik, cytologických studií a biochemických analýz (de Duve C. et al., 1955). Prokázal tak roli lysosomu jako buněčné organely odpovědné za nitrobuněčné trávení (de Duve C., 2005). Ve stejném roce (1955), Alex B. Novikoff navštívil de Duveho laboratoř a pomocí elektronového mikroskopu společně lysosomy zobrazili a použitím barvení (pro kyselou fosfatázu) potvrdili v lysosomech přítomnost hydrolytických enzymů (Novikoff A.B., 1956). Kromě objevů lysosomů a peroxisomů de Duve také přispěl k definování makroautofagie, endocytózy a exocytózy.

Deset let po objevení lysosomu představil belgický fyziolog a biochemik Henri-Géry Hers koncept lysosomálních střeďacích onemocněn jako důsledků nedostatečné aktivity některého z hydrolytických enzymů (Hers H.G., 1965). Hers pozoroval, že u Pompeho nemoci nebyl glykogen střeďán v cytoplasmě, ale v organelách ohraničených membránou a předpokládal, že se jedná o lysosomy. Tento poznatek tak vedl ke klasifikaci již klinicky známých nemocí do nové skupiny lysosomálních střeďacích onemocněn (Hers H.G., 1965).

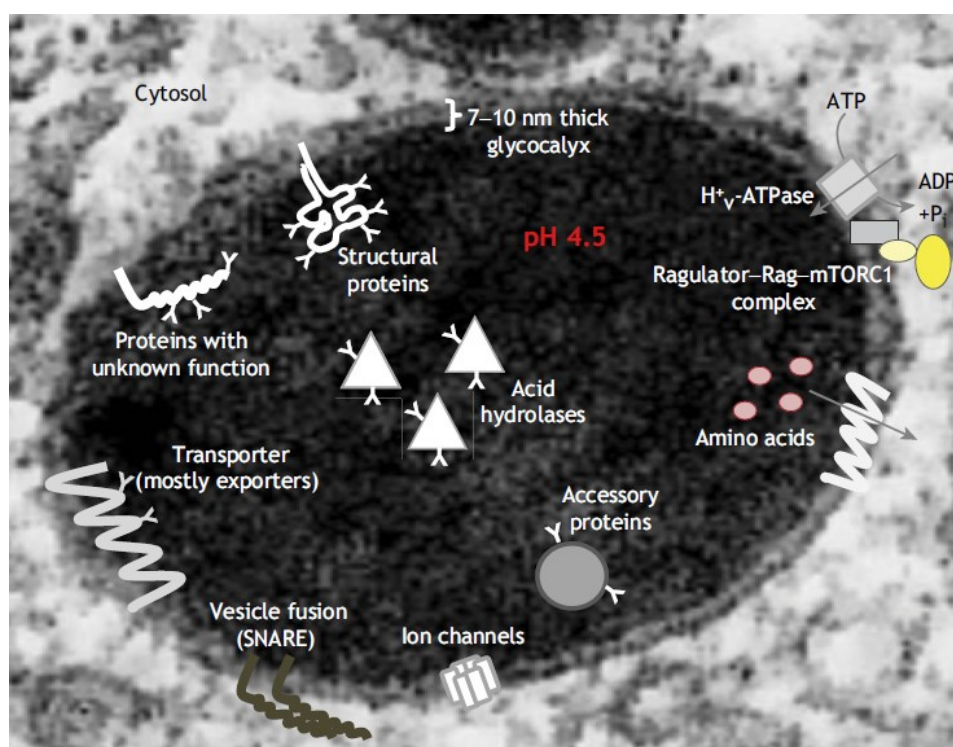
V šedesátých a sedmdesátých letech 20. století bylo postupně identifikováno množství enzymatických defektů vedoucích ke střeďání různých substrátů. Prvním lysosomálním onemocněním, u kterého byl rozpoznán enzymatický deficit, byla opět Pompeho nemoc se sníženou aktivitou kyselé alfa-glukosidázy v roce 1963 (Hers H.G., 1963; Baudhuin P. et al., 1964). Poté následoval objev enzymové podstaty Gaucherovy choroby s deficitem glukocerebrosidázy a mnoha dalších (Brady R.O. et al., 1966). Morfologický obraz střeďání byl na úrovni elektronové mikroskopie u Fabryho nemoci doložen Hashimotem v roce 1965 (Hashimoto K. et al., 1965).



**Obr. 1.1.1** Časový přehled hlavních objevů v oblasti lysosomálních střeďacích onemocnění. MPS – mukopolysacharidózy, MSD – mnohočetný sulfatázový deficit, LSD – lysosomální střeďací onemocnění, ERT – enzymová substituční terapie, GAG – glykosaminoglykany, ER – endoplasmatické retikulum. (Upraveno podle Parkinson-Lawrence E.J. et al., 2010.)

## 1.2 Endosomálně lysosomální systém

Lysosomy jsou součástí endosomálně-lysosomálního systému. Představují komplexní soubor organel zastávajících zásadní role v metabolismu buňky (Obr. 1.2.1). V lumen lysosomů se nachází >100 specifických kyselých hydroláz (Saftig P., 2006), jejichž hlavním úkolem je degradace komplexních makromolekul. Pro správnou funkci lysosomu je důležitá rovněž lysosomální membrána s integrovanými proteiny regulujícími transmembránový transport, acidifikaci lysosomu a jeho interakci s dalšími membránou obalenými strukturami buňky (Marques A.R.A a Saftig P., 2019). Obsahuje rovněž velké množství glykosylovaných membránových proteinů, které přispívají k formování 7-10 nm tlusté vrstvy podobné glykokalyxu chránící z vnitřního povrchu membránu před působením hydroláz v lysosomálním lumen (Saftig P. a Klumperman J., 2009).



**Obr. 1.2.1 Lysosomální kompartment jako místo enzymatické degradace v buňce.**

*V lysosomu se nachází >100 kyselých hydroláz. Pro správnou funkci lysosomu je důležitá lysosomální membrána obsahující množství glykosylovaných membránových proteinů, které formují 7-10 nm tlustou vrstvou podobnou glykokalyxu chránící z vnitřního povrchu membránu před působením hydroláz obsažených v lysosomu. (Upraveno podle Marques A.R.A. a Saftig P., 2019.)*

Lysosomální proteiny (včetně enzymů) procházejí posttranslačními úpravami v rámci sekretorické dráhy. Pro jejich transport do lysosomu je zásadní navázání směřující značky manosa-6-fosfátu v Golgiho aparátu. Po navázání na příslušný receptor (M6PR) jsou tyto

enzymy směřovány do pozdních endosomů (late endosomes), které se vyznačují vyšším pH než zralé lysosomy (Ghosh P. et al., 2003). Lysosomy jsou proti nim menší, mají vyšší zastoupení lysosomálních membránových proteinů (LAMP1 a LAMP2) a obsahují velké množství hydrolytických enzymů (včetně proteáz, glykosidáz, nukleáz, fosfatáz a lipáz) (Luzio J.P. et al., 2007; Saftig P. a Klumperman J., 2009; Morgan A.J. et al., 2011). Degradace endosomálního a autofagosomálního materiálu se odehrává po výměně obsahu (“kiss-and-run” kontakt) nebo po fúzi s lysosomy a vytvoření endolysosomů (Tjelle T.E. et al., 1996; Bright N.A. et al., 1997, 2005; Mullock B.M. et al., 1998) nebo autolysosomů (Jahreiss L. et al., 2008; Fader C.M. a Colombo M.I., 2009; Orsi A. et al., 2010).

Lysosomální kompartment je nástrojem enzymatické degradace makromolekul a vezikul z okolního prostředí buňky, ale i z buňky samotné. V lysosomech probíhá i digesce fagocytovaných patogenů a autofagie senescentních organel. Cytosol je sekvestrován v specifických vezikulách (autofosomech) a pak po fúzi s lysosomy degradován. Autofagie je důležitým procesem regulujícím buněčnou homeostázu mitochondrií, peroxizomů a endoplasmatického retikula. Bazální úroveň autofagie může být aktivována a výrazně zvýšena např. v průběhu nutriční deplece. V takovém případě umožňuje produkci ATP při katabolismu makromolekul. Dalším příkladem lysosomální aktivace je oxidativní stres, což vede k efektivnímu odstranění poškozených organel a proteinů z cytoplasmy (Ravikumar B. et al., 2004).

Lysosomální metabolismus je rovněž velmi úzce spjatý s cytosolovým a nukleárním signalizačním systémem. Lysosomy se tak spoluúčastní na regulaci životního cyklu buňky (Marques A.R.A. a Saftig P., 2019).

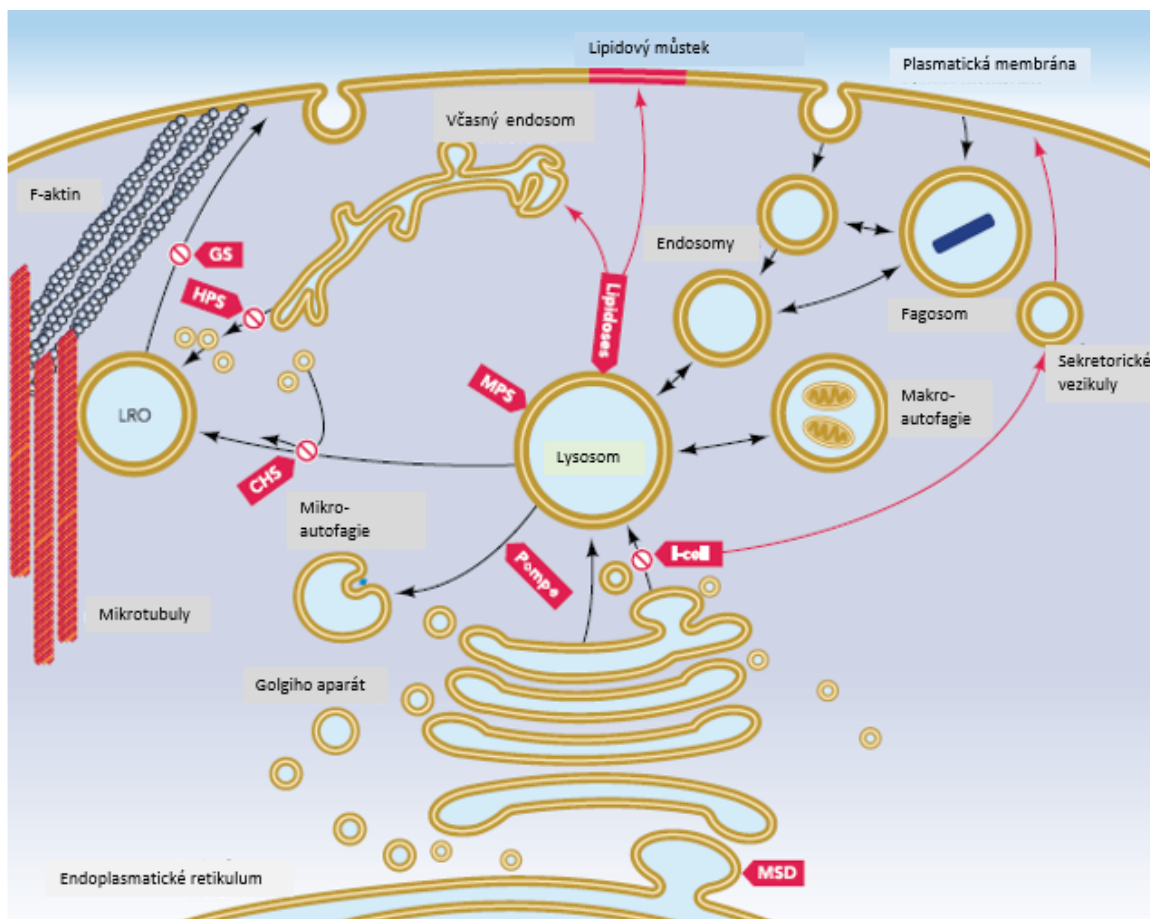


### 1.3 Patofyziologie LSD

Většina LSD vzniká v důsledku patogenních variací (mutací) v genech, které kódují některý z lysosomálních enzymů. Důsledkem je snížená aktivita jedné nebo několika lysosomálních kyselých hydroláz (např. alfa-galaktosidázy u Fabryho nemoci) (Winchester B., 2004; Ballabio A. a Gieselmann V., 2009; Poswar F.D.O. et al., 2019). Nejedná se však o jedinou příčinu vzniku LSD. U části patogeneze vychází z dysfunkce jednotlivých mutovaných membránových lysosomálních proteinů – např. transportérů asociovaných s lysosomální membránou s následným defektem transportu enzymu do lysosomů (např. cystinu u cystinózy) (Poswar F.D.O. et al., 2019). Další příčinou může být deficit jiných neenzymatických rozpustných lysosomálních proteinů (např. CLN3 u Battenovy nemoci) (Storch S. a Braulke T., 2005; Saftig P. a Klumperman J., 2009; Jalanko A. a Braulke T., 2009; Poswar F.D.O. et al., 2019). Některé z LSD jsou pak způsobené poruchou nelysosomálních proteinů, které se nacházejí v endoplasmatickém retikulu nebo Golgiho aparátu a jsou odpovědné za posttranslační úpravy lysosomálních proteinů (Ballabio A. a Gieselmann V., 2009) (Obr. 1.3.1).

Následky akumulace substrátu pro buňku jsou dány typem strádaného materiálu, rozsahem strádání a typem buněk postižených strádáním. Buňky s deficitem lysosomálních hydrolytických enzymů, lysosomálních membránových proteinů nebo neenzymatických rozpustných lysosomálních proteinů akumulují vysoké množství nedegradovaných makromolekul (deficit enzymů) nebo monomerických katabolických produktů. V důsledku hromadění velkého množství primárně nedegradovaných makromolekul/monomerů v endo/autolysosomech dochází k sekundární akumulaci dalších substrátů (Walkley S.U. a Vanier M.T., 2009; Lamanna W.C. et al., 2011; Prinetti A. et al., 2011).

Patofyziologii LSD nelze chápat pouze mechanisticky strádáním nedegradovatelného materiálu v lysosomech (Obr. 1.3.2). Komplexní porucha funkce lysosomů vede k nedostatečné hydrolýze ostatních substrátů, poruchám vezikulárního transportu, lysosomální biogeneze, intracelulární kalciové signalizace, autofagie nebo funkce mitochondrií, endoplasmatického retikula a dalších organel (Ballabio A. a Gieselmann V., 2009; Parkinson-Lawrence E.J. et al., 2010).



**Obr. 1.3.1 Schematické zobrazení buňky s ilustrací možných příčin lysosomálních stŕádacích onemocnĕní.**

*Pompeho nemoc – defekt lysosomální hydrolázy – alfa glukosidázy vedoucí k poruše degradace autofagocytovanĕho glykogenu.*

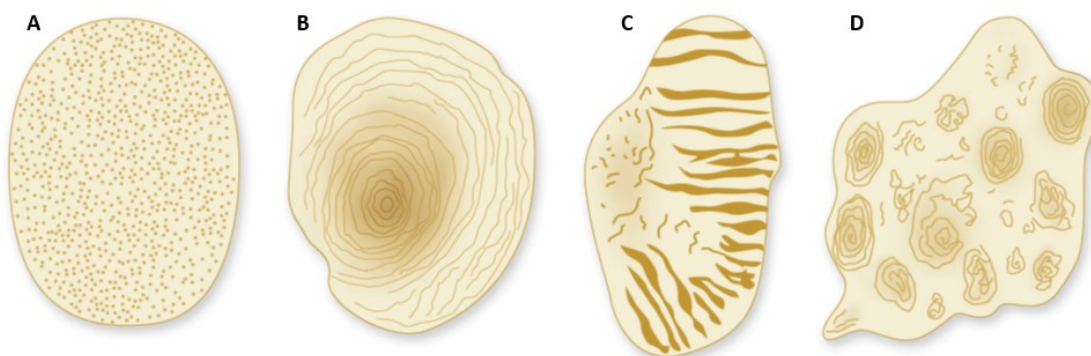
*Mukopolysacharidózy (MPS) – defekty v procesujících enzymech a následná porucha degradace glykosaminoglykanů (GAG) v lysosomech.*

*Sfingolipidózy (lipidózy) – defekty specifických hydroláz podílejících se na katabolismu lipidů.*

*Mukolipidóza II (Inkluzní choroba, I-cell disease) – enzymový defekt v posttranslační dráze modifikace hydrolytických enzymů v Golgiho aparátu vede k poruše jejich transportu do lysosomu.*

*Mnohočetný sulfatázový deficit (Multiple sulphatase deficiency, MSD) – porucha posttranslačních úprav v endoplasmatickĕm retikulu vede k snížené aktivitĕ několika lysosomálních sulfatáz.*

*Chediakův–Higashiho syndrom (CHS), Heřmanskĕho–Pudlákův syndrom (HPS), Griscelliho syndrom (GS) – porucha vezikulárního transportu, porucha biogeneze organel příbuzných lysosomům (LRO) a následná sekundární porucha lysosomálních funkcí. (Upraveno podle Parkinson-Lawrence E.J. et al., 2010.)*



**Obr. 1.3.2 Nejčastější typy histologických nálezů strádání u LSD.**

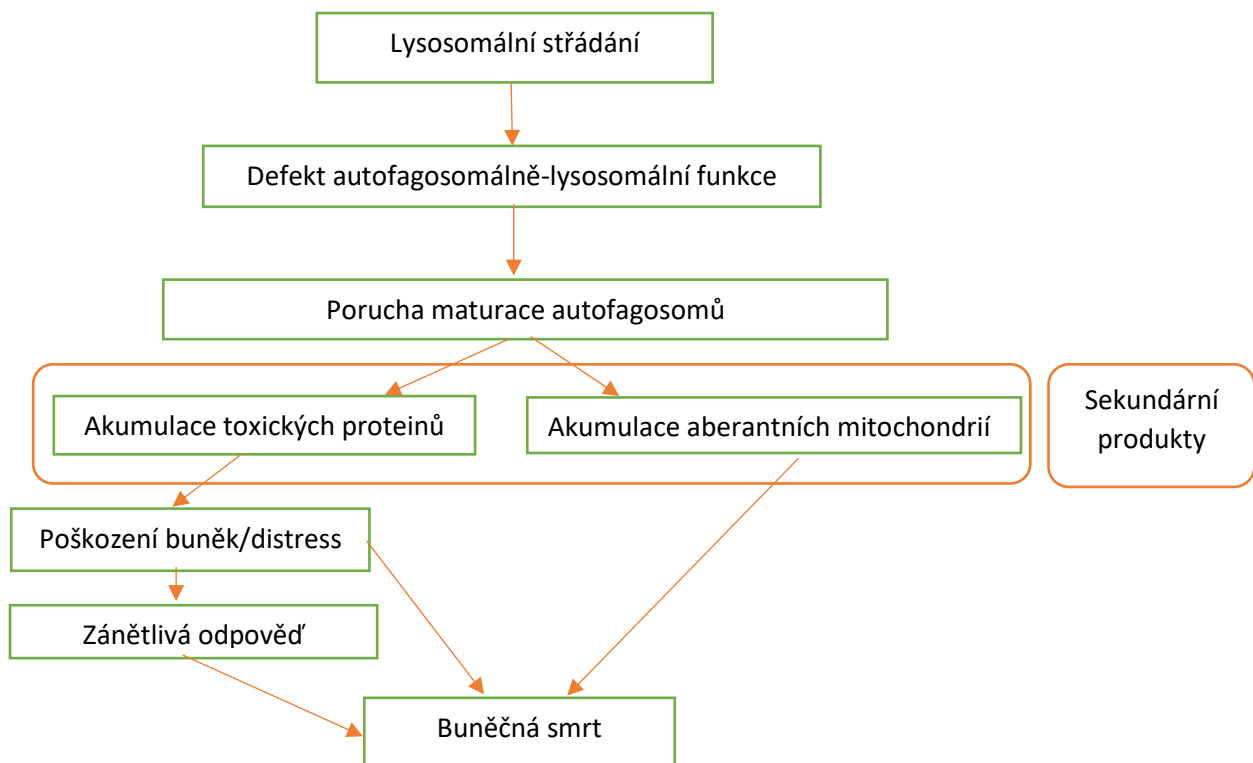
*A – vločkově–granulární strádání; B – lipidové přesleny; C – zebrovitá tělíska; D – autofagosome-like vakuoly. U MPS jsou v časném stadiu typické primární strádací vakuoly (typ A), později v průběhu onemocnění se objevují autofagické vakuoly (D) a známky sekundárního postižení lipidového metabolismu (B a C). (Upraveno podle Parkinson-Lawrence E.J. et al., 2010.)*

Popis patofyziologických procesů odehrávajících se v lysosomech daleko přesahuje rozsah této práce. Pro ilustraci uvádíme v následujícím textu alespoň několik patofyziologických aspektů LSD na CNS.

Úzce je propojen metabolismus lysosomů a mitochondrií. Role mitochondriální dysfunkce byla prokázána v neuropatologii celé řady LSD (Niemannova Pickova nemoc C, některé mukopolysacharidózy, Gaucherova nemoc) (McKenna M.C. et al., 2019). Zásadní roli v patofyziologii Krabbeho nemoci hraje lokální zánět (neuroinflamace) vyvolaný strádáním. Sekundární dopad na mozkovou tkáň je považován za mnohem zásadnější než samotné strádání (Potter G.B. a Petryniak M.A., 2016).

Dalším příkladem je ovlivnění membránové integrity při poruchách sfingolipidového metabolismu (např. Niemannova Pickova nemoc C). Sfingolipidy jsou zásadní při remodelaci a reparaci buněčných membrán (plasmatických membrán i membrán ostatních organel). Degradovány jsou v lysosomech na sfingosin, mastné kyseliny a cukry, které jsou recyklované pro syntézu nových sfingolipidů. U řady LSD dochází k patologické akumulaci (glyko)sfingolipidů, která je následkem primárního enzymatického defektu nebo k ní dochází sekundárně následkem lysosomální dysfunkce (Kielian T., 2019). Je zajímavostí, že množství sfingolipidů v neuronech je v průběhu vývoje CNS nízké a jejich zastoupení se postupně zvyšuje. Nízké zastoupení sfingolipidů v neuronálních membránách v průběhu vývoje CNS může také vysvětlovat, proč u LSD s postižením sfingolipidového metabolismu dochází až k pozdním klinickým projevům z poškození CNS. Je zjevné, že blokáda sfingolipidového metabolismu v kontextu lysosomální dysfunkce má dalekosáhlý dopad na metabolismus buňky (Grassi S. et al., 2019).

Za jeden ze zásadních patofyziologických podkladů vedoucích k poruše funkce buňky, a nakonec k buněčné smrti u LSD, je považována porucha autofagie. První důkaz dysfunkční autofagie byl pozorován u myšního modelu Danonovy nemoci s nálezem akumulace autofagických vakuol v histopatologických studiích. Akumulace byla limitována na časné autofagosomy, předpokládá se proto defekt maturace autofagosomů (Tanaka Y. et al., 2000). Blok autofagie byl pozorován ale i v myších modelech mnohočetného sulfatázového deficitu (MSD) a u MPS IIIA. U uvedených je naopak předpokládána porucha fúze, tedy blok autofagosom-lysosomální maturace (Settembre C. et al., 2008a; Settembre C. et al., 2008b). Následkem defektní autofagie u LSD je opět sekundární akumulace autofagických substrátů (polyubikvitinovaných proteinů a aberantních mitochondrií), jehož dopad na buňku je nejspíše daleko významnější než akumulace primárně strádané molekuly v lysosomu (Ballabio A. a Gieselmann V., 2009) (Obr. 1.3.3).



**Obr. 1.3.3 Příklad modelu patogeneze LSD.**

*Lysosomální střádání vede ke snížení schopnosti lysosomů fúzovat s autofagosomy. To způsobuje blok (alespoň parciální) maturace autofagosomů a jejich defektní degradaci. Následně se akumulují autofagické substráty (polyubikvitinované proteiny a dysfunkční mitochondrie). Zánětlivá reakce na poškození buněk se může spolupodílet na buněčné smrti. (Upraveno podle Ballabio A. a Gieselmann V., 2009.)*

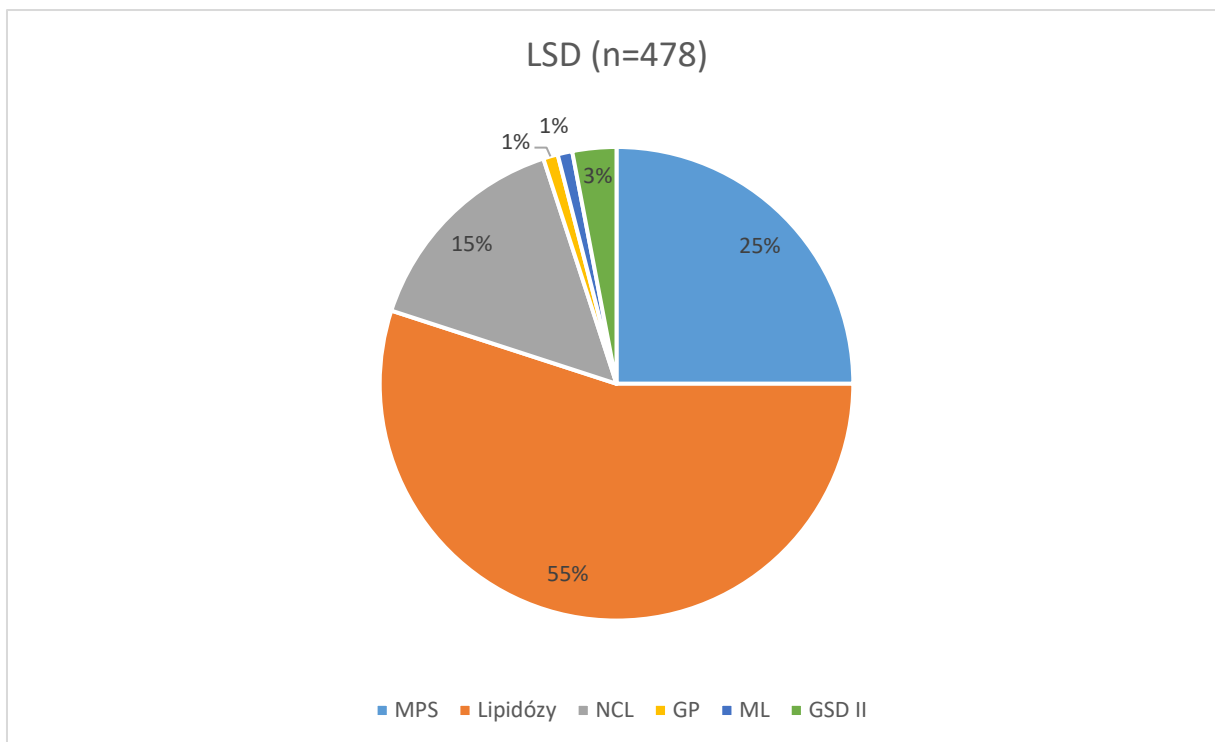
#### 1.4 Incidence lysosomálních střeďacích onemocnění

I když samostatně jsou LSD vzácnými nemocemi, souhrnná incidence LSD jako skupiny onemocnění je v některých zemích odhadována až na 1 na 4000 živě narozených dětí (Giugliani R. et al., 2017). Jelikož výrazná klinická variabilita projevů vede k poddiagnostikování zejména mírných forem LSD, přesnou prevalenci lze odhadnout jenom stěží (Poswar F.D.O. et al., 2019).

Souhrnná novorozenecká prevalence LSD v České republice (ČR) byla vypočtena na 12,25 na 100 000 živě narozených dětí (Poupětová H. et al., 2010). Prevalence byla stanovena jako počet pacientů diagnostikovaných s daným LSD, vydělený počtem živě narozených dětí v období narození diagnostikovaných případů (tj. období narození - „birth period“ je interval mezi rokem narození nejstaršího a rokem narození nejmladšího pacienta). Jedná se o tzv. „novorozeneckou prevalenci“, která byla v české studii shledána jako nejvhodnější veličina ke kvantifikaci případů v populaci. Prevalence LSD v ČR je srovnatelná s ostatními zeměmi, např. prevalence LSD v Nizozemsku je 14 na 100 000 (Poorthuis B.J. et al., 1999), v Austrálii 12,9 na 100 000 (Meikle P.J. et al., 1999) a v Itálii 12,1 na 100 000 (Dionisi-Vici C. et al., 2002). Celkově se frekvence výskytu LSD jako skupiny pohybuje mezi 7,6 - 25 na 100 000 (Meikle P.J. et al., 1999; Poorthuis B.J. et al., 1999; Applegarth D.A. et al., 2000; Dionisi-Vici C. et al., 2002; Pinto R. et al., 2004).

V období mezi rokem 1975–2008 bylo v ČR diagnostikováno 34 různých typů LSD u 478 jedinců (Obr. 1.4.1). Nejpočetnější byla skupina pacientů s lipidózami (55% pacientů; novorozenecká prevalence 5,0 na 100 000 živě narozených), následována skupinou mukopolysacharidóz (MPS) (25% pacientů; novorozenecká prevalence 3,72 na 100 000 živě narozených). Zbytek tvořily skupiny pacientů s neuronální ceroidlipofuscínózou (NCL; novorozenecká prevalence 2,29 na 100 000 živě narozených), glykoproteinózou (GP; novorozenecká prevalence 0,57 na 100 000 živě narozených), glykogenózou typu II (GSD II; novorozenecká prevalence 0,37 na 100 000 živě narozených) a mukolipidózou (ML; novorozenecká prevalence 0,31 na 100 000 živě narozených) (Poupětová H. et al., 2010).

Četnost jednotlivých typů LSD se výrazně liší. Nejčastější LSD v ČR je Gaucherova nemoc s novorozeneckou prevalencí 1,13 na 100 000 živě narozených. Dále následuje Niemann-Pickova nemoc typu C a MPS III (obě 0,91 na 100 000 živě narozených), MPS IV (0,73 na 100 000 živě narozených) a MPS I (0,72 na 100 000 živě narozených) (Poupětová H. et al., 2010).



**Obr. 1.4.1 Zastoupení jednotlivých typů LSD v České republice.**

*Lipidózy (n=259), MPS – mukopolysacharidózy (n=119), NCL – neuronální ceroidlipofuscinózy (n=74), GP – glykoproteinózy (n=7), ML – mukolipidózy (n=7), GSD II – glykogenózy typu II (n=12). (Upraveno podle Poupětová H. et al., 2010.)*

Novorozenecká prevalence všech typů MPS v ČR je 3,72 na 100 000 živě narozených (1 na 26 865 živě narozených). V Holandsku je souhrnná prevalence všech typů MPS 4,5 (Poorthuis B.J. et al., 1999), Portugalsku 4,8 (Pinto R. et al., 2004), Austrálii 4,44 (Meikle P.J. et al., 1999), v Německu 3,53 (Baehner F. et al., 2005) a v Britské Kolumbii 1,8 na 100 000 živě narozených (Applegarth D.A. et al., 2000) (Tab. 1.4.1).

Nejčastějším typem MPS v ČR je MPS III (novorozenecká prevalence 0,91 na 100 000 živě narozených), následovaná MPS IV (0,73 na 100 000 živě narozených), MPS I (0,72 na 100 000 živě narozených) a MP II (0,43 na 100 000 živě narozených). Nejméně časté jsou MPS VI (0,05 na 100 000 živě narozených) a MPS VII (0,02 na 100 000 živě narozených) (Poupětová H. et al., 2010).

**Tab. 1.4.1 Srovnání novorozenecké prevalence mukopolysacharidóz v ČR a dat z jiných zemí. (Upraveno podle Poupětová H. et al., 2010.)**

Onemocnění	Česká republika		Ostatní krajiny			
	Počet pacientů <sup>a</sup>	Prevalence na 100 000	Nizozemsko	Portugalsko	Austrálie	Německo
			Prevalence na 100 000 živě narozených			
MPS I	20	0,72	1,19	1,33	1,14	0,69
MPS II	22	0,43 (0,83) <sup>b</sup>	0,67	1,09	0,74	0,64
MPS III A	18	0,47	1,16	0	0,88	
MPS III B	1	0,02	0,42	0,72	0,47	
MPS III C	5	0,42	0,21	0,12	0,07	
MPS III D	0	0	0,1		0,10	
MPS III (celkem)	24	0,91	1,89	0,84	1,42	1,57
MPS IV A	14	0,71	0,22	0,6	0,59	
MPS IV B	1	0,02	0,14	0	0	
MPS IV (A+B)	15	0,73				0,38
MPS VI	2	0,05	0,15	0,42	0,43	0,23
MPS VII	1	0,02	0,24	0	0,05	
MPS nespecif. <sup>c</sup>	32	0,60				
MSD	3	0,26	0,05	0,48	0,07	
MPS (celkem)	119	3,72	4,5	4,8	4,44	3,53

MPS – mukopolysacharidóza, MSD – mnohočetný sulfatázový deficit

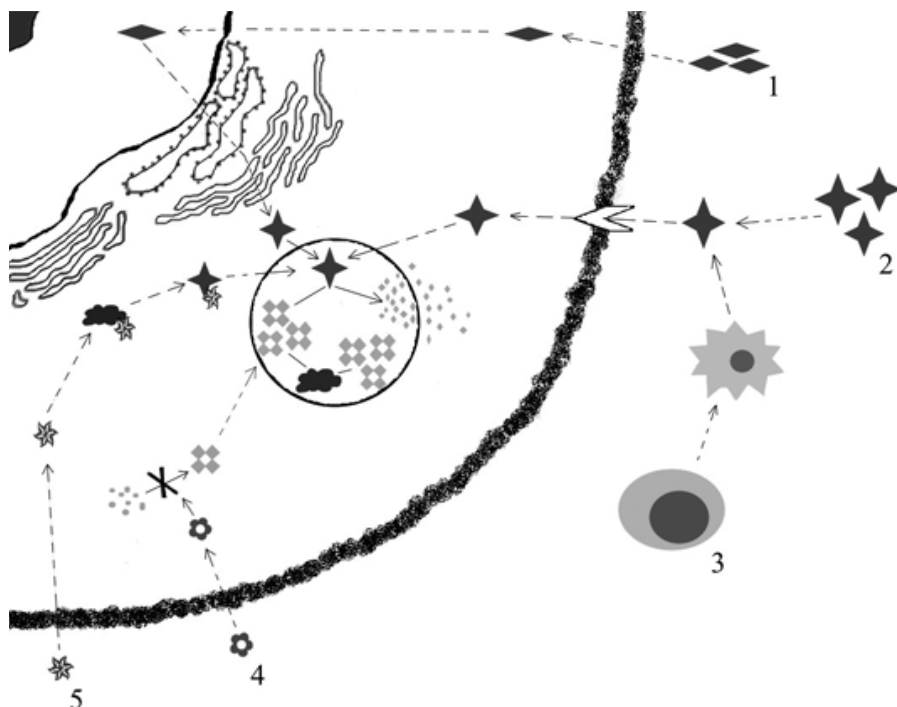
<sup>a</sup> celkový počet pacientů diagnostikovaných v letech 1975-2008

<sup>b</sup> počet na živě narozené muže

<sup>c</sup> nespecifikované případy mukopolysacharidóz – diagnóza byla stanovena na základě exkrece glykosaminoglykánů v moči a klinických příznaků. Materiál k enzymologickému vyšetření a DNA analýzám nebyl k dispozici.

## 1.5 Léčba lysosomálních střadacích onemocnění

V současné době je dostupných několik modalit léčby LSD (obr. 1.5.1). Ty spočívají buď v náhradě snížené aktivity enzymu (ERT, Enzyme Replacement Therapy, enzymová substituční terapie) nebo v transplantaci hematopoetických kmenových buněk (HSCT, Haematopoietic Stem Cell Transplantation), stabilizaci mutovaného proteinu chaperony nebo inhibicí tvorby makromolekulárních substrátů (SRT, Substrate Reduction Therapy). Genová terapie je u LSD stále ve fázi klinických studií a v době přípravy této práce dosud nebyla pro žádné lysosomální onemocnění orgány EMA nebo FDA schválena.



**Obr. 1.5.1 Přehled hlavních léčebných modalit LSD.**

**1) Genová terapie:** *in vivo* genová terapie využívá virového vektoru, který je aplikován do organismu v systémové nebo lokální formě. Transkripce příslušných genů virového vektoru je umožněna produkce funkčního enzymu.

**2) Enzymová substituční terapie (ERT):** *intravenózně* podávaný enzym je buňkami nejdříve internalizován pomocí M6PR (manóza-6-fosfátového receptoru) a poté transportován do lysosomu, kde plní svou funkci.

**3) Transplantace hematopoetických kmenových buněk (HSCT):** hematopoetické kmenové buňky transplantované pacientovi se diferencují a následně produkují funkční enzym.

**4) Substrát redukující terapie (SRT):** *perorálně* podávaný inhibitor syntézy střídané makromolekuly redukuje její množství.

**5) Chaperony:** *perorálně* nebo *intravenózně* podávaný chaperon stabilizuje mutovaný protein (enzym) prodlouží jeho biologický poločas a částečně se tak zachová jeho reziduální aktivita. (Upraveno podle Kulhánek J. et al., 2015.)



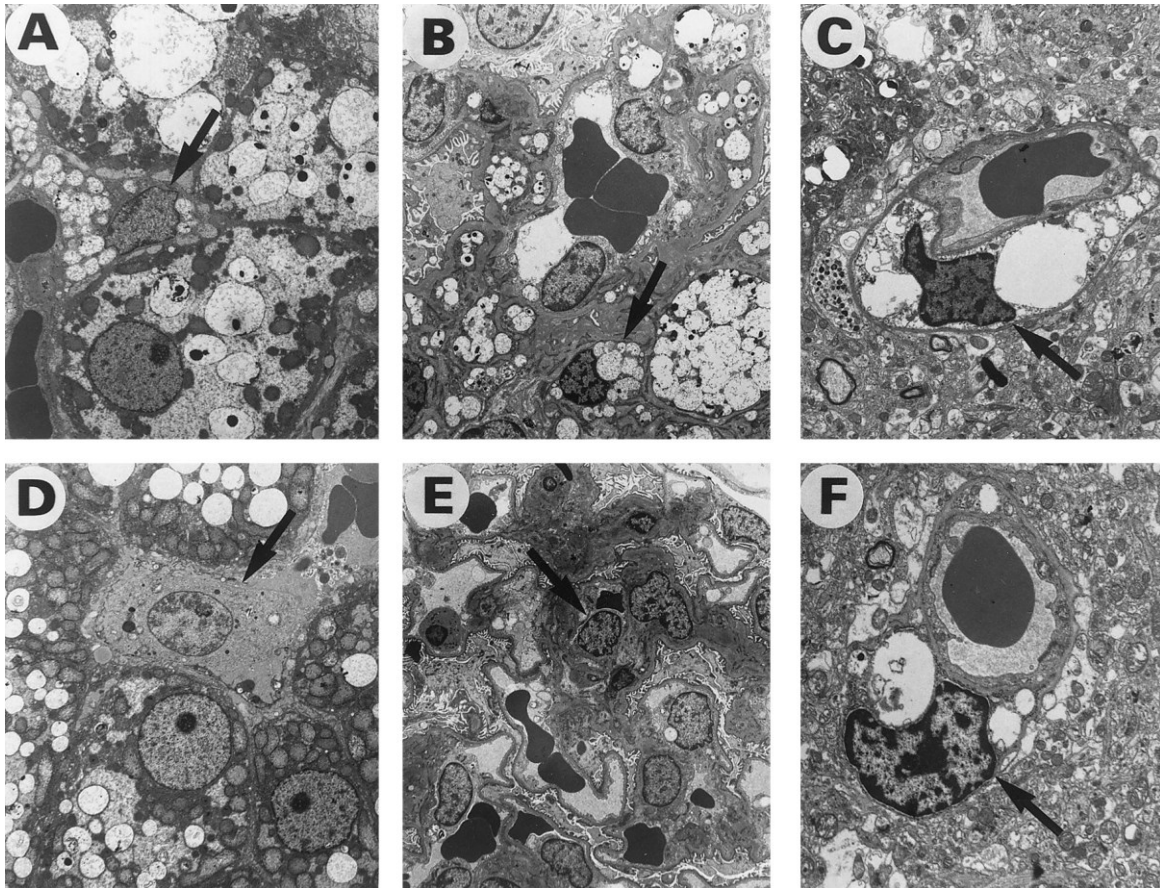
### 1.5.1 Enzymová substituční terapie

Již v roce 1964 představil de Duve koncept enzymové substituční terapie (Enzyme Replacement Therapy, ERT) (de Duve C., 1964) jako možnost kauzální léčby LSD. Zásadní v této oblasti byl objev tzv. „cross-correction fenoménu“ v roce 1968, kdy se předpokládalo, že buňky jsou schopny poskytovat si vzájemně chybějící nebo defektní enzym – „corrective factor“ (Fratantoni J.C. et al., 1968). K objevu došlo náhodně neúmyslným smícháním dvou různých buněčných kultur fibroblastů od pacientů s MPS I a MPS II. Výsledkem byla téměř normální buněčná kultura s vymizením střádání u obou buněčných linií (Fratantoni J.C. et al., 1968). Pro úpravu poruchy metabolismu bylo dostačující velmi malé množství enzymu (1–5% normální enzymové aktivity). Později bylo prokázáno, že buňky „corrective factor“ (enzymy) v malém množství (1-2 %) vylučují do okolního prostředí. Jedná se o běžný fenomén exocytózy v rámci sekretorické dráhy. Exocytovaná frakce se u jednotlivých lysosomálních hydroláz liší. Extracelulární sekrece enzymu a schopnost buněk enzym opět internalizovat je pak pro fungování ERT klíčová (Neufeld E.F., 2006). Dalším důležitým krokem byla identifikace mechanismu transportu enzymu do lysosomů. Klíčovou roli zde sehrává posttranslační modifikace lysosomálních proteinů – navázání manózy a manózy-6-fosfátu na proteiny určené k transportu do lysosomů (Neufeld E.F., 2006). Pro tyto chemické značky jsou na membráně lysosomů a na plasmatické membráně receptory, které zprostředkují přenos enzymů do lysosomu či vychytávání enzymů buňkou z okolního prostředí (Ghosh P. et al., 2003).

První pokusy s ERT proběhly v sedmdesátých letech dvacátého století. Jednalo se o podání plazmy od zdravých jedinců pacientům s Fabryho nemocí (Mapes C.A. et al., 1970). V roce 1991 byl americkou lékovou agenturou FDA schválen první léčebný přípravek určený k ERT – enzym glukocerebrozidáza určený k terapii Gaucherovy nemoci, získaný z lidských placent (Barton N.W. et al., 1991). Výrazným mezníkem bylo zavedení metody produkce enzymu v různých buněčných liniích v bioreaktorech, nejdříve v linii buněk ovárií čínských křečků (CHO, Chinese Hamster Ovary cells) (Kakkis E.D. et al., 1994; Van Hove J.L. et al., 1996), později v lidských fibroblastech (Schiffmann R. et al., 2000). Taková výroba rekombinantních enzymů znamenala zásadní posun ve vývoji preparátů pro ERT a umožnila produkci enzymu v dostatečné kvalitě a množství. V obou případech (při použití plasmy a rekombinantního enzymu) jsou enzymy upravovány exoglykosidázami pro expozici manózového zbytku (Barton N.W. et al., 1991; Grabowski G.A. et al., 1995). Dalšími nemocemi léčenými ERT byla Fabryho nemoc (alfa-galaktosidáza) (Ioannou Y.A. et al., 1992), MPS typu I (alfa-1-

iduronidáza) (Kakkis E.D. et al., 1994) (Obr. 1.5.2) a Pompeho nemoc (alfa-glukosidáza) (Van Hove J.L. et al., 1996).

Terapeutický efekt ERT je největší v parenchymatózních, dobře prokrvených orgánech, do kterých se enzym podávaný nitrožilní infuzí dostane v nejvyšší koncentraci (Tab. 1.5.1). Největší efekt terapie je tak vidět u Gaucherovy nemoci se střádáním v buňkách retikuloendoteliálního systému, kde dochází k výraznému poklesu objemu sleziny a úpravě krevních parametrů (anémie a trombocytopenie). U pacientů na ERT všeobecně dochází ke zlepšení fyzické výdrže testované nejčastěji šestiminutovým testem chůze, respiračních funkcí a kvality života (Augustine E.F. et al., 2013; Hollak C.E.M. et al., 2014; Park J.S. et al., 2015). ERT má však i svá zásadní omezení – na některé tkáně a orgány je její efekt minimální nebo žádný. Především se jedná o pomalu se dělící tkáně (skelet, chrupavka), orgány se špatnou dostupností a nízkým prokrvením (srdeční chlopně, průdušnice) (Braunlin E. et al., 2013; Muenzer J., 2014) a nedostupnost intravenózně podávané ERT do CNS, protože proteiny enzymů nepřestupují přes hematoencefalickou bariéru (Baldo G. et al., 2014). Experimentálně se zkouší různé proteiny např. fúzované s IGF1, které prostupují do mozku receptor-mediovanou transcytózou (Ullman J.C. et al., 2020). V případě neuronální ceroidlipofuscinózy typ 2 se podává léčba přímo intracerebrálně (Markham A., 2017). Léčba je většinou dobře tolerovaná, alergické komplikace nejsou časté. Je ale potřeba zmínit i vysokou finanční náročnost terapie, zátěž pro pacienty (infuze v rozsahu dvou až tří hodin) i pro zdravotnický systém.



**Obr. 1.5.2 Zobrazení efektu ERT u MPS I pomocí elektronové mikroskopie.**

*A–C – tkáň neléčeného psa s MPS I;*

*D–F – tkáň psa po 13měsíční ERT;*

*A – hepatocyty s velkými lysosomy a lysosomy vyplňujícími Kupfferovy buňky (šipka); D – snížení střádání v hepatocytech a vymizení střádání v Kupfferových buňkách po léčbě (šipka); B – renální glomerulus s výrazným střádáním v mezangiálních buňkách (šipka); E – vymizení střádání v mezangiálních buňkách po léčbě; C – výrazné střádání buněk kolem mozkových kapilár; F – střádání v buňkách kolem mozkových kapilár beze změny po léčbě (šipka). (Upraveno dle Kakkis E.D. et al., 1994.)*

**Tab. 1.5.1 Přehled možností ERT u lysosomálních střeďadacích onemocnění v ČR.** (Upraveno podle Malinová V. et al., 2013a; Kulhánek J. et al., 2015a; Magner M. et al., 2016.)

LSD	Přípravek ERT	Dávkovací schéma	Efekt terapie
MPS I	Laronidáza (Aldurazyme)	100 U (0,58 mg) /kg i.v. 1×/týden	Ústup hepatosplenomegalie, zlepšení 6MWT, zlepšení růstových parametrů, stabilizace/zlepšení respiračního (FVC, počet infekcí) a kardiálního (LVMI, IVSd) postižení, zlepšení kvality života, prodloužení přežití
MPS II	Idursulfáza alfa (Elaprase)	0,5 mg/kg i.v. 1×/týden	Podobně jako MPS I
MPS III (A-D)	Přípravky ve stadiu preklinických studií		
MPS IV A MPS IV B	Elosulfáza alfa (Vimizim)	2,0 mg/kg i.v. 1×/týden	Zlepšení motorických schopností (6MWT), zlepšení růstových parametrů, stabilizace/zlepšení respiračního postižení, zlepšení kvality života
MPS VI	Galsulfáza (Naglazyme)	1,0 mg/kg i.v. 1×/týden	Podobně jako MPS I
MPS VII	Rekombinantní glukuronidáza rhGUS ve stadiu klinického zkoušení		
MPS IX	ERT není dostupná		
GD	Velagluceráza (Vpriv)  Imigluceráza (Cerezyme)  Další preparáty ve fázi klinického zkoušení	12-60 U/kg 1x/2 týdny  15-60 U/kg 1x/2 týdny	Zvýšení počtu erytrocytů a trombocytů, zmírnění osteopenie/osteoporózy, snížení kostní bolesti, ústup hepatosplenomegalie, zlepšení růstových parametrů, prodloužení přežití
FD	Agalsidáza alfa (Replagal)  Agalsidáza beta (Fabrazyme)  Další preparáty ve fázi klinického zkoušení	0,2 mg/kg, 1x/2 týdny  1mg/kg, 1x/2 týdny	Stabilizace/zlepšení renálního a myokardiálního postižení, snížení rizika vzniku infarktu myokardu a cévní mozkové příhody, zlepšení neuropatických bolestí, zvýšení tolerance k teplu a chladu, prodloužení přežití
NCL2	Cerliponaza alfa (Brinuera)	300mg, 1x/2 týdny	Stabilizace/zpomalení progresse neurodegenerativního onemocnění

*LSD – lysosomální střeďadací onemocnění, ERT – enzymová substituční terapie; MPS – mukopolysacharidóza; GD – Gaucherova nemoc; FD – Fabryho nemoc; 6MWT – šestiminutový test chůze; NCL2 – neuronální ceroidlipofuscinóza typu 2, LVMI – left ventricular mass index – index hmotnosti levé komory, IVSd – interventricular septum thickness in diastole – tloušťka mezikomorového septa v diastole*

### **1.5.2 Transplantace hematopoetických kmenových buněk**

Před objevením ERT byla léčba LSD zejména paliativní a soustředovala se na zmírňování specifických symptomů bez ovlivnění základních patofyziologických mechanismů nemoci. Jedinou možností, která ovlivnila přirozený průběh onemocnění, byla transplantace hematopoetických kmenových buněk (HSCT).

HSCT v případě LSD zastává roli určité formy genové terapie. Buňky vzniklé dělením dárcovských, tedy pro dané onemocnění zdravých nemutovaných kmenových buněk s normální enzymovou aktivitou, migrují do tkání, kde produkují chybějící enzym. Cílové buňky enzym vychytávají podobně jako v případě ERT. Dochází ke zlepšení viscerální hepatomegalie a splenomegalie, zlepšení mobility kloubů či sluchu (Beck M., 2010; Noh H. a Lee J.I., 2014). Zásadní však je, že produktem kmenových buněk je i mikroglie v CNS, takže dostatečně časná HSCT dokáže stabilizovat postižení CNS. Nevýhodou HSCT je stále její nezanedbatelná mortalita a morbidita (Beutler E. et al., 2001).

### **1.5.3 Substrát redukující terapie**

Substrát redukující terapie (SRT) využívá opačný přístup než ERT nebo HSCT. Nepodporuje odbourávání strádaných makromolekul, ale brání jejich syntéze. Užívají se malé molekuly prostupující hematoencefalickou bariéru, které mají nízkou imunogenicitu. Nezanedbatelnou výhodou vůči ERT je, že preparáty mohou být podávány perorálně (Hollak C.E.M. et al., 2014). Efekt této terapie je přitom u některých onemocnění (Gaucherova choroba, Fabryho choroba) srovnatelný s ERT (Mistry P.K. et al., 2015). Nevýhodou jsou nežádoucí zejména gastrointestinální příznaky a diskutovaná kardiotoxicita popsána u některých původních preparátů (Hollak C.E.M. et al., 2014).

### **1.5.4 Efekt časného zahájení terapie**

Ať už se jedná o jakoukoli z výše uvedených forem terapie, pro nejvyšší terapeutický efekt je potřebné její časně zahájení ještě před rozvojem sekundárních patofyziologických mechanismů ve tkáních. Toto je jasně ilustrováno příklady sourozeneckých studií, při kterých je srovnáván léčebný účinek u staršího později léčeného sourozence se sourozencem mladším diagnostikovaným na základě pozitivní rodinné anamnézy, a proto často léčeným ještě v asymptomatickém stadiu (Tylki-Szymańska A. et al., 2012; Laraway S. et al., 2013; Tajima G. et al., 2013).

## 1.6 Mukopolysacharidózy

Mukopolysacharidózy (MPS) jsou skupinou LSD, kterých příčinou je mutace v genu pro některý z hydrolytických enzymů podílejících se na metabolismu glykosaminoglykanů (GAG) (Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001) (Tab. 1.6.1). Biochemicky jsou MPS charakterizovány akumulací parciálně degradovaných GAG uvnitř lysosomů a elevací GAG fragmentů v moči, v krvi (Tomatsu S. et al., 2005a; Tomatsu S. et al., 2005b) a v cerebrospinálním moku (Munoz-Rojas M.V. et al., 2008). GAG, dříve nazývané mukopolysacharidy, jsou důležitou součástí extracelulární matrix a podílejí se na stavbě pojivové tkáně. GAG jsou lineární polymery hexosaminů (glukosaminu a galaktosaminu) a uronových kyselin (kyselina glukuronová a kyselina iduronová). K základním glykosaminoglykanům patří kyselina hyaluronová, chondroitinsulfát, dermatansulfát, keratansulfát a heparansulfát. Kyselina hyaluronová je jediným nesulfatovaným glykosaminoglykanem a je součástí prakticky všech pojivových tkání (rosolovité vazivo pupečníku, chrupavka, komorový mok, synoviální tekutina). Chondroitinsulfát se nachází zejména v chrupavce, kostní tkáni, meziobratlových ploténkách a velkých cévách. Dermatansulfát se nejvíce vyskytuje v kůži, šlachách a srdečních chlopních. Keratansulfát typu I je přítomen ve stromatu rohovky a keratansulfát typu II v chrupavce a meziobratlových ploténkách. Heparansulfát se vyskytuje v aortě a v plicích. Po navázání na bílkovinné jádro vytváří GAG chemicky složitější proteoglykany. Akumulace GAG vede k progresivnímu poškození buněk, s následným postižením různých orgánových systémů s jejich selháváním, kognitivním poruchám a zkrácení délky života (Muenzer J., 2011). Mukopolysacharidózy jsou chronické progresivní nemoci se širokým spektrem projevů (Muenzer J., 2011). Výrazná variabilita tíže klinických příznaků typická pro pacienty s MPS je dobře popsána u pacientů s MPS typu I. MPS I byla známá taky jako syndrom Hurlerové, popsáný doktorkou Gertrudou Hurlerovou v roce 1919. V roce 1962 doktor Harold Scheie popsal syndrom u dospělých, který připomínal mírnou verzi syndromu Hurlerové. Předpokládalo se, že Scheieův syndrom má odlišnou etiologii než syndrom Hurlerové a byl proto klasifikován jako MPS typu V. Až o deset let později, v roce 1972, bylo zjištěno, že oba syndromy jsou způsobené deficiencí  $\alpha$ -L-iduronidázy (Bach G. et al., 1972). Historicky byla tedy MPS I dělena na tři různé nemoci – syndrom Hurlerové (těžká forma), syndrom Hurlerové – Scheieův (intermediální forma) a Scheieův syndrom (mírná forma). Dnes je známo, že MPS I, tak jako i jiné MPS, představuje kontinuum různé závažnosti klinických příznaků od lehkých až po velmi těžké (Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001).

MPS jsou s výjimkou MPS II autosomálně recesivně dědičná onemocnění a postižení jsou stejně muži i ženy. MPS II je onemocnění vázané na chromozom X a postižení jsou především muži s výjimkou asi 20 popsanych dívek s touto diagnózou. Manifestace MPS II je u dívek způsobena výrazným posunutím (tzv. zešikmením) jinak náhodného poměru inaktivace mutovaného a nemutovaného X-chromozomu, tzv. lyonizace (Sukegawa K. et al., 1998; Cudry S. et al., 2000; Tuschl K. et al., 2005; Řeboun M. et al., 2016).

**Tab. 1.6.1 Přehled jednotlivých typů mukopolysacharidóz. (Upraveno podle Magner M. et al., 2016.)**

Typ MPS	Defektní enzym	Strádané GAG	Klinický obraz
<b>MPS I</b> <b>MPS I H</b> <i>(Hurler)</i> <b>MPS I H/S</b> <i>(Hurler-Scheie)</i> <b>MPS I S</b> <i>(Scheie)</i>	$\alpha$ -L-iduronidáza	dermatansulfát heparansulfát	makrocefalie, hrubé rysy obličeje, porucha růstu, kloubní kontraktury, hepatosplenomegalie, postižení srdečních chlopní, pupeční a tříselná kýla, respirační infekty a záněty středouší, postižení sluchu, zákal rohovky, opoždění vývoje dle tíže fenotypu
<b>MPS II</b> <i>(Hunter)</i>	Iduronátsulfatáza	dermatansulfát heparansulfát	podobně jako u MPS I, chybí zákal rohovky, opoždění vývoje u 2/3 pacientů
<b>MPS III (A-D)</b> <i>(Sanfilippo)</i>	A: Heparan-N-sulfatáza B: $\alpha$ -N-acetylglukosaminidáza C: Acetyl-CoA: $\alpha$ -glukosaminid acetyltransferáza D: N-acetylglukosamin-6-transferáza	heparansulfát	dominuje opoždění a regres vývoje, závažné behaviorální problémy, hyperaktivita, (auto)agresivita, impulzivita, převrácený rytmus spánku, somatická manifestace vyjádřena pouze mírně
<b>MPS IV</b> <i>(Morquio)</i>	A: N-acetyl-galaktosamin-6-sulfatáza  B: $\beta$ -galaktosidáza	A: keratansulfát chondroitinsulfát  B: keratansulfát	porucha růstu, spondyloepifyzeální dysplazie, kloubní hypermobilita, deformity končetin (genua/coxa valga), deformity páteře a hrudníku (pectus carinatum, nestabilita, míšní komprese, myelomalacie, kyfoskolióza apod.), postižení srdečních chlopní, kardiomyopatie, postižení dentice, postižení sluchu, zákal rohovky, bez opoždění vývoje
<b>MPS VI</b> <i>(Maroteaux-Lamy)</i>	N-acetylgalaktosamin-4-sulfatáza	dermatansulfát	podobně jako u MPS typ I, chybí opoždění vývoje
<b>MPS VII</b> <i>(Sly)</i>	B-glukuronidáza	dermatansulfát keratansulfát chondroitinsulfát	podobně jako MPS I, opoždění vývoje obvykle mírného až středního stupně
<b>MPS IX</b> <i>(Natowicz)</i>	Hyaluronidáza I	hyaluronan	mírná porucha růstu, periartikulární „masy z měkkých tkání“, acetabulární eroze, mírná dysmorfie (oploštěný kořen nosu, uvula bifida, submukózní rozštěp měkkého patra), bez opoždění vývoje

*MPS – mukopolysacharidóza, GAG – glykosaminoglykany*

## 1.6.1 Klinický obraz MPS

### 1.6.1.1 Neurologické projevy MPS

Postižení centrálního nervového systému u MPS závisí na typu strádaného materiálu a intenzitě strádaní. Zásadní je strádaní heparansulfátu. K tomu dochází v největší míře u MPS I, II a III. Naopak v případě MPS IV, u které se strádá keratansulfát, primární postižení CNS přítomno



není. Zatímco u MPS III je postižení CNS konstantní, u pacientů s MPS I a II se rozvíjí pouze u jejich těžkých forem (u MPS I jsou to podtypy MPS I-H – Syndrom Hurlerové nebo MPS I-HS – Syndrom Hurlerlové-Scheieův; u MPS II pak u tzv. neuronopatické formy). U mírnějších forem MPS I a II zůstává přes morfologické změny nalézané na mozku intelekt zachován a klinickému obrazu dominuje somatické postižení (Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001).

Postižení CNS se projeví zejména psychomotorickou retardací a změnami v chování (Ješina P. et al., 2011; Dvorakova L. et al., 2017). Opoždění psychomotorického vývoje se u pacientů s neuronopatickými formami MPS I a II projevuje obvykle do dvou let věku, v následujících dvou až třech letech vývoj stagnuje a od čtvrtého až šestého roku obvykle dochází k různě rychlému regresu ve vývoji (Escolar et al. 2017). Nejvíce postiženou je expresivní složka řeči. Na opožděném vývoji řeči se přitom podílí nejenom neurovývojové postižení, ale i sluchové vady a makroglosie. I somatické postižení má dopad na vývoj motoriky – postižení kloubů a skeletu na rozvoj hrubé motoriky, vývoj drápkovité ruky a syndromu karpálního tunelu (viz. dále) pak na vývoj motoriky jemné.

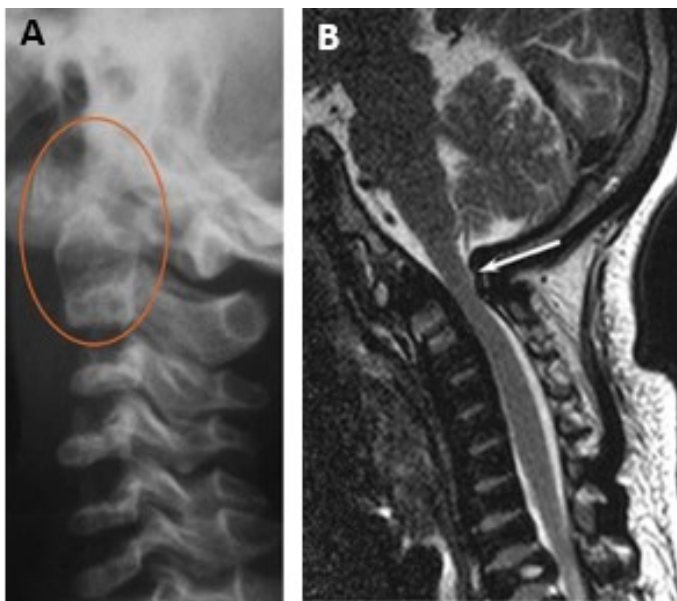
Z poruch chování u MPS jsou to zejména poruchy spánku, poruchy usínání, úzkostné a destruktivní chování. Velice častá je hyperaktivita, umíněnost až tvrdohlavost a agrese (Cross a Hare 2013). Toto je nejvíce patrné u MPS III. Po bezpříznakovém období dvou až tří let věku nastupuje opoždění vývoje řeči a typické poruchy chování – neklid, hyperaktivita, agresivita, afektivní záchvaty s neobvyklým střídáním emocí (smích/křik/pláč). Při progresi onemocnění pak rodinu vyčerpává absence cirkadiálního rytmu s převráceným spánkovým režimem (Kulhánek J. et al., 2015b).

Pozdním příznakem onemocnění CNS je epilepsie a rozvoj hydrocefalu (Ješina P. et al., 2011; Dvorakova L. et al., 2017). Celková prevalence epilepsie u pacientů s MPS je odhadována na 30 % (Scarpa M. et al., 2017). Nejčastěji je výskyt epilepsie popisován u pacientů s MPS typu I, II a III. Klinicky se jedná zejména o záchvaty generalizované tonicko-klonické. Méně často jsou pak popisovány záchvaty myoklonické, absence, fokální záchvaty, nonkonvulzivní status epilepticus či epilepsie frontálního laloku (Scarpa M. et al., 2017).

Příčinou rozvoje hydrocefalu u pacientů s MPS je ztlustění mening a následná dysfunkce pachionských granulací (Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001; Zafeiriou D.I. a Batzios S.P., 2013). U pacientů s MPS se nejčastěji setkáváme s komunikujícím hydrocefalem, který je obvykle pomalu progresivní (Reichert R. et al., 2016). Makrocefalie, kterou u dětí s MPS často pozorujeme, souvisí spíše s urychleným růstem a nemusí být spojena s rozvojem hydrocefalu. V souboru 24 českých pacientů s MPS typu I byla přítomná u téměř poloviny pacientů (Ješina P. et al., 2011).

Zásadní a život ohrožující komplikací u pacientů s MPS je míšní komprese, nejčastěji v oblasti cervikokraniálního spojení. Setkáváme se s ní u pacientů s MPS typu I, II, IV a VI a je důsledkem zúžení páteřního kanálu, ke kterému u pacientů s MPS dochází z důvodu ztlustění pojivové tkáně (dura mater, ligamenta), epidurální lipomatózy a degenerace obratlů (Alden T.D. et al., 2017). Může být zhoršována i atlantoaxiální instabilitou, která je zapříčiněna dysplazií odontoidního výběžku a laxitou ligament (Reichert R. et al., 2016) (Obr. 1.6.1).

Nutno uvést i postižení periferního nervového systému, zejména syndrom karpálního tunelu. Bývá často diagnostikován zejména u pacientů s MPS typu I a II. Je způsoben útlakem n. medianus na zápěstí v důsledku strádání glykosaminoglykanů. Ve svém důsledku může vést k výrazné poruše jemné motoriky, která může významně zhoršovat kvalitu života (Alden T.D. et al., 2017). V dětském věku lze syndrom karpálního tunelu považovat pro děti s MPS za patognomický (Dvorakova L. et al., 2017).



**Obr. 1.6.1 Změny v oblasti krční páteře u pacientů s MPS.**

*A – RTG vyšetření krční páteře u pacienta s MPS IV – laterální pohled na cervikální část páteře zobrazuje hypoplastický dens axis, který může být asociován s instabilitou cervikální páteře; zadní oblouk obratle C1 je ztlustělý a způsobuje stenózu páteřního kanálu;  
B – zobrazení páteřního kanálu a míchy MRI (T2 sekvence) – stenóza páteřního kanálu v oblasti C1 – C2. (Solanki G.A. et al., 2013)*

### 1.6.1.2 Postižení smyslů u MPS

Zásadní omezení kvality života představuje pro pacienty s MPS postižení smyslů. Kromě poruchy sluchu, o které se pojednává v samostatné kapitole, je to zejména postižení oka a

porucha zraku. Jedná se především o opacity na rohovce připomínající mléčné sklo (corneal clouding) přítomné u MPS I a MPS VI díky depozici dermatansulfátu (je zajímavé, že u MPS II se corneal clouding nevyskytuje nebo je prakticky nedetekovatelné) (Goldberg M.F. a Duke J.R., 1967; Goldberg M.F. et al., 1970; Girard B. et al., 1994). Rohovková depozita se nacházejí i u MPS IV, u které jsou tvořena keratansulfátem (Käsmann-Kellner B. et al., 1999). Střádání GAG ve strukturách přední komory může vést k zúžení uhlu a následnému rozvoji glaukomu (Mullaney P. et al., 1996). Onemocnění se nevyhýbá ani čočce ve formě opacit a katarakty, zejména u MPS IV. Změny na čočce naštěstí nemívají klinický dopad (Olsen H. et al., 1993). Problémy nedělá ani skléra ztlustělá depozity GAG.

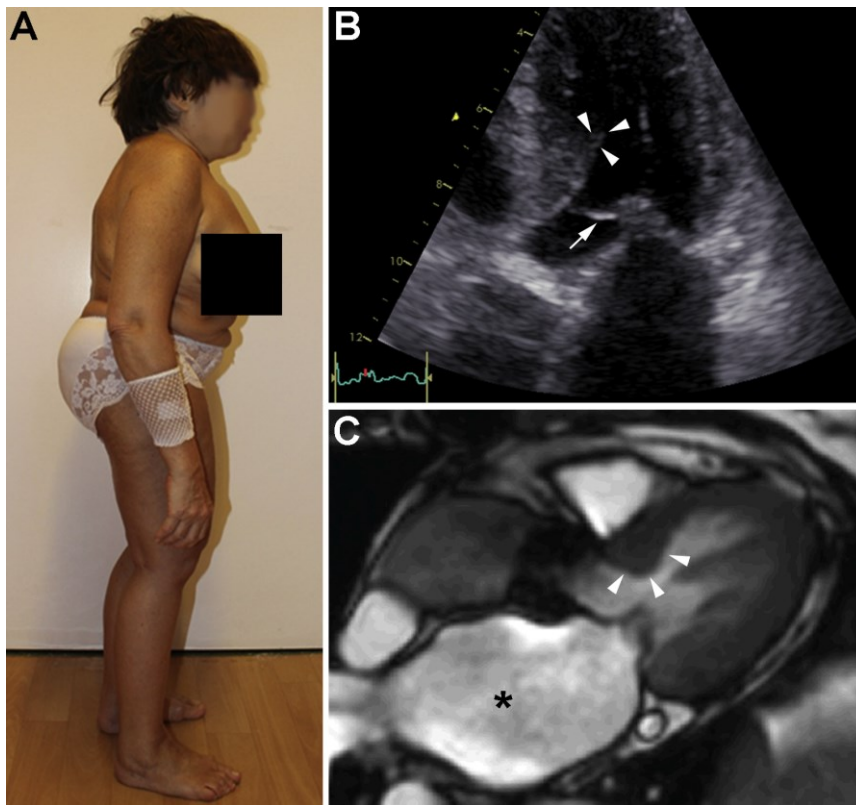
Postižení očního nervu je naproti tomu časté, edém papily se vyskytuje u 57 % pacientů s MPS IH, u 14 % je pak přítomna atrofie terče (Collins M.L. et al., 1990). Nenápadně začíná postižení sítnice – pacienti si mohou stěžovat na šeroslepotu a potíže s periferním viděním. Klinicky pak lze najít zúžení arteriol a atrofii pigmentového epitelu sítnice (retinal pigment epithelium, RPE) (Käsmann-Kellner B. et al., 1999).

### 1.6.1.3 Postižení srdce u MPS

Součástí klinického obrazu u MPS je také postižení srdce. Jedná se zejména o typy MPS, u kterých se více střádá dermatansulfát (MPS I, II a VI), naproti tomu u MPS III je postižení mírné. Ke změnám však dochází i u MPS IVA a B, u kterých se primárně střádá keratansulfát (Dostalova G. et al., 2018). Zejména se jedná o postižení chlopní, přičemž postižení levostranných oddílů (chlopeň aortální a mitrální) je výraznější než pravostranných (chlopeň pulmonální a trikuspidální) (Dangel J.H., 1998). Chlopně, hlavně jejich okraje jsou ztlustělé a zkracují se chordae tendinae (Obr. 1.6.2) (Fesslová V. et al., 2009; Dostalova G. et al., 2018). Tyto změny vedou nezdědka ke kombinovaným chlopenním poruchám, u kterých je zároveň přítomna insuficience i stenóza chlopně. V anulárním aparátu chlopní jsou pak nezdědka kalcifikace (Tan C.T. et al., 1992; Dostalova G. et al., 2018). MPS jsou tak nejčastější příčinou kalcifikovaného mitrálního anulu u dětí (Lester W.M. a Avrum I., 2001).

Zejména v důsledku chlopenních vad a přetížení srdce se nezdědka rozvíjí hypertrofická kardiomyopatie. Ta však může být u některých dětí přítomna i při manifestaci onemocnění (Dvorakova L. et al., 2017). Důvodem je opět lysosomální střádání, kdy lze histologicky v myokardu a cévách najít velké oválné střádací pojivové buňky s četnými velkými lysosomy. Zbytnění srdce je pak dáno nejenom střádáním ale i množstvím pojivových buněk spolu

s abnormálně zvýšenou produkcí kolagenu (Lester W.M. a Avrum I., 2001). Postižení se nevyhýbá ani koronárním artériím, zejména u pacientů s MPS I a II. Důvodem je difúzní proliferace intimy při ukládání GAG (Renteria V.G. et al., 1976; Braunlin E. et al., 2014). Další komplikací jsou poruchy vedení srdečního vzruchu u různých typů MPS. Atrioventrikulární blokáda může být progresivní a nezřídka je nutná implantace pacemakeru (Boffi L. et al., 2018).



**Obr. 1.6.2 Klinický, echokardiografický a MRI nález 60leté pacientky s MPS IVB.**

*A – nízká, disproportionální postava s lumbální lordózou a torakální kyfózou;*

*B – echokardiografický nález kalcifikací aortální chlopně (bílá šipka) a asymetrické septální hypertrofie;*

*C – MRI vyšetření srdce zobrazuje dilatovanou levou srdeční síň a hypertrofii levé komory s asymetrickou hypertrofií septa (bílé šipky).*

*(Dostalova G. et al., 2018; publikováno se souhlasem pacientky a korespondujícího autora publikace.)*

#### 1.6.1.4 Postižení plic u MPS

Postižení dýchacích cest je u pacientů s MPS významným problémem. V úvodu onemocnění dochází následkem střežení GAG k projevům z obstrukce horních cest dýchacích (HCD). S progresí onemocnění se vyvíjí i postižení tracheobronchiálního stromu, které je častou příčinou úmrtí zejména u pacientů s MPS I a MPS II (Muhlebach M.S. et al., 2011). U pacientů se

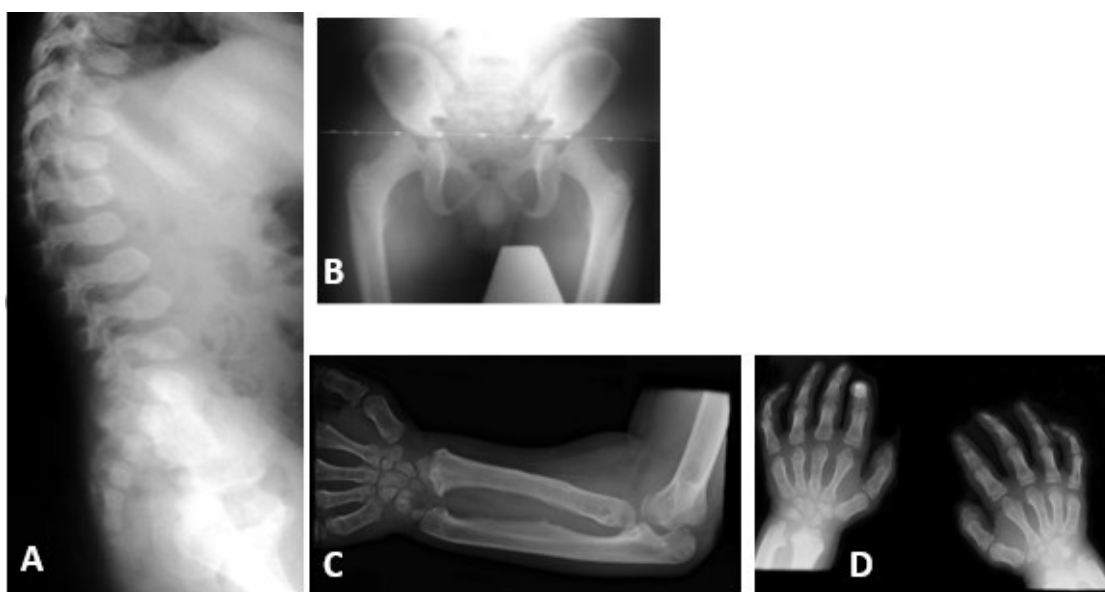
závažným postižením skeletálního systému (MPS I, II, IV a VI) dominuje v klinickém obraze restriční plicní onemocnění způsobené postižením hrudního koše (pectus carinatum), ztuhlostí kostovertebrálních kloubů, deformitami páteře (kyfóza, skolióza event. kyfoskolióza) a malým vzrůstem (Muhlebach M.S. et al., 2011; Berger K.I. et al., 2013). Dalším faktorem přispívajícím k restriční plicní nemoci je omezení exkurzí bránice při hepatosplenomegalii (Leighton S.E.J. et al., 2001; Giugliani R. et al., 2007). K diagnostice a sledování průběhu a léčby plicního postižení se u spolupracujícího pacienta používá spirometrie. Jejím cílem je zhodnocení vitální kapacity plic (VC) a usilovně vydechnutého vzduchu za 1 vteřinu (FEV 1). U většiny pacientů s MPS je standardním nálezem snížení VC s redukcí FEV 1 dané těžkou restriční nemocí v kombinaci s obstrukcí dýchacích cest (Muhlebach M.S. et al., 2011; Berger K.I. et al., 2013). V důsledku ERT byl prokázán pozitivní efekt na plicní funkce (Clarke L.A. et al., 2009; Okuyama T. et al., 2010), který však musí být posuzován ve vztahu k věku pacienta. U mladších dětí může být zlepšení plicních funkcí částečně vysvětleno samotným růstem pacienta. U ostatních pacientů je zlepšení VC v průběhu ERT vysvětlováno změnami kostních struktur, zlepšením pohyblivosti, kloubních kontraktur či svalových funkcí, dále ústupem hepatosplenomegalie a snížením GAG depozitů v měkkých tkáních (Berger K.I. et al., 2013). I navzdory pozitivnímu vlivu ERT zůstává v léčbě plicního onemocnění důležitá symptomatická terapie (Muhlebach M.S. et al., 2011).

### **1.6.1.5 Růst a postižení skeletu u MPS**

Změny postihující skeletální systém vedou u pacientů s MPS typu I, II, VI a VII k výrazné ztuhlosti a omezení pohyblivosti velkých kloubů a zpomalení růstu, jehož následkem je nízká postava (Muenzer J. et al., 2011). Nízký vzrůst je přítomen u 70 % pacientů s MPS II (Dvorakova L. et al., 2017) a u téměř 50 % pacientů s MPS I (především u pacientů s těžkou formou MPS I-H – syndrom Hurlerové) (Ješina P. et al., 2011). Progresivní artropatie kolenních a loketních kloubů je patrná již mezi 2. a 3. rokem života, kloubní postižení je symetrické (Hamilton E. a Pitt P., 1992). Typickým je také postižení ruky s omezenou pohyblivostí zápěstí a ztuhlostí interfalangeálních kloubů způsobenou ukládáním GAG ve šlachách flexorů. Tyto změny vedou ke kontrakturám kloubů, drápotivému vzhledu ruky a postižení jemné motoriky (Muenzer J. et al., 2009a, Muenzer J. et al., 2011). „Drápotivá ruka“ je přítomná až u 86 % pacientů s MPS typu I (Ješina P. et al., 2011).

Na rozdíl od ostatních typů MPS jsou obě formy MPS typu IV charakterizovány skeletální dysplazií, ligamentózní laxitou a kloubní hypermobilitou.

Zobrazení skeletu je při stanovení diagnózy MPS velice nápomocné, vyžaduje však zkušeného radiologa. Radiologické změny skeletu se souborně nazývají dysostosis multiplex (Obr. 1.6.3) (Taybi H. a Lachman R.S., 1996; Siddique I. et al., 2009). Tento pojem zahrnuje hypoplastické „rybí“ obratle, ventrálně se rozšiřující „veslovitá“ žebra a klavikuly, srdcovitou pánev s okrouhlými okraji lopat kyčelních, větší lebku s rozšířením diploe a se sella turcica ve tvaru J. Na skeletu končetin je patrna hypoplazie epifýz, zkrácení a rozšíření falang. Metakarpální kosti svým proximálním zúžením připomínají tvar střelného náboje („bullet shape“). Distální radius je často stočený směrem k hypoplastické ulně, což připomíná Madelungovou deformitu (Chen S.J. et al., 1996).



**Obr. 1.6.3 RTG obraz kostních změn (dysostosis multiplex) u mukopolysacharidóz.**

A) RTG páteře – obraz rybích obratlů – oploštěné, zobákovitě vystupující těla obratlů (MPS I) (Malinová V. et al., 2013b);

B) hypoplastická srdcovitá pánev, degenerativní změny hlavic stehenní kosti způsobující deformaci coxa valga u MPS II (Muenzer J. et al., 2009b);

C) RTG předloktí – stočení distálního radia směrem k hypoplastické ulně u MPS II (Muenzer J. et al., 2011);

D) RTG ruky – zkrácení a rozšíření falang, kosti metakarpu s proximálním zúžením připomínajícím tvar střelného náboje („bullet shape“) u MPS II. (Muenzer J. et al., 2011)

#### 1.6.1.6 Postižení viscerálních orgánů u MPS

Projevem viscerálního postižení u pacientů s MPS je hepatomegalie a splenomegalie. K jejich vzniku dochází následkem strádání GAG v játrech a slezině. U dětí s těžkou formou MPS I (syndrom Hurlerové) je hepatomegalie přítomná již v kojeneckém věku a patří k prvním

projevům onemocnění (Ješina P. et al., 2011). V souboru 24 pacientů s MPS I byla hepatomegalie přítomná u všech pacientů a splenomegalie u 83 % pacientů (Ješina P. et al., 2011). U pacientů s MPS II je hepatomegalie popsána u 93 % a splenomegalie u 69 % pacientů (Dvorakova L. et al., 2017). Hepatosplenomegalie vede ke zvýšenému vnitrobřišnímu tlaku, který se spolu s oslabením pojivové tkáně břišní stěny podílí na vysokém výskytu inguinální a umbilikální hernie (Arn P. et al., 2009).

## **1.6.2 Diagnostika mukopolysacharidóz**

### **1.6.2.1 Biochemické vyšetření**

Při vyslovení klinického podezření následuje laboratorní diagnostika. Klinické rozlišení jednotlivých typů MPS je někdy velice náročné až nemožné, zároveň nelze v prvním kroku přistoupit k specifické analýze všech 11 známých enzymů (Kadali S. et al., 2016). Proto je v našich podmínkách prvním krokem vyšetření vylučování GAG v moči. Vzorky jsou analyzovány tenkovrstevnou chromatografií. V našich podmínkách je používán kvantitativní test s kolorimetrickým stanovením dimethylmethylenovou modří (Whitley C.B. et al., 1989; de Jong J.G. et al., 1989).

V případě zvýšeného vylučování je následně prováděna jedno nebo dvourozměrná elektroforéza (Mabe et al. 2004). Toto vyšetření pomůže rozlišit, které GAG v moči převažují. Např. profil dermatan a heparansulfátu je typický pro MPS I, II a VI, heparansulfát pro MPS III a keratansulfát pro MPS IV (Mabe P. et al., 2004). Na základě výsledku elektroforézy je pak indikována analýza enzymové aktivity v kultivovaných fibroblastech odebraných z kožní biopsie, izolovaných leukocytech nebo recentně i v suché krevní kapce (Dembure P. a Roesel A., 1991; Chamoles N.A. et al., 2001).

### **1.6.2.2 Molekulárně-genetické vyšetření**

Molekulárně-genetické potvrzení diagnózy je náročné a komplikované pro vysoký počet již popsaných mutací a rovněž polymorfismů (Dvorakova L. et al., 2017). Kupříkladu v genu *IDS*, jehož mutace jsou příčinou MPS II, jich bylo popsáno více než 500 (HGMD® Professional 2016.2, [www.hgmd.cf.ac.uk](http://www.hgmd.cf.ac.uk)). *IDS* gen má také pseudogen *IDS2*. Kromě nejčastějších bodových mutací, jsou časté i malé delece/inserce, ale i velké delece a genové přestavby (Dvorakova L. et al., 2017). Nežádá se tak potřeba kromě klasického Sangerova sekvenování

dalších metod jako je MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification) nebo dokonce sekvenování nové generace (Vazna A. et al., 2009; Řeboun M. et al., 2016; Dvorakova L. et al., 2017). V raritních případech rozvinutého klinického onemocnění u dívek v případě X-vázané MPS II je nutné stanovovat i poměr inaktivace mutovaného a nemutovaného X-chromozomu (Řeboun M. et al., 2016).

### **1.6.3 Jednotlivé typy mukopolysacharidóz**

#### **1.6.3.1 Mukopolysacharidóza typ I (MPS I)**

MPS I je způsobená sníženou aktivitou lysosomálního enzymu  $\alpha$ -L-iduronidázy (IDUa).  $\alpha$ -L-iduronidáza je klíčová pro degradaci dermatansulfátu a heparansulfátu, jejichž hromadění vede k progresivní poruše funkce buněk a tkání, které jsou v pokročilé fázi onemocnění již ireverzibilní (Hopwood J.J. a Morris C.P., 1990; Martins A.M. et al., 2009).

MPS I se projevuje jako pomalu progredující multisystémové onemocnění se širokou variabilitou klinických příznaků (Ješina P. et al., 2011). I když se dosud používá výše zmiňované historické členění na 3 formy podle závažnosti projevů, klinické příznaky představují spíše kontinuální spektrum od mírných příznaků až po těžký fenotyp, kdy se tíha jednotlivých příznaků mění v průběhu života (Pastores G.M. et al., 2007; Ješina P. et al., 2011; Malinová V. et al., 2013b).

Závažnost fenotypu se vyjadřuje na základě věku nástupu příznaků, rychlosti progresu onemocnění a přidružených komplikací (Ješina P. et al., 2011). V českém a slovenském souboru pacientů publikovaném Ješinou et al. byla v letech 1985 až 2010 MPS I diagnostikována u 24 pacientů (13 chlapců, 11 dívek). U 17 dětí byla na klinické úrovni stanovena těžká forma onemocnění (MPS I-H), u 5 středně těžká forma (MPS I-HS) a u 2 mírná forma onemocnění (MPS I-S) (Ješina P. et al., 2011).

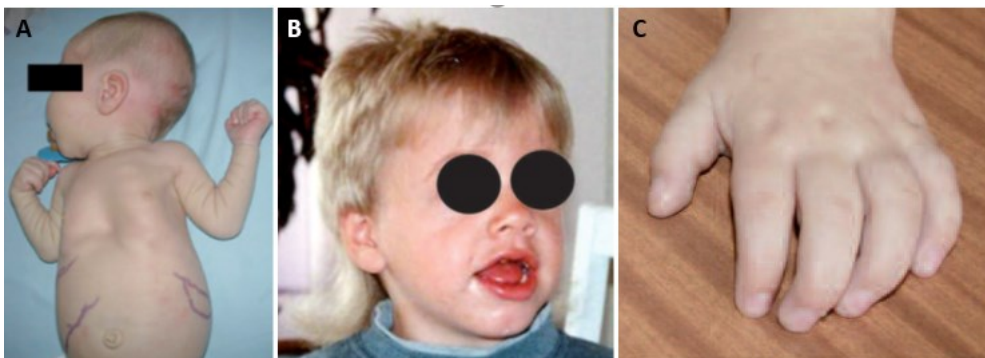
U pacientů s těžkou formou onemocnění (syndrom Hurlerové, MPS I-H) se příznaky objevují již v kojeneckém věku a jsou obrazem simultánního postižení více orgánů. V českém a slovenském souboru pacientů byly první příznaky přítomné průměrně v 8.-9. měsíci života (Ješina P. et al., 2011). Nejčastěji se jednalo o pupeční a inguinální hernii (Obr. 1.6.4 A), kraniofaciální dysmorfii (Obr. 1.6.4 B), zákal rohovky, hepatomegalii a kostní změny charakteru dysostosis multiplex (Ješina P. et al., 2011). Dalšími příznaky mohou být porucha růstu, protruze sternu, hrudní kyfóza až gibus, drápovité postavení prstů na rukou (Obr. 1.6.4 C), kardiovaskulární komplikace a obstrukce dýchacích cest (Malinová V. et al., 2013b). Pro



MPS typu I je typický zákal rohovky. Pacienti s těžkou formou trpí progresivním postižením centrálního nervového systému projevujícím se zpomalením až zástavou vývoje kognitivních a motorických funkcí s regresí psychomotorického vývoje a mentálním postižením (Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001; Ješina P. et al., 2011). I přes výrazné klinické příznaky se diagnostika onemocnění opoždí o 6-12 měsíců a diagnóza je obvykle stanovena až v batolecím období, nejčastěji mezi 22.-23. měsícem věku (Ješina P. et al., 2011).

Na základě tradičního, historického dělení je intermediární fenotyp mezi lehkou a těžkou formou označován jako Hurlerové-Scheieův syndrom. U 5 pacientů z českého a slovenského souboru se první příznaky (kontraktury na horních končetinách, strádavé změny na srdečních chlopních) objevily průměrně ve věku 1,5 roku a diagnóza byla stanovena ve 3 letech života (Ješina P. et al., 2011)

Pacienti s mírnou formou onemocnění (Scheieův syndrom, MPS I-S) mají mírnější průběh s menším počtem příznaků, které se také objevují později (přibližně ve věku 4 let života) a typicky u nich chybí mentální postižení. V předškolním období se objevuje drápotitá ruka s kontrakturami interfalangeálních kloubů, syndrom karpálního tunelu a systolický šelest z postižení srdečních chlopní (Malinová V. et al., 2013b). Vzhledem k mírnějšímu vyjádření příznaků zůstávají pacienti s mírnou formou po dlouhou dobu nediodnostikovaní (Vijay S. a Wraith J.E., 2005) a správná diagnóza je stanovena nejčastěji až v období staršího školního věku (Malinová V. et al., 2013b). U dvou pacientů s MPS I-S z českého a slovenského souboru byla diagnóza stanovena v 11 a 15 letech po náhodném nálezů hepatosplenomegalie (Ješina P. et al., 2011).



**Obr. 1.6.4 Hlavní klinické projevy u MPS typu I.**

*A) hepatosplenomegalie, umbilikální hernie u pacienta s MPS I;*

*B) typická kraniofaciální dysmorfie u MPS I;*

*C) drápotitá ruka u pacienta s MPS I. (Ješina P. et al., 2011)*

### 1.6.3.2 Mukopolysacharidóza typ II (MPS II)

Mukopolysacharidóza typu II (Hunterův syndrom) je progresivní onemocnění podmíněné mutací v genu pro lysosomální enzym iduronát-2-sulfatázu. Následkem je akumulace dermatansulfátu a heparansulfátu. Dědičnost Hunterova syndromu je vázaná na chromozom X a postižení jsou téměř výlučně muži, s výjimkou několika popsanych dívek (Sukegawa K. et al., 1998; Cudry S. et al., 2000; Tuschl K. et al., 2005; Řeboun M. et al., 2016).

Věkem prvních příznaků, závažností i samotným průběhem nemoci je Hunterův syndrom heterogenním onemocněním (Muenzer J. et al., 2009b). Při narození jsou obvykle děti asymptomatické. První příznaky se u těžkých forem projeví v druhé polovině kojeneckého a první polovině batolecího období, u mírnějších forem přibližně o dva roky později (Young I.D. et al., 1982; Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001; Martin R. et al., 2008). První příznaky jsou nespecifické a jedná se především o tříselnou nebo pupeční kýlu, hepatosplenomegaliu, kraniofaciální dysmorfii (hrubé rysy obličeje, sedlovitý nos, větší obvod hlavy) (Obr. 1.6.5), obstrukci dýchacích cest a opakované záněty dýchacích cest spolu s recidivující otitidou, poruchu sluchu zejména převodního charakteru, postižení pohybového aparátu (porucha růstu, zatuhnutí kloubů, kontraktury kloubů) a postižení srdečních chlopní (Muenzer J. et al., 2009b). U těžkých forem (75 % pacientů) (Young I.D. et al., 1982) je přítomné také postižení centrálního nervového systému s regrese vývoje, kognitivním a mentálním deficitem (Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001). Pro pacienty s těžkým fenotypem je v období předškolního věku typická porucha chování se známkami hyperkinetického syndromu, následována po několika letech zklidněním a zhoršením pohybových schopností. V terminálním stadiu dochází k rozvoji kvadruspasticity s poruchami polykání (Malinová V. et al., 2013b). Pacienti s těžkou formou umírají většinou v druhém deceniu, kolem 15. roku života (Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001; Martin R. et al., 2008). Pacienti s mírnější formou mohou mít normální intelekt a dožívají se dospělosti (3.-5. decenium) (Muenzer J. et al., 2009b).

V souboru 44 pacientů z České republiky, Slovenska, Chorvatska a Srbska publikovaných Dvořákovou et al. byly první příznaky u 71 % pacientů přítomné již v prvním roce života. Nejčastěji se jednalo o inguinální hernii, opoždění psychomotorického vývoje, makrocefalii, opakované infekce dýchacích cest a kontraktury kloubů. Průměrná doba mezi prvním příznakem a stanovením diagnózy byla 2,4 roku (0-9 let). Závažné postižení psychomotorického vývoje rozvíjející se typicky po regresi vývoje bylo přítomno u 59 % pacientů (Dvorakova et al. 2017).



**Obr. 1.6.5 Hlavní klinické projevy u pacientů s MPS typu II.**

A) typické hrubé rysy obličeje;

B) drápotivé ruce s kontrakturami drobných kloubů, široké krátké prsty;

C) promiňující břicho v důsledku hepatomegalie a splenomegalie, přítomna pupeční kýla.

(Fotoarchiv Martin Magner, publikováno se souhlasem rodičů.)

### 1.6.3.3 Mukopolysacharidóza typ III (MPS III)

Na biochemické a molekulární úrovni tvoří MPS typ III čtyři zcela odlišná onemocnění (MPS III A–D). Jejich klinické projevy a průběh jsou podobné (Michalík J. et al., 2010). Proto zatímco na klinické úrovni mluvíme o MPS III, na biochemické úrovni rozlišujeme čtyři typy – MPS III A, MPS III B, MPS III C, MPS III D, způsobené defekty čtyř odlišných lysosomálních enzymů, které se však všechny podílejí na metabolismu a odbourávání heparansulfátu (Michalík J. et al., 2010).

I když u MPS typu III existují odlišnosti ve fenotypu a závažnosti klinických projevů mezi jednotlivými pacienty, jsou výrazně méně vyjádřeny než u ostatních MPS. Hlavním klinickým příznakem je závažné progredující postižení centrální nervové soustavy. Somatické projevy jsou u MPS typu III jen mírně vyjádřeny. K prvním příznakům patří změna chování a rozvoj hyperaktivity s poruchou pozornosti, které se objevují mezi 2. a 6. rokem života (Michalík J. et al., 2010). Následně dochází k poruchám spánku s převráceným rytmem s noční nespavostí s rozvojem auto- a heteroagresivity. Rozvoj mentálních dovedností je výrazně omezen a postupně dochází ke zpomalení, zástavě až regresi naučených dovedností. V posledním období ztrácí dítě kontakt s okolím, k úmrtí dochází většinou mezi 10.-20. rokem života (Michalík J. et al., 2010).

### 1.6.3.4 Mukopolysacharidóza typ IV (MPS IV)

MPS typu IV (Morquio syndrom) má dva podtypy – MPS IVA a MPS IVB. Příčinou MPS IVA je defekt enzymu N-acetyl-galaktosamin-6-sulfatázy a defekt enzymu beta-galaktosidázy je

příčinou MPS IVB. MPS IVA je častějším typem než MPS IVB a obecně platí, že pacienti s MPS IVB mají mírnější průběh onemocnění (Michalík J. et al., 2010).

Deficience obou enzymů vede k poruše intralysosomální degradace keratansulfátu a k jeho následnému strádání. U MPS IVA je kromě keratansulfátu strádán i chondroitinsulfát. Metabolismus heparansulfátu a dermatansulfátu není u pacientů s MPS IV porušen, a proto u nich primárně nedochází k postižení centrální nervové soustavy (na rozdíl od pacientů s MPS I, II a III) (Wraith J.E., 1995; Tomatsu S. et al., 2011).

Pro oba typy MPS IV je charakteristická porucha růstu, nízká postava, skeletální dysplazie (Tomatsu S. et al., 2011) a postižení rohovky (Käsmann-Kellner B. et al., 1999). U většiny pacientů jsou kostní změny v novorozeneckém a kojeneckém věku velmi nenápadné a mohou se projevit jako omezení abdukce v kyčli nebo pes equinovarus. První příznaky se pak objevují nejčastěji mezi prvním a třetím rokem život, avšak diagnóza bývá stanovena mnohem později (Michalík J. et al., 2010). Závažnou komplikací je u MPS IVA postižení páteře, které se nejčastěji objevuje v cervikální oblasti. Atlantoaxiální instabilita (způsobená kombinací hypoplazie dens axis a volností ligament) a komprese na úrovni C1-C2 je téměř univerzálním nálezem a predisponuje pacienty k rozvoji cervikální myelopatie s progredující svalovou slabostí (z chronické opakované traumatizace míchy), k rozvoji paralýzy nebo náhlému úmrtí (při akutním poranění míchy při náhlé výrazné hyperflexi/hyperextenzi krční páteře) (Tomatsu S. et al., 2011; Solanki G.A. et al., 2013). Komprese míchy je také důsledkem ztlustění ligament a chrupavčité tkáně akumulující GAG (Solanki G.A. et al., 2013). Postižení v torakolumbální oblasti může vést k ochrnutí dolních končetin (Michalík J. et al., 2010).

U těžkých fenotypů je paralýza z cervikální myelopatie, respirační insuficience a postižení srdce častým důvodem zkrácení délky života, kdy pacienti umírají v 2. - 3. dekádě (Montano A.M. et al., 2007; Tomatsu S. et al., 2011). Naopak, u pacientů s mírnějším průběhem onemocnění není délka života zkrácena a pacienti se mohou dožít až do 7. dekády (Montano A.M. et al., 2007; Michalík J. et al., 2010; Tomatsu S. et al., 2011).

#### **1.6.3.5 Mukopolysacharidóza typ VI (MPS VI)**

MPS VI (Maroteaux-Lamy syndrom) je způsobená mutacemi a deficitem lysosomálního enzymu N-acetylgalaktosamin-4-sulfatázy (arylsulfatázy), čehož následkem dochází k hromadění dermatansulfátu (Neufeld E.F. a Muenzer J., 2001). Klinické příznaky představují kontinuální spektrum od mírných projevů až po projevy závažné. U pacientů se zbytkovou aktivitou enzymu a mírnějším průběhem se onemocnění může projevit až v průběhu dětství

nebo dospívání, kdy kraniofaciální dysmorfie nemusí být vyjádřena a je přítomná porucha růstu nebo orgánové postižení (Michalík J. et al., 2010).

Obecně jsou somatické projevy u MPS VI podobné s MPS I a II. U pacientů s MPS VI ale obvykle nedochází k postižení centrální nervové soustavy. V kojeneckém věku je typická makrocefalie, svalová hypotonie, hepatosplenomegalie, umbilikální nebo inguinální hernie. Postupně se přidává skeletální postižení (deformity hrudníku, kloubů) a orgánové postižení (srdce a plíce) a také smyslové deficity (rozvoj poruchy sluchu až hluchoty, postižení zraku) (Giugliani R. et al., 2007).

## **1.7 Otorinolaryngologické manifestace u pacientů s mukopolysacharidózami**

Postižení v oblasti hlavy a krku je u pacientů s MPS velmi časté a mnohdy se jedná o první manifestaci onemocnění již v časném věku (Wold S.M. et al., 2010). Potíže, které přivádí pacienty často ještě s nepotvrzenou základní diagnózou k ORL lékařům, jsou přitom obdobné jako v ostatní dětské populaci.

Jedná se především o:

- recidivující infekce horních cest dýchacích – recidivující a chronická rinosinusitida;
- obstrukci horních cest dýchacích způsobenou především adenotonzilární hypertrofií;
- otologické postižení – zejména recidivující akutní středoušní zánět, sekreторickou otitidu a poruchu sluchu (Ruckenstein M.J. et al., 1991; Motamed M. et al., 2000; Simmons M.A. et al., 2005).

Otorinolaryngolog tak má důležitou roli ve včasném rozpoznání nemoci a v zahájení dalšího vyšetření vedoucího k diagnostice onemocnění i v následné multidisciplinární péči o tyto pacienty (Ruckenstein M.J. et al., 1991; Wold S.M. et al., 2010; Keilmann A. et al., 2012; Mesolella M. et al., 2013).

### **1.7.1 Otologická problematika**

#### **1.7.1.1 Akutní a sekreторická otitida**

U pacientů s MPS dochází ke střeádání GAG v adenoidní tkáni a v sliznicích nosohltanu, Eustachovy trubice a středního ucha. Tyto změny jsou spolu s dysfunkcí Eustachovy trubice v důsledku kraniofaciálních abnormalit důvodem vyššího rizika výskytu akutní recidivující otitidy a sekreторické otitidy (Simmons M.A. et al., 2005; Gönüldaş B. et al., 2014).

Středoušní zánět (akutní nebo chronický) je podle údajů z mezinárodní databáze pro MPS II (Hunter Outcome Survey, HOS) nejčastější ORL manifestací přítomnou u 72 % pacientů (401/554) (Keilmann A. et al., 2012). Výskyt sekreторické otitidy (Otitis media with effusion, OME) se pohybuje od 30 % (6/20) (Mesolella M. et al., 2013) do 84 % (64/76) (Gönüldaş B. et al., 2014).

#### **1.7.1.2 Porucha sluchu**

Porucha sluchu má jednoznačný dopad na vývoj řeči a kvalitu života a také může přispívat ke zhoršení poruch chování (Muenzer J. et al., 2009b; Wold S.M. et al., 2010). Porucha sluchu

je u dětí s MPS častá a má typicky progresivní charakter (Al Sawaf S. et al., 2008; Keilmann A. et al., 2012). Výskyt převodní a senzorineurální nedoslýchavosti se odhaduje u 50-80 % pacientů, především s MPS I a II typu (Muhlebach M.S. et al., 2011). Podle registru HOS poruchou sluchu trpí 67 % (373/554) pacientů s MPS II, přičemž se jedná o druhý nejčastější příznak v ORL oblasti. Středně těžká porucha sluchu se vyskytuje u 31 % pacientů, lehká a těžká porucha u 24 % resp. 22 % pacientů. Velmi těžká porucha sluchu byla diagnostikována u 7 % pacientů. Smíšená a senzorineurální porucha sluchu byla přítomná u 33 %, převodní u 16 % a variabilní porucha sluchu u 18 % pacientů (Keilmann A. et al., 2012).

I data dalších autorů potvrzují vysoký výskyt poruchy sluchu u MPS pacientů. Wold et al. uvádí přítomnost různého stupně poruchy sluchu u 7 z 9 pacientů s MPS (v pěti případech se jednalo o poruchu smíšenou, po jednom pak senzorineurální a převodní poruchu sluchu) (Wold S.M. et al., 2010). Retrospektivní studie publikovaná Mesolellou s celkovým počtem 20 pacientů udává poruchu sluchu u 15 pacientů (75 %). Ve 43 % šlo o smíšenou poruchu sluchu, ve 43 % o převodní a v 13 % o senzorineurální poruchu sluchu (Mesolella M. et al., 2013).

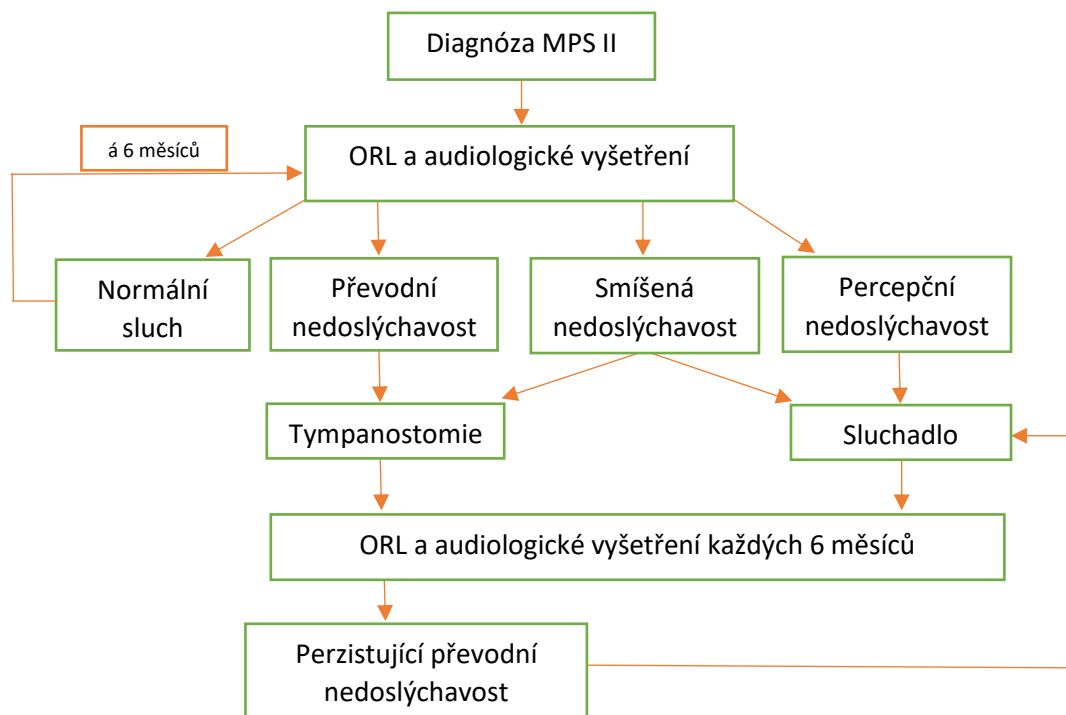
U mladších pacientů s MPS se nejčastěji vyskytuje převodní nedoslýchavost. Tato je typicky podmíněna sekretorickou otitidou, dysfunkcí Eustachovy trubice a/nebo recidivujícím akutním středoušním zánětem (Napiontek U. a Keilmann A., 2006; Wold S.M. et al., 2010; Gönüldaş B. et al., 2014). Na převodní nedoslýchavosti se mohou spolupodílet také deposita GAG přítomná ve středoušní dutině a jejích strukturách (Wold S.M. et al., 2010). V literatuře jsou popsány i koexistující tympanomastoidální abnormality přítomné při autopsii spánkové kosti (výrazná absence mastoidální pneumatizace, vyplň středoušní dutiny a antra fibrózní tkáně, histiocyty a PAS pozitivními vakuolizovanými buňkami či ztlustění tympanické membrány). Popsané změny jsou nejspíše následkem chronické otitidy, ale zvažována je i porucha fetálního vývoje (Hayes E. et al., 1980, Friedmann I. et al., 1985).

V průběhu onemocnění se může k již přítomné převodní nedoslýchavosti připojit percepční složka, což vede k rozvoji smíšené nedoslýchavosti (Simmons M.A. et al., 2005; Keilmann A. et al., 2012). U části pacientů s MPS II jsou popsány také případy s čistou senzorineurální poruchou sluchu (Napiontek U. a Keilmann A., 2006). Na rozdíl od převodní nedoslýchavosti není patofyziologie senzorineurální poruchy dostatečně objasněna (Komura Y. et al., 1998). V úvahu přichází kongenitální podklad nebo sekundárně podmíněné strádání parciálně degradovaných GAG ve strukturách vnitřního ucha (ductus cochlearis, stria vascularis), vestibulokochleárního nervu nebo v CNS. Popsána byla degenerace vláskových buněk, redukce buněk v ganglion spirale, ztlustění arachnoidey ve vnitřním zvukovodu a strádání GAG ve vestibulárním gangliu (Spranger J., 1975).

Práh sluchu se dle audiometrických měření zvyšuje přibližně o 1 dB za rok, což potvrzuje progresivní charakter sensorineurální komponenty jako přirozené součásti MPS (Keilmann A. et al., 2012).

Z důvodu včasné a progresivní poruchy sluchu je u pacientů s MPS vyžadováno časně a opakované vyšetření sluchu (Obr. 1.7.1) (Muhlebach M.S. et al., 2011; Keilmann A. et al., 2012).

V případě převodní nedoslýchavosti z důvodu sekretorické otitidy není u pacientů s MPS doporučován vyčkávací „watch and wait“ přístup, ale metodou volby je zavedení drenážních trubiček (Motamed M. et al., 2000). V případě nemožnosti provedení výkonu v celkové anestezii je u pacientů se smíšenou a sensorineurální poruchou sluchu možností také použití sluchadel. Vzhledem k častému mentálnímu postižení je však spolupráce pacienta při používání naslouchadel nedostatečná (Motamed M. et al., 2000, Muenzer J. et al., 2009b).



**Obr. 1.7.1** Algoritmus managementu poruchy sluchu u pacientů s MPS II. (Upraveno podle Keilmann A. et al., 2012.)



### 1.7.2 Postižení dýchacích cest u MPS

Projevy z oblasti dýchacích cest (DC) jsou u pacientů s MPS způsobeny depozity GAG, které se postupně v průběhu života akumulují v DC a vedou k výrazně heterogenní manifestaci, a to i u pacientů se stejným typem onemocnění (Muhlebach M.S. et al., 2011; Muhlebach M.S. et al., 2013).

Postižení dýchacích cest je běžné u pacientů s těžkou formou MPS I, II a VI typu již v raném dětství. U lehčích forem těchto onemocnění dochází k rozvoji postižení DC později (kolem desátého roku života nebo až v dospělosti) (Muhlebach M.S. et al., 2013).

Střádání GAG způsobuje ztlustění stěny (zejména submukózy) ve všech částech DC. Obstrukční příznaky jsou nejdříve přítomny v horních cestách dýchacích (HCD), později dochází i k postižení tracheobronchiálního stromu, které je častou příčinou úmrtí pacientů s MPS I a MPS II (Muhlebach M.S. et al., 2011) (Tab. 1.7.1).

Postižení dýchacích cest je výsledkem kombinace střádání GAG, omezené pohyblivosti kloubů, skeletálních abnormalit a zvýšené hlenové sekrece v horních (chronická sekrece z nosu) a dolních dýchacích cestách (Muhlebach M.S. et al., 2013). Etiologie chronické rinitidy není dostatečně vysvětlena, ale předpokládá se, že může být způsobena obstrukcí, která omezuje normální drenáž, nebo chronickým zánětem a abnormálním složením hlenu (Muhlebach M.S. et al., 2011).

Abnormality v HCD jsou přítomny nejdříve a v průběhu nemoci dochází k jejich progresi (Muhlebach M.S. et al., 2013). Nejčastějším postižením HCD je zvětšení adenoidní tkáně (72 %), laryngomalacie (přítomná v 31 % případů), prezentující se jako kolaps epiglottis, prolaps arytenoidů a střádání GAG v epiglottis (Muhlebach M.S. et al., 2013). V oblasti DCD je zúžení způsobeno kumulací GAG často v kombinaci s dynamickým zúžením bronchů (bronchomalácií). Pacienti mají také různý stupeň obstrukční plicní nemoci z důvodu střádání GAG v různých buněčných populacích průdušnice a bronchů (Muhlebach M.S. et al., 2013).

K postižení respiračního systému přispívá i restriktivní plicní nemoc vznikající následkem hepatomegalie a změn v oblasti páteře a hrudní stěny (Muhlebach M.S. et al., 2013). Tyto jsou nejvíce vyjádřeny u pacientů s MPS IV a VI s výrazným postižením skeletu (Muhlebach M.S. et al., 2011).

Při zajišťování dýchacích cest nebo rigidní bronchoskopii může být další komplikací krátký krk, mandibulární prognathismus a riziko atlanto-axiální dislokace. Z tohoto důvodu je vyšetřování dýchacích cest rigidní bronchoskopií velmi rizikové a doporučuje se použití flexibilního endoskopu (Muhlebach M.S. et al., 2013). K zajištění dýchacích cest je u pacientů

s MPS doporučována endoskopicky asistovaná endotracheální intubace (Muhlebach M.S. et al., 2013, Magner M. et al., 2016).

**Tab. 1.7.1 Přehled typů MPS a respiračního postižení.** (Upraveno podle Muhlebach M.S. et al., 2011.)

Typ MPS	Strádaný materiál	Obstrukce HCD	Obstrukce DCD	Restrikční plicní nemoc
MPS I	DS + HS	+++	+++	+++
MPS II	DS + HS	+++	+++	++
MPS III	HS	minimální	minimální	minimální
MPS IV A	KS a CS	++	+	+++
MPS IV B	KS			
MPS VI	DS	+++	+++	++
MPS VII	DS + HS	+++	+++	++

*MPS – mukopolysacharidóza, DS – dermatansulfát, HS – heparansulfát, KS – keratasulfát, CS – chondroitinsulfát, HCD – horní cesty dýchací, DCD – dolní cesty dýchací*

### 1.7.2.1 Obstrukce horních cest dýchacích

Nejčastějším důvodem obstrukce HCD je adenotonzilární hypertrofie, která se rozvíjí ukládáním glykosaminoglykanů v lymfatické tkáni hltanu (Muhlebach M.S. et al., 2013). Pouhým makroskopickým vyšetřením není možné rozlišit, zda se jedná o hypertrofii při chronickém zánětu nebo z důvodu akumulace GAG (Muhlebach M.S. et al., 2011). Patologické vyšetření adenoidní tkáně poukazuje na infiltraci PAS pozitivními buňkami a zvýšený obsah GAG (Fujitani T. et al., 1985). Tato spolu s makroglosií a mandibulárními abnormalitami vede u pacientů s MPS k vyššímu riziku vzniku syndromu obstrukční spánkové apnoe (Simmons M.A. et al., 2005). K hypertrofii lymfatické tkáně hltanu mohou také přispívat i opakované infekce horních cest dýchacích (Obr. 1.7.2 B). Adenoidní hypertrofie zase participuje na častém výskytu středoušních zánětů a převodní nedoslýchavosti (Muhlebach M.S. et al., 2011). Hlavní iniciální léčebnou modalitou v řešení obstrukce HCD je adenotomie eventuálně i tonzilektomie při hypertrofii patrových tonzil. Adenotomie je podle údajů registrů HOS (MPS II pacienti) druhou nejčastější ORL intervencí (47 % pacientů), následována tonzilektomií (35,5 % pacientů) (Mendelsohn et al. 2010). Dle mezinárodního registru pro pacienty s MPS I je třetím nejčastějším chirurgickým výkonem adenotonzilektomie (37 % pacientů se syndromem Hurlerové) (Arn P. et al., 2009). Tyto výkony jsou v mnoha případech dostačující (Simmons

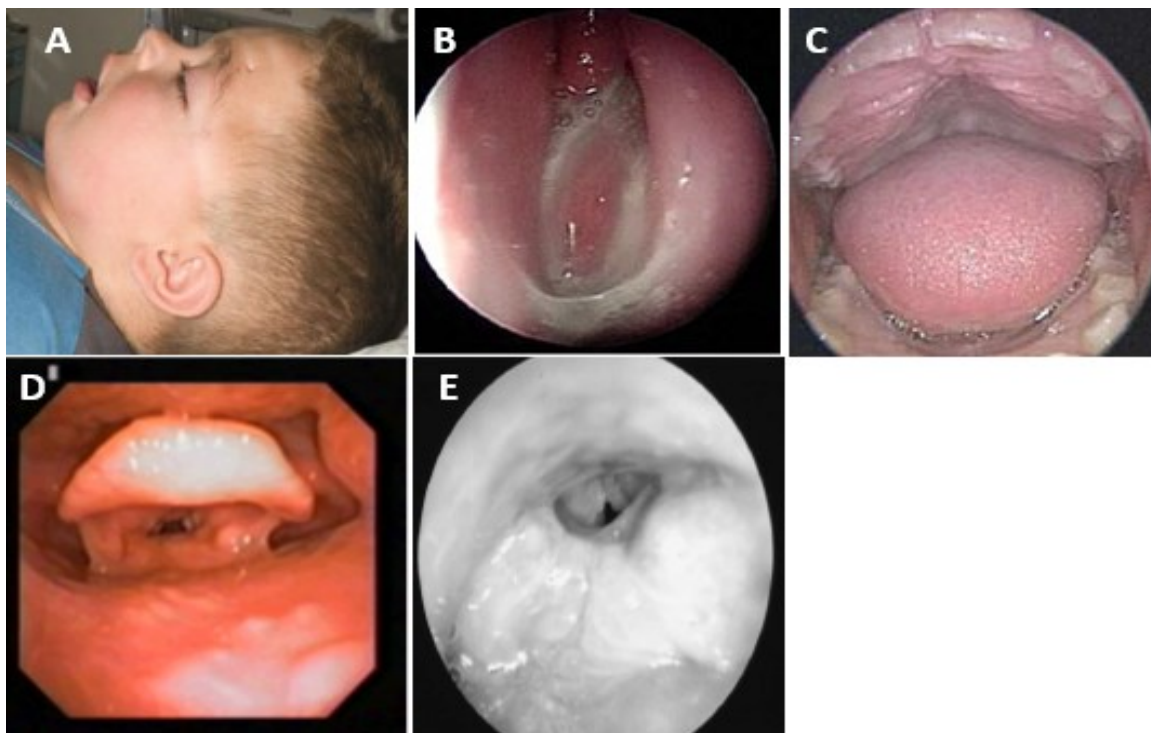
M.A. et al., 2005) avšak vzhledem k progresi onemocnění poskytují obvykle jen dočasné řešení (Muhlebach M.S. et al., 2011). Efekt adenotonzilektomie závisí také na rozsahu postižení ostatních částí DC. Při provádění adenotomie je kontraindikován výrazný záklon hlavy, u kterého z důvodu atlantoaxiální instability hrozí subluxe a následné poranění cervikální míchy (Obr. 1.7.2 A). I když jsou u dětských pacientů adenotomie a tonzilektomie rutinními operacemi, u MPS je spojena s vyšším rizikem pooperačního krvácení, otoku dýchacích cest a nemožností extubace (Gaitini L. et al., 1998).

U pacientů, pro které je adenotomie/tonzilektomie nedostačující nebo je z důvodu celkové anestezie příliš rizikovým výkonem, je další léčebnou modalitou přetlaková terapie (kontinuální přetlak DC – nazální CPAP, bifázický přetlak DC – BiPAP) (Simmons M.A. et al., 2005). Efekt této terapie je však u mnoha pacientů omezen poruchou chování a nízkou compliance (Muhlebach M.S. et al., 2011). V extrémních případech obstrukce horních cest dýchacích může být nutné i provedení tracheotomie (Simmons M.A. et al., 2005). Samotný zákrok může být technicky velmi náročný a je následně provázen rozvojem komplikací (zúžení tracheostomického kanálu, tvorba granulací, infrastomální tracheální stenóza a infekce rány) (Shinhar S.Y. et al., 2004; Kamin W., 2008).

Na obstrukci HCD se dále podílí makroglosie (Obr. 1.7.2 C), střádání GAG ve faryngu, linguální tonzile a laryngu (Obr. 1.7.2 D, E) a také snížená mobilita temporomandibulárního kloubu (Muhlebach M.S. et al., 2013).

Makroglosie a retroglosie spolu s nepříznivým poměrem velikosti jazyka a dutiny ústní predisponují k rozvoji faryngomalácie (kolapsu hltanu) a vzniku obstrukční spánkové apnoe. Postižení hrtanu je téměř univerzálním nálezem u těžkých forem MPS I a II typu. V laryngoskopickém nálezu se hlasové vazy nezdají ztlustělé, avšak studie využívající techniku CT vyšetření dýchacích cest poukazují na abnormální tvar hlasivek a nehomogenní densitu (Shih S.L. et al., 2002).

Laryngomalácie u MPS pacientů vzniká v důsledku střádání GAG v epiglottis a nad arytenoidními chrupavkami či aryepiglotickými řasami (Obr. 14 D, E) (Muhlebach M.S. et al., 2011). Zbytnělá tkáň může následně prolabovat do vchodu hrtanu a způsobovat stridor a těžkou obstrukci dýchacích cest (Simmons M.A. et al., 2005). Laryngomalácie se může rozvinout i sekundárně v důsledku faryngeálního kolapsu a retroglosie (Muhlebach M.S. et al., 2011).



**Obr. 1.7.2 Příčiny obstrukce jednotlivých etáží horních cest dýchacích.**

*A – krátký a ztuhlý krk u pacienta s MPS I, v průběhu intubace a ORL výkonu je kontraindikován záklon hlavy jako prevence atlantoaxiální subluxace (Arn P. et al., 2015);*

*B – endoskopický obraz zánětlivě změněné edematózní nosní sliznice s patologickou hlenovou sekrecí u pacienta s MPS VI (Berger K.I. et al., 2013);*

*C – makroglosie u pacienta s MPS II (Berger K.I. et al., 2013);*

*D – ztlustění epiglotis a arytenoidů zužující vchod do hrtanu (Muhlebach M.S. et al., 2013);*

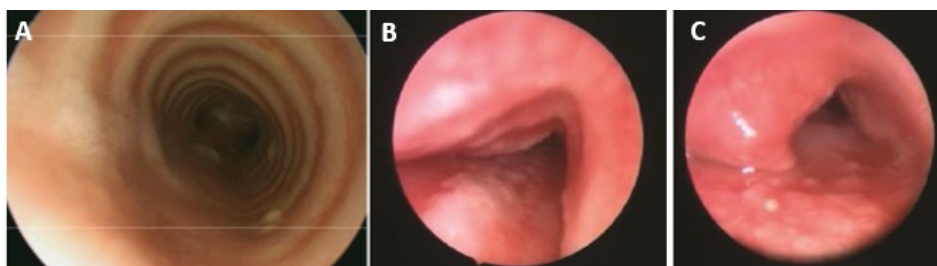
*E – zbytnělá sliznice arytenoidů způsobená depozity GAG prolabující při inspiriu do vchodu do hrtanu a vedoucí k parciální obstrukci vchodu dýchacích cest. (Simmons M.A. et al., 2005)*

### 1.7.2.2 Obstrukce dolních cest dýchacích

K postižení dolních cest dýchacích (DCD) dochází typicky v pozdějším věku a je nejvíce vyjádřeno u MPS I, II, IV a VI typu (Muhlebach M.S. et al., 2011). V bronchoskopickém obraze je přítomná tracheomalacie/bronchomalacie (Obr. 1.7.3 B). Na fokálním zúžení tracheálního a bronchiálního průměru se mohou spoluúčastnit střeďování GAG a fibroproliferace projevující se jako nepravidelné submukózní ztlustění (Muhlebach M.S. et al., 2013) (Obr. 1.7.3 A, C). Spolu s těmito změnami jsou často přítomné známky bronchitidy, ke kterým může docházet sekundárně z důvodu slabé sebeočisty dýchacích cest a opakovaných aspirací (Muhlebach M.S. et al., 2011). Post mortem studie potvrzují infiltraci submukózy a tracheálních chrupavek (Peters M.E. et al., 1985; Keller C. et al., 1987; Sasaki C.T. et al., 1987). Radiografické studie také potvrzují abnormální průměr trachey u pacientů s MPS ve srovnání s kontrolní skupinou (Shih S.L. et al., 2002).

V úvodu léčby obstrukce DCD se používají inhalační kortikosteroidy. Tracheostomie, která se provádí zejména u těžké obstrukce HCD, může být také terapeutickým řešením při kolapsu trachey. S progresí tracheomalacie jsou však standardní tracheostomické kanyly nedostačující a je nutno použít kanyl delších a širších (Muhlebach M.S. et al., 2011).

Další možností léčby tracheobronchomalacie je zavedení tracheobronchiálních stentů (Davitt S.M. et al., 2002; Karl R. et al., 2016; Kampmann C. et al., 2017). Použití jak tracheostomických kanyl, tak i stenů je komplikováno tvorbou granulační tkáně s nutností opakovaných dalších intervencí (Davitt S.M. et al., 2002; Muhlebach M.S. et al., 2011; Karl R. et al., 2016).



**Obr. 1.7.3 Charakteristické endoskopické nálezy u pacientů s MPS.**

*A – depozita GAG v oblasti trachey projevující se jako drobné uzlíky (Muhlebach M.S. et al., 2013);*

*B – tracheomalacie u MPS I (Arn P. et al., 2015);*

*C – zúžení lumenu trachey. (Arn P. et al., 2015)*

## 1.8 Celková anestezie u pacientů mukopolysacharidózami

Z anesteziologického hlediska patří pacienti s MPS k nejrizikovější skupině, zejména pro obtížné zajištění dýchacích cest a multisystémové postižení mnoha orgánů nastrádanými GAG. Zásadní pro vedení anestezie je postižení dýchacího systému, srdce, CNS a skeletu.

Abnormality v oblasti dýchacích cest mohou v průběhu celkové anestezie vyústit do fatálních komplikací (Muhlebach M.S. et al., 2011; Walker R. et al., 2013). Pacienti s MPS jsou v anesteziologické literatuře popsáni jako pacienti s „the worst airway problem in paediatrics” (Smith R., 1980) a to z důvodu potíží při intubaci i extubaci (Mendelsohn N.J. et al., 2010; Walker R. et al., 2013). V literatuře je incidence ztížené intubace u pacientů s MPS udávána ve 25 % (Walker R. et al., 1994). K nejčastějším důvodům ztíženého zajištění dýchacích cest patří snížená mobilita v oblasti temporomandibulárního kloubu podmíněná temporomandibulární ankylozou, makroglosie, adenotonzilární hypertrofiie, výrazná hlenová sekrece, nebo laryngeální abnormality (laryngomalacie, subglotická stenóza) (Walker R. et al., 1994). Významným faktorem je postižení krční páteře ve smyslu atlantoaxiální instability s rizikem subluxe krčních obratlů při hyperextenzi krku a následným akutním útlakem míchy a kvadruplegií. Incidence atlantoaxiální instability je vysoká u pacientů s MPS IV a MPS VI (Walker R. et al., 1994; Solanki G.A. et al., 2013). V dolních dýchacích cestách zvyšují riziko obstrukce subglotická stenóza, tracheomalacie, obstrukční změny plicního parenchymu (chronický zánět, atelektázy, plicní hypertenze až cor pulmonale) a restriktivní plicní postižení vyvíjející se následkem deformit hrudníku a páteře (hrudní kyfóza, protruze sternu, gibus). Zvýšené anesteziologické riziko není jenom výsledkem abnormalit respiračního systému ale také kardiálního postižení (postižení chlopní ve smyslu aortální a mitrální stenózy či insuficience, srdeční selhání na podkladě kardiomyopatie), skeletálních anomálií (atlantoaxiální instabilita, zatuhlost hrudního koše) a neurologického postižení (Muhlebach M.S. et al., 2013; Walker R. et al., 2013).

## 2 CÍLE PRÁCE

Z úvodu této práce je zjevné, že příznaky LSD v ORL oblasti jsou časté, přičemž u celé řady nemocných se jedná o první manifestaci onemocnění již v kojeneckém nebo batolecím věku. Jde především o otologickou problematiku (např. recidivující středoušní záněty, sekretorická otitida, porucha sluchu), adenotonzilární hypertrofii a v neposlední řadě také o progresivní obstrukci dýchacích cest. ORL specialista má tak důležitou roli nejen při včasném rozpoznání nemoci, indikaci specifických vyšetření vedoucích k diagnóze ale i při následném sledování a léčbě pacientů.

Dobře zvládnutá ORL problematika LSD je rovněž kritickým předpokladem pro podání anestezie. V tomto ohledu patří pacienti s MPS k nejrizikovějším. Důvodem jsou zejména obtíže při zajištění jejich dýchacích cest a multisystémové postižení většiny orgánů strádáním. Především se jedná o postižení dýchacího systému, srdce, CNS a skeletu. Uvedená ORL a anesteziologická problematika LSD není dosud dostatečně prozkoumána a povědomí o ní je v odborné veřejnosti nízké.

V rámci celé skupiny LSD je práce zaměřena na podskupinu mukopolysacharidóz.

### **Byly definovány tři cíle disertační práce:**

- 1) Zpracovat informace o klinických manifestacích za účelem zhodnocení přirozeného průběhu onemocnění a charakterizace ORL manifestace v souboru českých pacientů s mukopolysacharidózami (MPS).
- 2) Popsat anesteziologická rizika a s anestezií spojené komplikace v souboru českých pacientů s MPS.
- 3) Komplexně charakterizovat adenotonzilární tkáňové změny pacientů s MPS za využití histologických, imunohistochemických, imunofluorescenčních a ultrastrukturálních mikroskopických technik.

### 3 MATERIÁL A METODIKA

#### 3.1 Klinické studie

Klinické studie probíhaly na Klinice pediatrie a dědičných poruch metabolismu 1. LF UK a VFN v Praze ve spolupráci s lékaři Kliniky otorinolaryngologie (MUDr. Michal Jurovčík) a Kliniky anesteziologie, resuscitace a intenzivní medicíny 2. LF UK a FN Motol (MUDr. Věra Biskupová a MUDr. Jana Pavlíčková).

Hlavní metodou určenou pro splnění prvního cíle studia byla klinická retrospektivní observační studie. Po schválení studie etickou komisí (Etická komise Všeobecní fakultní nemocnice v Praze - 2051/18 S-IV) byla data dohledávaná ve zdravotních kartách pacientů a ve zdravotnickém počítačovém systému. Anamnéza byla ověřována a doplňována při klinickém vyšetření nebo při telefonickém rozhovoru s pacienty nebo jejich rodiči. Data byla následně anonymizována.

Retrospektivní studie zahrnovala 61 pacientů (36 mužů a 25 žen) s různými typy MPS (15 pacientů s MPS typu I, 10 pacientů s MPS typu II, 17 pacientů s MPS typu III, 15 pacientů s MPS typu IV a 4 pacienti s MPS VI).

Ve studii byl hodnocen typ MPS, věk v čase prvního ORL příznaku a výskyt jednotlivých ORL příznaků. Hodnocené ORL projevy zahrnovaly akutní zánět středouší, sekretorickou otitidu, chronickou/rekurentní rinosinitidu, poruchu sluchu a obstrukci horních cest dýchacích. Dále byl hodnocen výskyt ORL chirurgických výkonů (adenotomie, tonzilotomie/tonzilektomie, tympanostomie, tracheostomie, zavedení tracheálního stentu). U ORL projevů a chirurgických výkonů byla hodnocena časová souvislost ve vztahu s výskytem prvního příznaku a věku v čase stanovení diagnózy mukopolysacharidózy.

Akutní středoušní zánět byl definován jako náhlý začátek bolesti ucha, iritace a/nebo horečky s otoskopickým nálezem erytematozního bubínku a/nebo retence ve středouší.

Sekretorická otitida byla definována jako přítomnost středoušního výpotku bez známek akutní infekce.

Chronická rinosinitida byla definována jako přítomnost nosní sekrece trvající déle než 12 týdnů a rekurentní rinosinitida jako přítomnost alespoň čtyř epizod nosní sekrece trvající alespoň týden za rok.

Percepční, převodní a smíšená porucha sluchu byla diagnostikována na základě výsledků tónové nebo kmenové audiometrie. Diagnóza převodní nedoslýchavosti byla stanovena také při potvrzení sekretu ve středouší u tympanometrie (B křivka).



Obstrukce horních cest dýchacích byla stanovena na základě anamnestického údaje o chrápání a potvrzena nálezem adenoidních vegetací a/nebo hypertrofických patrových tonzil při otorinolaryngologickém vyšetření.

V souboru 17 pacientů s různými typy MPS (2 pacienti s MPS I, 9 pacientů s MPS II, 1 pacient s MPS I, 4 pacienti s MPS IV, 1 pacient s MPS V), kteří podstoupili operační výkon v celkové anestezii ve FN Motol, jsme hodnotili způsob zajištění dýchacích cest ve vztahu k provedenému výkonu a výskytu komplikací.

Dále jsme popsali kazuistiku komplikovaného zajištění dýchacích cest se zavedením tracheálního stentu u 19letého pacienta s MPS II. typu.

### **3.2 Histopatologické studie**

Garantem tkáňově strukturální studie byl odb.as. MUDr. Jakub Sikora, Ph.D., KPDPM a ÚPA 1. LF UK a VFN v Praze.

V rámci studie jsme provedli strukturální analýzu lymfoepiteliální adenotonzilární tkáně získané v průběhu ORL operačních výkonů (adenotomie, tonzilektomie). Do studie bylo zahrnuto 8 pacientů s různými typy MPS, 1 pacient s infantilní neuroviscerální variantou deficitu kyselé sfingomyelinázy (Niemann-Pickova nemoc typu A/B) a 3 věkově odpovídající kontroly bez postižení mukopolysacharidózou či jiným lysosomálním stádacím onemocněním (non-MPS/non-LSD).

Endoskopická adenotomie byla provedena v celkové anestezii. K expozici orofaryngu byl použit ústní McIvoryho rozvěrač, následně bylo měkké patro vyvázáno pomocí bužíí. Hypertofická adenoidní tkáň byla odstraněna háčkovou nebo hladkou kyretou pod endoskopickou kontrolou 70° rigidního endoskopu zavedeného transorálně. Krvácení bylo stavěno kompresí tamponem a/nebo elektrokoagulací.

Tkáň byla ve všech případech zpracována pro standardní světelnou mikroskopii (barvení hematoxylinem a eosinem (HE), PAS – Periodic Acid Schiff, Masson trichrom), imunohistochemické (IHC) a (multi)imunofluorescenční (IF) vyšetření.

Ke konfokálnímu zobrazení byl použit mikroskop Leica SP8X a software Huygens Professional Software (SVI, Hilversum, The Netherlands). Ultrastrukturální analýza byla provedena elektronovým mikroskopem JEOL 1200 (JEOL, Tokyo, Japan).

Studie by schválena etickou komisí VFN (rozhodnutí č. 2051/18S-IV).

## 4 VÝSLEDKY

### 4.1 Klinická manifestace, zhodnocení přirozeného průběhu onemocnění a charakteristika ORL manifestace v souboru českých pacientů s mukopolysacharidózami (MPS)

#### Výsledky byly publikovány v práci v odborném časopise

Murgasova L, Jurovcik M, Jesina P, Malinova V, Bloomfield M, Zeman J, Magner M. Otorhinolaryngological manifestations in 61 patients with mucopolysaccharidosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2020 Aug;135:110137. doi: 10.1016/j.ijporl.2020.110137. Epub 2020 May 27. PMID: 32502916.

IF (2020) 1,675; Q3 – OTORHINOLARYNGOLOGY, Q3 – PEDIATRICS

Uvedená práce měla za cíl podrobně zhodnotit nejčastější ORL příznaky u pacientů s různými typy mukopolysacharidóz. Byl sledován věk pacientů v čase prvního příznaku a v čase prvního projevu v ORL oblasti a jejich časová souvislost s věkem v čase stanovení základní diagnózy. Zároveň byly zhodnoceny operační výkony v ORL oblasti a také jejich časová souvislost ve vztahu k věku v čase stanovení diagnózy MPS. Výsledky poukazují na vysoký a včasný výskyt jak příznaků, tak nutnosti operačních ORL výkonů a zdůrazňují tak roli otorinolaryngologů, kteří o pacienty pečují často ještě před stanovením diagnózy mukopolysacharidózy. Zvýšení povědomí mezi ORL lékaři je důležité ke zrychlení záchytu pacientů s MPS a následné možnosti brzkého stanovení diagnózy, které je zásadní pro včasné zahájení léčby a tím zlepšení jejího efektu.

#### 4.1.1 Výsledky

Alespoň jeden ORL příznak byl přítomen u 90 % pacientů (55/61). Věkový medián v čase prezentace prvního ORL symptomu byl 2,8 roku (rozmezí 0,1-19,3 roku), zatímco věkový medián v čase stanovení diagnózy MPS byl 4,1 roku. Před stanovením základní diagnózy byl alespoň jeden ORL příznak přítomen u 75 % pacientů (41/55) (Tab. 4.1.1; Graf 4.1.1 a 4.1.2.). Frekvence ORL příznaků u jednotlivých typů MPS jsou znázorněny v Grafu 4.1.3. Chronická/rekurentní rinosinusitida nejčastěji postihovala pacienty s MPS III (93 % pacientů). Akutní středoušní zánět byl nejčastějším ORL příznakem u MPS typu II (90 % pacientů), sekretorická otitida byla rovněž nejčastější u MPS typu II (50 % pacientů) a MPS typu VI (50 % pacientů). Porucha sluchu byla diagnostikována u 70 % pacientů s MPS typu II a 67 %

pacientů s MPS typu IV. Obstrukce horních cest dýchacích byla nejčastěji přítomná u pacientů s MPS typu I (92 % pacientů) a MPS typu II (90 % pacientů).

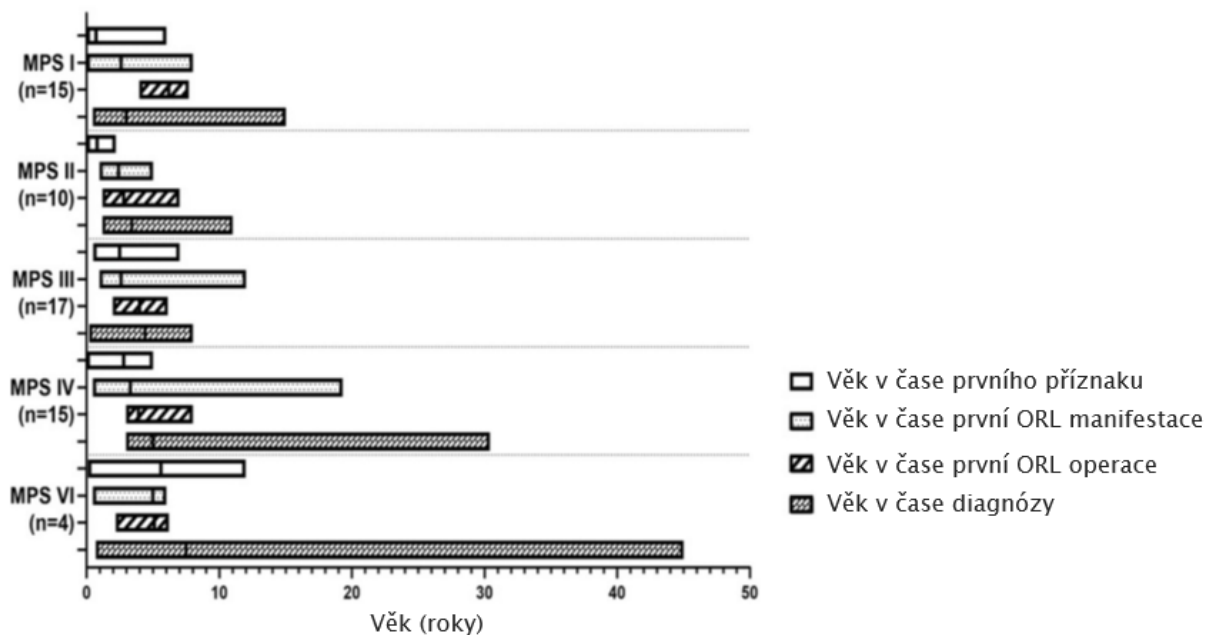
Nejčasnějším ORL příznakem byla u pacientů s MPS chronická/rekurentní rinosinusitida (věkový medián 2,2 roku; rozmezí 0,0-9,0 roku). Věkový medián sekretorické otitidy byl 3,7 roku (rozmezí 1,2-7,8 roku) a věkový medián poruchy sluchu 4,5 roku (rozmezí 1,0-19,3 roku). Nejčastější ORL manifestací v celém souboru pacientů s MPS byla chronická/rekurentní rinosinusitida přítomná u 77 % pacientů s dostupnými daty (43/56), následovaná obstrukcí horních cest dýchacích (65 % pacientů s dostupnými údaji; 35/54). Třetím nejčastějším příznakem z ORL oblasti byla porucha sluchu (53 % pacientů s dostupnými údaji; 31/58) (Graf 4.1.4). Hlavním typem poruchy sluchu byla převodní nedoslýchavost (15/31), avšak u některých pacientů došlo v průběhu progresu onemocnění ke změně typu sluchové poruchy. Alespoň jeden akutní středoušní zánět prodělalo 49 % pacientů (29/59), z čehož u 15 % (9/59) byla diagnostikována akutní rekurentní otitida (4 a více epizod akutního středoušního zánětu za rok). U čtyř pacientů byla rekurentní otitida řešena tympanostomií. U zbývajících pěti pacientů, u kterých se k zavedení tlak vyrovnávajících trubiček nepřistoupilo, došlo později k rozvoji sekretorické otitidy. Sekretorická otitida byla diagnostikována celkem u 36 % pacientů s dostupnými daty (20/55).

Alespoň jeden ORL chirurgický výkon podstoupilo celkem 57 % pacientů (35/61). Věkový medián v čase první ORL operace byl 4,1 roku (rozmezí 1,2-8,0 let). ORL výkon byl u 69 % pacientů (24/35) proveden před stanovením základní diagnózy. Kromě MPS typu I byl věkový medián operací u všech typů MPS nižší než věkový medián v čase stanovení diagnózy metabolického onemocnění (Tab. 4.1.1, Graf 4.1.5). Zastoupení výkonů u jednotlivých typů MPS zobrazuje Graf 4.1.6. Nejčastější intervencí v celém souboru byla adenotomie a tympanotomie, které podstoupilo 56 % (34/61) resp. 28 % (17/61) pacientů (Graf 4.1.7). Nejčasnějším výkonem byla adenotomie s věkovým mediánem 4,0 roky (1,2 – 8,0 roku), dále tympanotomie s věkovým mediánem 5,1 roku (2,2 – 9,1 roku). ORL příznaky i ORL operace byly nejdříve přítomné u MPS typu II (věkový medián 2,4 roku pro ORL příznaky a 2,8 roku pro ORL operace).

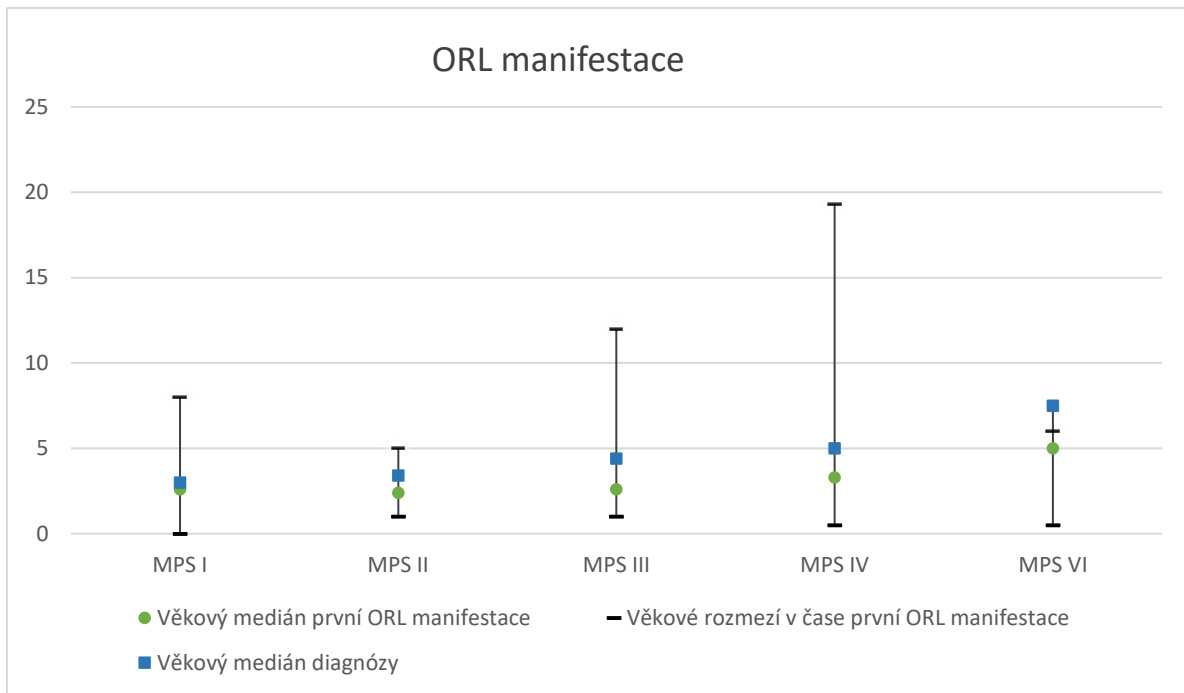
Provedení tracheostomie bylo z důvodu respiračního selhání a dlouhodobé ventilace nutné u dvou pacientů – 19letého pacienta s MPS typu II a 13letého pacienta s MPS typu III. Zavedení tracheálního stentu podstoupili rovněž dva pacienti – jeden pacient s MPS typu II z důvodu progresivní tracheomalacie a jeden 51letý pacient s MPS typu VI a s progresivní tracheální stenózou (Obr. 4.1.1).

**Tab. 4.1.1 Podrobná data (věk v čase prvního příznaku, ORL manifestace, ORL operace, věk v čase stanovení diagnózy, délka mezi prvním příznakem a stanovením diagnózy) jednotlivých typů MPS ve sledovaném souboru 61 pacientů s MPS. (Převzato a upraveno z Murgasova L. et al., 2020.)**

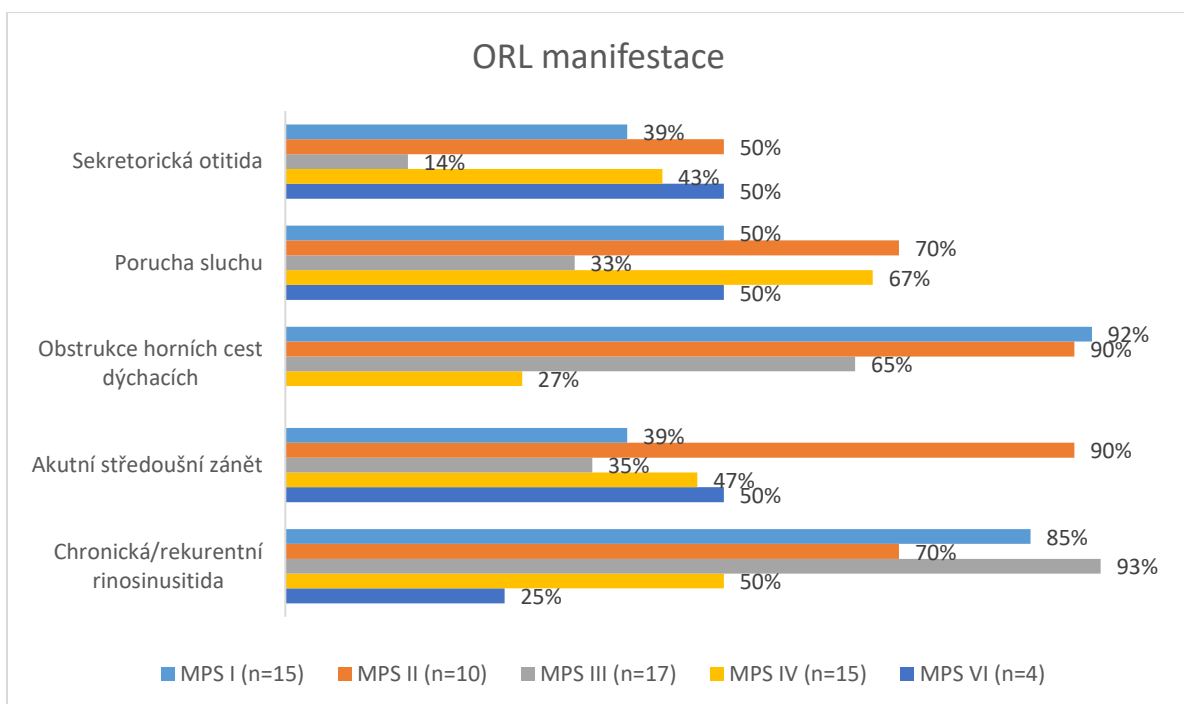
Typ MPS	Počet pacientů	Věk v čase prvního příznaku (roky)	Věk v čase první ORL manifestace (roky)	Věk v čase první ORL operace (roky)	Věk v čase stanovení diagnózy (roky)	Období mezi prvním příznakem a stanovením diagnózy (roky)
MPS I	15	0,7 (0-6)	2,6 (0-8)	6,2 (4-7,7)	3 (0,5-15)	1,5 (0,1-11,3)
MPS II	10	0,8 (0-2,2)	2,4 (1-5)	2,8 (1,2-7)	3,4 (1,2-11)	2,9 (0,7-9)
MPS III	17	2,5 (0,5-7)	2,6 (1-12)	4 (2-6,1)	4,4 (0,2-8)	2,4 (0,5-3,4)
MPS IV	15	2,8 (0-5)	3,3 (0,5-19,3)	3,9 (3-8)	5 (3-30,4)	3 (0,5-27,9)
MPS VI	4	5,6 (0,1-12)	5 (0,5-6)	5,1 (2,2-6,2)	7,5 (0,7-45)	2,5 (0,2-33)



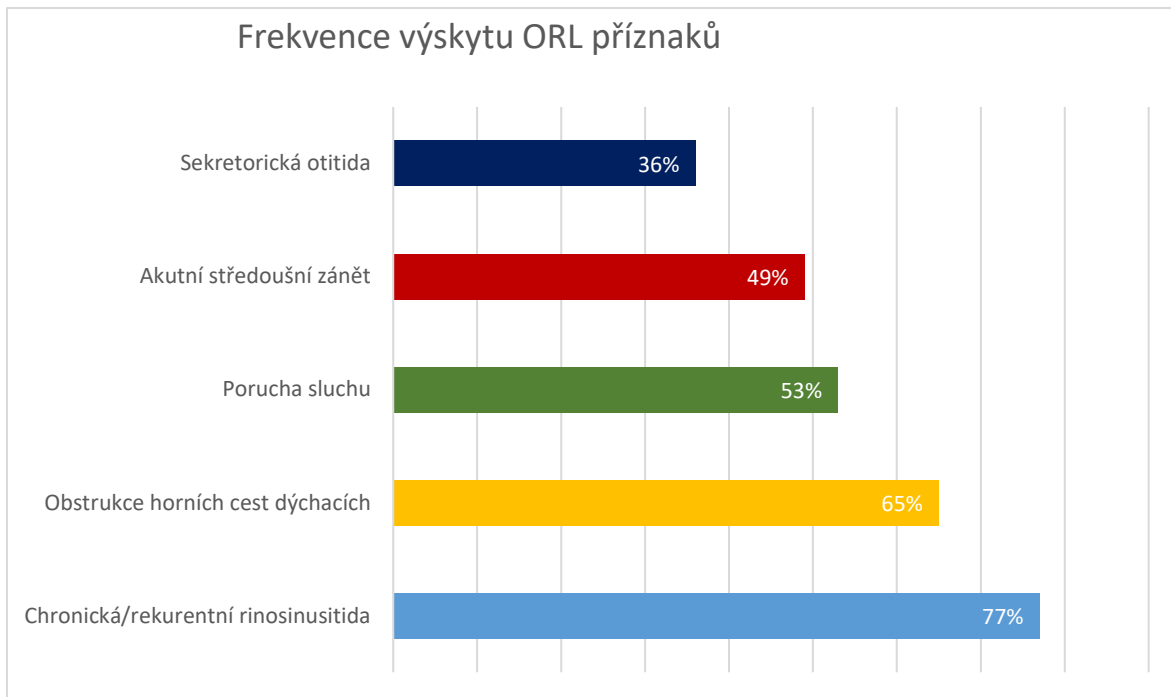
**Graf 4.1.1 Vztah mezi věkem v čase prvního příznaku, v čase diagnózy, v čase první ORL manifestace a věkem v čase provedení první ORL operace v souboru 61 pacientů s různými typy MPS. (Převzato a upraveno z Murgasova L. et al., 2020.)**



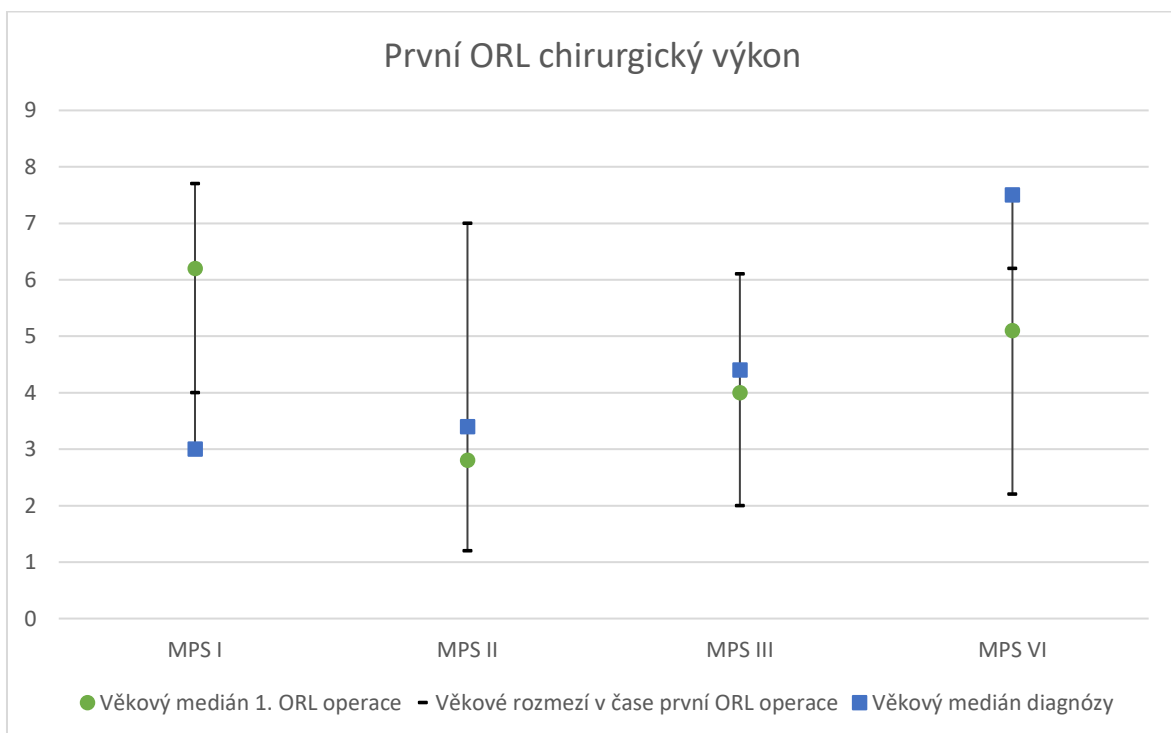
**Graf 4.1.2** Zobrazení věkového rozmezí první ORL manifestace a věkových mediánů první ORL manifestace a stanovení diagnózy jednotlivých typů MPS ve sledovaném souboru 61 pacientů s MPS.



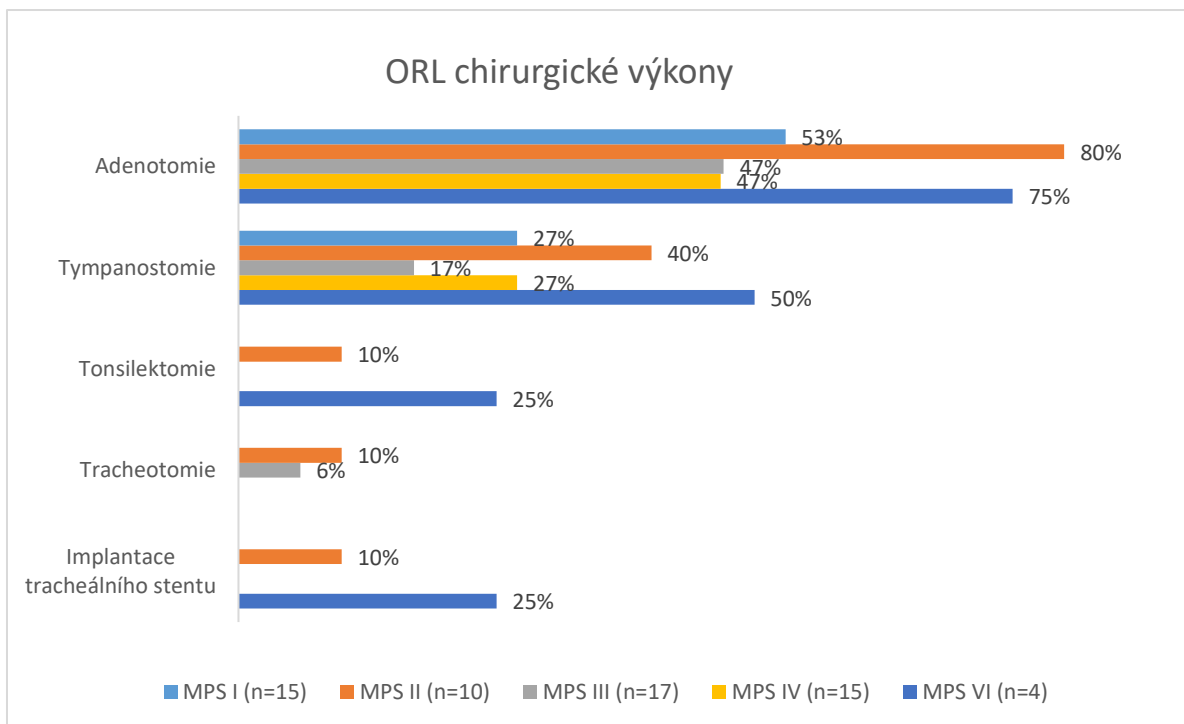
**Graf 4.1.3** ORL manifestace u jednotlivých typů MPS. Frekvence výskytu chronické/rekurentní rinosinitidy, akutní otitidy, obstrukce horních cest dýchacích, poruchy sluchu a chronické sekretorické otitidy v souboru 61 pacientů s různými typy MPS. (Převzato a upraveno z Murgasova L. et al., 2020.)



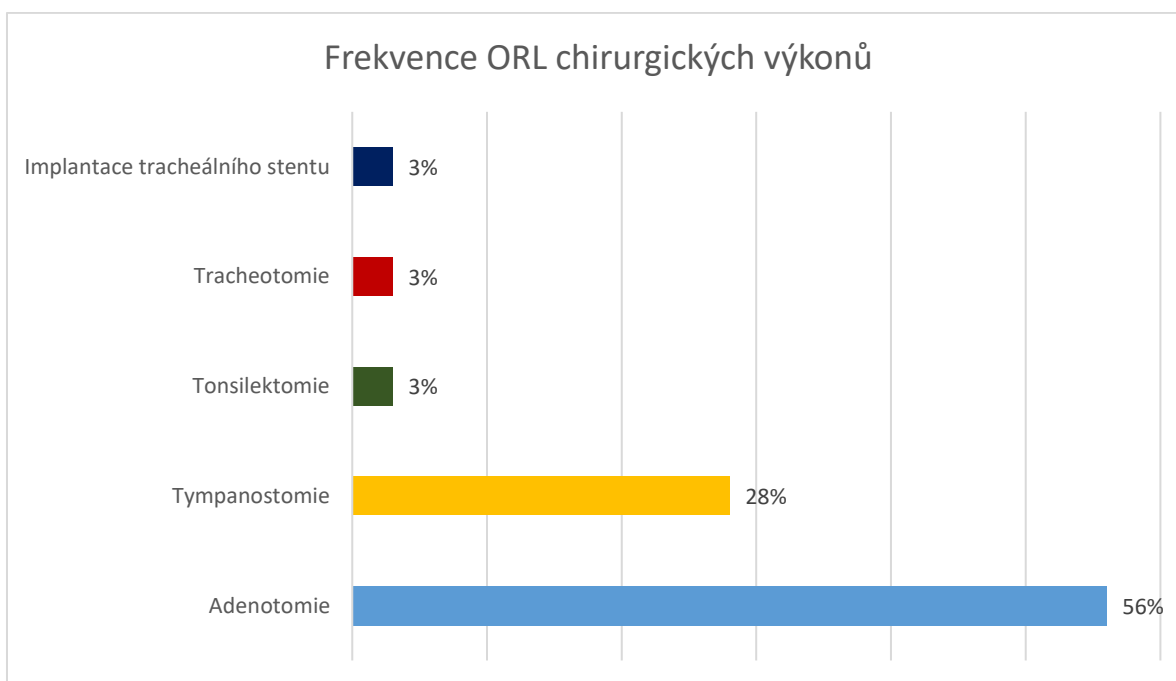
**Graf 4.1.4 Celková frekvence výskytu jednotlivých ORL příznaků v souboru 61 pacientů s různými typy MPS. (Převzato a upraveno z Murgasova L. et al., 2020.)**



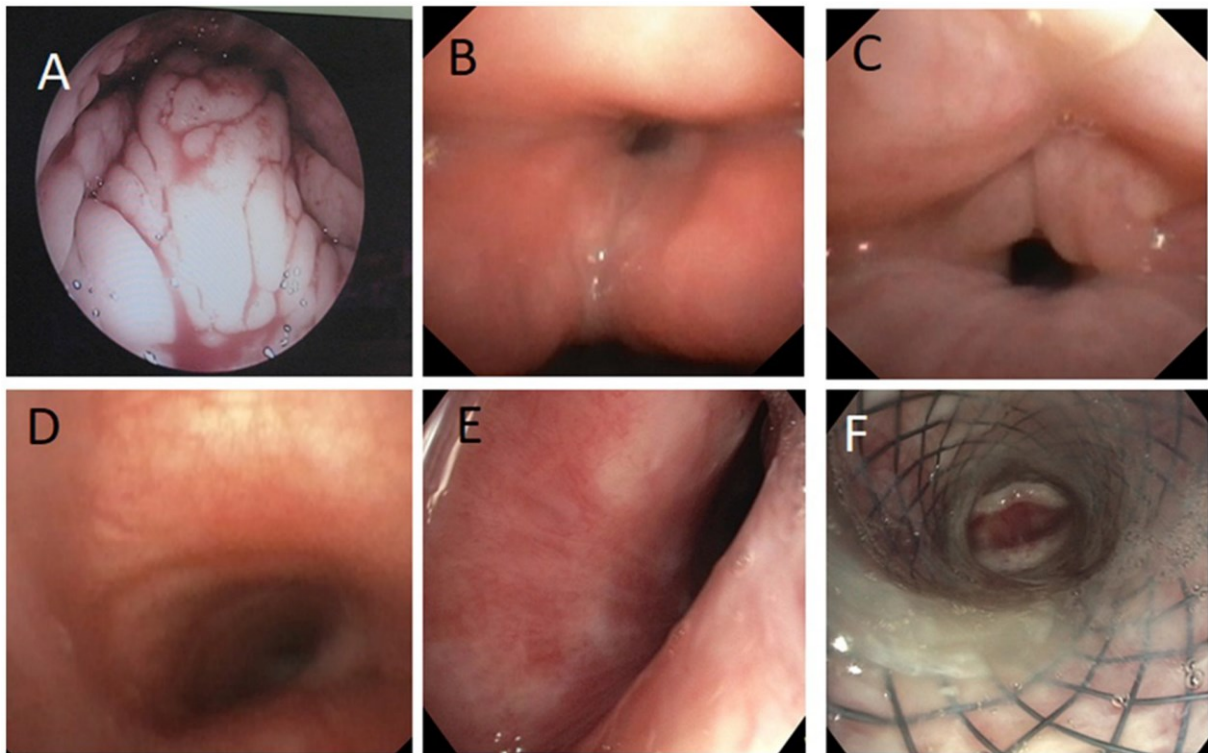
**Graf 4.1.5 Zobrazení věkového rozmezí první ORL operace a věkových mediánů první ORL operace a stanovení diagnózy jednotlivých typů MPS ve sledovaném souboru 61 pacientů s MPS.**



**Graf 4.1.6 ORL chirurgické výkony u jednotlivých typů MPS. Frekvence výskytu ORL operačních výkonů – adenotomie, tympanostomie, tonsilektomie, tracheotomie a zavedení tracheálního stentu v souboru 61 pacientů s různými typy MPS. (Převzato a upraveno z Murgasova L. et al., 2020.)**



**Graf 4.1.7 Celková frekvence výskytu ORL chirurgických výkonů v souboru 61 pacientů s různými typy MPS. (Převzato a upraveno z Murgasova L. et al., 2020.)**



**Obr. 4.1.1 Endoskopické zobrazení jednotlivých částí dýchacích cest pacientů s MPS.**  
(Převzato z Murgasova L. et al., 2020.)

*A – nosohltan s adenoidní vegetací obturující choany;*

*B, C – vchod do hrtanu s prosáklou sliznicí a tkání připomínající granulace v supraglotické oblasti přední třetiny hrtanu;*

*D, E – tracheomalacie s kolapsem přední stěny průdušnice a hlenovou sekrecí;*

*F – stav po zavedení tracheálního stentu pro těžkou tracheomalacii.*

#### 4.1.2 Diskuze

Naše studie dokumentuje v souboru 61 pacientů s různými typy MPS vysokou frekvenci výskytu ORL příznaků a skutečnost, že tyto příznaky patří k prvním projevům onemocnění. Po studii 76 pacientů Gönüldaşe et al. (Gönüldaş B. et al., 2014) se nám podařilo publikovat druhý největší soubor pacientů se zaměřením na tuto problematiku. Ostatní do té doby publikované studie na toto téma byly rozsahem výrazně menší (9 MPS pacientů u Wold S.M. et al., 2010, 20 pacientů u Mesolella M. et al., 2013). Rok po vydání naší studie vyšla práce Lee et al. s 42 pacienty (Lee C.L. et al., 2021).

Věkový medián v čase objevení se prvního ORL příznaku byl u všech typů MPS nižší než věkový medián v čase stanovení základní diagnózy. U třech čtvrtin pacientů se ORL příznaky projevíly před stanovením diagnózy MPS. V naší studii se doba od objevení se prvního příznaku po stanovení diagnózy MPS („diagnostic delay“) pohybovala od 0,1 roku (MPS I) do 33 let (MPS VI). Mediány tohoto období se pohybovaly od 1,5 roku u MPS I do 3 let u MPS IV (Tab. 4.1.1).



### **Chronická/rekurentní rinosinitida**

Opakované infekce horních cest dýchacích, především chronická/rekurentní rinosinitida, byly v našem souboru nejčastějšími a zároveň nejčasnějšími ORL příznaky (77 % pacientů), podobně jako ve studii Mesolella et al. (2013) (zaznamenány u 75 % pacientů). Etiologie chronické nosní sekrece není zcela objasněná, a může být následkem obstrukce nosohltanu nebo chronického zánětu (Muhlebach M.S. et al., 2011).

### **Akutní středoušní zánět**

I když je akutní středoušní zánět častou diagnózou u pacientů s MPS, údaje o jeho prevalenci jsou nedostatečné (Muenzer J., 2011; Muhlebach M.S. et al., 2011). V našem souboru překonala polovina pacientů alespoň jednu epizodu akutního středoušního zánětu (v běžné populaci jde o 18 % (Liese J.G. et al., 2014) a u 15 % se akutní mezotitida vyskytla opakovaně.

### **Sekretorická otitida**

Údaje týkající se výskytu sekretorické otitidy u pacientů s MPS se v literatuře různí. V naší studii byla tato diagnóza potvrzena u 36 % pacientů, ve studii Mesolella et al. (2013) u 30 % a studii Gönüldaş et al. (2014) u 84 % pacientů. V běžné populaci je výskyt udávaný v 1,3 – 12,2 % (Rushton H.C. et al., 1997; Sanli A. et al., 2014).

Zvýšené riziko vývoje sekretorické otitidy u pacientů s MPS je dáno kombinací strádání GAG (a pravděpodobně také změn extracelulární matrix) v nosohltanu a středouší, adenoidními vegetacemi, či dysfunkcí Eustachovy trubky při kraniofaciálních anomáliích (Simmons M.A. et al., 2005; Gönüldaş B. et al., 2014). Je překvapující, že sekretorická otitida, není častá jenom u pacientů s MPS typu I, II a VI, u kterých strádání dermatan a heparansulfátu vede k typickým zhrubělým rysům obličeje, ale i u pacientů s MPS typu IV, u kterých je strádání keratansulfátu a to především ve skeletu a kraniofaciální dysmorfie je vyjádřena mírně (Muenzer J., 2011).

Sekretorická otitida byla v 5 případech (25 % pacientů s diagnózou sekretorické otitidy) následkem opakovaného středoušního zánětu, který nebyl primárně řešen zavedením ventilačních trubiček (celkem 5 pacientů). Na základě tohoto pozorování doporučujeme aktivní přístup v indikaci tympanostomie v léčbě rekurentní mesotitidy. Jelikož je sekretorická otitida významnou příčinou převodní nedoslýchavosti, je její chirurgická léčba spočívající v zavedení ventilačních trubiček velmi důležitá.

## **Porucha sluchu**

Porucha sluchu převodního i percepčního typu je u pacientů s MPS častá. V našem souboru byla diagnostikována u 53 % pacientů. Dle dalších autorů je přítomná u 75–99 % pacientů s MPS (Wold S.M. et al., 2010; Mesollela M. et al., 2013; Gönüldaş B. et al., 2014). V běžné populaci je její výskyt udáván v 3,6–8,2 % (Parving A., 1999).

Věkový medián v čase potvrzení poruchy sluchu byl 4,5 roku, což potvrzuje, že tato diagnóza je většinou stanovena přibližně v čase stanovení diagnózy základního onemocnění. Porucha sluchu má velký vliv na vývoj řeči a kvalitu života (Wold S.M. et al., 2010).

Převodní nedoslýchavost je nejčastěji podmíněna sekretorickou otitidou a typicky je přítomná u mladších pacientů (Simmons M.A. et al., 2005; Keilmann A. et al., 2012). Patofyziologie senzorieurální poruchy sluchu není dostatečně objasněna (Simmons M.A. et al., 2005; Muhlebach M.S. et al., 2011); je popsána degenerace vláskových buněk a také vliv strádání GAG na struktury vnitřního ucha a kochleárního nervu (Friedmann I. et al., 1985; Smith R.J. et al., 1992).

Podobně jako u sekretorické otitidy, není porucha sluchu doménou pouze pacientů s MPS I a MPS II, ale je přítomná také u pacientů s MPS typu IV.

Vzhledem k možné progresi sluchové vady je u pacientů s MPS doporučováno pravidelné vyšetření sluchu a v rehabilitaci použití sluchadel (Muenzer J. et al., 2009b; Keilmann A. et al., 2012). U mnohých pacientů dochází v průběhu základního onemocnění k prohlubování kognitivního deficitu a zároveň se zvyšuje riziko spojené s celkovou anestezií nutné k provedení objektivní audiometrie (ABR, sluchové kmenové potenciály). Z těchto důvodů je objektivizace i léčba poruchy sluchu značně omezena.

## **Obstrukce horních a dolních cest dýchacích**

K obstrukci horních a dolních dýchacích cest dochází následkem strádání GAG, zvýšené hlenové sekrece, skeletálních abnormalit a snížené pohyblivosti kloubů. Submukózní ztluštění, se objevuje nejdříve v horních a později v průběhu onemocnění i v dolních dýchacích cestách. Infiltrace lymfatické tkáně faryngu vede k alteraci normální funkce dýchacích cest a tím k opakovaným respiračním infektům a obstrukci dýchacích cest (Muhlebach M.S. et al., 2013). Obstrukce horních cest dýchacích způsobená adenoidní hypertrofií byla přítomná v našem souboru u 65 % pacientů. Tento údaj odpovídá studiím jiných autorů – Wold et al. uvádí výskyt obstrukce horních cest dýchacích u 44 % pacientů, ostatní autoři u 70-75 % pacientů (Wold S.M. et al., 2010; Muhlebach M.S. et al., 2011; Mesollela M. et al., 2013; Gönüldaş B. et al., 2014).

Obstrukcí horních cest dýchacích byli nejvíce postiženi pacienti s MPS typu I a typu II, což je v korelaci s daty publikovanými ve studii Muhlebach et al. (2013). V důsledku častého výskytu hypertofie adenoidní tkáně jako hlavní příčiny obstrukce horních cest dýchacích je adenotomie nejčastějším ORL operačním výkonem (56 % pacientů v našem souboru, 40 % v souboru publikovaném Mesollelou a 33 % v souboru pacientů Gönüldaşe (Mesolella M. et al., 2013; Gönüldaş B. et al., 2014).

Polysomnografie je důležitou metodou v diagnostice syndromu obstrukční spánkové apnoe. V našem souboru byla po jejím provedení indikována adenotozilektomie u jedné pacientky a u 4 pacientů byla zahájena přetlaková léčba (BiPAP – bipolární pozitivní tlak v dýchacích cestách, CPAP – kontinuální pozitivní tlak v dýchacích cestách).

Chronická obstrukce dýchacích cest, která je provázena progresivním respiračním postižením a srdečním selháním, je významnou příčinou mortality u pacientů s MPS (Karl R. et al., 2016). Infiltrace submukózy a chrupavek tracheobronchiálního stromu v důsledku strádání se typicky objevuje v pozdějších fázích onemocnění a vede k tracheální stenóze a/nebo tracheobronchomalacii především u pacientů s MPS typu I a II (Muhlebach M.S. et al., 2011). Vzhledem k prodloužení délky života pacientů při použití ERT jsou symptomy dány obstrukcí dolních cest dýchacích a nutnost jejich řešení stále aktuálnější (Karl R. et al., 2016; Kampmann C. et al., 2017). Intervenční výkony prováděné na tracheobronchiálním stromu jsou velmi náročné (Muhlebach M.S. et al., 2013; Walker R.W.M. et al., 2013). Jako paliativní přístup přichází do úvahy u pacientů s tracheobronchomalacií a/nebo stenózou dolních cest dýchacích implantace tracheálního stentu. I když zavedení stentu může přinést dobré krátkodobé výsledky, u mnoha pacientů je tento výkon komplikován tvorbou granulační tkáně, migrací stentu, porušenou mukociliární clearance a chronickou plicní infekcí (Karl R. et al., 2016; Kampmann C. et al., 2017).

V našem souboru podstoupil z důvodu tracheobronchomalacie implantaci tracheálního stentu jeden pacient s MPS typu II ve věku 19 let. I když bylo zavedení stentu komplikováno tvorbou granulační tkáně, jeho implantace vedla k prodloužení života pacienta a umožnila zavedení domácí ventilace (Murgašová L. et al., 2020). Tracheální stent byl také zaveden z důvodu tracheální stenózy u 51letého pacienta s MPS typu VI. Tracheostomie byla provedena u 2 pacientů (1 s MPS typem II a 1 s MPS typem I) z důvodu respiračního selhání a potřeby dlouhodobé ventilace.

### **4.1.3 Závěr**

Mukopolysacharidózy jsou progresivní onemocnění charakterizovaná multisystémovým postižením. ORL problematika je u většiny pacientů dominantní součástí klinické manifestace. Výsledky naší studie poukazují na vysoký a včasný výskyt ORL příznaků a časté provádění operačních výkonů nutných k jejich řešení. Zdůrazňují tak roli otorinolaryngologů, kteří o pacienty pečují často ještě před stanovením diagnózy mukopolysacharidózy. Zvýšení povědomí mezi ORL lékaři je důležité ke zrychlení záchytu pacientů s MPS a následné možnosti časného stanovení diagnózy, které je zásadní pro neodkladné zahájení léčby a tím zlepšení jejího efektu. Po stanovení diagnózy jsou ORL lékaři nedílnými účastníky dlouhodobé multidisciplinární péče o tyto pacienty.

## 4.2 Popis anesteziologického rizika u pacientů s MPS

**Praktické aspekty podávání anestezie u dětí s MPS jsme shrnuli v publikaci v recenzovaném odborném časopise**

Murgašová L., Jurovčík M., Biskupová V., Pavlíčková J., Magner M. Mukopolysacharidózy z pohledu otorinolaryngologa. Otorinolaryng. a Foniat. /Prague/. 2018;67(2):62–67.

**Kazuistika komplikovaného zajištění dýchacích cest se zavedením tracheálního stentu u dospělého pacienta s MPS II byla publikována v odborném časopise s IF**

Murgašová L, Votruba J, Otáhal M, Michálek P, Zeman J, Magner M. Implantation eines Trachealstents bei erwachsenem Patienten mit Morbus Hunter [Tracheal stent implantation in an adult patient with Hunter syndrome]. Laryngorhinootologie. 2020 Mar;99(3):173-175. German. doi: 10.1055/a-1018-5878. Epub 2020 Jan 9. PMID: 31918447.

IF (2020) 1,057; Q4-OTORHINOLARYNGOLOGY

### 4.2.1 Praktické aspekty a postup při anestezii dětí s MPS

V rámci PhD studia jsem ve spolupráci s MUDr. Věrou Biskupovou a MUDr. Janou Pavlíčkovou z Kliniky anesteziologie a resuscitační péče 2. LF UK a FN Motol shromáždili soubor pacientů, kteří v období 2018-2021 podstoupili výkon v celkové anestezii ve FN Motol. Během této doby byla celková anestezie aplikována celkem u 17 dětí s MPS ve věku od 1 do 16 let (Tab. 4.2.1.). Mezi nejčastější výkony patřily operace v ORL oblasti, kdy v 7 případech šlo o zavedení tympanostomických trubiček, z toho jednou v kombinaci s adenotomií. V průběhu těchto výkonů byly dýchací cesty zajištěny laryngeální maskou, v případě adenotomie či tonzilektomie endotracheální intubací pomocí flexibilního endoskopu (fibroskopická intubace). Závažná komplikace se vyskytla jedenkrát – jednalo se o selhání ventilace přes laryngeální masku s nutností endotracheální intubace pod endoskopickou kontrolou. U jednoho pacienta s MPS II bylo po úvodu do anestezie a insuficientním zajištění dýchacích cest laryngeální maskou od výkonu (zavedení tympanostomických trubiček) ustoupeno pro vysoké riziko nutného provedení tracheostomie.

**Tab. 4.2.1 Operační výkony, způsob zajištění dýchacích cest a popis komplikací v průběhu celkové anestezie u 17 pacientů s různými typy MPS operovaných ve FN Motol v Praze od roku 2018 do roku 2021 (ve spolupráci s MUDr. Věrou Biskupovou a MUDr. Janou Pavlíčkovou, data dosud nepublikována).**

Typ MPS/ počet pacientů	Typy operačních výkonů	Zajištění dýchacích cest	Věk (roky)	Komplikace
MPS I 2	TST AT + TST	FLM FBI přes LM	5 7	
MPS II 9	2x sanace chrupu CŽK – port AT, TE 3x TST, LTBS Plánovaná TST	FBI, LM LM FBI LM	12, 9 1, 5 6 5, 7, 9, 15	Selhání ventilace přes LM, nutná fibroskopická intubace Ustoupeno od výkonu
MPS III 1	AT, otomikroskopie	FBI přes LM	8	
MPS IV 4	TST CT, MRI extrakce kovu TST	LM 0 FLM FLM	5 5 16 7	
MPS VI 1	Operace karpálních tunelů	LM	11	

*AT – adenotomie, TST – tympanostomie (zavedení ventilačních trubiček),  
FLM – flexibilní laryngeální maska; LM – laryngeální maska, FBI – fibroskopická intubace*

Praktické zkušenosti a doporučení pro vedení anestezie jsme shrnuli v publikaci Murgašová et al. 2018 následovně:

Před podáním celkové anestezie se zaměřujeme na důslednou anesteziologickou anamnézu (předchozí operace a průběh anestézie). Vzhledem k multisystémovému postižení by předanestetické vyšetření mělo obsahovat podrobné pediatrické vyšetření, včetně vyšetření srdce (nutnost podání antibiotické prevence), CNS (hydrocefalus, psychomotorická retardace), krční páteře (MRI) a dýchacího systému (spirometrie).

Z výše uvedených příčin je pro pacienty s MPS nejrizikovější úvod do celkové anestézie, zejména zajištění dýchacích cest. Kombinace selhání ventilace přes obličejovou masku,

kardiálního postižení a obtížné intubace může vést i k náhlému úmrtí. Při zajišťování dýchacích cest je kontraindikován záklon hlavy, přednostně dýchací cesty zajišťujeme laryngeální maskou. V případě nutnosti intubace volíme techniku fibrooptické intubace pomocí flexibilního endoskopu v inhalační anestézii sevofluranem se zachovanou spontánní ventilací. Vhodná je kombinace s lokální anestézií horních cest dýchacích a vchodu do hrtanu. V případě selhání předchozích technik je na místě provedení tracheotomie. Pacienty monitorujeme jak po podání sedace v premedikaci (např. Midazolam max.0,2 mg/kg) tak i po podání celkové anestézie pro možnou obstrukci dýchacích cest v pooperačním období.

Anestézii u pacientů s MPS by měl podávat zkušený anesteziolog vybavený potřebnými pomůckami pro obtížné zajištění dýchacích cest i u zdánlivě banálních operačních zákroků jako je inserce tympanostomických trubiček nebo adenotonzilektomie. Zároveň i operační zákrok by měl provádět zkušený operátor z důvodu maximální eliminace možných komplikací a nutnosti podání další anestézie.

#### **4.2.2 Vzácná kazuistika implantace tracheálního stentu u dospělého pacienta s Hunterovým syndromem**

##### **Úvod**

Typickým příznakem MPS I a MPS II je obstrukce dýchacích cest, které se nejdříve manifestuje v horních a později při progresi onemocnění i v dolních cestách dýchacích jako tracheobronchomalacie. Jedná se o těžko řešitelný problém spojený s rizikem kolapsu a následným úplným uzavřením dýchacích cest. Dosud byly publikovány jenom 3 případy implantace tracheálního stentu u pacientů s MPS typu II (Davitt S.M. et al., 2002; Karl R. et al., 2016; Kampmann C. et al., 2017). Ve všech případech vedla implantace stentu k rychlé, ale krátkodobé úpravě klinických symptomů a umožnila ukončení ventilační podpory (Karl R. et al., 2016; Kampmann C. et al., 2017). Ve dvou případech bylo nutné opakované bronchoskopické vyšetření s úpravou polohy tracheálního stentu a odstraněním granulační tkáně (Davitt S.M. et al., 2002; Karl R. et al., 2016). V naší kazuistice jsme prezentovali 19letého pacienta s MPS typu II, u kterého zavedení tracheálního stentu z důvodu tracheomalacie vedlo k prodloužení života a umožnilo použití domácí ventilační podpory.

## Kazuistika

U 19letého pacienta s multisystémovou manifestací MPS typu II došlo i přes léčbu respiračního infektu antibiotiky a bronchodilatátory k rozvoji dyspnoe, hypoventilace a respiračnímu selhání.

První příznaky základního onemocnění jako makrocefalie, bilaterální inguinální hernie a hepatosplenomegalie se objevily již v dětském věku (Obr. 4.2.1). Pacient trpěl opakovanými respiračními infekcemi a opakovanými záněty středouší. V klinickém obraze byly dále přítomny hrubé rysy obličeje, skeletální dysplazie, svalové kontraktury. Mentální vývoj byl lehce opožděn od raného dětství. Pacient opakovaně podstoupil adenotomii a také zavedení ventilačních trubiček pro chronickou sekretorickou otitidu. Dále byla u pacienta diagnostikována kombinovaná restriktivní a obstrukční plicní nemoc, lehká mitrální regurgitace, stenóza aortální chlopně a porucha sluchu. Z dalších chirurgických výkonů byla provedena oboustranná dekomprese karpálního a kubitálního tunelu a osteosyntéza kyčelního kloubu pro osteonekrózu. Diagnóza MPS typu II byla na metabolické úrovni stanovena v pěti letech. Bylo potvrzeno zvýšené vylučování GAG (61 mol/g kreatininu; kontrola < 15,5) a snížená aktivita iduronát-2-sulfatázy v izolovaných leukocytech (< 5% referenční hodnoty). Molekulární analýza potvrdila patogenní variaci (mutaci) c.[1181-1G>A] v *IDS* genu na chromozomu X. Ve věku 10 let byla u pacienta zahájena enzymová substituční terapie, která vedla k redukcí objemu jater a sleziny a také vylučování GAG v moči.

Z důvodu respiračního selhání při respiračním infektu byly dýchací cesty obtížně zajištěny orotracheální intubací a zahájena mechanická ventilace. V průběhu intubace došlo pravděpodobně k perforaci peritonzilárního abscesu, který byl při základním klinickém vyšetření pro výraznou makroglosii přehlédnut. Vzhledem k opakovaně neúspěšné extubaci byla 4. den od intubace provedena tracheotomie. I poté bylo nutné pokračovat ve ventilační podpoře a k udržení dostatečného lumen trachey musely být hodnoty PEEP (positive end expiration pressure) udržovány na hodnotách do 10 cm H<sub>2</sub>O. Následně provedená flexibilní bronchoskopie odhalila difúzní prosáknutí a téměř kompletní kolaps stěny trachey distálně od konce tracheostomické kanyly s mírnou stenózou hlavních bronchů (Obr. 4.2.2). Předozadní rozměr průdušnice byl v místě malacie zúžen na 2-3 mm a malatický úsek trachey měl délku 3 cm. Autoflorescenční bronchoskopie neprokázala patologii bronchiálního systému. V celkové intravenózní anestezii propofolem a alfentanilem byl přes tracheostomickou kanylu zaveden endotracheální stent Microtech 18x40 (Obr. 4.2.3). V průběhu intervence byl s cílem předejít atlantoaxiální subluxaci minimalizován pohyb v oblasti krční páteře. I po zavedení tracheálního stentu byla u pacienta nutná ventilační podpora s vysokými hladinami PEEP. Z toho důvodu



byla provedena po třech týdnech kontrolní bronchoskopie s kontrolou polohy stentu a odstraněním granulací v oblasti distálního konce. V průběhu vyšetření byla navíc nalezena extramurální dynamická stenóza obou hlavních bronchů. Zvažovaná inserce „Y“ stentu byla kontraindikována z důvodu možného poškození cervikální míchy při hyperextenzi krční páteře nutné k zavedení rigidního bronchoskopu. I propuštění do domácího péče byla u pacienta nadále nutná kontinuální ventilační podpora přes tracheostomii. Pacient zemřel o 7 měsíců později v důsledku kardiálního selhání.

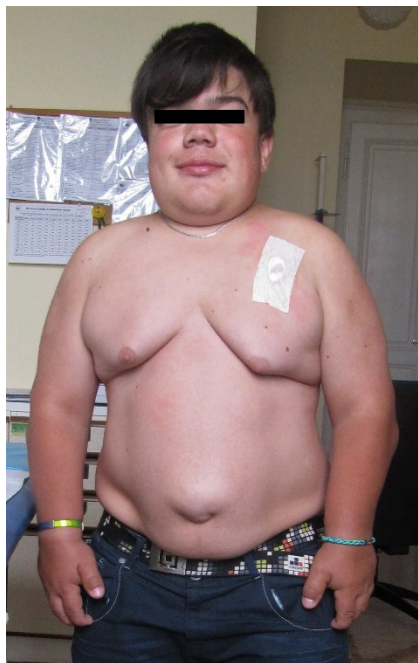
## **Diskuze**

Progresivní respirační postižení a kardiální selhání v důsledku chronické respirační obstrukce jsou častými příčinami úmrtí u pacientů s MPS typu II (Karl R. et al., 2016). Tracheo- a bronchomalacie mohou vést k signifikantní obstrukci dolních dýchacích cest (Muhlebach M.S. et al., 2013). Ta může být dále vystupňována kompresí dýchacích cest z tkání mediastina. Restrikční plicní nemoc se vyvíjí sekundárně při hepatosplenomegalii s následnou omezenou pohyblivostí bránice, dále z důvodu snížené hybnosti hrudního koše při abnormitách žeber a páteře.

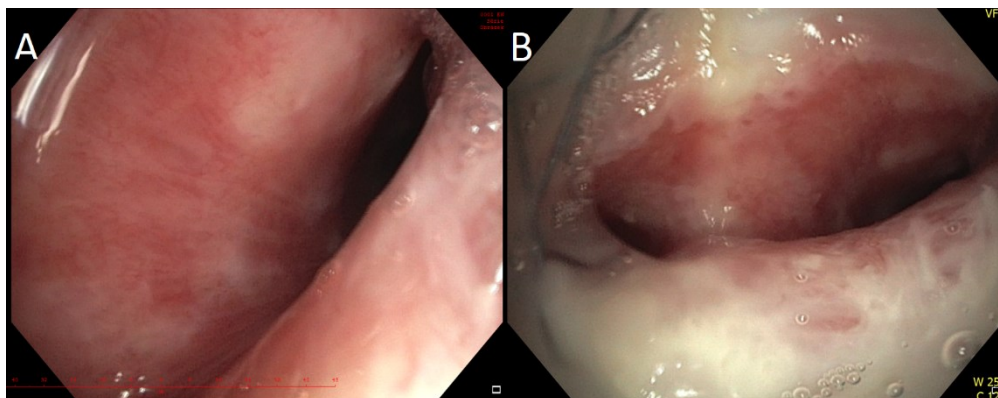
Léčba pacientů s MPS enzymovou substituční terapií (ERT) mění přirozený průběh nemoci, ale její vliv na obstrukci dýchacích cest a malacii není známý. I když v průběhu ERT může dojít ke zlepšení plicních funkcí, závažné respirační postižení obvykle přetrvává (Muhlebach M.S. et al., 2013). Prodloužením délky života pacientů díky ERT se mohou projevy závažného postižení dýchacích cest objevovat ve vyšším věku (Kampmann C. et al., 2017). Abnormality dýchacích cest mohou vést k závažným, potenciálně fatálním komplikacím v průběhu výkonů v celkové anestezii (Muhlebach M.S. et al., 2013). Zatímco závažné obstrukce v oblasti horních cest dýchacích mohou být řešeny tracheotomií, pro obstrukční postižení dolních cest dýchacích malacií nebo stenózou nejsou stanoveny doporučené postupy (Kampmann C. et al., 2017). Intervenční výkony v oblasti tracheobronchiálního stromu jsou velmi náročné a nesou s sebou riziko vyplývající z atlantoaxiální instability s možným poraněním míchy a následnou kvadruparezou (Muhlebach M.S. et al., 2013). Implantace stentu představuje paliativní léčbu tracheobronchomalacie a/nebo stenózy dolních cest dýchacích u MPS pacientů. Zavedení stentu může vést k výraznému, často krátkodobému zlepšení klinického stavu, ale je velmi často komplikováno výraznou akumulací hlenu, chronickou plicní infekcí, tvorbou granulační tkáně nebo dislokací vyžadující opakované bronchoskopické intervence (Karl R. et al., 2016; Kampmann C. et al., 2017).

## Závěr

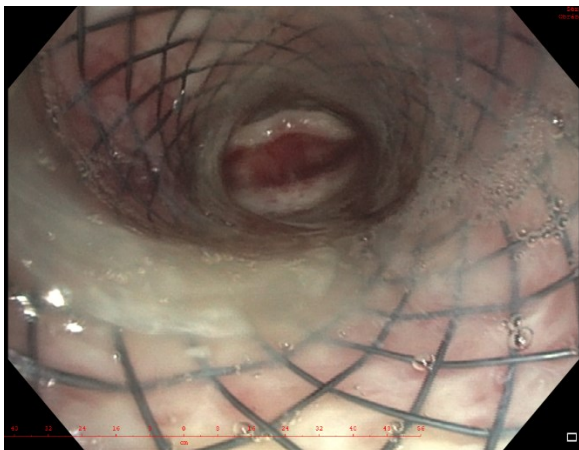
V našem sdělení jsme popsali kazuistiku pacienta s MPS typu II s těžkou obstrukcí průdušnice způsobenou tracheomalacií, která byla řešena implantací tracheálního stentu. I když bylo zavedení komplikováno tvorbou granulační tkáně, implantace stentu významně prodloužila pacientův život a umožnila zahájení domácí plicní ventilace.



**Obr. 4.2.1** 19letý pacient s MPS II s typickými rysy, které zahrnují makrocefalii, hrubé rysy obličeje, umbilikální hernii, hepatosplenomegalii, nízkou postavu a kloubní kontraktury. (Převzato z Murgašová L. et al., 2020.)



**Obr. 4.2.2** Endoskopické nálezy v oblasti trachey. (Převzato z Murgašová L. et al., 2020.)  
2A – difuzní prosáknutí sliznice trachey a výrazně zúžený lumen při tracheomalacii;  
2B – mírná stenóza hlavních bronchů při bronchomalacii.



***Obr. 4.2.3 Endoskopický obraz po zavedení tracheálního stentu Microtech do trachey.  
(Převzato z Murgašová et al. 2020.)***

### **4.3 Histologická studie lymfoepiteliální tkáně odebrané v rámci ORL výkonů u pacientů s MPS**

#### **Výsledky byly publikovány v práci v odborném časopise**

Murgasova L, Hulkova H, Baresova V, Jurovcik M, Stritesky J, Jurickova K, Magner M, Sikora J. Adenotonsillar pathology in mucopolysaccharidoses – lysosomal storage predominates in paracortical CD63+ cells. *Virchows Arch.* 2023 Oct 3. doi: 10.1007/s00428-023-03662-y. Epub ahead of print. PMID: 37787787.

IF (2022) 3,5; Q2 –PATHOLOGY

I když je adenotomie u pacientů s MPS nejčastěji prováděným výkonem v ORL oblasti, není dosud tkáňová a buněčná patologie lymfoepiteliální tkáně dostatečně popsána. V naší práci jsme identifikovali (imuno)histochemický a ultrastrukturální fenotyp podmíněný lysosomálními stádacními změnami ve specifickém podtypu adenotonzilárních parakortikálních buněk u osmi MPS pacientů (3 MPS I, 3 MPS II a 2 MPS IIIA). Tyto abnormální buňky byly dobře detekovatelné pomocí protilátky cílicí na lysosomální membránový tetraspanin CD63. Důležitým nálezem bylo, že tyto CD63+ stádacní vakuoly postrádaly monocytární/makofágový marker CD68. Změny identifikované u MPS pacientů nebyly přítomné v adenotonzilární tkáni pacienta s infantilní neuroviscerální variantou deficitu kyselé sfingomyelinázy (ASM) (MIM 257200). CD63+ stádání nebylo přítomné ani u dvou MPS I pacientů, kteří byli před provedením adenotomie léčeni enzymovou substituční terapií (ERT) nebo podstoupili transplantaci hematopoetických buněk (HSCT).

V naší studii prezentujeme nové poznatky o (imuno)histologické a ultrastrukturální patologii adenotonzilární tkáně pacientů s MPS. Klíčovým nálezem je definování stádacních změn v CD63+/CD68- lysosomech specifických buněk lymfoidního parakortexu.

#### **4.3.1 Výsledky**

Ve vzorcích tkání všech pacientů (včetně kontrol – non-MPS/non-LSD) byly přítomné nespecifické histopatologické zánětlivé změny korespondující s nálezy běžně asociovanými s klinickou diagnózou adenotonzilární hypertrofie. Lymfoidní tkáň byla kryta lokálně erodovaným pseudostratifikovaným ciliárním respiračním epitelem a/nebo skvamozním epitelem. Místy byla pozorována akumulace neutrofilních leukocytů a tvorba mikroabscesů.

Lymfoidní germinální centra byla hyperplastická s početnými vakuolizovanými histiocyty/makrofágy.

Distribuce CD3 pozitivních (CD3+) a CD20+ lymfocytů byla obvyklá u všech pacientů (#1–#9) (Tab. 4.3.1) i kontrol.

U pacientů #3 až #8 byla charakteristickým nálezem populace PAS pozitivních vakuolizovaných hvězdicovitých buněk lokalizovaných v subepiteliálních a lymfoidních parakortikálních oblastech. Vakuolizované parakortikální buňky přítomné u pacientů #3 - #8 byly CD68 negativní (CD68-) ale silně CD63 pozitivní (CD63+) (Obr. 4.3.1 a-d). Ostatní markery (CD3, CD20, CD45RO, CD31m S-100m CD1a, Langerin, desmin, vimentin, a aktin hladké svalové tkáně) byly v těchto vakuolizovaných parakortikálních buňkách negativní.

Ultrastrukturální analýza všech vzorků ukázala makrofágy germinálních center, které obsahovaly pleomorfní, membránou ohraničené vakuoly, které ale postrádaly typické vlastnosti MPS lysosomálního stádní (Obr. 4.3.1e). U pacientů #3 - #8 byla v parakortikálních oblastech detekovaná síť (reziduálně) hvězdicovitých buněk s expandovanou vakuolizovanou cytoplasmou (Obr. 4.3.1f). Tyto jednoduchou membránou ohraničené vakuoly, měly morfologii typickou pro MPS stádní. Většina z nich byla světlého vzhledu s jemným zrnitým obsahem. Ojediněle byla přítomná zebrovitá tělíska (Obr. 4.3.1 g).

Lysosomální původ (CD63+/CD68-) stádních vakuol byl potvrzen trojitým značením s lysosomálně asociovaným membránovým proteinem 2 (LAMP2) (Obr. 4.3.2).

Nálezy (Obr. 4.3.3) u pacienta #1 (MPS I léčen HSCT 4 roky a 4 měsíce před provedenou adenotomií) a pacienta #2 (lehká forma MPS I – Scheie léčen ERT 7 měsíců před provedenou adenotomií) (Tab.4.3.1) byly srovnatelné s nálezem v tkáních non-MPS/non-LSD kontrol (Obr. 4.3.5).

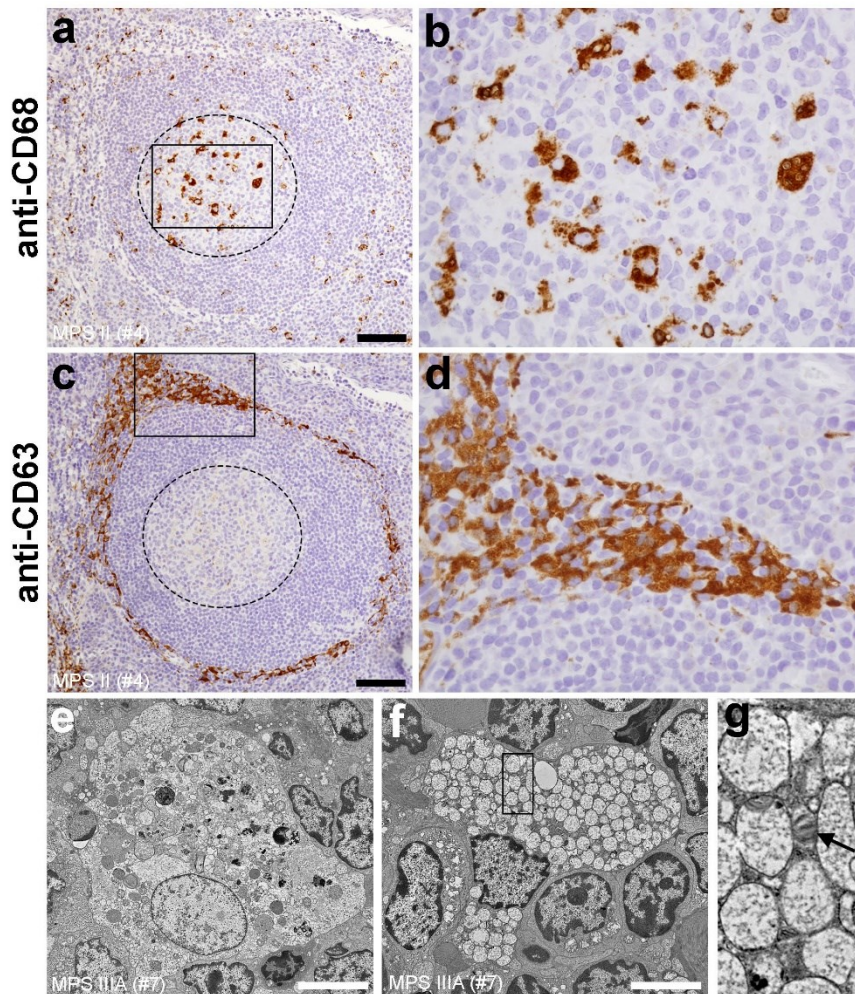
CD63+ značení bylo v lysosomálním stádním postižených buňkách jiných tkání MPS pacientů (mimo adenotonzilární tkáň) variabilní.

CD63+/CD68- lysosomální stádní v adenotonzilárním parakortexu nalezené u pacientů s MPS nebylo přítomné u pacienta s infantilní neuroviscerální formou deficitu kyselé sfingomyelinázy (Obr. 4.3.6).

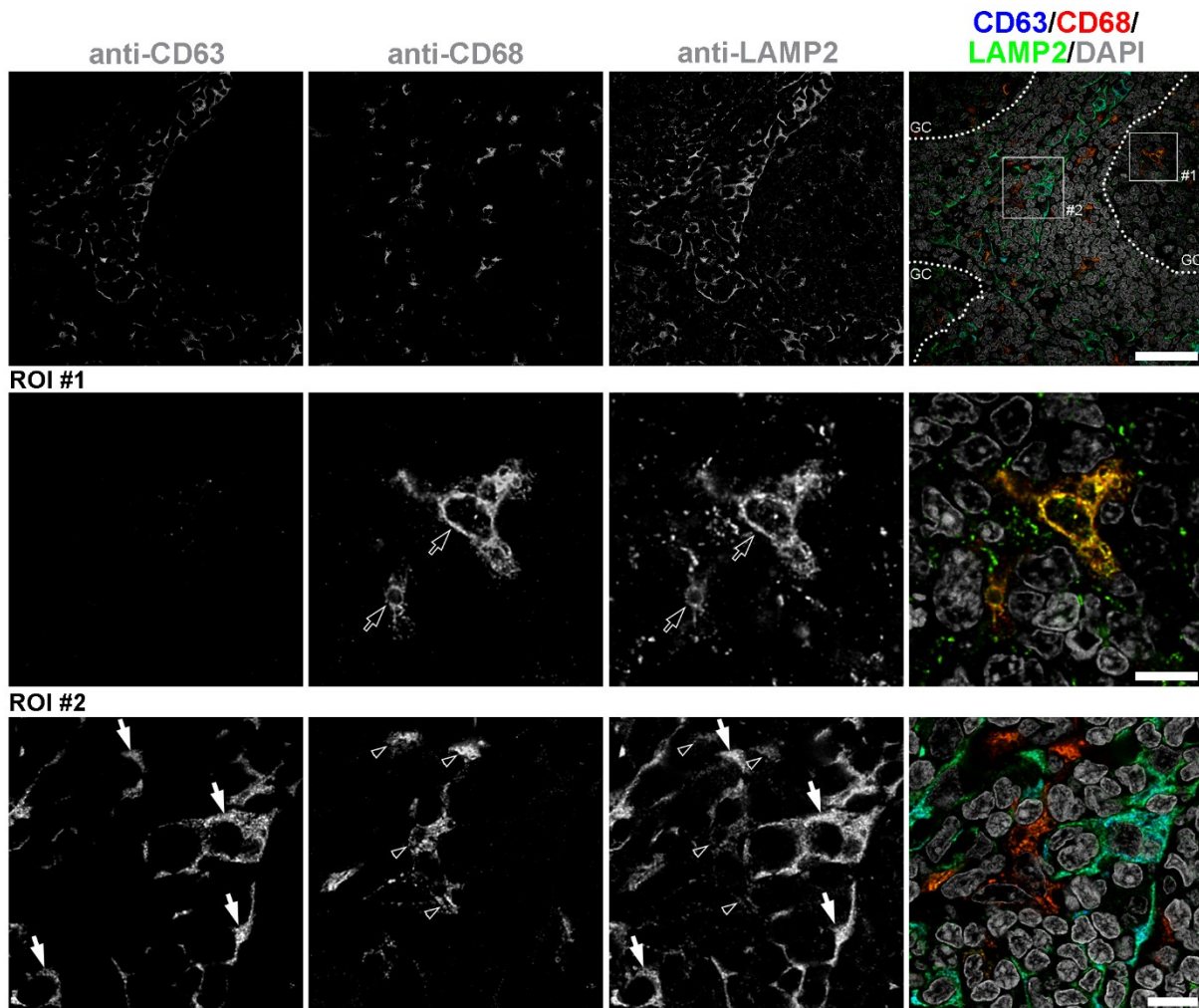
**Tab. 4.3.1 Charakteristika souboru pacientů – klinické nálezy.** (Převzato a upraveno z Murgasova L. et al., 2023.)

<b>Pacient #/ Pohlaví/ Věk*</b>	<b>MPS typ – genová mutace</b>	<b>Věk v čase diagnózy/ První příznaky/ terapie</b>	<b>ORL manifestace/ Věk v čase ORL výkonu</b>
1/ Ž/ 10 r 6 m	MPS I – IDUA	1 r 11 m/ Recidivující infekce HCD, kardiomyopatie, opoždění vývoje/ 2 r – zahájení ERT, 2 r 3 m ukončení ERT, HSCT	Směšená porucha sluchu/ 4 r 7 m – TST, 6 r 7 m – AT
2/ Ž/ 10 r 10 m	MPS I – IDUA	1 r 5 m/ Umbilikální hernie, mitrální regurgitace, šelest, kloubní kontraktury/ 5 r 8 m – zahájení ERT	Směšená porucha sluchu, recidivující infekce HCD/ 6 r 3 m – TST, AT
3/ Ž/ 1 r 5 m	MPS I – IDUA	1 r 6 m/ Kloubní kontraktury, splenomegalie/ 4 r 8 m – zahájení ERT, 5 r ukončení ERT, HSCT	Obstrukce HCD/ 4 r 7 m – AT
4/ Ž/ 12 r 11 m	MPS II – IDS (skewed XCI)	1 r 4 m/ Makrosomie, obstrukce HCD/ 4 r – zahájení ERT, 8 r – ukončení ERT	2 r – AT 4 r – porucha sluchu, rehabilitace sluchadly OSAS – Apnoea-Hypopnea index (AHI 13) 7 r 4 m – AT a TE s úpravou spánkových parametrů
5/ M/ 6 r 7 m	MPS II – IDS	1 r 2 m/ Inguinální hernie, infekce HCD/ 16 m – zahájení ERT, 2 r 4 m – ukončení ERT	Obstrukce HCD, chronická rinosinusitida, sekretorická otitida/ 2 r 5 m – TST, AT
6/ M/ 7 r 1 m	MPS II – IDS	2 r 1 m/ Recidivující infekce HCD, opoždění vývoje, hypotonie, umbilikální hernie / 2 r 5 m – zahájení ERT	Recidivující infekce HCD, recidivující středoušní infekce/ 2 r 8 m – TST, AT Středně těžká sensorineurální nedoslýchavost/ rehabilitace sluchadly
7/ Ž/ 10 r 8 m	MPS IIIA – SGSH	2 r/ Opoždění vývoje, chronická rinosinusitida	Recidivující infekce HCD, chronická rinosinusitida, chrápání/ 6 r – AT
8/ Ž/ 5 r 11 m	MPS IIIA – SGSH	3 r 6 m/ Opoždění vývoje, recidivující infekce HCD, hepatosplenomegalie/ 3 r 8 m – zahájení SRT (Genistein)	Recidivující infekce HCD/ 3 r 9 m – AT
9/ M/ 10 r 10 m	NP A/B	3 r 2 m/ hepatosplenomegalie	Obstrukce HCD (chrápání, apnoe), chronická rinosinusitida/ 6 r 5 m – AT

*M – muž, Ž – žena, r – roky, m- měsíce, HCD – horní cesty dýchací, AT – adenotomie, TE – tonzilektomie, TST – tympanostomie, ERT – enzymová substituční terapie, HSCT – transplantace hematopoetických kmenových buněk, IDUA – α-L-iduronidáza, IDS – iduronát-2-sulfatáza, SGSH – N-sulfoglucosamine sulfohydrolase, NP A/B – Niemann-Pickova choroba A/B, \*Věk k 31.7. 2023*



**Obr. 4.3.1 Klíčové (imuno)histochemické a ultrastrukturální charakteristiky v adenotonzilární patologii pacientů s MPS. (Převzato z Murgasova L. et al., 2023.)**  
**(a, b)** CD68<sup>+</sup> makrofágy přítomné především ve folikulárních germinálních centrech (vyznačeno přerušovanou čarou). Obraz v **b** odpovídá oblasti v obdélníku v **a**;  
**(c, d)** vakuolizované CD63<sup>+</sup> vyskytující se v parakortexu. Obraz v **d** odpovídá obdélníku v **c**;  
**(e)** cytoplazma makrofágů folikulárního germinálního centra obsahuje pleomorfní vakuoly;  
**(f)** parakortikální buňky obsahující membránou ohraničené strádací vakuoly s jemným granulárním obsahem;  
**(g)** ojedinělá zebrovitá tělíska (černá šipka). Obraz odpovídá oblasti v obdélníku v **f**;  
**(a-d)** MPS II (pacient #4); **(e-g)** MPS IIIA (pacient #7).  
Měřítko 100  $\mu\text{m}$  (**a, c**); 2  $\mu\text{m}$  (**e, f**).



**Obr. 4.3.2 Distribuce CD63+ a CD68+ lysosomů v adenotonzilární tkáni pacientů s MPS.**  
(Převzato z Murgasova L. et al., 2023.)

Vzorky byly trojitě značeny s anti-CD63, anti-CD68 a anti-LAMP2 primárními protilátkami a následně detekované fluorescenčně značenými druhově specifickými sekundárními protilátkami.

Tečkovaná čára ohraničuje germinální centrum (GC).

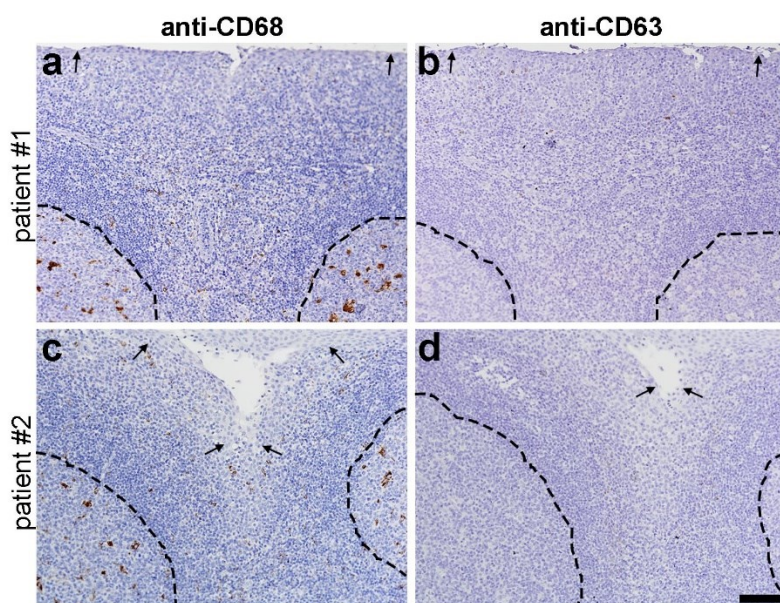
Oblast #1 (Region of interest, ROI #1) je lokalizována do germinálního centra. Oblast zájmu 2 je lokalizována v parakortexu.

Makrofágy germinálního centra (ROI #1, prázdná šipka) jako i makrofágy v parakortexu (ROI #2, prázdná hlavička šipky) obsahují CD68+ lysosomy (LAMP2+), které jsou CD63-.

Specifická populace parakortikálních buněk (ROI #2, 4 bílé šipky) obsahují množství CD63+ střádacích LAMP2+ lysosomů.

Měřítka 40  $\mu\text{m}$  (horní řada); 10  $\mu\text{m}$  (střední řada), 10  $\mu\text{m}$  (dolní řada).



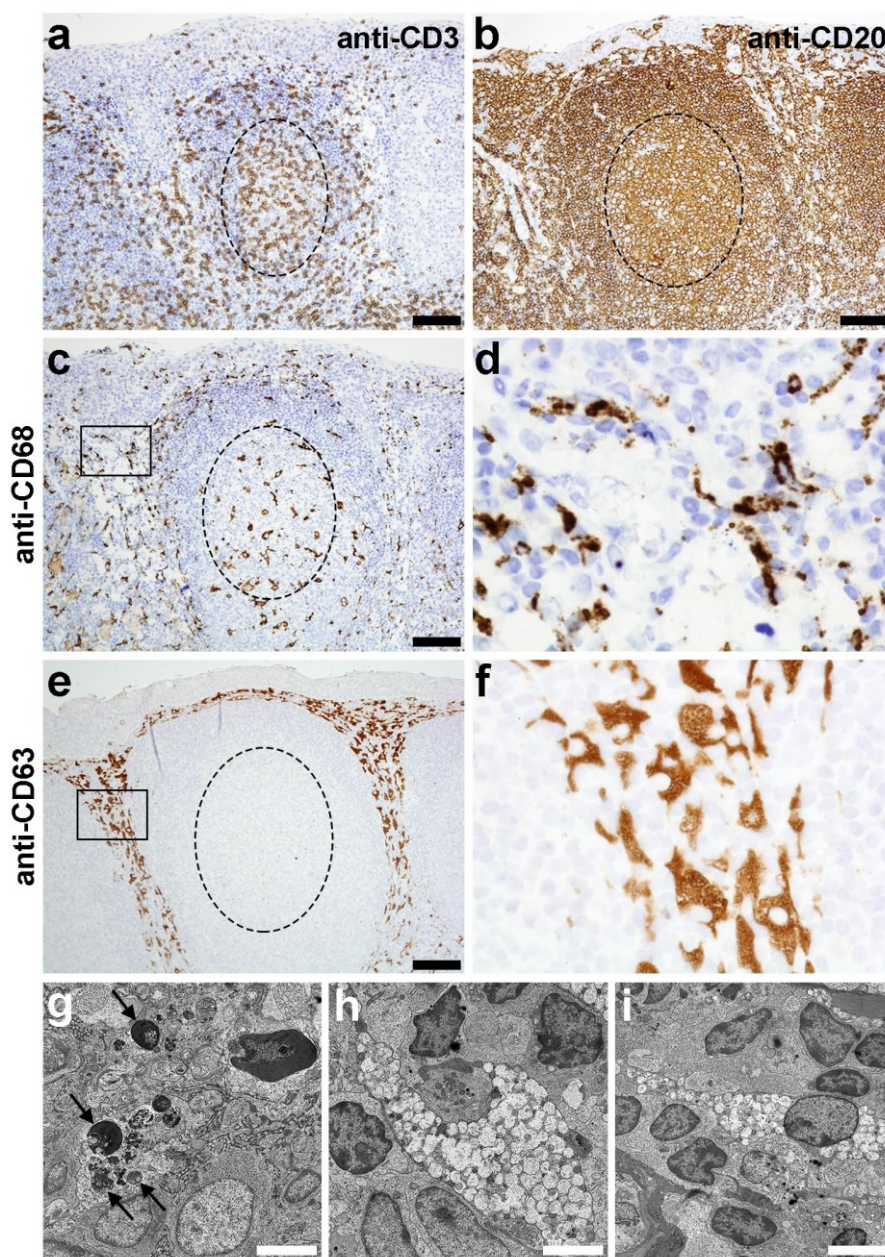


**Obr. 4.3.3. Nález v adenotonzilární tkáni pacientů s MPS I léčených HSCT a ERT.**  
(Převzato z Murgasova L. et al., 2023.)

Adenotomie provedena 4 roky a 4 měsíce po HSCT (pacient #1) a 7 měsíců po iniciaci ERT (pacient #2).

(a-d) počet CD68+ a CD63+ buněk je ve srovnání s MPS I pacientem, který nebyl léčen v době adenoidektomie, výrazně nižší (Obr. 4.3.4). Distribuce CD68+ a CD63+ buněk je obdobná jako v kontrolních tkáních (Obr. 4.3.5). Přerušovanou čarou jsou označena germinální centra a černými šipkami epiteliální povrch.

Měřítka 100  $\mu\text{m}$  (a-d).



**Obr. 4.3.4. Nález v adenotonzilární tkáni neléčených pacientů s MPS I (#3).** (Převzato z Murgasova L. et al., 2023.)

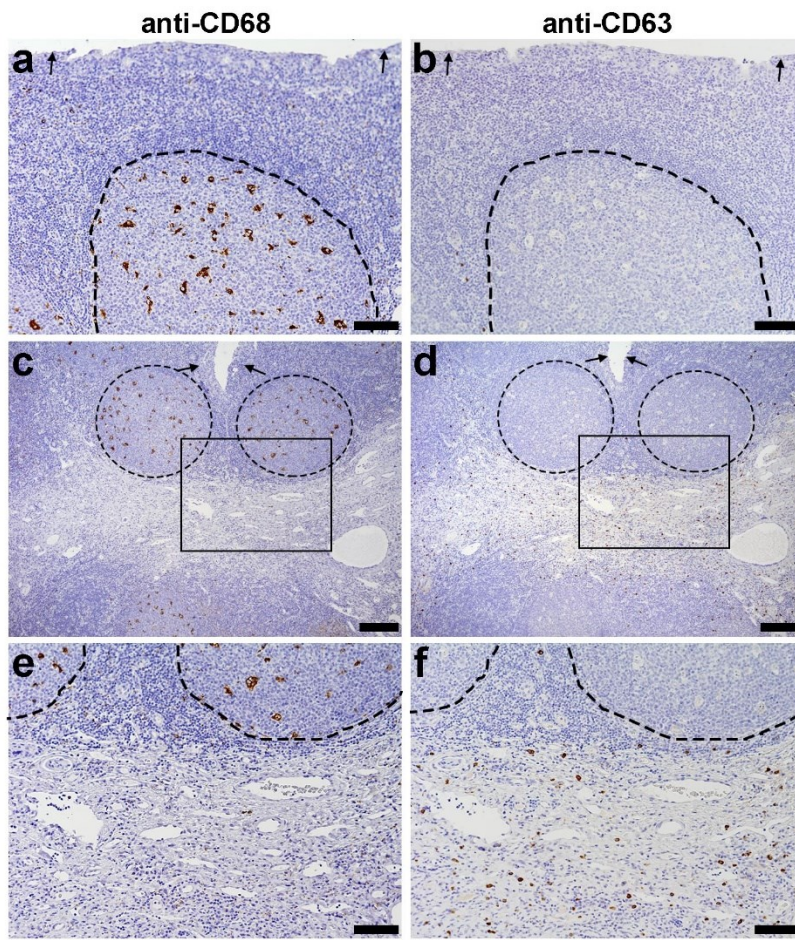
(a) anti-CD3 and (b) anti-CD20 značení (c, d) CD68+ makrofágy se dominantně vyskytují ve folikulárních germinálních centrech (označeno přerušovanou čarou). Zobrazení v d odpovídá obdélníku (parakortikální oblast) v c;

(e, f) vakuolizované CD63+ buňky nacházející se v parakortexu. Zobrazení v f odpovídá obdélníku v e;

(g) cytoplasma makrofágů folikulárního germinálního centra obsahuje pleomorfní vakuoly (černé šipky);

(h, i) parakortikální buňky obsahující membránou ohraničené strádaci vakuoly s jemným granulárním obsahem.

Měřítka 100  $\mu\text{m}$  (a, b, c, e); 2  $\mu\text{m}$  (g-i).



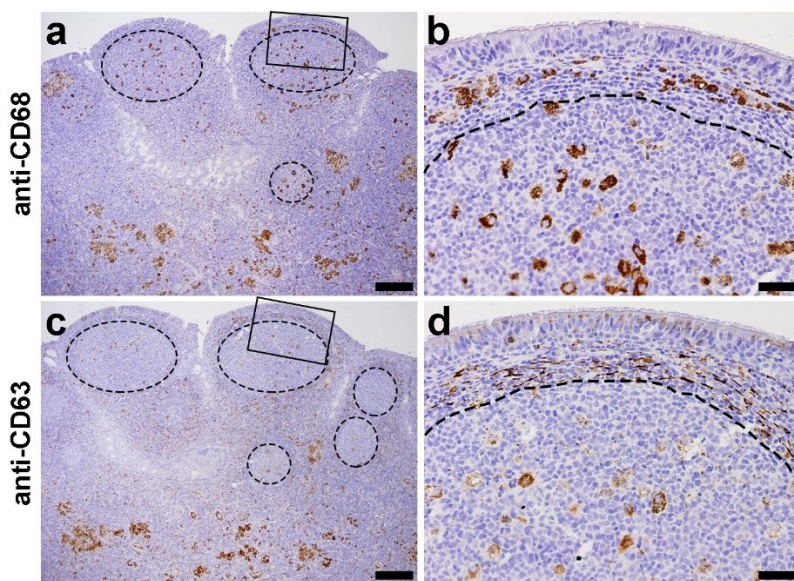
**Obr. 4.3.5** *Expresse CD68 a CD63 v kontrolní adenotonzilární tkáni (non-LSD/non-MPS).*

*(Převzato z Murgasova L. et al., 2023.)*

*(a, c, e) CD68+ buňky jsou téměř výhradně omezeny na folikulární germinální centra (označeny přerušovanou čarou);*

*(b, d, f) Parakortikální oblasti neobsahují CD63+ buňky. CD63+ buňky jsou rozptýleny v medulárních sinech. Černé šipky označují epiteliální povrch. Oblast vymezena obdélníkem v c a d odpovídá zobrazení v e a f.*

*Měřítko 100  $\mu\text{m}$  (a, b, c, e); 2  $\mu\text{m}$  (g-i).*



**Obr. 4.3.6** Nález v adenotonzilární tkáni u pacienta s infantilní neuroviscerální variantou deficitu kyselý sfinngomyelinázy. (Převzato z Murgasova L. et al., 2023.)

(a, b) CD68+ buňky seskupené v tkáni nejsou omezené na germinální centra (vymezeno přerušovanou čarou), ale nacházejí se také v parakortikálních oblastech a sinusech;

(c, d) CD63+ buňky jsou přítomné v parakortikálních oblastech ve větším množství než v kontrolních non-LSD/non-MPS tkáních a nejsou vakuolizované;

CD63+ buňky jsou detekovatelné i v oblastech s výskytem CD68+ buněk.

Oblast vymezená obdélníkem v a a c odpovídá zobrazení v b a d.

Měřítka 100  $\mu\text{m}$  (a, b, c, e); 2  $\mu\text{m}$  (g-i).

#### 4.3.2 Diskuze

I když je adenotomie často prováděným výkonem (Simmons M.A. et al., 2005) a je doporučeno histologické vyšetření odebrané tkáně (Ahmad Z. et al., 2023), zůstává strukturální podstata abnormalit adenotonzilární lymfatické tkáně MPS pacientů nedostatečně prostudovaná (Fujitani T. et al., 1985; Nayak D.R. et al., 1998; Gönüldaş B. et al., 2014; Keilmann A. et al., 2015; Pal A.R. et al., 2018). V studii Keilmann et al. byla v adenoidní a tonzilární tkáni pacientů s MPS (MPS I, MPS II, MPS IV a MPS VI) použitím standardního barvení identifikována populace histiocytoidních buněk způsobujících projasnění lokalizované v subepiteliální oblasti (Keilmann A. et al., 2015). V recentní práci Pal a kol. (Pal A.R. et al., 2018) byl demonstrován limitovaný efekt ERT na adenotonzilární lysosomální střádání, akumulaci GAG a remodelaci extracelulární matrix u pacientů s MPS I, IIIA, IVA a VI.

V naší studii kombinující (imuno)histopatologické a ultrastrukturální techniky jsme popsali charakter lysosomálního střádání v adenotonzilární tkáni u pacientů s MPS I, MPS II i MPS IIIA. Kromě dvou léčených MPS I pacientů (#1 a #2), bylo střádání výrazně limitováno do specifické populace parakortikálních buněk, které exprimovaly lysosomální/exosomální

tetraspanin CD63. Důležitým nálezem je, že specifická populace CD63+ buněk/lysosomů postrádala CD68, který je markerem lysosomálních membrán makrofágů. S cílem další specifikace této unikátně distribuované buněčné populace jsme provedli sérii dalších imunohistologických barvení včetně detekce markerů dendritických buněk (CD3, CD20, CD45RO, CD31, desmin, vimentin, a aktin hladkého svalstva, S-100, CD1a a Langerin), ani jeden z nich však nebyl v CD63+ stádajících buňkách detekován.

CD63 je lokalizován na endozomálně-lysosomálních membránách, je spojován s exosomálním systémem a MHCII-asociovaným procesováním antigenů. O přesné povaze a původu CD63+/CD68- parakortikálních adenotonzilárních buněk postižených u MPS pacientů stádáním lze jen spekulovat. Míra vlivu lysosomálního stádání na mukociliární funkci, (sekundární) mikrobiální kolonizaci a nespecifickou ale i specifickou, s mukózou asociovanou imunitní regulaci včetně antigenního procesování je také nejasná.

Na základě nálezů v tkáních pacienta #1, který podstoupil HSCT, lze předpokládat hematopoetický původ CD63+/CD68- buněk. Na základě distribuce, morfologie a možných, sekundárně stádaným materiálem indukovaných abnormalit exprese předpokládáme, že tyto buňky jsou spíše makrofagického než (interdigitujícího) dendritického původu. V každém případě oba tyto typy buněk mají velkou endocytickou aktivitu, což je činí náchylné k lysosomálnímu stádání.

V naší studii jsme také provedli vyšetření adenotonzilární tkáně pacienta s infantilní neuroviscerální formou deficitu ASM. V tomto případě byla populace CD63+/CD68- parakortikálních buněk ve srovnání s non-MPS/non-LS kontrolami mírně početnější, ale zároveň výrazně méně vyjádřena ve srovnání s MPS pacienty. Na rozdíl od MPS pacientů, bylo u pacienta s deficitem ASM přítomno masivní stádání v CD63+/CD68+ makrofázích (Obr. 4.3.6).

Naše data demonstrují unikátní distribuci stádacích buněk v adenotonzilárních parakortikálních oblastech u pacientů s MPS. Charakter lysosomální patologie, který může být velmi efektivně vizualizován použitím anti-CD63 imunodetekce, je obdobný u různých typů MPS. Věříme, že detekce CD63 v tkáních může ulehčit diagnostiku MPS a napomoci hodnocení efektu terapie MPS na buněčné a tkáňové úrovni. Naše studie ukazuje nový charakteristický typ lysosomálního stádání a podporuje diagnostickou hodnotu detekce CD63 v adenotonzilární lymfoepiteliální tkáni.

## 5 SHRNU TÍ A PRAKTICKÝ DOPAD PRÁCE

Mukopolysacharidózy jsou závažná progresivní onemocnění charakterizovaná multisystémovým postižením. Jelikož je ORL problematika, zejména recidivující infekce dýchacích cest spolu s jejich obstrukcí a poruchou sluchu, dominantní a včasnou manifestací, jsou tito pacienti často vyšetřováni v ORL ambulancích. Zvýšením povědomí o základních charakteristikách těchto vzácných onemocnění se otorinolaryngologové mohou stát iniciátory diagnostického procesu vedoucího ke stanovení základní diagnózy a zahájení terapie. Včasná diagnostika je zásadní k dosažení co nejlepších výsledků léčby.

I v dalším období jsou ORL lékaři odborníky podílejícími se na dlouhodobé multidisciplinární péči o tyto pacienty. V plánování jakýchkoliv chirurgických výkonů je kruciální úzká spolupráce s anesteziology. Z anesteziologického hlediska patří pacienti s MPS k nejrizikovější skupině, a to zejména pro obtížné zajištění dýchacích cest a multisystémové postižení orgánů nestrádanými GAG. Zásadní pro vedení anestézie je postižení dýchacího systému, srdce, CNS a skeletu. S cílem minimalizovat komplikace spojené s celkovou anestézií patří MPS pacienti do rukou zkušených anesteziologů a chirurgů a péče o ně má být centralizována do specializovaných center.

Chirurgické výkony v oblasti hlavy a krku jsou prováděné u pediatrických pacientů velmi často. Histopatologické vyšetření odebrané lymfoepiteliální tkáně může vzhledem k typickému nálezu ulehčit diagnostiku a napomocť hodnocení efektu terapie MPS.

## 6 SEZNAM PUBLIKACÍ AUTORKY

### Publikace, které jsou podkladem disertační práce:

1. **Murgasova L.** Jurovcik M, Jesina P, Malinova V, Bloomfield M, Zeman J, Magner M. Otorhinolaryngological manifestations in 61 patients with mucopolysaccharidosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2020 Aug;135:110137. doi: 10.1016/j.ijporl.2020.110137. Epub 2020 May 27. PMID: 32502916. **IF 1,675**
2. **Murgasova L.** Hulkova H, Baresova V, Jurovcik M, Stritesky J, Jurickova K, Magner M, Sikora J. Adenotonsillar pathology in mucopolysaccharidoses – lysosomal storage predominates in paracortical CD63+ cells. *Virchows Arch.* 2023 Oct 3. doi: 10.1007/s00428-023-03662-y. Epub ahead of print. PMID: 37787787. **IF 3,5**
3. **Murgasova L.** Votruba J, Otáhal M, Michálek P, Zeman J, Magner M. Implantation eines Trachealstents bei erwachsenem Patienten mit Morbus Hunter [Tracheal stent implantation in an adult patient with Hunter syndrome]. *Laryngorhinootologie.* 2020 Mar;99(3):173-175. German. doi: 10.1055/a-1018-5878. Epub 2020 Jan 9. PMID: 31918447. **IF 1,057**
4. **Murgašová L.** Jurovčík M, Biskupová V, Pavlíčková J, Magner M. Mukopolysascharidózy z pohledu otorinolaryngologa. *Otorinolaryng. a Foniatick. /Prague/.* 2018;67(2):62–67.

## Publikace bez vztahu k disertační práci

1. Diaz-Ordoñez L, Candelo E, Silva-Cuero K, Saldarriaga W, **Murgašová L**, Magner M, Pachajoa H. Hearing Loss in Patients With Morquio Syndrome: Protocol for a Scoping Review. JMIR Res Protoc. 2022 Jun 7;11(6):e32986. doi: 10.2196/32986. PMID: 35671071; PMCID: PMC9214610. **IF 1,7**
2. Malinová V, Poupětová H, Řeboun M, Dvořáková L, Reichmannová S, Švandová I, **Murgašová L**, Kasper DC, Magner M. Long-Term Evaluation of Biomarkers in the Czech Cohort of Gaucher Patients. Int J Mol Sci. 2023 Sep 22;24(19):14440. doi: 10.3390/ijms241914440. PMID: 37833892; PMCID: PMC10572410. **IF 5,6**
3. Májovská J, Malinová V, Dostálová G, **Murgašová L**, Poupětová H, Zeman J, Magner M. Muskuloskeletální postižení u pacientů s lyzozomálním střádavým onemocněním. Česká revmatologie. 2019;27(4):204-210.
4. **Murgašová L**, Jakubíková J, Staník R. Příčiny tracheotómie u detí. Otorinolaryngol. chir. hlavy krku. 2009;3(2):68-72.
5. **Murgašová L**, Pavlovčinová G. Stridor podmienený hypertrofiou týmusu. Pediatrics (Bratisl.). 2009;4(6):307-309.



### **Přednášky na konferencích:**

1. **Murgasova L**, Magner M, Jurovcik M, Hulkova H, Stritesky J, Dundr P, Sikora J. Tonsillar pathology in 7-year-old mucopolysaccharidosis type II female patient.

14th Congress of the European Society of Pediatric Otorhinolaryngology, 2018, Stockholm

2. Nestrasil I, Nguyen C, Vaneckova M, Burgetova A, **Murgasova L**, Zeman J, Petković Ramadza D, Baricid I, Almassye Z, Jurickova K, Bzduch V, Tylki-Szymanska A, Magner M. Neuroradiological brain phenotype in mucopolysaccharidosis type II patients from 5 European countries. *Molecular Genetics and Metabolism*. 2018;123(2):S15–S153.

3. **Murgašová L**, Jurovčík M, Biskupová V, Magner M. ORL manifestace v souboru českých pacientů s mukopolysacharidózou II. typu.

8. Česko-Slovenský otorinolaryngologický kongres, 2019, Šamorín, SR

4. **Murgasova L**, Jurovcik M, Sikora J, Jesina P, Zeman J, Martin Magner. Otorhinolaryngological manifestation in 61 patients with Mucopolsaccharidosis.

15th Congress of the European Society of Pediatric Otorhinolaryngology, 2021, Marseille

5. **Murgašová L.**, Jurovčík M., Magner M. ORL problematika pacientů s mukopolysacharidózou.

ORL akademie. Rožňov pod Radhoštěm, 7.- 8.10.2022

## 7 LITERATURA

Ahmad Z, Kruger K, Lautermann J, Lippert B, Tenenbaum T, Tigges M, Tisch M. Adenoid hypertrophy-diagnosis and treatment: the new S2k guideline. *HNO*. 2023;71(Suppl 1):67-72.

Alden TD, Amartino H, Dalla Corte A, Lampe Ch, Harmatz PL, Vedolin L. Surgical management of neurological manifestations of mucopolysaccharidosis disorders. *Mol Genet Metab*. 2017;122S:41-48.

Al Sawaf S, Mayatepek E, Hoffmann B. Neurological findings in Hunter disease: pathology and possible therapeutic effects reviewed. *J Inherit Metab Dis*. 2008;31(4):473-80.

Anderson W. A case of "angiokeratoma". *Br J Dermatol*. 1898;10:113-17.

Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. *Pediatrics*. 2000;105(1):e10.

Arn P, Bruce IA, Wraith JE, Travers H, Fallet S. Airway-related symptoms and surgeries in patients with mucopolysaccharidosis I. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2015;124(3):198-205.

Arn P, Wraith JE, Underhill L. Characterization of surgical procedures in patients with mucopolysaccharidosis type I: findings from the MPS I Registry. *J Pediatr*. 2009; 154(6): 859-64.

Augustine EF, Mink JW. Enzyme replacement in neuronal storage disorders in the pediatric population. *Curr Treat Options Neurol*. 2013;15(5):634-651.

Bach G, Friedman R, Weissmann B, Neufeld EF.. The defect in the Hurler and Scheie syndromes: deficiency of  $\alpha$ -L-iduronidase. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1972;69(8):2048-51.

Baehner F, Schmiedeskamp C, Krummenauer F, Miebach E, Bajbouj M, Whybra C, Kohlschütter A, Kampmann C, Beck M. Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. *J Inherit Metab Dis*. 2005;28(6):1011-7.

Baldo G, Guigliani R, Matte U. Lysosomal enzymes may cross the blood-brain-barrier by pinocytosis: implications for enzyme replacement therapy. *Med Hypotheses* 2014;82(4):478-480.

Baudhuin P, Hers HG, Loeb H. An electron microscopic and biochemical study of type II glycogenosis. *Lab Invest*. 1964;13:1139-52.

Ballabio A, Gieselmann V. Lysosomal disorders: from storage to cellular damage. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1793(4):684-96.

Barton NW, Brady RO, Dambrosia JM, Di Bisceglie AM, Doppelt SH, Hill SC, Mankin HJ, Murray GJ, Parker RI, Argoff CE et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency - macrophage-targeted glucocerebrosidase for Gaucher's disease. *N Engl J Med*. 1991;324(21):1464-1470.

Beck M. Therapy for lysosomal storage disorders. *IUBMB Life*. 2010;62(1):33-40.

Berger KI, Fagondes SC, Giugliani R, Hardy KA, Lee KS, McArdle C, Scarpa M, Tobin MJ, Ward SA, Rapoport DM. Respiratory and sleep disorders in mucopolysaccharidosis. *J Inherit Metab Dis*. 2013;36(2):201-10.

Beutler E, Grabowski G. Gaucher disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 8th edn. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 3635-68.

Boffi L, Russo P, Limongelli G. Early diagnosis and management of cardiac manifestations in mucopolysaccharidoses: a practical guide for paediatric and adult cardiologists. *Ital J Pediatr*. 2018; 44(Suppl 2): 122.

Brady RO, Kanfer JN, Bradley RM, Shapiro D. Demonstration of a deficiency of glucocerebrosidase-cleaving enzyme in Gaucher's disease. *J Clin Invest*. 1966;45(7):1112-1115.

Braunlin E, Rosenfeld H, Kampmann C, Johnson J, Beck M, Giugliani R, Guffon N, Ketteridge D, Sá Miranda CM, Scarpa M, Schwartz IV, Leão Teles E, Wraith JE, Barrios P, Dias da Silva E, Kurio G, Richardson M, Gildengorin G, Hopwood JJ, Imperiale M, Schatz A, Decker C, Harmatz P, MPS VI Study Group. Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis VI: long-term cardiac effects of galsulfase (Naglazyme®) therapy. *J Inher Metab Dis*. 2013;36(2):385–394.

Braunlin E, Orchard PJ, Whitley CB, Schroeder L, Reed RC, Manivel JC. Unexpected coronary artery findings in mucopolysaccharidosis. Report of four cases and literature review. *Cardiovasc Pathol* 2014;23(3):145–51.

Bright NA, Reaves BJ, Mullock BM, Luzio JP. Dense core lysosomes can fuse with late endosomes and are re-formed from the resultant hybrid organelles. *J Cell Sci*. 1997;110(Pt 17):2027-40.

Bright NA, Gratian MJ, Luzio JP. Endocytic delivery to lysosomes mediated by concurrent fusion and kissing events in living cells. *Curr Biol*. 2005;15(4):360-5.

Burton BK. Inborn errors of metabolism in infancy: a guide to diagnosis. *Pediatrics*. 1998;102(6):E69.

Clarke LA, Wraith JE, Beck M, Kolodny EH, Pastores GM, Muenzer J, Rapoport DM, Berger KI, Sidman M, Kakkis ED, Cox GF. Long-term efficacy and safety of laronidase in the treatment of mucopolysaccharidosis I. *Pediatrics*. 2009;123(1):229-40.

Collins ML, Traboulsi EI, Maumenee IH. Optic nerve head swelling and optic atrophy in the systemic mucopolysaccharidoses. *Ophthalmology*. 1990;97(11):1445-9.

Cross EM, Hare DJ. Behavioural phenotypes of the mucopolysaccharide disorders: a systematic literature review of cognitive, motor, social, linguistic and behavioural presentation in the MPS disorders. *J Inher Metab Dis*. 2013;36(2):189–200.

Cudry S, Tigaud I, Froissart R, Bonnet V, Maire I, Bozon D. MPS II in females: molecular basis of two different cases. *J Med Genet*. 2000;37(10):E29.

Dangel JH. Cardiovascular changes in children with mucopolysaccharide storage diseases and related disorders--clinical and echocardiographic findings in 64 patients. *Eur J Pediatr*. 1998 Jul;157(7):534-8.

Davitt SM, Hatrick A, Sabharwal T, Pearce A, Gleeson M, Adam A. Tracheobronchial stent insertions in the management of major airway obstruction in a patient with Hunter syndrome (type-II mucopolysaccharidosis). *Eur Radiol*. 2002;12(2):458–462.

de Duve C, Pressman BC, Gianetto R, Wattiaux R, Appelmans F. Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J*. 1955;60(4):604–617.

de Duve C. From cytases to lysosomes. *Fed Proc*. 1964;23:1045–9.

de Duve C. The lysosome turns fifty. *Nat Cell Biol*. 2005;7(9):847–9.

de Jong JG, Wevers RA, Laarakkers C, Poorthuis BJ. Dimethylmethylene blue-based spectrophotometry of glycosaminoglycans in untreated urine: a rapid screening procedure for mucopolysaccharidosis. *Clin Chem*. 1989;35(7):1472-7.

Dembure P, Roesel A. Screening for mucopolysaccharidoses by analysis of urinary glycosaminoglycans. In: Hommes F, editor. *Techniques in diagnostic human biochemical genetics. A laboratory manual*. New York: Wiley; 1991. p. 77–86.

Dionisi-Vici C, Rizzo C, Burlina AB, Caruso U, Sabetta G, Uziel G, Abeni D. Inborn errors of metabolism in the Italian pediatric population: a national retrospective survey. *J Pediatr*. 2002;140(3):321-7.

Dostalova G, Hlubocka Z, Lindner J, Hulkova H, Poupetova H, Vlaskova H, Sikora J, Linhart A, Zeman J, Magner M. Late diagnosis of mucopolysaccharidosis type IVB and successful aortic valve replacement in a 60-year-old female patient. *Cardiovasc Pathol*. 2018;35:52-56.

Dvorakova L, Vlaskova H, Sarajlija A, Ramadza DP, Poupetova H, Hrubá E, Hlavata A, Bzduch V, Peskova K, Storkanova G, Kecman B, Djordjevic M, Baric I, Fumic K, Barisic I, Reboun M, Kulhanek J, Zeman J, Magner M. Genotype-phenotype correlation in 44 Czech, Slovak, Croatian and Serbian patients with mucopolysaccharidosis type II. *Clin Genet*. 2017;91(5):787-796.

Escolar ML, Jones SA, Shapiro EG, Horovitz DDG, Lampe Ch, Amartino H. Practical management of behavioral problems in mucopolysaccharidosis disorders. *Mol Genet Metab*. 2017;122S:35-40.

Fabry J. Ein Beitrag zur Kenntnis der Purpura haemorrhagica nodularis (Purpura papulosa haemorrhagica Hebrae). *Arch Dermatol Syph*. 1898;43:187-200.

Fader CM, Colombo MI. Autophagy and multivesicular bodies: two closely related partners. *Cell Death Differ*. 2009;16(1):70-8.

Fesslová V, Corti P, Sersale G, Rovelli A, Russo P, Mannarino S, Butera G, Parini R. The natural course and the impact of therapies of cardiac involvement in the mucopolysaccharidosis. *Cardiol Young*. 2009;19(2):170-8.

Fratantoni JC, Hall CW, Neufeld EF. Hurler and Hunter syndromes: mutual correction of the defect in cultured fibroblasts. *Science*. 1968;162:570-2.

Friedmann I, Spellacy E, Crow J, Watts RW. Histopathological studies of the temporal bones in Hurler's disease [mucopolysaccharidosis (MPS) IH]. *J Laryngol Otol*. 1985;99 (1):29-41.

Fujitani T, Kimura A, Inoue K, Okada S. Pathological and biochemical study in the adenoid of mucopolysaccharidosis II. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1985;10(3):205-12.

Gaitini L, Fradis M, Vaida S, Collins G, Croitoru M, Somri M, Borochovit Z, Golz A. Failure to control the airway in a patient with Hunter's syndrome. *J Laryngol Otol* 1998;112(4):380-2.

Gaucher PCE. De l'épithélioma primitive de la rate. Thèse de Paris; 1882.

Ghosh P, Dahms NM, Kornfeld S. Mannose 6-phosphate receptors: new twists in the tale. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003;4(3):202-12.

Girard B, Hoang-Xuan T, D'Hermies F, Savoldelli M, Bennouna M, Poenaru L, Maroteaux P & Pouliquen Y. Mucopolysaccharidosis type I, Hurler-Scheie phenotype with ocular involvement. Clinical and ultrastructural study. *J Fr Ophtalmol*. 1994;17: 286-295.

Giugliani R, Harmatz P, Wraith JE. Management guidelines for mucopolysaccharidosis VI. *Pediatrics*. 2007;120(2):405-18.

Giugliani R, Federhen A, Michelin-Tirelli K, Riegelmand Burin M. Relative frequency and estimated minimal frequency of lysosomal storage diseases in Brazil: Report from a reference laboratory. *Genet Mol Biol*. 2017;40(1):31-39.

Goldberg MF, Duke JR: Ocular histopathology in Hunter's syndrome. Systemic mucopolysaccharidosis type II. *Arch Ophthalmol*. 1967;77(4):503-12.

Goldberg MF, Scott CI, McKusick VA: Hydrocephalus and papilledema in the Maroteaux-Lamy syndrome (mucopolysaccharidosis type VI). *Am J Ophthalmol*. 1970;69:969-75.

Gönüldaş B, Yılmaz T, Sivri HS., Şafak Güçer K, Kılınç K, Aydan Genç G, Kılıç M, Coşkun T. Mucopolysaccharidosis: Otolaryngologic findings, obstructive sleep apnea and accumulation of glucosaminoglycans in lymphatic tissue of the upper airway. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2014;78(6):944-9.

Grabowski GA, Barton NW, Pastores G, Dambrosia JM, Banerjee TK, McKee MA, Parker C, Schiffmann R, Hill SC, Brady RO. Enzyme therapy in type 1 Gaucher disease: comparative efficacy of mannose-terminated glucocerebrosidase from natural and recombinant sources. *Ann Intern Med*. 1995;122(1):33-39.

- Grassi S, Chiricozzi E, Mauri L, Sonnino S, Prinetti A. Sphingolipids and neuronal degeneration in lysosomal storage disorders. *J Neurochem.* 2019;148(5):600-611.
- Hamilton E, Pitt P. Articular manifestations of Scheie's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 1992;51(4):542-543.
- Hashimoto K, Gross BG, Lever WF. Angiokeratoma corporis diffusum (Fabry). Histochemical and electron microscopic studies of the skin. *J Invest Dermatol.* 1965;44:119-28.
- Hayes E, Babin R, Platz C: The otologic manifestations of mucopolysaccharidoses. *Am J Otol.* 1980;2(2): 65-69.
- Hers HG.  $\alpha$ -Glucosidase deficiency in generalized glycogen storage disease (Pompe's disease). *Biochem J.* 1963;86(1):11-6.
- Hers HG. Inborn lysosomal diseases. *Gastroenterology.* 1965;48:625-33.
- Hollak CEM, Wijburg FA. Treatment of lysosomal storage disorders: successes and challenges. *J Inher Metab Dis.* 2014;37(4):587-598.
- Hopwood JJ, Morris CP. The mucopolysaccharidosis. Diagnosis, molecular genetics and treatment. Review. *Mol Biol Med.* 1990; 7(5): 381-404.
- Chamoles NA, Blanco MB, Gaggioli D, Casentini C. Hurler-like phenotype: enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clin Chem.* 2001;47(12):2098-102.
- Chen SJ, Li YW, Wang TR, Hsu JC. Bony changes in common mucopolysaccharidoses. *Zhonghua Min Guo Xiao Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi.* 1996;37(3):178-84.
- Ioannou YA, Bishop DF, Desnick RJ. Overexpression of human  $\alpha$ -galactosidase A results in its intracellular aggregation, crystallization in lysosomes, and selective secretion. *J Cell Biol.* 1992;119(5):1137-1150.
- Jahreiss L, Menzies FM, Rubinsztein DC. The itinerary of autophagosomes: from peripheral formation to kiss-and-run fusion with lysosomes. *Traffic.* 2008;9(4):574-87.
- Jalanko A, Braulke T. Neuronal ceroid lipofuscinoses. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1793(4):697-709.
- Jedličková I, Cadieux-Dion M, Přistoupilová A, Stránecký V, Hartmannová H, Hodaňová K, Barešová V, Hůlková H, Sikora J, Nosková L, Mušálková D, Vyleťal P, Sovová J, Cossette P, Andermann E, Andermann F, Kmoch S, Adult NCL Gene Discovery Consortium. Autosomal-dominant adult neuronal ceroid lipofuscinosis caused by duplication in DNAJC5 initially missed by Sanger and whole-exome sequencing. *Eur J Hum Genet.* 2020;28(6):783-789.
- Ješina P, Magner M, Poupětová H, Honzík J, Dvořáková L, Malinová V, Hrubá E, Hlavatá A, Honzík T, Veselá K, Sedláček P, Starý J, Zeman J. Mukopolysacharidóza I – klinické projevy u 24 dětí z České republiky a Slovenska. *Čes-slov Pediat.* 2011;66(4):215-225.
- Kadali S, Patlolla RD, Kolusu A, Undamatla KT, Gummadi MR, Undamatla J. The utility of two dimensional electrophoresis in diagnosis of mucopolysaccharidosis disorders. *Clin Chim Acta.* 2016;457:36-40.
- Kakkis ED, Matynia A, Jonas AJ, Neufeld EF. Overexpression of the human lysosomal enzyme  $\alpha$ -l-iduronidase in Chinese hamster ovary cells. *Protein Expr Purif.* 1994;5(3):225-232.
- Kamin W. Diagnosis and management of respiratory involvement in Hunter syndrome. *Acta Paediatr.* 2008;97(457):57-60.
- Kampmann C, Wiethoff CM, Huth RG, Staatz G, Mengel E, Beck M, Gehring S, Mewes T, Abu-Tair T. Management of Life-Threatening Tracheal Stenosis and Tracheomalacia in Patients with Mucopolysaccharidoses. *JIMD Rep.* 2017;33:33-39.
- Karl R, Carola S, Regina E, Thomas N, Huber RM. Tracheobronchial stents in mucopolysaccharidosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2016;83:187-92.

Käsmann-Kellner B, Weindler J, Pfau B, Ruprecht KW. Ocular changes in mucopolysaccharidosis IV A (Morquio A syndrome) and long-term results of perforating keratoplasty. *Ophthalmologica*. 1999;213(3):200-5.

Keilmann A, Lassig AK, Pollak-Hainz A, Mann WJ, Beck M, Hainz M. Adenoids of patients with mucopolysaccharidoses demonstrate typical alterations. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2015;79(2):115-118.

Keilmann A, Nakarat T, Bruce IA, Molter D, Malm G, HOS Investigators. Hearing loss in patients with mucopolysaccharidosis II: Data from HOS – the Hunter Outcome Survey. *J Inher Metab Dis*. 2012;35(2):343-53.

Keller C, Briner J, Schneider J, Spycher M, Rampini S, Gitzelmann R. [Mucopolysaccharidosis 6-A (Maroteaux-Lamy disease): comparison of clinical and pathologico-anatomic findings in a 27-year-old patient]. *Helv Paediatr Acta*. 1987;42(4):317-33.

Kielian T. Lysosomal storage disorders: pathology within the lysosome and beyond. *J Neurochem*. 2019;148(5):568-572.

Komura Y, Kaga K, Ogawa Y, Yamaguchi Y, Tsuzuku T, Suzuki JI. ABR and temporal bone pathology in Hurler's disease. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1998;43:179-188

Kulhánek J, Malinová V, Honzík T, Magner M. Enzymová substituční terapie u lysosomálních onemocnění. *Čes-slov Pediatr*. 2015a;70(4): 224-231.

Kulhánek J, Albrecht J, Honzík T, Magner M. Psychiatrická manifestace dědičných metabolických poruch. *Čes a slov Psychiat*. 2015b;111(6):295-305.

Lamanna WC, Lawrence R, Sarrazin S, Esko JD. Secondary storage of dermatan sulfate in Sanfilippo disease. *J Biol Chem*. 2011;286(9):6955-62.

Laraway S, Breen C, Mercer J, Jones S, Wraith JE. Does early use of enzyme replacement therapy alter the natural history of mucopolysaccharidosis I? Experience in three siblings. *Mol Genet Metab*. 2013;109(3):315-316.

Lee CL, Lee KS, Chuang CK, Su CH, Chiu HC, Tu RY, Lo YT, Chang YH, Lin HY, Lin SP. Otorhinolaryngological Management in Taiwanese Patients with Mucopolysaccharidoses. *Int J Med Sci*. 2021;18(15):3373-3379.

Leighton SEJ, Papsin B, Vellodi A, Dinwiddie R, Lane R. Disordered breathing during sleep in patients with mucopolysaccharidoses. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2001;58(2):127-38.

Lester WM, Avrum I. Cardiovascular effects of systemic diseases and conditions. In: Silver Malcolm, Gotlieb Avrum I, Schoen Frederick R, editors. *Cardiovascular pathology*. 3rd ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone; 2001. p. 493-540.

Liese JG, Sifverdal SA, Giaquinto C, Carmon A, Larcombe JH, Garcia-Sicilia J, Fuat A, Garces-Sanches M, Arroba Basanta ML, Munoz Hiraldo E, Cantarutti L, Kroeniger W, Vollmar J, Holl K, Pircon JY, Rosenlund MR. Incidence and clinical presentation of acute otitis media in children aged <6 years in European medical practices. *Epidemiol. Infect*. 2014;142(8):1778-88.

Luzio JP, Pryor PR, Bright NA. Lysosomes: fusion and function. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007;8(8):622-32.

Mabe P, Valiente A, Soto V, Cornejo V, Raimann E. Evaluation of reliability for urine mucopolysaccharidosis screening by dimethylmethylene blue and Berry spot tests. *Clin Chim Acta*. 2004;345(1-2):135-40.

Malinová V, Honzík T. Lysosomální onemocnění – současné možnosti diagnostiky a terapie. *Pediatr praxi*. 2013a;14(2):99-103.

Malinová V, Honzík T. Lysosomální onemocnění – současné možnosti diagnostiky a terapie (dokončení). *Pediatr praxi*. 2013b;14(3):157-160.

Magner M, Kulhánek J, Zeman J. Enzymová substituční terapie pacientů s mukopolysacharidózami. *Remedia*. 2016; 26:359–364.

Mapes CA, Anderson RL, Sweeley CC, Desnick RJ, Krivit W. Enzyme replacement in Fabry's disease, an inborn error of metabolism. *Science*. 1970;169(3949):987–989.

Markham A. Cerliponase alfa: first global approval. *Drugs*. 2017;77(11):1247–1249.

Marques ARA, Saftig P. Lysosomal storage disorders – challenges, concepts and avenues for therapy: beyond rare diseases. *J Cell Sci*. 2019;132(2): jcs221739.

Martin R, Beck M, Eng Ch, Giugliani R, Harmatz P, Muñoz V, Muenzer J. Recognition and diagnosis of mucopolysaccharidosis II (Hunter syndrome). *Pediatrics*. 2008;121(2): e377-86.

Martins AM, Dualibi AP, Norato D, Takata ET, Santos ES, Valadares ER et al. Guidelines for the management of mucopolysaccharidosis type I. Review. *J Pediatr*. 2009; 155(4Suppl): S32–S46.

McKenna MC, Schuck PF, Ferreira GC. Fundamentals of CNS energy metabolism and alterations in lysosomal storage diseases. *J Neurochem*. 2019;148(5):590-599.

Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS*. Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006.

Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, Carey WF. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA*. 1999;281(3):249-54.

Mendelsohn NJ, Harmatz P, Bodamer O, Burton BK, Giugliani R, Jones SA, Lampe Ch, Malm G, Steiner RD, Parini R, Hunter Outcome Survey Investigators. Importance of surgical history in diagnosing mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome): Data from the Hunter Outcome Survey. *Genet Med*. 2010;12(12):816-22.

Mesoletta M, Cimmino M, Cantone E, Marino A, Cozzolino M, Della Casa R, Parenti G, Iengo M. Management of otolaryngological manifestations in mucopolysaccharidoses: our experience. *Acta Otorhinolaryngol Ital*. 2013;33(4):267-72.

Michalík J, Zeman J, Vitnerová L, Ješina P, Honzík T, Magner M, Staníková M. *Mukopolysacharidóza*. Olomouc: Společnost pro mukopolysacharidosu; 2010.

Mistry PK, Lukina E, Ben Turkia H, Amato D, Baris H, Dasouki M, Ghosn M, Mehta A et al. Effect of oral eliglustat on splenomegaly in patients with Gaucher disease type 1: the ENGAGE randomized clinical trial. *JAMA*. 2015;313(7):695–706.

Montano AM, Tomatsu S, Gottesman GS, Smith M, Orii T. International Morquio A Registry: clinical manifestation and natural course of Morquio A disease. *J Inher Metab Dis*. 2007;30(2):165–174.

Morgan AJ, Platt FM, Lloyd-Evans E, Galione A. Molecular mechanisms of endolysosomal Ca<sup>2+</sup> signalling in health and disease. *Biochem J*. 2011;439(3):349-74.

Motamed M, Thorne S, Narula A: Treatment of otitis media with effusion in children with mucopolysaccharidoses. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 2000;53(2):121-4.

Muenzer J. Overview of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology (Oxford)*. 2011;50Suppl 5:v4-12.

Muenzer J. Early initiation of enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidoses. *Mol Genet Metab*. 2014;111(2):63–72.

Muenzer J, Wraith JE, Clarke LA, International Consensus Panel on Management and Treatment of Mucopolysaccharidosis I. Mucopolysaccharidosis I: management and treatment guidelines. *Pediatrics*. 2009a;123(1):19-29.

Muenzer J, Beck M, Eng CM, Escolar ML, Giugliani R, Guffon NH, Harmatz P, Kamin W, Kampmann C, Koseoglu ST, Link B, Martin RA, Molter DW, Muñoz Rojas MV, Ogilvie JW, Parini R, Ramaswami U, Scarpa M, Schwartz IV, Wood RE, Wraith E. Multidisciplinary management of Hunter syndrome. *Pediatrics*. 2009b;124(6):e1228-39.

Muhlebach MS, Wooten W, Muenzer J. Respiratory manifestations in mucopolysaccharidoses. *Paediatr Respir Rev.* 2011;12(2):133-8.

Muhlebach MS, Shaffer ChB, Georges L, Abode K, Muenzer J. Bronchoscopy and airway management in patients with mucopolysaccharidoses (MPS). *Pediatr Pulmonol.* 2013;48(6):601-7.

Mullaney P, Awad AH, Millar L. Glaucoma in mucopolysaccharidosis 1-H/S. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 1996;33(2):127-31.

Mullock BM, Bright NA, Fearon CW, Gray SR, Luzio JP. Fusion of lysosomes with late endosomes produces a hybrid organelle of intermediate density and is NSF dependent. *J Cell Biol.* 1998;140(3):591-601.

Munoz-Rojas MV, Vieira T, Costa R, Fagondes S, John A, Bannach Jardim, L, Vedolin LM, Raymundo M, Dickson PI, Kakkis ED, Giugliani R. Intrathecal enzyme replacement therapy in a patient with mucopolysaccharidosis type I and symptomatic spinal cord compression. *Am J Med Genet A.* 2008;146A(19):2538-44.

Napiontek U, Keilmann A. Hearing impairment in patients with mucopolysaccharidoses. *Acta Paediatrica Suppl.* 2006;451(1):113–117.

Nayak DR, Balakrishnan R, Adolph S. Endoscopic adenoidectomy in a case of Scheie syndrome (MPS I S). *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 1998;44(2):177-181.

Neufeld EF. Enzyme replacement therapy – a brief history. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS.* Oxford: Oxford Pharmagenesis; 2006. Kapitola 10.

Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolysaccharidoses. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease.* 8th edn. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 3421-52.

Noh H, Lee JI. Current and potential therapeutic strategies for mucopolysaccharidoses. *J Clin Pharm Ther.* 2014;39(3):215–224.

Novikoff AB. Preservation of the fine structure of isolated liver cell particulates with polyvinylpyrrolidone-sucrose. *J Biophys Biochem Cytol.* 1956;2(4):65–66.

Okuyama T, Tanaka A, Suzuki Y, Ida H, Tanaka T, Cox GF, Eto Y, Orii T. Japan Elaprase® Treatment (JET) study: idursulfase enzyme replacement therapy in adult patients with attenuated Hunter syndrome mucopolysaccharidosis II, MPS II). *Mol Genet Metab.* 2010;99(1):18-25.

Olsen H, Baggesen K, Sjolie AK. Cataracts in Morquio syndrome (mucopolysaccharidosis IV A). *Ophthalmic Paediatr Genet.* 1993;14(2):87-9.

Orsi A, Polson HEJ, Tooze SA. Membrane trafficking events that partake in autophagy. *Curr Opin Cell Biol.* 2010;22(2):150-6.

Pal AR, Mercer J, Jones SA, Bruce IA, Bigger BW. Substrate accumulation and extracellular matrix remodelling promote persistent upper airway disease in mucopolysaccharidosis patients on enzyme replacement therapy. *PLoS One.* 2018; 13:e0203216.

Park JS, Kim HG, Shin JH, Choi YCh, Kim DS. Effect of enzyme replacement therapy in late onset Pompe disease: open pilot study of 48 weeks follow-up. *Neurol Sci.* 2015;36(4):559–560.

Pastores GM, Arn P, Beck M, Clarke JTR, Guffon N, Kaplan P, Muenzer J, Norato DYJ, Shapiro E, Thomas J, Viskochil D, Wraith JE. The MPS I registry: design, methodology, and early findings of a global disease registry for monitoring patients with Mucopolysaccharidosis Type I. *Mol Genet Metab.* 2007;91(1): 37–47

Parkinson-Lawrence EJ, Shandala T, Prodoehl M, Plew R, Borlace GN, Brooks DA. Lysosomal storage disease: revealing lysosomal function and physiology. *Physiology (Bethesda).* 2010;25(2):102–15.



Parving A. Hearing screening—aspects of epidemiology and identification of hearing impaired children, *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 1999;49(Suppl 1):S287–S292 5.

Peters ME, Arya S, Langer LO, Gilbert EF, Carlson R, Adkins W. Narrow trachea in mucopolysaccharidoses. *Pediatr Radiol.* 1985;15(4):225–8.

Pinto R, Caseiro C, Lemos M, Lopes L, Fontes A, Ribeiro H, Pinto E, Silva E, Rocha S, Marcão A, Ribeiro I, Lacerda L, Ribeiro G, Amaral O, Sá Miranda MC. Prevalence of lysosomal storage diseases in Portugal. *Eur J Hum Genet.* 2004;12(2):87-92.

Platt FM, Walkley SU. Lysosomal defects and storage. In: Platt FM, Walkley SU, editors. *Lysosomal Disorders of the Brain.* Oxford: Oxford University Press; 2004. p. 32-49.

Poorthuis BJ, Wevers RA, Kleijer WJ, Groener JE, de Jong JG, van Weely S, Niezen-Koning KE, van Diggelen OP. The frequency of lysosomal storage diseases in The Netherlands. *Hum Genet.* 1999;105(1-2):151-6.

Poswar FDO, Vairo F, Burin M, Michelin-Tirelli K, Brusius-Facchin AC, Kubaski F, Souza CFM, Baldo G, Giugliani R. Lysosomal diseases: Overview on current diagnosis and treatment. *Genet Mol Biol.* 2019;42(1 suppl 1):165–177.

Potter GB, Petryniak MA. Neuroimmune mechanisms in Krabbe's disease. *J Neurosci Res.* 2016;94(11):1341–1348.

Poupětová H, Ledvinová J, Berná L, Dvůráková L, Kozich V, Elleder M. The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech Republic: comparison with data in different populations. *J Inher Metab Dis.* 2010;33(4):387-96.

Prinetti A, Prioni S, Chiricozzi E, Schuchman EH, Chigorno V, Sonnino S. Secondary alterations of sphingolipid metabolism in lysosomal storage diseases. *Neurochem Res.* 2011;6(9):1654-1668.

Ravikumar B, Vacher C, Berger Z, Davies JE, Luo S, Oroz LG, Scaravilli F, Easton DF, Duden R, O'Kane CJ, Rubinsztein DC. Inhibition of mTOR induces autophagy and reduces toxicity of polyglutamine expansions in fly and mouse models of Huntington disease. *Nat Genet.* 2004;36(6):585-95.

Řeboun M, Rybová J, Dobrovolný R, Včelák J, Veselková T, Štorkánová G, Mušálková D, Hřebíček M, Ledvinová J, Magner M, Zeman J, Pešková K, Dvůráková L. X-Chromosome Inactivation Analysis in Different Cell Types and Induced Pluripotent Stem Cells Elucidates the Disease Mechanism in a Rare Case of Mucopolysaccharidosis Type II in a Female. *Folia Biol (Praha).* 2016;62(2):82-9.

Reichert R, Gonçalves Campos L, Vairo F, Fischinger Moura de Souza C, Adams Pérez J, Ávila Duarte J, Araujo Leiria F, Anés M, Modesti Vedolin L. Neuroimaging Findings in Patients with Mucopolysaccharidosis: What You Really Need to Know. *Radiographics.* 2016;36(5):1448-62.

Renteria VG, Ferrans VJ, Roberts WC. The heart in the Hurler syndrome. Gross, histologic and ultrastructural observations in five necropsy cases. *Am J Cardiol* 1976;38(4):487–501.

Ruckenstein MJ, Macdonald RE, Clarke J, Forte V. The management of otolaryngological problems in the mucopolysaccharidoses: a retrospective review. *J Otolaryngol.* 1991;20(3):177-83.

Rushton HC, Tong MC, Yue V, Wormald PJ, van Hasselt CA. Prevalence of otitis media with effusion in multicultural schools in Hong Kong. *J. Laryngol. Otol.* 1997;111(9): 804–806.

Saftig, P. Physiology of the lysosome. In: Mehta A, Beck M, Sunder-Plassmann G, editors. *Fabry Disease: Perspectives from 5 Years of FOS.* Oxford: Oxford PharmaGenesis; 2006. p. 21-31.

Saftig P, Klumperman J. Lysosome biogenesis and lysosomal membrane proteins: trafficking meets function. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2009;10(9):623-35.

Sanli A, Tasdemir O, Eken M, Celebi O, Yilmaz SH, Prevalence of otitis media with effusion among primary school age-children and etiopathogenic examination. *Indian J. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2014;66(Suppl 1):95–98.

Sasaki CT, Ruiz R, Gaito Jr R, Kirchner JA, Seshi B. Hunter's syndrome: a study in airway obstruction. *Laryngoscope.* 1987;97(3 Pt 1):280–5.

Scarpa M, Lourenço ChM, Amartino H. Epilepsy in mucopolysaccharidosis disorders. *Mol Genet Metab.* 2017;122 S:55-61.

Settembre C, Fraldi A, Jahreiss L, Spampinato C, Venturi C, Medina D, de Pablo R, Tacchetti C, Rubinsztein DC, Ballabio A. A block of autophagy in lysosomal storage disorders. *Hum Mol Genet.* 2008a;17(1):119-29.

Settembre C, Fraldi A, Rubinsztein DC, Ballabio A. Lysosomal storage diseases as disorders of autophagy. *Autophagy.* 2008b;4(1):113-4.

Shih SL, Lee YJ, Lin SP, Sheu CY, Blickman JG. Airway changes in children with mucopolysaccharidoses. *Acta Radiol.* 2002;43(1):40–3.

Shinhar SY, Zablocki H, Madgy DN. Airway management in mucopolysaccharide storage disorders. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 2004;130(2):233–7.

Schiffmann R, Murray GJ, Treco D, Daniel P, Sellos-Moura M, Myers M. et al. Infusion of  $\alpha$ -galactosidase A reduces tissue globotriaosylceramide storage in patients with Fabry disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000;97(1):365–70.

Siddique I, Sacho RH, Oxborrow N et al. Thoracolumbar Kyphosis in Mucopolysaccharidosis I (Hurler Syndrome). *Scoliosis Research Society, 44th Annual Meeting, San Antonio, Texas 2009.*

Simmons MA, Bruce IA, Penney S, Wraith E, Rothera MP. Otorhinolaryngological manifestations of the mucopolysaccharidoses. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2005;69(5):589-95.

Smith, R. *Anaesthesia for infants and children.* 4th ed. St. Louis: In Co., CM; 1980.p.533-536.

Smith RJ, Steel KP, Barkway C, Soucek S, Michaels L. A histologic study of nonmorphogenetic forms of hereditary hearing impairment. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 1992;118(10):1085–1094.

Solanki GA, Martin KW, Theroux MC, Lampe Ch, White KK, Shediak R, Lampe ChG, Beck M, Mackenzie WG, Hendriksz ChJ, Harmatz PR. Spinal involvement in mucopolysaccharidosis IVA (Morquio-Brailsford or Morquio A syndrome): presentation, diagnosis and management. *J Inherit Metab Dis.* 2013; 36(2): 339–355.

Spranger J. *Morphological aspects of the mucopolysaccharidoses. Inborn Errors of Skin, Hair and Connective Tissue.* Baltimore, MD: University Press; 1975.

Storch S, Braulke T. Transport of Lysosomal Enzymes. In: Saftig P, editor. *Lysosomes.* Boston, MA: Springer; 2005. p.17-26.

Sukegawa K, Matsuzaki T, Fukuda S, Masuno M, Fukao T, Kokuryu M, Iwata S, Tomatsu S, Orii T, Kondo N. Brother/sister siblings affected with Hunter disease: evidence for skewed X chromosome inactivation. *Clin Genet.* 1998;53(2):96-101.

Tajima G, Sakura N, Kosuga M, Okuyama T, Kobayashi M. Effects of idursulfase enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis type II when started in early infancy: comparison in two siblings. *Mol Genet Metab.* 2013;108(3):172–177.

Tan CT, Schaff HV, Miller FA, Edwards WD, Karnes PS. Valvular heart disease in four patients with Maroteaux–Lamy syndrome. *Circulation* 1992;85(1):188–95.

Tanaka Y, Guhde G, Suter A, Eskelinen EL, Hartmann D, Lüllmann-Rauch R, Janssen PM, Blanz J, von Figura K, Saftig P. Accumulation of autophagic vacuoles and cardiomyopathy in LAMP-2-deficient mice. *Nature.* 2000;406(6798):902-6.

Taybi H, Lachman RS. Radiology of Syndromes, Metabolic Disorders, and Skeletal Dysplasias. Mosby. 4th edn. New York: Mosby-Year Book; 1996. p. 670-81.

Tjelle TE, Brech A, Juvet LK, Griffiths G, Berg T. Isolation and characterization of early endosomes, late endosomes and terminal lysosomes: their role in protein degradation. *J Cell Sci.* 1996;109(Pt 12):2905-14.

Tomatsu S, Okamura K, Maeda H, Taketani T, Castrillon SV, Gutierrez MA et al. Keratan sulphate levels in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses. *J Inher Metab Dis.* 2005a;28(2):187-202.

Tomatsu S, Gutierrez MA, Ishimaru T, Peña OM, Montaña AM, Maeda H et al. Heparan sulfate levels in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses. *J Inher Metab Dis.* 2005b;28(5):743-57.

Tomatsu S, Montaña AM, Oikawa H, Smith M, Barrera L, Chinen Y, Thacker MM, Mackenzie WG, Suzuki Y, Orii T. Mucopolysaccharidosis type IVA (Morquio A disease): clinical review and current treatment. *Curr Pharm Biotechnol.* 2011;12(6):931-45.

Tylki-Szymańska A, Jurecka A, Zuber Z, Rozdzyńska A, Marucha J, Czartoryska B. Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis II from 3 months of age: a 3-year follow-up. *Acta Paediatr.* 2012;101(1):e42-47.

Tuschl K, Gal A, Paschke E, Kircher S, Bodamer OA. Mucopolysaccharidosis type II in females: case report and review of literature. *Pediatr Neurol* 2005;32(4):270-2.

Ullman JC, Arguello A, Getz JA, Bhalla A, Mahon CS, Wang J et al. Brain delivery and activity of a lysosomal enzyme using a blood-brain barrier transport vehicle in mice. *Sci Transl Med.* 2020;12(545):eaay1163.

Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, Kinzler KW, Antonarakis SE, Ballabio A, Gibson K and Mitchell G. The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. McGraw-Hill, New York, US. 2014

Van Hove JL, Yang HW, Wu JY, Brady RO, Chen YT. High-level production of recombinant human lysosomal acid  $\alpha$ -glucosidase in Chinese hamster ovary cells which targets to heart muscle and corrects glycogen accumulation in fibroblasts from patients with Pompe disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1996;93(1):65-70.

Vazna A, Beesley C, Berna L, Stolnaja L, Myskova H, Bouckova M et al. Mucopolysaccharidosis type I in 21 Czech and Slovak patients: mutation analysis suggests a functional importance of C-terminus of the IDUA protein. *Am J Med Genet A.* 2009;149A(5):965-74.

Vijay S, Wraith JE. Clinical presentation and follow-up of patients with the attenuated phenotype of mucopolysaccharidosis type I. *Acta Paediatr.* 2005;94(7):872-877.

Walker RWM, Darowski M, Morris P, Wraith JE. Anaesthesia and mucopolysaccharidoses. A review of airway problems in children. *Anaesthesia.* 1994;49(12):1078-1084.

Walker R, Belani KG, Braunlin EA, Bruce IA, Hack H, Harmatz PR, Jones S, Rowe R, Solanki GA, Valdemarsson B. Anaesthesia and airway management in mucopolysaccharidosis. *J. Inher. Metab. Dis.* 2013;36(2):211-219.

Walkley SU, Vanier MT. Secondary lipid accumulation in lysosomal disease. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1793(4):726-36.

Whitley CB, Ridnour MD, Draper KA, Dutton CM, Neglia JP. Diagnostic test for mucopolysaccharidosis: I. Direct method for quantifying excessive urinary glycosaminoglycan excretion. *Clin Chem.* 1989;35(3):374-9.

Winchester B. Primary defects in lysosomal enzymes. In: Platt FM, Walkley SU, editors. *Lysosomal Disorders of the Brain.* Oxford: Oxford University Press; 2004. p.81-130.

Wold SM, Derkay CS, Darrow DH, Proud V. Role of the pediatric otolaryngologist in diagnosis and management of children with mucopolysaccharidoses. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2010;74(1):27-31.

WORLDSymposium 2018. Official List of Lysosomal Diseases, <https://www.worldsymposia.org/official-list-of-lysosomal-diseases>.

Wraith JE. The mucopolysaccharidoses: a clinical review and guide to management. *Arch Dis Child.* 1995;72(3):263–267.

Young ID, Harper PS, Newcombe RG, Archer IM. A clinical and genetic study of Hunter's syndrome. 2. Differences between the mild and severe forms. *J Med Genet.* 1982;19(6):408–411.

Zafeiriou DI, Batzios SP. Brain and spinal MR imaging findings in mucopolysaccharidoses: a review. *AJNR Am J Neuroradiol.* 2013;34(1):5-13.

## 8 PŘÍLOHY

1. Murgasova L, Jurovcik M, Jesina P, Malinova V, Bloomfield M, Zeman J, Magner M. Otorhinolaryngological manifestations in 61 patients with mucopolysaccharidosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2020 Aug;135:110137. doi: 10.1016/j.ijporl.2020.110137. Epub 2020 May 27. PMID: 32502916.
2. Murgasova L, Hulkova H, Baresova V, Jurovcik M, Stritesky J, Jurickova K, Magner M, Sikora J. Adenotonsillar pathology in mucopolysaccharidoses – lysosomal storage predominates in paracortical CD63+ cells. *Virchows Arch.* 2023 Oct 3. doi: 10.1007/s00428-023-03662-y. Epub ahead of print. PMID: 37787787.
3. Murgasova L, Votruba J, Otáhal M, Michálek P, Zeman J, Magner M. Implantation eines Trachealstents bei erwachsenem Patienten mit Morbus Hunter [Tracheal stent implantation in an adult patient with Hunter syndrome]. *Laryngorhinootologie.* 2020 Mar;99(3):173-175. German. doi: 10.1055/a-1018-5878. Epub 2020 Jan 9. PMID: 31918447.
4. Murgašová L., Jurovčík M., Biskupová V., Pavlíčková J., Magner M. Mukopolysascharidózy z pohledu otorinolaryngologa. *Otorinolaryng. a Foniat. /Prague/.* 2018;67(2):62–67.