



ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών
ΜΟΡΙΑΚΗ ΚΑΙ ΕΦΑΡΜΟΣΜΕΝΗ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

Διπλωματική Εργασία

Λυσοσωματικά αθροιστικά νοσήματα
Κλινικές εκδηλώσεις μετάλλαξης στο γονίδιο
της β-γαλακτοσιδάσης

Κεχριώτης Μιχαήλ-Κωνσταντίνος
Ιατρός Βιοπαθολόγος

ΑΘΗΝΑ 2018

ΜΕΛΗ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

Σοφία Κίτσιου-Τζέλη, ομότιμη Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ
(Επιβλέπουσα Καθηγήτρια)

Κουτσιλιέρης Μιχάλης, Διευθυντής Εργαστηρίου Πειραματικής Φυσιολογίας
Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Βαϊόπουλος Γιώργος, ομότιμος Καθηγητής Παθολογίας, Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ

Ευχαριστίες

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά όλους όσους συνέβαλαν στην εκπόνηση της διπλωματικής μου εργασίας.

Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω την επιβλέπουσα ομότιμο Καθηγήτρια Ιατρικής Γενετικής κα Σοφία Κίτσιου-Τζέλη για τους κόπους και τον χρόνο που μού αφιέρωσε, και κυρίως για τις πολύτιμες συμβουλές της.

Επίσης ευχαριστώ θερμά τα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, τον Καθηγητή Φυσιολογίας, κ. Μιχάλη Κουτσιλιέρη, και τον ομότιμο Καθηγητή Παθολογίας, κ. Γιώργο Βαϊόπουλο για την βοήθεια και τις υποδείξεις τους καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου επέδειξαν, δίνοντας μου την δυνατότητα να παρακολουθήσω και να περατώσω το Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα σπουδών της Μοριακής και Εφαρμοσμένης Φυσιολογίας, από το οποίο αποκόμησα πολλές γνώσεις σε διάφορους τομείς, που θα φανούν χρήσιμες στην επαγγελματική μου πορεία. Ευχαριστίες απευθύνονται και προς τον ομότιμο καθηγητή Βιοχημείας Paschke Eduard που πριν από αρκετά χρόνια δέχθηκε να απασχοληθώ στο Εργαστήριο Μεταβολικών Νοσημάτων του LKH Graz.

ΤΑ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΑ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ
ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ
ΤΗΣ β- ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα αποτελούν μια ομάδα μέ περισσότερα από 50 κληρονομικά νοσήματα που οδηγούν σε ένα ευρύ φάσμα σωματικών και νοητικών αναπηριών, και συχνά σε πρόωρο θάνατο. Τα συμπτώματα και σημεία των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων οφείλονται σε προοδευτική συσσώρευση μεταβολιτών που δεν μπορούν να διασπαστούν, οδηγώντας σε γενικευμένη δυσλειτουργία κυττάρων και ιστών.

Τα τελευταία 20 χρόνια έγινε σημαντική πρόοδος στην κατανόηση του ρόλου του λυσοσώματος στην κυτταρική λειτουργία. Μέχρι πριν λίγα χρόνια το λυσόσωμα θεωρούνταν ένα κυτταρικό τμήμα που αποτελεί το τελικό σημείο όλων των μεταβολικών διεργασιών. Σήμερα είναι πιά γνωστό ότι τα λυσοσώματα αποτελούν σημαντικό μέρος του λυσοσωμικού/ενδοσωμικού δικτύου που παίζει σημαντικό ρόλο σε πλήθος κυτταρικών λειτουργιών. Επιπλέον κατά τις τελευταίες δύο δεκαετίες έχουν εφαρμοστεί με επιτυχία θεραπείες για αρκετά λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα.

Μεταλλάξεις στο γονίδιο *GLB1* που κωδικοποιεί την ανθρώπινη β-γαλακτοσιδάση οδηγούν σε δύο διαφορετικά λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα: Την γαγγλιοσίδωση GM1 και την βλεννοπολυσακχαρίδωση IV τύπου Β (νόσος Morquio Β)

Η γαγγλιοσίδωση GM1 περιλαμβάνει 3 φαινότυπους: Τύπος I (βρεφική μορφή), τύπος II (όψιμη βρεφική/νεανική) και τύπος III (μορφή ενηλίκων). Καί οι τρεις μορφές χαρακτηρίζονται από συμμετοχή του νευρικού συστήματος. Σκελετική συμμετοχή άλλοτε άλλης βαρύτητας μπορεί επίσης να συνυπάρχει.

Η βλεννοπολυσακχαρίδωση IV τύπου Β, αντίθετα, χαρακτηρίζεται κυρίως από σκελετικές αλλοιώσεις. Συμμετοχή του αναπνευστικού συστήματος, επηρεασμός της ακοής και καρδιακή βαλβιδοπάθεια μπορεί επίσης να συνυπάρχουν. Η νοητικές ικανότητες είναι φυσιολογικές, ενώ το νευρικό σύστημα μπορεί να είναι επηρεασμένο δευτεροπαθώς λόγω συμπίεσης του Νωτιαίου Μυελού.

Ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο μεταλλάξεις του ίδιου γονιδίου προκαλούν δύο πολύ διαφορετικά νοσήματα δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως.

Η έρευνα για την θεραπεία των δύο νοσημάτων με την χρήση φαρμακολογικών " πρωτεϊνών συνοδών" έχει δώσει ενθαρυντικά αποτελέσματα.

ABSTRACT

Lysosomal storage disorders comprise a group of more than 50 inherited disorders that lead to a wide spectrum of physical and mental disabilities and often to premature death. Signs and symptoms of lysosomal storage disorders are caused by progressive accumulation of undegraded metabolites resulting in generalised cell and tissue dysfunction.

In the last 20 years our understanding of the lysosome and its role in cells has evolved significantly. Some years ago, lysosomes were depicted as terminal compartment of all metabolic processes. Nowadays it is well recognised that lysosomes are a significant part of the endosomal/lysosomal network, that plays a critical role in a whole range of cellular processes. Moreover in the last two decades successful treatments have been employed for many lysosomal disorders.

Mutations of the *GLB1* gene that codes for the human β -galactosidase causes two different lysosomal storage disorders: GM1 gangliosidosis and mucopolysaccharidosis IV type B (Morquio B).

GM1 gangliosidosis includes 3 phenotypes: Type I (Infantile), type II (late infantile/juvenile) and type III (adult). All three types are characterized by the involvement of the neural system. Skeletal involvement of varying severity may also be present.

Mucopolysaccharidosis IV type B, on the other hand, is characterized mainly by skeletal changes. Involvement of the respiratory system, hearing impairment and valvular heart disease can be present. Intellectual abilities are normal and the neural system can be affected only secondary to spinal compression.

The exact mechanism that leads mutations of the same gene to cause two very different disorders is not yet fully understood.

Research for treatment of the two disorders, by using pharmacological chaperones has shown promising results.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΤΑ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΑ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	7
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ	10
1.1 Εισαγωγή	10
1.2 Λειτουργίες του ευρύτερου λυσοσωμικού δικτύου	11
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	
ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ	15
2.1 Εισαγωγή	15
2.2 Νευροεκφύλιση.....	16
2.3 Ενδοκυττάρια εναπόθεση ουσιών	18
2.4 Διαταραχή της αυτοφαγίας.....	20
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3	
ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ	23
3.1 Εισαγωγή	23
3.2 Γονίδια, πρωτεΐνες, συσσωρευμένα υποστρώματα, φαινότυπος, διάγνωση.....	23
3.3 Γενετική Συμβουλευτική.....	25
3.4 Επιδημιολογία(επίπτωση και επιπολασμός)	25
3.5 Πληθυσμοί υψηλού κινδύνου	26
3.6 Κοινωνικο-οικονομικές συνέπειες	27
3.7 Προκαταρκτικές εξετάσεις για τον έλεγχο του γενικού πληθυσμού	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4	
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ.....	28
4.1 Εισαγωγή	28
4.2 Προαναλυτική διαδικασία	29
4.3 Προκαταρκτικές εξετάσεις screening σε δείγματα ούρων ή αίματος	29
4.4 Διάγνωση λυσοσωμικών ενζυμικών διαταραχών.....	30
4.5 Ειδικά προβλήματα στη διάγνωση	31
4.6 Διάγνωση λυσοσωμικών νοσημάτων που οφείλονται σε μη ενζυμικές πρωτεΐνες.....	33
4.7 Μοριακός γενετικός έλεγχος.....	34
4.8 Προγεννητική διάγνωση.....	35
4.9 Μελλοντικές προοπτικές.....	36

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

ΚΑΙ ΙΔΙΑΙΤΕΡΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ	37
5.1 Εισαγωγή	37
5.2 Εμβρυϊκός ύδρωπας	38
5.3 Δυσμορφικά χαρακτηριστικά προσώπου	38
5.4 Απόφραξη ανωτέρων αεροφόρων οδών, συχνές αναπνευστικές λοιμώξεις και κώφωση.....	39
5.5 Καρδιακή νόσος.....	39
5.6 Ηπατοσπληνομεγαλία και ηπατοπάθεια.....	40
5.7 Πολλαπλή δυσόστωση	40
5.8 Νευρολογική συμπτωματολογία.....	41
5.9 Εμφάνιση συμπτωμάτων στην ενήλικη ζωή.....	43

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΑΞΗΣ ΣΤΟ ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ.....	46
1.1 Εισαγωγή	46
1.2 β- γαλακτοσιδάση	46
1.3 Βλεννοπολυσακχαρίδες(γλυκοζαμινογλυκάνες)	49
1.4 Γαγγλιοσίδες.....	54

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗΣ IVB / ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗΣ GM1.....	60
2.1 Εισαγωγή	60
2.2 Κλινικά χαρακτηριστικά	60
2.3 Ακτινολογικός έλεγχος σκελετού	63
2.4 Μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου	64
2.5 Έλεγχος γλυκοζαμινογλυκανών στα ούρα	64
2.6 Επιβεβαίωση της διάγνωσης.....	65
2.7 Παθολογική Φυσιολογία.....	66
2.8 Συσχέτιση γονότυπου-φαινότυπου	66
2.9 Επιδημιολογία	67
2.10 Μοριακή γενετική	68
2.11 Διαφορική Διάγνωση.....	69
2.12 Θεραπευτικές προσεγγίσεις.....	72
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	76

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΤΑ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΑ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πενήντα και πλέον χρόνια έχουν περάσει από τότε που εμφανίστηκε η έννοια της λυσοσωμικής σωρευτικής διαταραχής.

Η έννοια του λυσοσώματος προτάθηκε για πρώτη φορά το 1955 από τον Christian de Dube [1] ο οποίος ανακάλυψε το οργανίδιο αυτό. Ο όρος λυσοσώμα παραπέμπει στον βιολογικό του ρόλο. Τα λυσοσώματα είναι ο τύπος όπου λαμβάνει χώρα η ενζυματική λύση των μακρομορίων έτσι ώστε τα συστατικά τους να μπορούν να ανακυκλωθούν.

Ο όρος λυσοσωμικό αθροιστικό νόσημα προτάθηκε για πρώτη φορά από τον H. G Hers, μετά την ανακάλυψη ότι η νόσος Pompe οφείλεται στην έλλειψη της όξινης μαλτάσης που είναι λυσοσωμικό ένζυμο[2]. Σημαντική πρόοδο στην έρευνα των λυσοσωμικών νοσημάτων αποτέλεσε η διατύπωση της έννοιας της "διασταυρούμενης διόρθωσης"(cross correction) από την Elisabeth Neufeld[3]. Σε καλλιεργήματα ινοβλαστών από ασθενείς με διαφορετικά λυσοσωμικά νοσήματα, η ενζυμική διαταραχή διορθωνόταν όταν οι ινοβλάστες των ασθενών αναμειγνύονταν και αναπτύσσονταν στην ίδια καλλιέργεια. Η διαταραχή εμφανίζονταν μόνο όταν οι ινοβλάστες καλλιεργούνταν σε ξεχωριστές καλλιέργειες. Η παρατήρηση αυτή αποτέλεσε την βάση για την διατύπωση της έννοιας της "θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης".

Το επόμενο βήμα στην έρευνα για την θεραπεία των νοσημάτων αυτών έγινε το 1974 από τον Roscoe Brady που όχι μόνο ανακάλυψε την ενζυμική βάση της νόσου Gaucher[4] και της νόσου Fabry[5] αλλά και συνέβαλε στην ανακάλυψη θεραπείας υποκατάστασης για τον άνθρωπο[6,7,8].

Τα τελευταία είκοσι χρόνια σημειώθηκε μεγάλη πρόοδος στην κατανόηση των μηχανισμών και της κλινικής εικόνας των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων. Σήμερα είναι γνωστό ότι τα λυσοσώματα αποτελούν μέρος του "ενδοσωμικού /λυσοσωμικού δικτύου". Το δίκτυο αυτό παίζει σημαντικό ρόλο σε διαδικασίες όπως η ανακύκλωση κυτταρικών μεμβρανών και άλλων υποκυτταρικών οργανιδίων. Επίσης συμμετέχει στη διάσπαση μακρομορίων και φαγοκυτταρωμένων υλικών. Τέλος παίζει σημαντικό ρόλο και στην απόπτωση και την αυτοφαγία.

Σε κλινικό επίπεδο τα τελευταία χρόνια δοκιμάστηκαν με επιτυχία νέες θεραπείες. Σκοπός των θεραπειών αυτών ήταν η ελάττωση της συσσώρευσης των υποστρωμάτων των λυσοσωμικών ενζύμων καθώς και η αύξηση της αποδόμησης των υποστρωμάτων αυτών.

Με τα νεότερα ερευνητικά δεδομένα, γίνεται ολοένα και πιο σαφές ότι το απλό μοντέλο της λυσοσωμικής διαταραχής και της συσσώρευσης υποστρωμάτων δεν μπορεί να εξηγήσει όλο το φάσμα των πολυσυστηματικών εκδηλώσεων των νοσημάτων αυτών.

Η πρώτη προσπάθεια αιτιολογικής θεραπευτικής αντιμετώπισης αφορά τη νόσο Gaucher. Αμέσως μετά την ανακάλυψη της υποκείμενης διαταραχής στην νόσο Gaucher (έλλειψη γλυκοσερεβροσιδάσης) άρχισε να διερευνάται η πιθανή αξία της θεραπείας ενζυμικής υποκατάστασης σε ασθενείς με κληρονομική δυσλειτουργία του ενζύμου αυτού. Έτσι ξεκίνησε η έρευνα για την παραγωγή του ενζύμου που έπρεπε να υποκατασταθεί. Η παρεντερική χορήγηση πρωτεΐνης δημιουργεί κίνδυνο ανοσολογικής ευαισθητοποίησης του λήπτη. Έτσι αποκλείστηκε το ενδεχόμενο χρήσης ενζύμου από ζωική πηγή. Προτάθηκε λοιπόν η λήψη του ενζύμου από ανθρώπινο πλακουντικό ιστό. Όμως καθώς η γλυκοσερεβροσιδάση είναι εξαιρετικά υδρόφοβη παρουσιάστηκαν πολλά τεχνικά προβλήματα στη λήψη και τον μετέπειτα χειρισμό του ενζύμου. Τελικά παρά τα προβλήματα αυτά έγινε δυνατό να αποκτηθεί και να καθαρθεί ικανή ποσότητα ενζύμου, που θα μπορούσε να χορηγηθεί σε ασθενείς. Οι δύο πρώτοι ασθενείς που υποβλήθηκαν σε θεραπεία υποκατάστασης έπασχαν από νόσο Gaucher τύπου 1 και τύπου 3.[6] Τα αποτελέσματα ήταν εντυπωσιακά. Η γλυκοσερεβροσιδίδη στο ήπαρ των δύο ασθενών μειώθηκε κατά 26%, και επιπλέον παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της συνδεδεμένης με τα ερυθρά γλυκοσερεβροσιδίου.

Παρά τις πρώτες αυτές επιτυχίες στη θεραπευτική της νόσου Gaucher, πέρασε αρκετός χρόνος ώσπου να αποδειχτεί η κλινική χρησιμότητα της θεραπείας με κλινική μελέτη.

Έκτοτε υπήρξαν πολλές προσπάθειες ενζυμικής υποκατάστασης σε νοσήματα με συσσώρευση βλεννοπολυσακχαριδών και σφιγγολιπιδίων. Τα αποτελέσματα ήταν άλλοτε ενθαρυντικά και άλλοτε απογοητευτικά. Οι θεραπευτικές αυτές προσπάθειες είχαν πολλές φορές ικανοποιητικά αποτελέσματα στην θεραπεία εκδηλώσεων από πολλά συστήματα. Όμως παρά την ικανοποιητική αποτελεσματικότητά τους σε διάφορα συστήματα, η αποτελεσματικότητά στα συμπτώματα από το κεντρικό νευρικό σύστημα υπολείπονταν πολύ. Η θεραπεία

των συμπτωμάτων από το κεντρικό νευρικό σύστημα εξακολουθεί να είναι πεδίο εκτεταμένης έρευνας .

Τα τελευταία χρόνια υπάρχουν αρκετές νεότερες θεραπευτικές προσεγγίσεις. Η πιο σημαντική από αυτές αφορά τη χρήση μικρών μορίων που μπορούν να προσδεθούν στο ελαττωματικό ένζυμο. Η προσθήκη των μορίων αυτών μπορεί να βελτιώσει την ενζυμική δραστηριότητα. Οι ουσίες αυτές λέγονται Φαρμακολογικές "πρωτεΐνες συνοδοί". Η σύνδεσή τους στο ενζυμικό μόριο οδηγεί στη σταθεροποίησή του και επιτρέπει την μεταφορά του εντός του λυσοσώματος όπου μπορεί να γίνει δραστικό.

Άλλη θεραπευτική προσέγγιση με ευρύ ερευνητικό πεδίο είναι η γονιδιακή θεραπεία. Η γονιδιακή θεραπεία θα μπορούσε δυνητικά να οδηγήσει στη ριζική ίαση των ασθενών αυτών.

Τέλος ερευνητικές προσπάθειες έχουν γίνει στην διερεύνηση του ρόλου της αποακετυλάσης των ιστονών και των αναστολέων της. Οι αναστολείς αυτοί φαίνεται να επηρεάζουν την ποσότητα και τη λειτουργικότητα των μεταλλαγμένων ενζυμικών μορίων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ1

ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΠΑΘΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

1.1 Εισαγωγή

Τα λυσοσώματα, αποτελούν μέρος του ευρύτερου λυσοσωμικού συστήματος[9], ενός σημαντικού ρυθμιστικού δικτύου σε όλα τα ευκαρυωτικά κύτταρα.

Οι λειτουργίες του συστήματος αυτού είναι πολλές και περίπλοκες. Αφορούν στη μεταφορά των νεοσυντεθέντων ενζυμικών μορίων προς το εσωτερικό των λυσοσώματων, διαδικασίες μεταγωγής σήματος μέσω αγγελιοφόρων, αλλά και διαδικασίες αυτοφαγίας με τις οποίες ενδοκυτταρικά στοιχεία αποδομούνται μέσα στα λυσοσώματα, καθώς και διαδικασίες διάσωσης, με τις οποίες προϊόντα αποδόμησης μεταφέρονται σε άλλα κυτταρικά τμήματα για επαναχρησιμοποίηση. Το σύστημα αυτό βρίσκεται σε στενή συσχέτιση με άλλους πρωτεολυτικούς μηχανισμούς όπως το σύστημα ουμπικιτίνης-πρωτεασώματος που συμμετέχει και αυτό στην ανακύκλωση των πρωτεϊνών. Το ίδιο το λυσοσώμα έχει κεντρικό επιτελικό ρόλο σε όλο το σύστημα, εποπτεύοντας όλες τις λειτουργίες του.

Τα λυσοσώματα είναι υποκυτταρικά οργανίδια με όξινο pH που περιβάλλονται από κυτταρική μεμβράνη. Στο εσωτερικό τους εντοπίζονται πολλά υδρολυτικά ένζυμα που είναι δραστικά σε όξινο περιβάλλον. Τα ένζυμα αυτά διασπούν πλήθος μακρομορίων ή μικρομορίων όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια, DNA και RNA. Προϊόντα της διάσπασης είναι μικρομοριακές ενώσεις όπως αμινοξέα, απλές σακχαριτικές ενώσεις, απλά γλυκολιπίδια, χοληστερόλη και νουκλεοτίδια. Αυτά απομακρύνονται από τα λυσοσώματα για να ξαναχρησιμοποιηθούν για την σύνθεση μακρομορίων (διάσωση). Η μεταφορά μέσω της μεμβράνης των λυσοσωμάτων γίνεται με τη βοήθεια ειδικών μεταφορικών πρωτεϊνών. Τα προϊόντα της διάσπασης τελικά οδηγούνται σε άλλα κυτταρικά οργανίδια όπου μετέχουν σε βιοσυνθετικές διεργασίες.

Παραδοσιακά τα λυσοσώματα έχουν παρασταθεί σαν τελικό σημείο βιολογικών διεργασιών με τις οποίες επιτυγχάνεται η ανακύκλωση των βιολογικών μορίων. Φαίνεται όμως ότι για την λειτουργία αυτή είναι απαραίτητα όλα τα στοιχεία του ευρύτερου λυσοσωμικού συστήματος. Το σύστημα αυτό συμμετέχει ως ενιαίο σύνολο στην επίτευξη της κυτταρικής ομοιοστασίας. Εξάλλου οι λειτουργίες του

ευρύτερου λυσοσωμικού συστήματος βρίσκονται σε στενή αλληλεξάρτηση σε μεταγραφικό επίπεδο. Έχει βρεθεί ότι ένα δίκτυο γονιδίων ρυθμίζει τις λυσοσωμικές λειτουργίες. Το δίκτυο αυτό αναφέρεται ως δίκτυο CLEAR. Όλα τα γονίδια του δικτύου αυτού ρυθμίζονται από τον ίδιο μεταγραφικό παράγοντα (TFEB)[10].

1.2 Λειτουργίες του ευρύτερου λυσοσωμικού δικτύου

Όπως ειπώθηκε, οι απόψεις για την λειτουργία του λυσοσώματος έχουν εξελιχθεί πολύ στα τελευταία χρόνια. Σήμερα είναι παραδεκτό ότι τα λυσοσώματα αποτελούν τμήμα τού ευρύτερου λυσοσωμικού δικτύου. Οι λειτουργίες του δικτύου αυτού εξετάζονται συστηματικά παρακάτω.

1. Ενδοκύττωση

Η λειτουργία αυτή περιλαμβάνει όλες τις διαδικασίες που είναι απαραίτητες για την εγκύστωση και μεταφορά στο εσωτερικό του κυττάρου τμημάτων της κυτταρικής μεμβράνης μαζί με στοιχεία του εξωκυττάρου περιβάλλοντος. Η λειτουργία αυτή είναι εξαιρετικά πολύπλοκη. Ολοένα και περισσότερες γνώσεις προστίθενται συνεχώς στο θέμα αυτό. Έτσι έχουν περιγραφεί διάφορες μορφές ενδοκύττωσης και έχουν αναγνωριστεί τα βασικά μόρια που συμμετέχουν στην καθε μία. Ιδιαίτερη σημασία έχει η ενδοκύττωση μέσω κλαθρίνης (CME). Αυτή ξεκινά με την δημιουργία εγκοιλώσεων στην κυτταρική μεμβράνη που επενδύονται με κλαθρίνη. Με αυτό τον τρόπο μεταφέρονται στο εσωτερικό του κυττάρου συμπλέγματα μορίων μαζί με τους ειδικούς τους υποδοχείς. Αυτή η μορφή ενδοκύττωσης παίζει σημαντικό ρόλο στο κεντρικό νευρικό σύστημα για την κυκλοφορία των νευροδιαβιβαστών, που συμμετέχουν στην μετάδοση της νευρικής διέγερσης και στην εκδήλωση της πλαστικότητας της νευρικού συστήματος. Άλλες φορές η ενδοκύττωση ξεκινά σε ειδικές περιοχές της κυτταρικής μεμβράνης όπου πα ρατηρούνται μικρές κοιλότητες (caveola) που είναι πλούσιες σε χοληστερόλη σφιγγολιπίδια και μία ειδική ουσία γνωστή ως καβεολίνη. Οι περιοχές αυτές φαίνεται να παίζουν ρόλο και στη μεταγωγή σήματος.

Με την είσοδο του ενδοκυτταρωμένου υλικού δημιουργείται το ενδόσωμα. Αυτό εξελίσσεται από πρόωμο σε όψιμο, και κατόπιν σε λυσόσωμα. Στην διάρκεια αυτής της εξέλιξης το pH γίνεται ολοένα και πιο όξινο. Πρέπει να σημειωθεί ότι τα πρόωμα ενδοσώματα μπορεί να μην εξελιχθούν σε λυσοσώματα αλλά να ξαναεπιστρέφουν στην κυτταρική μεμβράνη, από όπου ξεκίνησαν. Η διαδικασία αυτή είναι σημαντική

για την ανακύκλωση των μεμβρανικών υποδοχέων, και σηματοδοτικών μορίων. Έτσι γίνεται φανερό ότι αν υπάρχει δυσλειτουργία στην πορεία αυτού του μηχανισμού, όπως συμβαίνει στα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα, οι συνέπειες για τον οργανισμό εκτείνονται πολύ πέρα από το στενό πλαίσιο του λυσοσώματος.

2.Αυτοφαγία

Δεύτερη σημαντική λειτουργία που συνδέεται με το λυσόσωμα είναι η αυτοφαγία. Αυτή στοχεύει σε ενδοκυτταρικά στοιχεία. Τέτοια μπορεί να είναι γερασμένα πρωτεϊνικά μόρια, ελαττωματικά υποκυτταρικά οργανίδια, ή και ενδοκυττάριοι παθογόνοι μικροοργανισμοί. Η αυτοφαγία συχνά ενεργοποιείται μετά από stress νηστείας. Η αυτοφαγία διακρίνεται σε τρεις τύπους ανάλογα με τον τρόπο που το υπόστρωμα μεταφέρεται στα λυσοσώματα.

-Μικροαυτοφαγία

-Αυτοφαγία με την μεσολάβηση "πρωτεΐνης συνοδού" (chaperon mediated)

-Μακροαυτοφαγία

-*Μικροαυτοφαγία* είναι ο εγκλεισμός κυτταροπλασματικού υλικού σε κυστίδια που βρίσκονται μέσα στο λυσόσωμα. Αυτό μπορεί να γίνει με απευθείας εγκύστωση στη λυσοσωματική μεμβράνη, ή με σχηματισμό προσεκβολών σαν βραχίονες, που περιβάλλουν το υπόστρωμα και το μεταφέρουν στο εσωτερικό του λυσοσώματος.

- *Αυτοφαγία με τη μεσολάβηση σαπερόνης (πρωτεΐνης συνοδού)* περιλαμβάνει την είσοδο στο λυσόσωμα διαλυτών πρωτεϊνών που περιέχουν μια συγκεκριμένη γνωστή σηματοδοτική αλληλουχία αμινοξέων. Η αλληλουχία αυτή περιλαμβάνει κατά σειρά τα αμινοξέα Λυσίνη- Φαινυλαλαλίνη- Γλουταμικό- Αργινίνη- Γλουταμίνη (KFERQ). Η αλληλουχία αυτή επιτρέπει τη σύνδεση της μεταφερόμενης πρωτεΐνης με άλλες ειδικές πρωτεΐνες, μεταξύ των οποίων κεντρικό ρόλο έχει η Πρωτεΐνη θερμικού σοκ HSC70. Με την σύνδεση αυτή, η πρωτεΐνη ξεδιπλώνεται και μεταφέρεται μέσω της λυσοσωματικής μεμβράνης. Στη διέλευση δια μέσου της μεμβράνης βασικό ρόλο παίζει μία άλλη ειδική πρωτεΐνη που ονομάζεται LAMP2A. (Lysosome- Associated Membrane Protein 2A).

-*Μακροφαγία* είναι ο τρίτος τύπος αυτοφαγίας. Γενικά θεωρείται τύπος αυτοφαγίας που αφορά μεγάλα τμήματα κυτταρικού υλικού, που εγκυστώνονται σε κυστίδια και κατόπιν εισέρχονται στο λυσόσωμα. Ενεργοποιείται κυρίως σε κατάστασεις

ένδειας θρεπτικών συστατικών. Νεότερα δεδομένα ωστόσο δείχνουν ότι ο μηχανισμός αυτός υφίσταται και ανεξάρτητα από την κατάσταση νηστείας.

Κατά την μακροαυτοφαγία αρχικά σχηματίζονται κυστίδια που περιβάλλονται από διπλή μεμβράνη και λέγονται *αυτοφαγοσώματα*. Αυτά περιέχουν κυταροπλασματικό υλικό όπως ελαττωματικά κυτταρικά οργανίδια και ολιγομερισμένες πρωτεΐνες.

Σημαντικό ρόλο για την είσοδο και την επεξεργασία των υλικών αυτών στα λυσοσώματα παίζει η αναγνώριση τους από ειδικά μόρια υποδοχείς και από το σύστημα ουμπικιτίνης-πρωτεασώματος. Έχει αποδειχθεί ότι σε πολλά λυσοσωμικά νοσήματα υπάρχει διαταραχή στο μηχανισμό της αυτοφαγίας. Αν και η σημασία της διαταραχής αυτής και οι συνέπειες της δεν έχουν διερευνηθεί επαρκώς, φαίνεται ότι μπορεί να συμβάλει στην εκφύλιση του νευρικού συστήματος που παρατηρείται στα νοσήματα αυτά.

3. Οδοί διάσωσης ανακύκλωσης (salvage)

Διάσωση είναι ο μηχανισμός με τον οποίο τα προϊόντα που προκύπτουν από την διάσπαση των μακρομοριακών ενώσεων μέσα στα λυσοσώματα μεταφέρονται σε άλλα μέρη του κυττάρου, όπου μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν. Στον μηχανισμό συμμετέχουν πολλές πρωτεΐνες μεταφοράς που βρίσκονται στη μεμβράνη του λυσοσώματος. Διαταραχές στον μηχανισμό διάσωσης μπορούν να οδηγήσουν σε έλλειψη ουσιών που προορίζονται για επαναχρησιμοποίηση. Έχει διερευνηθεί η συμμετοχή του μηχανισμού αυτού στον μεταβολισμό των γαγγλιοσιδών. Η γαγγλιοσίδη GM1 και άλλες σύνθετες γαγγλιοσίδες αποδομούνται μέσα στα λυσοσώματα στις απλούστερες γαγγλιοσίδες GM2 και GM3. Η διάσωση των μορίων αυτών και η μεταφορά τους στο σύστημα Golgi επιτρέπει ξανά την δημιουργία σύνθετων γαγγλιοσιδών χωρίς να χρειάζεται αυτές να συντεθούν εκ νέου.

Τα παραπάνω δίνουν μια νέα διάσταση στην κατανόηση των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων. Φαίνεται ότι στην εκδήλωση των συμπτωμάτων των νόσων αυτών δεν συμμετέχει μόνο η άθροιση ουσιών που δεν μπορούν να διασπαστούν στα λυσοσώματα, αλλά και το γεγονός ότι οι δομικοί λίθοι των ουσιών αυτών δεν μπορούν να ανακυκλωθούν και να επαναχρησιμοποιηθούν για σύνθεση νέων μακρομορίων. Έτσι εκτός από την *άθροιση* ουσιών, συνυπάρχει και ένας βαθμός *έλλειψης* των ουσιών αυτών καθώς πρέπει να συντεθούν εκ νέου με πολύ μεγαλύτερο "μεταβολικό κόστος".

4. Το Σύστημα Ουμπικιτίνης Πρωτεασώματος (UPS).

Στό ευρύτερο λυσοσωμικό σύστημα δεν έντάσσονται μόνο μηχανισμοί που σχετίζονται άμεσα με το λυσόσωμα καθαυτό, αλλά και μηχανισμοί που σχετίζονται με τον ποιοτικό έλεγχο των νεοσυντιθέμενων πρωτεϊνών, όπως το σύστημα ουμπικιτίνης- πρωτεασώματος. Όπως είναι γνωστό το σύστημα αυτό σχετίζεται με την αποδόμηση ακατάλληλων πρωτεϊνών, και παίζει σημαντικό ρόλο σε κυτταρικούς ρυθμιστικούς μηχανισμούς όπως το "Σχετιζόμενο με το Ενδοπλασματικό δίκτυο Σύστημα Αποδόμησης Πρωτεϊνών" (Endoplasmic reticulum associated degradation system-ERAD), που είναι υπεύθυνο για την αποδόμηση ελαττωματικών πρωτεϊνών που το μόριο τους δεν έχει τη σωστή αναδίπλωση.

Εξάλλου το σύστημα ουμπικιτίνης πρωτεασώματος συνδέεται λειτουργικά και στον μηχανισμό της μακροαυτοφαγίας. Το σύστημα ουμπικιτίνης πρωτεασώματος μπορεί να αποδομήσει μονομερείς πρωτεΐνες, ενώ με το μηχανισμό της μακροαυτοφαγίας αποδομούνται και μεγάλα μόρια, όπως ολιγομερισμένες πρωτεΐνες, η ακόμα και ολόκληρα κυτταρικά οργανίδια. Έχει βρεθεί ότι διαταραχή στο σύστημα ουμπικιτίνης-πρωτεασώματος οδηγεί σε αντισταθμιστική αύξηση της αποδόμησης πρωτεϊνών με τον μηχανισμό της μακροαυτοφαγίας. Κατα ανάλογο τρόπο, είναι πιθανό ότι σε διαταραχή της μακροαυτοφαγίας θα πρέπει να υπάρχει αντισταθμιστική αύξηση στη δράση του συστήματος ουμπικιτίνης-πρωτεασώματος. Ο μοριακός μηχανισμός και τα μόρια που παρεμβαίνουν σε αυτή την αντιστάθμιση δεν είναι γνωστός. Επίσης δεν είναι γνωστό μέχρι ποιο όριο μπορεί η αντιστάθμιση αυτή να είναι επιτυχής .

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΤΩΝ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

2.1 Εισαγωγή

Οι κλινικές οντότητες των λυσοσωματικών νοσημάτων έχουν αναγνωριστεί και καταγραφεί εδώ και μισό αιώνα περίπου. Τα νοσήματα αυτά αποδίδονται κλασικά στην έλλειψη μεμονωμένων υδρολυτικών λυσοσωμικών ενζύμων. Η έλλειψη αυτή οδηγεί σε περίσσεια του ειδικού για κάθε ένζυμο υποστρώματος και επομένως σε άθροιση του. Στην κατηγορία αυτή των νοσημάτων περιλαμβάνονται σχεδόν 60 μονογονιδιακές διαταραχές. Η συχνότητά τους ανέρχεται συνολικά σε 1/ 7000 γεννήσεις ζώντων νεογνών. Δεν οφείλονται μόνο στην έλλειψη των λυσοσωμικών υδρολασών, αλλά και στην έλλειψη άλλων μη-λυσοσωμικών πρωτεϊνών. Αυτές μπορεί να είναι ένζυμα ή μη ενζυμικές διαλυτές πρωτεΐνες, καθώς και άλλα μόρια που βρίσκονται συνδεδεμένα στην μεμβράνη και που είναι υπεύθυνα για τη συνολική λειτουργία ολοκληρου του ευρύτερου λυσοσωματικού συστήματος[11].

Η ταξινόμηση των λυσοσωματικών αθροιστικών νοσημάτων δεν είναι πάντα εύκολη. Υπάρχει σημαντική αλληλεπικάλυψη στα κλινικά χαρακτηριστικά, αλλά και στο είδος των αθροιζόμενων μορίων που ανιχνεύονται. Παρόλα αυτά η κλασική κατάταξη των νοσημάτων αυτών με βάση την βιοχημική σύσταση του αθροιζόμενου υλικού εξακολουθεί να είναι η πλέον χρήσιμη. Έτσι, ανάλογα με την ουσία που αθροίζεται διακρίνονται:

- Λιπιδώσεις
 - Βλεννοπολυσακχαριδώσεις
 - Γλυκογονώσεις
 - Νευρωνική Κηρώδης Λιποφουσκίνωση
 - Βλεννολιπιδώσεις
 - Γλυκοπρωτεϊνώσεις
- καί άλλες

Τα περισσότερα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα αφορούν παιδιά. Η ηλικία εμφάνισης και η κλινική τους πορεία μπορεί να διαφέρει. Πάντως κοινό χαρακτηριστικό σε όλα σχεδόν τα νοσήματα αυτά είναι ότι δεν εμφανίζονται αμέσως από την γέννηση αλλά αργότερα, και ότι έχουν προοδευτική πορεία που οδηγεί σε πρόωρο θάνατο. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει πολλές πρόοδοι στην κατανόηση της μοριακής, βιοχημικής και γενετικής βάσης των νοσημάτων αυτών. Ωστόσο υπάρχουν πολλά ερωτήματα σχετικά με τους παθογενετικούς μηχανισμούς. Ένα από αυτά αφορά στο κατά πόσο κάποιες από τις κυτταρικές βλάβες που προκαλούνται κατά την πορεία των νοσημάτων αυτών είναι αναστρέψιμες ή όχι. Σημαντικά χαρακτηριστικά στην παθοφυσιολογία πολλών λυσοσωμικών αθροιστικών Νοσημάτων είναι:

- Νευροεκφύλιση .
- Ενδοκυττάρια εναπόθεση ουσιών
- Διαταραχή της αυτοφαγίας

2.2 Νευροεκφύλιση

Ιδιαίτερη έρευνα γίνεται στο θέμα αυτό της προσβολής του νευρικού συστήματος. Η κλινική εικόνα των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων περιλαμβάνει προσβολή πολλών ιστών και συστημάτων όπως τα οστά, οι μύες, το ήπαρ, τα νεφρά και ο σπλήνας αλλά σε πάνω από τα δύο τρίτα των περιπτώσεων προσβάλεται το κεντρικό νευρικό σύστημα.

Τα συμπτώματα από το νευρικό σύστημα είναι κοινά για πολλά από τα νοσήματα αυτά και περιλαμβάνουν νοητική αναπηρία, άνοια, σπασμούς, κινητικά ελλείματα, και επηρεασμό της όρασης και ακοής.

Η νευροεκφύλιση παρουσιάζει έντονο ενδιαφέρον στα νοσήματα αυτά και αποτελεί αντικείμενο εκτεταμένης έρευνας. Δεν έχει εξηγηθεί γιατί άλλα νευρικά κύτταρα είναι επιρρεπή στην νευροεκφύλιση ενώ άλλα όχι. Επίσης δεν έχουν διευκρινιστεί οι συνέπειες που έχει η νευροεκφύλιση στη μετέπειτα πορεία του κάθε νοσήματος.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η νευροεκφύλιση των κυτταρών Purkinje της παρεγκεφαλίδας. Αυτά είναι κύτταρα της παρεγκεφαλίδας που χαρακτηρίζονται φυσιολογικά από άφθονες διακλαδώσεις. Κατά την πορεία λυσοσωματικών νοσημάτων, και ιδιαίτερα στην νόσο Nieman Pick τύπου C, εμφανίζεται σχεδόν πλήρης εκφύλιση. Η κατανομή των εκφυλισμένων κυτταρών Purkinje στις διάφορες

περιοχές της παρεγκεφαλίδας φαίνεται να είναι παρόμοια σε πολλά λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα.

Εχει βρεθεί ότι στην αιτιοπαθογένεια της νευροεκφύλισης σημαντικό ρόλο παίζουν φλεγμονώδεις διεργασίες. Είναι ενδιαφέρον ότι ενώ η φλεγμονή αποτελεί προστατευτικό μηχανισμό, τελικά, με την χρονία παραμονή της γίνεται καταστροφική για το νευρικό ιστό, οδηγώντας σε δευτερογενή βλάβη και σε επίταση των παθολογικών μηχανισμών.

Στο φυσιολογικό εγκέφαλο τα μικρογλοιακά κύτταρα παίζουν σημαντικό ρυθμιστικό και είναι άμεσα συνδεδεμένα με τη λειτουργία των νευρώνων. Τα κύτταρα αυτά είναι μακροφάγα που βρίσκονται μόνιμα στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Παίζουν ρόλο στη συντήρηση των νευρικών συνάψεων και στη διατήρηση του σχήματος των νευριτών. Επίσης είναι υπεύθυνα για την απομάκρυνση περιττών εξωκυτταρικών υπολειμάτων και αποπτωτικών κυττάρων. Τέλος, συμμετέχουν στην παροχή θρεπτικών ουσιών και προδρόμων ουσιών για τη σύνθεση νευροδιαβιβαστών. Κατά την πορεία των λυσοσωμικών νόσημάτων τα κύτταρα αυτά ενεργοποιούνται, πολλαπλασιάζονται και διηθούν τους γύρω ιστούς. Κατά διαδικασία αυτή παράγονται κυταροτοξικές ουσίες, όπως ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, που προκαλούν βλάβες στα γύρω κύτταρα. Επίσης εκκρίνονται προφλεγμονώδεις κυτταροκίνες που προκαλούν ενίσχυση των φαινομένων της φλεγμονής και προσέλκυση περισσότερων φλεγμονοδών κυττάρων.

Σε βιοψίες κεντρικού νευρικού συστήματος ασθενών με λυσοσωμικά νοσήματα τα μικρογλοιακά κύτταρα αλλά και τα υπόλοιπα μακροφάγα εμφανίζουν πολλές μορφολογικές μεταβολές. Επίσης υπάρχει αυξημένη παρουσία ενεργοποιημένων αστροκυττάρων. Εχει βρεθεί ότι η φλεγμονή και η ενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων προηγείται, συχνά, του θανάτου των νευρικών κυττάρων[12]. Έτσι η χορήγηση αντιφλεγμονοδών φαρμάκων θα μπορούσε να βοηθήσει στον κατευνασμό συμπτωμάτων από το νευρικό σύστημα στις νόσους αυτές. Αντικείμενο έρευνας αποτελεί ο προστατευτικός ρόλος που μπορεί να έχει η ενεργοποίηση των μικρογλοιακών κυττάρων. Έτσι θα μπορούσε να βρεθεί σε ποιές φάσεις είναι επωφελής η χορήγηση αντιφλεγμονοδών φαρμάκων και σε ποιές φάσεις θα πρέπει να αποφευχεται.

2.3 Ενδοκυττάρια εναπόθεση ουσιών

Ένα από τα πρώτα χαρακτηριστικά των λυσοσωμικών νοσημάτων που περιγράφηκαν είναι η ύπαρξη παθολογικά αποθηκευμένων ενδοκυττάρων ουσιών. Είναι όμως γνωστό σήμερα ότι η συσσώρευση αυτή δεν αφορά μόνο στο υποστρώμα του ελλειματικού ενζύμου. Φαίνεται ότι η αρχική συσσώρευση του υποστρώματος που δεν μπορεί να διασπαστεί, ενεργοποιεί σταδιακά πολύπλοκους μηχανισμούς με τους οποίους τελικά συσσωρεύονται και άλλες ουσίες. Σημαντική για την κατανόηση της παθοφυσιολογίας των νοσημάτων αυτών είναι η διάκριση μεταξύ πρωτοπαθώς συσσωρευμένων ουσιών και ουσιών που συσσωρεύονται δευτεροπαθώς. *Πρωτογενής* είναι η συσσώρευση ουσιών που λόγω έλλειψης ενός ενζύμου δεν μπορούν να διασπαστούν ή να απομακρυνθούν από το λυσόσωμα. *Δευτερογενής* είναι η συσσώρευση ουσιών που δεν μπορούν πια να διασπαστούν λόγω της βλάβης που έχει υποστεί το λυσόσωμα κατά την πορεία της νόσου. Ο διαχωρισμός αυτός δεν είναι πάντα εύκολος λόγω του πλήθους των ουσιών που συσσωρεύονται.

Είναι χαρακτηριστικό ότι στον νευρικό ιστό οι συσσωρεύσεις εντοπίζονται συχνότερα στο κυτταρικό σώμα σε περιοχές γύρω από τον πυρήνα ενώ στους δενδρίτες και τον νευράξονα εμφανίζονται σπανιότερα (μεγανευρίτες).

Όσον αφορά την παθοφυσιολογία της συσσώρευσης είναι γνωστό ότι η αρχική ενζυμική βλάβη οδηγεί σε συσσώρευση ενός υποστρώματος (πρωτογενής). Η συσσώρευση αυτή προκαλεί βλάβη στο λυσόσωμα με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται διάφορες άλλες ουσίες (δευτερογενής). Δεν είναι ακριβώς γνωστός ο μηχανισμός με τον οποίο η πρωτογενής συσσώρευση επηρεάζει την λειτουργία του λυσοσώματος με αποτέλεσμα την δευτερογενή συσσώρευση. Φαίνεται όμως ότι συμμετέχουν αρκετοί μηχανισμοί όπως:

- Απορρύθμιση του pH μέσα στο λυσόσωμα λόγω της πρωτογενούς συσσώρευσης
- Αποδιοργάνωση στη διαδικασία της συγχώνευσης των αυτοφαγοσωμάτων και των ενδοσωμάτων με το λυσόσωμα.
- Διαταραχή στις διαδικασίες μεταγωγής σήματος
- Διαταραχή στον μηχανισμό διάσωσης .

Εξάλλου είναι αξιοσημείωτο ότι ειδικά στον νευρικό ιστό η άθροιση μπορεί να είναι πιο έντονη σε ειδικές περιοχές του εγκεφάλου. Η σημασία που έχει αυτή η ειδικότητα στην συσσώρευση δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως.

Επίσης δεν έχει διευκρινιστεί αν η άθροιση ουσιών στα νευρικά κύτταρα μπορεί να έχει από μόνη της καταστρεπτικό αποτέλεσμα. Έχει βρεθεί σε πειραματόζωα ότι σε πολλές περιπτώσεις η άθροιση ουσιών παρατηρείται πολύ καιρό (ακόμα και δεκαετίες) πριν την εμφάνιση της νευροεκφύλισης δίνοντας την εντύπωση ότι η άθροιση ουσιών από μόνη της δεν είναι κυτταροτοξική[12]. Ωστόσο είναι πιθανό ότι οι νευρώνες, στους οποίους εντοπίζεται η συσσώρευση, δυσλειτουργούν σε κάποιο βαθμό, που όμως αντισταθμίζεται αποτελεσματικά στο πλαίσιο της λειτουργίας των νευρωνικών δικτύων. Πιθανόν η κλινική συμπτωματολογία να εμφανίζεται μόνο μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας της νευροεκφύλισης. Αυτό έχει σημασία για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών μεθόδων που θα μπορούσαν να παρατείνουν την ζωή των νευρικών κυττάρων παρά την ύπαρξη της συσσώρευσης.

Έχει διατυπωθεί η άποψη ότι η λυσοσωμική δυσλειτουργία θα μπορούσε να προκαλέσει βλάβες στο νευρικό κύτταρο με διάφορους μηχανισμούς. Ένας τέτοιος μηχανισμός σχετίζεται με την διάσωση. Η δυσλειτουργία των οδών διάσωσης και ανακύκλωσης που επιτελείται στο λυσόσωμα αναγκάζει το νευρικό κύτταρο να παράγει συνεχώς, *εκ νεου* μικρομοριακές ενώσεις οδηγώντας το σε εξάντληση. Τα λυσοσωμικά νοσήματα δημιουργούν στον νευρικό ιστό μια κατάσταση χρόνιας στέρσης, λόγω της υπερκατανάλωσης ενέργειας που απαιτείται για την εκ νέου βιοσύνθεση μικρομορίων. Αυτό θα μπορούσε να εξηγήσει και τον εντοπισμό της νευροεκφύλισης σε περιοχές του εγκεφάλου με έντονη μεταβολική δραστηριότητα. Άλλο χαρακτηριστικό της προσβολής του νευρικού συστήματος στα λυσοσωμικά νοσήματα είναι η παρουσία σφαιροειδών διογκώσεων κατά μήκος των προσβεβλημένων νευραξόνων. Η βλάβη αυτή παρατηρείται κυρίως στους GABA-εργικούς νευρώνες, όπως τα κύτταρα Purkinje της παρεγκεφαλίδας. Μέσα στις διογκώσεις αυτές υπάρχουν μιτοχόνδρια, πυκνά σωμάτια και αυτοφαγικά κυστίδια. Η δημιουργία των διογκώσεων αυτών μπορεί να υποδηλώνει κάποιου βαθμού δυσλειτουργία στη διακίνηση ουσιών, όπως νευροδιαβιβαστών και τροφικών παραγόντων κατά μήκος του νευράξονα.

Ιδιαίτερη σημασία στους μηχανισμούς αυτούς έχουν τα ιόντα ασβεστίου. Τα ιόντα ασβεστίου δρουν ως δεύτερος αγγελιοφόρος σε πολλές κυτταρικές λειτουργίες. Σε πολλά λυσοσωμικά νοσήματα παρατηρήθηκαν διαταραχές στην ομοιόσταση του ασβεστίου. Αυτό οδήγησε σε υποθέσεις σχετικά με τον ρόλο της διαταραχής αυτής στην παθοφυσιολογία των νόσων αυτών. Το ασβέστιο έχει σημαντική θέση στην διαδικασία σύντηξης των ενδοσωμάτων και των

αυτοφαγοσωμάτων με το λυσόσωμα. Έτσι η διαταραχή στη διαδικασία αυτή μπορεί να σχετίζεται με την διαταραχή στην ομοιόσταση του ασβεστίου[13].

Μεγανευρίτες και έκτοπη δενδριτογένεση

Οι συσσωρεύσεις στα νευρικά κύτταρα εντοπίζονται κυρίως στο κυτταρικό σώμα των νευρώνων. Μερικές φορές όμως μπορεί να επεκτείνονται και στον νευράξονα με αποτέλεσμα τον σχηματισμό *μεγανευριτών*. Αυτή η χαρακτηριστική μορφολογία μπορεί να γίνει ορατή με ειδικές χρώσεις σε βιοψιακά παρασκευάσματα. Οι συσσωρεύσεις αυτές οδηγούν σε παραμόρφωση του νευρικού κυττάρου με σχηματισμό ατρακτοειδών διογκώσεων στη βάση έκφυσης τού νευράξονα. Οι διογκώσεις αυτές προκαλούν παραμόρφωση του αρχικού τμήματος του νευράξονα που είναι πλούσιος σε διαύλους Νατρίου και όπου πυροδοτούνται τα δυναμικά διέγερσης. Η διαταραχή στην εκκίνηση των δυναμικών διεγερσης οδηγεί σε διαταραχή στη λειτουργικότητα του νευρικού κυττάρου.

Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι οι μεγανευρίτες διαφέρουν από τις σφαιροειδείς διογκώσεις που επίσης παρατηρούνται στα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα. Όπως αναφέρθηκε, οι μεγανευρίτες είναι ατρακτοειδείς διογκώσεις που εντοπίζονται στο σημείο έκφυσης του νευράξονα πριν από το αρχικό του τμήμα και στο εσωτερικό τους περιέχουν συσσωρεύσεις χαρακτηριστικές για το κάθε υποκείμενο λυσοσωμικό νόσημα. Αντίθετα οι σφαιροειδείς διογκώσεις εντοπίζονται μετά το αρχικό τμήμα, κατά μήκος του νευράξονα και περιέχουν οργανίδια και άλλες δομές που είναι κοινές σε πολλά λυσοσωμικά νοσήματα.

Έκτοπη δενδριτογένεση είναι η δημιουργία νέων δενδριτών και νέων συνάψεων. Είναι φαινόμενο που παρατηρείται στους πυραμιδικούς νευρώνες του φλοιού του εγκεφάλου μαζί με την εμφάνιση μεγανευριτών. Οι νέοι δενδρίτες εντοπίζονται κοντά στο σημείο έκφυσης του νευράξονα. Ο χρόνος εμφάνισής τους είναι έξω από τα χρονικά πλαίσια της φυσιολογικής δενδριτογένεσης. Παρατηρείται συχνά σε νόσους με συσσωρευση γαγγλιοσιδών. Δεν είναι γνωστή η σχέση της έκτοπης δενδριτογένεσης με τη δυσλειτουργία του ενδοσωμικού/λυσοσωμικού συστήματος και με τον μεταβολισμό των γαγγλιοσιδών.

2.4 Διαταραχή της αυτοφαγίας.

Η διαταραχή στον μηχανισμό της αυτοφαγίας στον εγκέφαλο εκδηλώνεται με συσώρευση αυτοφαγοσωμάτων και σχετίζεται άμεσα με την νευροεκφύλιση[14].

Η αυξημένη παρουσία αυτοφαγοσωμάτων στον ιστό του εγκεφάλου μπορεί να οφείλεται είτε σε παθολογική αύξηση στον μηχανισμό της μακροαυτοφαγίας, ή σε διαταραχή στην αποδόμηση των αυτοφαγοσωμάτων, ή σε συνδυασμό και των δύο. Είναι γνωστό ότι η αρχική διαταραχή στον καταβολισμό ενός συγκεκριμένου υποστρώματος καταλήγει σε συνολική δυσλειτουργία του λυσοσώματος. Έτσι είναι λογικό ότι σε αυτό το πλαίσιο θα διαταραχθεί και η ωρίμανση των αυτοφαγοσωμάτων. Πράγματι έχουν παρατηρηθεί διαταραχές τόσο στην κυκλοφορία των αυτοφαγοσωμάτων όσο και στη σύντηξη με το λυσοσώμα και στην διάσπαση του περιεχομένου τους. Η παρουσία των αυτοφαγοσωμάτων δηλώνει ότι οι μοριακές διαδικασίες για την έναρξη της αυτοφαγίας είναι λειτουργικές. Η διαταραχή φαίνεται να βρίσκεται στην περαιτέρω επεξεργασία των αυτοφαγοσωμάτων. Χαρακτηριστική είναι η παρουσία αυτοφαγοσωμάτων στη νόσο Danon όπου υπάρχει έλλειψη της πρωτεΐνης LAMP2A που παίζει σημαντικό ρόλο στη σύντηξη των αυτοφαγοσωμάτων.

Σε πολλά λυσοσωμικά νοσήματα υπάρχουν ενδείξεις αύξησης της μακροαυτοφαγίας. Τα αίτια και οι μηχανισμοί αυτού του φαινομένου δεν είναι γνωστά, ίσως όμως να συνδέεται και με τη διαταραχή στον μηχανισμό της διάσωσης. Συγκεκριμένα, η διαταραχή στον μηχανισμό διάσωσης δημιουργεί συνθήκες αυξημένων ενεργειακών απαιτήσεων στο κύτταρο καθώς πρέπει να συνθέσει πολλές μικρομοριακές ενώσεις εκ νέου. Έτσι ενεργοποιεί τον μηχανισμό της αυτοφαγίας, προσπαθώντας να καλύψει τις αυξημένες ενεργειακές του ανάγκες.

Το φαινόμενο της ενεργοποίησης της αυτοφαγίας είναι χαρακτηριστικό στην νόσο Pompe. Σε αυτήν υπάρχει έλλειψη της α-γλυκοσιδάσης (όξινης μαλτάσης) με αποτέλεσμα στα μυϊκά κύτταρα να αθροίζεται γλυκογόνο που δεν μπορεί να διασπαστεί. Με την ενεργοποίηση της μακροαυτοφαγίας το κύτταρο προσπαθεί να αντισταθμίσει την ανεπαρκή αποδόμηση του γλυκογόνου. Όμως το συσσωρευμένο γλυκογόνο εμποδίζει την ωρίμανση των αυτοφαγοσωμάτων. Έτσι τα αυτοφαγοσώματα αθροίζονται και τελικά παραβλάπτουν τη λειτουργία του μυϊκού κυττάρου.[14] Το φαινόμενο έχει μελετηθεί αρκετά στη συγκεκριμένη νόσο διότι η ενεργοποίηση της αυτοφαγίας φαίνεται να επηρεάζει το αποτέλεσμα της θεραπείας. Η θεραπεία υποκατάστασης με ανασυνδυασμένο ένζυμο στη νόσο αυτή πολλές φορές δεν έχει αποτέλεσμα διότι το ένζυμο δεν μπορεί να φτάσει στα λυσοσώματα. Αυτό έχει αποδοθεί στην αυξημένη παρουσία αυτοφαγοσωμάτων που προσλαμβάνουν το ένζυμο και δεν το αφήνουν να φθάσει στον τόπο δράσης

του. Πειραματικά έχει βρεθεί ότι αν περιοριστεί η αυτοφαγία, η παροχή του ενζύμου στα λυσοσώματα βελτιώνεται και περιορίζεται η συσσώρευση γλυκογόνου.

Η αυξημένη αυτοφαγία έχει παρατηρηθεί και σε πολλά άλλα λυσοσωμικά νοσήματα, όμως δεν είναι πάντα εύκολο να εξηγηθεί. Επίσης σε αρκετά λυσοσωμικά νοσήματα φαίνεται ότι παραβλάπτεται συνολικά ο μηχανισμός της αυτοφαγίας και όχι μόνο η ωρίμανση των αυτοφαγοσωμάτων.

Ακόμα πρέπει να προστεθεί ότι η διαταραχή στην μακροαυτοφαγία έχει συνέπειες και στη λειτουργία άλλων οργανιδίων του κυττάρου, όπως τα μιτοχόνδρια. Φυσιολογικά τα μιτοχόνδρια αποδομούνται με τον μηχανισμό αυτό. Η διαταραχή στην αυτοφαγία οδηγεί σε συσσώρευση ελαττωματικών και γερασμένων μιτοχονδρίων. Αυτό έχει βλαπτικές συνέπειες στην λειτουργία του κυττάρου, όπως διαταραχή στην ομοιόσταση του ασβεστίου, εμφάνιση ελευθέρων ριζών οξυγόνου και πυροδότηση μηχανισμών απόπτωσης. Η σχέση της μιτοχονδριακής δυσλειτουργίας με τη δυσλειτουργία της αυτοφαγίας δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Από τα παραπάνω γίνεται φανερό ότι το ευρύτερο λυσοσωμικό σύστημα έχει αποφασιστική σημασία για τη φυσιολογική λειτουργία των κυττάρων και ιδιαίτερα των νευρικών. Σε πολλές μελέτες γίνεται όλο και πιο φανερό η ύπαρξη κοινών μηχανισμών που οδηγούν σε νευροεκφύλιση στα λυσοσωμικά νοσήματα αλλά και σε νοσήματα που θεωρούνταν άσχετα με την λυσοσωμική δυσλειτουργία όπως το σύνδρομο Angelman[15] αλλά και νόσοι όπως Alzheimer[16] και Parkinson[17].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

3.1 Εισαγωγή

Όπως έχει ειπωθεί, τα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα περιλαμβάνουν περίπου 50 κλινικές οντότητες. Έχουν προοδευτική κλινική εξέλιξη και χαρακτηρίζονται από ποικίλες σωματικές και νοητικές αναπηρίες, που οδηγούν συχνά σε πρόωρο θάνατο. Τα τελευταία είκοσι χρόνια, και κυρίως κατά την τελευταία δεκαετία σημειώθηκαν σημαντικά επιτεύγματα στην έρευνα των νοσημάτων αυτών.

Οι εξελίξεις αυτές οδήγησαν σε μεγάλες προόδους στη διάγνωση και τη θεραπεία των νόσων αυτών. Μετά την εμφάνιση της κλινικής εικόνας μπορούν να γίνουν ειδικές βιοχημικές και γενετικές εξετάσεις που δίνουν την ακριβή διάγνωση. Παρόλα αυτά, η μεγάλη ετερογένεια στις κλινικές εκδηλώσεις των νοσημάτων αυτών εξακολουθεί να είναι μεγάλο πρόβλημα στη σωστή γενετική καθοδήγηση των ασθενών και των οικογενειών τους.

3.2 Γονίδια, πρωτεΐνες, συσσωρευμένα υποστρώματα, φαινότυπος, διάγνωση

Στα περισσότερα λυσοσωμικά νοσήματα υπάρχει δυσλειτουργία μιάς μεμονωμένης λυσοσωμικής πρωτεΐνης. Σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να υπάρχει δυσλειτουργία κάποιου άλλου παράγοντα με αποτέλεσμα να παραβλάπεται η σύνθεση ή η ενεργοποίηση κάποιας λυσοσωμικής πρωτεΐνης.

Συνεχώς ανακαλύπτονται νέα λυσοσωμικά νοσήματα με ξεχωριστά βιοχημικά και γενετικά χαρακτηριστικά. Εξάλλου περιγράφονται νέες κλινικές μορφές των ήδη γνωστών νοσημάτων. Τα νέα αυτά δεδομένα βοηθούν στην καλλίτερη κατανόηση της παθολογικής φυσιολογίας των νόσων αυτών.

Τα τελευταία χρόνια έγινε σαφής ο ρόλος των λυσοσωμάτων σε μια πληθώρα λειτουργιών. Το ευρύτερο λυσοσωμικό δίκτυο στο οποίο ανήκουν τα λυσοσώματα

παίζει σημαντικό ρόλο σε λειτουργίες όπως η ανακύκλωση βιομορίων, η αυτοφαγία, η εξωκυτάρωση και η αναδόμηση της θεμέλιας ουσίας των ιστών. Επίσης συμμετέχει και σε λειτουργίες όπως η ομοιόσταση της χοληστερόλης και η άμυνα έναντι παθογόνων. Η δυσλειτουργία του ευρύτερου αυτού δικτύου μπορεί να εξηγήσει και την κλινική πορεία κάποιων λυσοσωμικών νοσημάτων. Εξάλλου είναι γνωστό ότι υπάρχουν λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα που οφείλονται σε άλλους μηχανισμούς και όχι στην δυσλειτουργία μεμονωμένης πρωτεΐνης (πχ. η Κηρώδης Λιποφουσκίνωση). Έτσι φαίνεται ότι ο χαρακτηρισμός μιας νοσολογικής οντότητας σαν λυσοσωμικό αθροιστικό νόσημα δεν είναι πάντα απλός.

Κοινό γνώρισμα των λυσοσωμικών νοσημάτων είναι η συσώρευση υποστρωμάτων μέσα στο λυσοσωμικό δίκτυο. Τα λυσοσωμικά νοσήματα ταξινομούνται ανάλογα με το είδος της συσσωρευμένης ουσίας σε κατηγορίες όπως βλεννοπολυσακχαριδώσεις, σφιγγολιπιδώσεις, νευρωνική κηρώδης λιποφουσκίνωση, κá. Παρά τις κατηγοριοποιήσεις αυτές υπάρχουν κλινικές εκδηλώσεις που είναι κοινές για τα περισσότερα από αυτά. Τέτοιες είναι η οργανομεγαλία, η σκελετική δυσπλασία και η δυσλειτουργία του ΚΝΣ.

Η γνώση της γενετικής των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων είναι πολύ σημαντική για την σωστή γενετική καθοδήγηση των οικογενειών των ασθενών. Η διάγνωση και καθοδήγηση μπορεί μερικές φορές να είναι αρκετά δύσκολη όπως πχ. στη νευρωνική κηρώδη λιποφουσκίνωση ενώ σε άλλες περιπτώσεις η διάγνωση και η γενετική καθοδήγηση είναι σχετικά εύκολη. Αυτό συμβαίνει στην περίπτωση των βλεννοπολυσακχαριδώσεων. Στην αποικοδόμηση των βλεννοπολυσακχαριδών συμμετέχουν 11 γονίδια, των οποίων η λειτουργία έχει διερευνηθεί ικανοποιητικά. Έτσι η διάγνωση και η γενετική καθοδήγηση συνήθως είναι ευχερής.

Τα περισσότερα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα κληρονομούνται με υπολειπόμενο αυτοσωματικό τρόπο. Εξαιρέσεις αποτελούν η νόσος Hunter (MPS II) (X-φυλοσύνδετο υπολειπόμενο), η νόσος Danon (X-φυλοσύνδετο επικρατητικό), η νόσος Fabry (X-φυλοσύνδετο υπολειπόμενο), και μία μορφή νευρωνικής κηρώδους λιποφουσκίνωσης (τύπος Parry) (CLN4), που κληρονομείται με επικρατητικό αυτοσωματικό τρόπο.

Με βάση τις κλινικές εκδηλώσεις όλα σχεδόν τα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα ταξινομούνται σε υποκατηγορίες. Υπάρχει σημαντική διαφοροποίηση στη βαρύτητα της κλινικής εικόνας. Αυτή μπορεί σε κάποιες περιπτώσεις να είναι σοβαρή με πρώιμη έναρξη και ταχεία εξέλιξη, ενώ άλλες φορές να είναι όψιμη στην ενήλικη ζωή με βραδεία εξέλιξη. Αυτή η διαφοροποίηση όσον αφορά τη βαρύτητα

της κλινικής εικόνας δημιουργεί σοβαρά προβλήματα στη σωστή διάγνωση και στον καθορισμό της πρόγνωσης του κάθε νοσήματος. Ετσι πολλές φορές τα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα παραμένουν αδιάγνωστα, ιδίως όταν εμφανίζονται με ήπιες εκδηλώσεις στην ενήλικη ζωή.

Καθοριστικός παράγοντας για την βαρυτητα των συμπτωμάτων και την ταχύτητα της εξέλιξης των νόσων είναι η υπολειπόμενη δραστικότητα τού υπεύθυνου ενζύμου. Πλήρης έλλειψη ενζυμικής δραστικότητας συνδυάζεται με πρώιμη εμφάνιση και ταχεία επιδείνωση των συμπτωμάτων. Πέρα απο την ενζυμική δραστικότητα υπάρχει μια σειρά άλλων παραγόντων που επηρεάζουν την κλινική εξέλιξη του κάθε λυσοσωμικού νοσήματος. Τέτοιοι είναι οι επιγενετικοί παραγοντες, η γενετική ποικιλότητα στη σύνθεση των υπεύθυνων υποστρωμάτων, και η συνολική λειτουργία και ρύθμιση του ευρύτερου λυσοσωμικού- ενδοσωμικού δικτύου.

3.3 Γενετική Συμβουλευτική

Απαραίτητη προϋπόθεση για την σωστή γενετική συμβούλευτική των ασθενών και των συγγενών τους είναι η κατανόηση της παθοφυσιολογίας των νόσων αυτών.

Ο στοχος της γενετικής καθοδήγησης θα πρέπει να είναι:

- Η πρόβλεψη του φαινοτύπου και της κλινικής πορείας
- Εντοπισμός των φορέων στην οικογένεια
- Πληροφόρηση για τις υπάρχουσες θεραπευτικές δυνατότητες και την πιθανή αποτελεσματικότητα τους.

Τέλος, σημαντικό είναι να εκτιμάται ο κίνδυνος συμμετοχής του Κεντρικού Νευρικού Συστήματος κατά την πορεία της νόσου

3.4 Επιδημιολογία (επίπτωση και επιπολασμός)

Σημαντικά προβλήματα εξακολουθούν να υπάρχουν στον καθορισμό της επιδημιολογίας των διαφόρων λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων. Ενα πρόβλημα στον καθορισμό της επιδημιολογίας των νοσημάτων αυτών είναι η σπανιότητά τους, και επομένως ο μικρός αριθμός των καταγεγραμμένων περιστατικών. Άλλο σημαντικό πρόβλημα αποτελεί το γεγονός ότι η διάγνωση των νοσημάτων αυτών γίνεται με διαφορετικές μεθόδους στα διάφορα διαγνωστικά κέντρα. Επίσης σημαντικό είναι ότι η αρχική διάγνωση γίνεται με βάση την κλινική εικόνα, οπότε διενεργούνται οι αντίστοιχες βιοχημικές και γενετικές εξετάσεις

ανάλογα με την κλινική εικόνα. Έτσι οι υποκλινικές περιπτώσεις συχνά μένουν αδιάγνωστες. Συνεπώς, καθώς αναφερόμαστε σε νοσήματα με πολύ μικρή συχνότητα, τα αδιάγνωστα περιστατικά προκαλούν σημαντική μεταβολή στα επιδημιολογικά χαρακτηριστικά.

Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται στη χρήση των επιδημιολογικών δεδομένων για την εξαγωγή άλλων συμπερασμάτων όπως για παράδειγμα την εκτίμηση του κινδύνου κληρονομής τέτοιων νοσημάτων. Σημαντικό χαρακτηριστικό των επιδημιολογικών μελετών είναι η εμφάνιση ασυμφωνίας μεταξύ των μετρούμενης επίπτωσης και της υπολογιζόμενης αναλογίας των φορέων για τα συγκεκριμένα νοσήματα.[18,19] Η ασυμφωνία αυτή αποτελεί ένδειξη ότι τα λυσοσωμικά νοσήματα υποδιαγνώσκονται με αποτέλεσμα πολλά περιστατικά να μένουν αδιάγνωστα, για παράδειγμα όταν τα κυριότερα συμπτώματα αφορούν μόνο την ψυχική σφαίρα ή όταν εκδηλώνονται κατεξοχή με έμφραγμα ή εγκεφαλικό επεισόδιο.

Με την εφαρμογή νεότερων προκαταρκτικών εξετάσεων (screening tests) τα τελευταία χρόνια διαπιστώθηκε ότι η επίπτωση ορισμένων λυσοσωμικών νοσημάτων ήταν πολύ υψηλότερη από όσο πιστεύονταν αρχικά. Αυτό αφορά κυρίως περιπτώσεις με όψιμη έναρξη στην ενήλικη ζωή, οι οποίες διέλαθαν της διάγνωσης με τις παλιότερες διαγνωστικές μεθόδους[20,21,22]. Χαρακτηριστικά, στην νόσο Fabry, μετά την εισαγωγή ειδικής προκαταρκτικής εξέτασης, η επίπτωση που μετρήθηκε βρέθηκε πολύ υψηλότερη από εκείνη που είχε καταγραφεί παλαιότερα [20].

Με βάση τις παρατηρήσεις αυτές φαίνεται ότι τόσο η συνολική επίπτωση των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων αλλά και η ειδική επίπτωση για κάθε νόσημα ξεχωριστά είναι πολύ μεγαλύτερη από όσο πιστεύονταν μέχρι τώρα.

3.5 Πληθυσμοί υψηλού κινδύνου

Τα περισσότερα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα έχουν πολύ χαμηλή επίπτωση στον γενικό πληθυσμό. Ωστόσο υπάρχουν αρκετές εξαιρέσεις. Έτσι, η επίπτωση ορισμένων από αυτά είναι πολύ υψηλότερη σε πληθυσμούς που είναι γενετικά απομονωμένοι για λόγους πολιτισμικούς ή γεωγραφικούς. Κλασικά αναφέρεται ότι στην Εβραϊκή φυλή Ασκενάζυ παρατηρούνται πολύ υψηλές συχνότητες νόσων Gaucher , Tay-Sachs και Niemann-Pick.

3.6 Κοινωνικο-οικονομικές συνέπειες

Δεν υπάρχουν πολλές έρευνες που να καταδεικνύουν την επιβάρυνση που προκαλείται στην κοινωνία εξαιτίας των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων. Σίγουρα πάντως, οι οικονομικές, συναισθηματικές και ψυχολογικές συνέπειες είναι πολύ σημαντικές για τους ασθενείς και για το οικογενειακό τους περιβάλλον. Φαίνεται όμως ότι στα επόμενα χρόνια θα υπάρξουν σημαντικές πληροφορίες στον τομέα αυτό καθώς η διάγνωση γίνεται πρωϊμότερα, κυρίως λόγω της εισαγωγής προκαταρκτικών δοκιμασιών. Επίσης, επειδή οι νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις που είναι διαθέσιμες θα προσφέρουν σημαντική βελτίωση στην ποιότητα ζωής των ασθενών και των οικείων τους, και ήδη σε χώρες με αναπτυγμένα συστήματα υγείας δαπανώνται μεγάλα ποσά για την βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών αυτών, υπάρχει ολοένα μεγαλύτερη πίεση για αποτίμηση και καταγραφή των οικονομικών συνεπειών από τα νοσήματα αυτά, ώστε να μπορεί να γίνει σωστή κατανομή των πόρων των συστημάτων υγείας. Λόγω των πιέσεων αυτών δίνεται έμφαση στην ανάπτυξη οικονομικότερων θεραπειών, όπως είναι οι φαρμακολογικές "πρωτεΐνες συνοδοί" (chaperons).

3.7 Προκαταρκτικές εξετάσεις για τον έλεγχο του γενικού πληθυσμού

Σήμερα είναι διαθέσιμες διαγνωστικές δοκιμασίες για την ανίχνευση μεμονωμένων λυσοσωμικών νοσημάτων, ή και ολόκληρων ομάδων των νοσημάτων αυτών, στον γενικό πληθυσμό. Η χρήση τους είναι απλή καθώς βασίζονται στην εξέταση ξηράς σταγόνας αίματος[22].

Ο προσυμπτωματικός έλεγχος νεογνών για μεμονωμένα λυσοσωμικά νοσήματα έχει εφαρμοστεί με αρκετή επιτυχία σε αρκετές περιπτώσεις όπως στη v. Fabry, v.Krabbe και v. Pompe.

Με την εφαρμογή των διαγνωστικών αυτών εξετάσεων διαπιστώθηκε ότι η επίπτωση των νόσων αυτών ήταν πολύ υψηλότερη από αυτή που είχε υπολογιστεί όταν η διάγνωση γίνεται μόνο με βάση την κλινική εικόνα. Ωστόσο η σημασία της πρόωρης διάγνωσης στην κλινική πορεία των ασθενών δεν έχει τεκμηριωθεί ακόμα επαρκώς. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι πολλοί από τους ασθενείς αυτούς, χωρίς θεραπεία, δεν θα εμφανίσουν συμπτώματα παρά μόνο στην ενήλικη ζωή .

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ

4.1 Εισαγωγή

Στην παθοφυσιολογία των νόσων αυτών πρωταρχικό ρόλο παίζει η συγκέντρωση αδιάσπαστων μεταβολιτών. Αυτή οδηγεί σε γενικευμένη δυσλειτουργία κυττάρων και ιστών προκαλώντας εκδηλώσεις από πολλά συστήματα του οργανισμού. Η συσσώρευση μεταβολιτών μπορεί να αρχίσει ενωρίς στην εμβρυική ζωή. Οι κλινικές εκδηλώσεις μπορεί να εμφανιστούν ενωρίς, ή να είναι όψιμες. Η πορεία των νόσων μπορεί να είναι ταχεία με γρήγορη εξέλιξη της κλινικής εικόνας, ή να είναι σταδιακή και προοδευτική.

Για τη διάγνωση των νόσων αυτών το πρώτο βήμα εξακολουθεί να είναι η ανίχνευση μεταβολιτών στα ούρα του ασθενούς. Ανάλογα με τα αποτελέσματα της αρχικής αυτής εξέτασης γίνονται ειδικότερες βιοχημικές και γενετικές εξετάσεις που δίνουν την ακριβή διάγνωση. Με βάση τις πληροφορίες αυτές μπορεί να γίνει πρόβλεψη του φαινοτύπου, να προσδιοριστούν οι φορείς στις οικογένειες των ασθενών και να καθοριστούν οι θεραπευτικές επιλογές. Επίσης μπορεί να γίνει και προγεννητικός έλεγχος για τις κατοπινές κυήσεις. Αν υπάρχει σαφής συσχέτιση φαινοτύπου-γονοτύπου μπορεί να γίνει σαφής πρόγνωση για την πορεία της νόσου, και να καθοριστεί το κατάλληλο θεραπευτικό σχήμα.

Πρόσφατα ερευνητικά δεδομένα δείχνουν ότι η πρόγνωση μπορεί να βελτιωθεί σημαντικά αν η διάγνωση και η έναρξη θεραπείας γίνει νωρίς στην ζωή του ασθενούς. Για το λόγο αυτό έγιναν προσπάθειες για την εξεύρεση νέων μεθόδων που επιτρέπουν την έγκαιρη διάγνωση. Επίσης για τον ίδιο λόγο έχουν εμφανιστεί μέθοδοι προκαταρκτικού ελέγχου (screening tests) που επιτρέπουν την διάγνωση πριν από την εμφάνιση συμπτωμάτων. Η πρώιμη διάγνωση μπορεί να οδηγήσει στην πρώιμη έναρξη της θεραπείας. Ωστόσο η απόφαση για έναρξη της θεραπείας πριν την εμφάνιση συμπτωμάτων δεν είναι πάντα εύκολη.

Δέν υπάρχει διαγνωστική εξέταση κοινή για όλα τα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα. Η διαδικασία για την τελική διάγνωση βασίζεται στην κλινική εικόνα και σε μία σειρά εργαστηριακών εξετάσεων σε δείγματα ούρων και αίματος. Τα περισσότερα εργαστήρια που ειδικεύονται στην διάγνωση των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων ακολουθούν έναν παραπλήσιο αλγόριθμο διαγνωστικών εξετάσεων.[23,24] Ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δοθεί στην ετερογένεια που

παρουσιάζουν τα νοσήματα αυτής της ομάδας, αλλά και στις διαφορετικές μορφές και παραλλαγές που μπορεί να παρουσιάζονται κατά περίπτωση σε κάθε νόσημα. Κάποιες φορές οι αρχικές βιοχημικές εξετάσεις φαίνεται να είναι φυσιολογικές χωρίς αυτό να σημαίνει υποχρεωτικά την απουσία νόσου. Πολλές φορές χρειάζονται εξειδικευμένες εξετάσεις, όπως η καλλιέργεια ινοβλαστών ή λεμφοβλαστοειδών κυττάρων, και η βιοψία. Μόνο έτσι μπορεί να τεθεί η διάγνωση στις άτυπες μορφές των νόσων αυτών.

4.2 Προαναλυτική διαδικασία

Σε υποψία για λυσοσωμικό αθροιστικό νόσημα ο κλινικός θα πρέπει να αποστείλει δείγμα αίματος με αντιπηκτικό καθώς και δείγμα ούρων σε εργαστήριο που εξειδικεύεται στη διάγνωση των νοσημάτων αυτών. Η χρήση ξηρών σταγόνων αίματος γίνεται όλο και πιο δημοφιλής λόγω της ευκολίας στη συλλογή και μεταφορά του δείγματος. Εξετάσεις σε ξηρή σταγόνα αίματος προσφέρονται για την διεξαγωγή προκαταρκτικού ελέγχου (screening) σε νεογέννητα.

Ο κλινικός θα πρέπει να επισημάνει τα βασικά συμπτώματα και σημεία και να αναφέρει αν υπάρχει υποψία για συγκεκριμένο λυσοσωμικό αθροιστικό νόσημα.

4.3 Προκαταρκτικές εξετάσεις screening σε δείγματα ούρων ή αίματος

Η τελική διάγνωση για τα περισσότερα αθροιστικά λυσοσωμικά νοσήματα στηρίζεται στην απόδειξη της απώλειας δραστηριότητας κάποιου συγκεκριμένου λυσοσωμικού ενζύμου ή της απώλειας λειτουργικότητας κάποιας άλλης λυσοσωμικής πρωτεΐνης. Ωστόσο, ενδείξεις για τον τύπο του νοσήματος μπορεί να προκύψουν και από προκαταρκτικές εξετάσεις screening σε δείγματα αίματος ή ούρων. Αυτές οι εξετάσεις ανιχνεύουν προϊόντα άθροισης ή παθολογικά επίπεδα πρωτεϊνών του πλάσματος. Σε πολλά νοσήματα η αρχική προκαταρκτική δοκιμασία στο αίμα ή τα ούρα είναι σημαντικό πρώτο βήμα για την διάγνωση. Αυτό ισχύει για παράδειγμα στις βλεννοπολυσακχαριδώσεις, όπου η ποσοτική και ποιοτική ανάλυση των απεκρινόμενων γλυκοζαμινογλυκανων, ως προκαταρκτική δοκιμασία προσανατολίζει προς την διάγνωση. Για τη μέτρηση μεταβολιτών χρησιμοποιούνται κυρίως η χρωματογραφία λεπτής στιβάδας και η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, ενώ τα τελευταία χρόνια χρησιμοποιείται όλο και συχνότερα η φασματομετρία μαζας[25].

4.4 Διάγνωση λυσοσωμικών ενζυμικών διαταραχών

Στό 60% των περιπτώσεων, στα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα μπορεί να αναγνωρισθεί έλλειψη δραστικότητας ειδικού υδρολυτικού ενζύμου. Αυτό αποτελεί το 85-90% των περιπτώσεων που διαγιγνώσκονται. Η διάγνωση τίθεται όταν αποδειχθεί η έλλειψη δραστικότητας για συγκεκριμένο ένζυμο σε λευκά αιμοσφαίρια, (κυρίως λεμφοκύτταρα) ή σε ξηρή σταγόνα αίματος. Καλλιέργειες ινοβλαστών δεν χρησιμοποιούνται στην ρουτίνα παρά μόνο αν η ενζυμική δραστικότητα δεν μπορεί να μετρηθεί αξιόπιστα στα λευκά αιμοσφαίρια. Σε μερικές περιπτώσεις διαταραχή της ενζυμικής δραστικότητας μπορεί να μετρηθεί και σε δείγματα πλάσματος. Η μέτρηση δραστικότητας συνήθως γίνεται κατά ομάδες ενζύμων (πάνελ). Η σύνθεση των πάνελ καθορίζεται από τις κλινικές ενδείξεις αλλά και από το αποτέλεσμα των προκαταρκτικών δοκιμασιών (screening tests). Σε μερικά εργαστήρια ελέγχονται πολλά ένζυμα ενώ σε άλλα ο έλεγχος γίνεται επιλεκτικά σε λίγα μόνο ένζυμα.

Η δραστικότητα των περισσότερων ενζύμων μπορεί να μετρηθεί με τη χρήση συνθετικών υποστρωμάτων που έχουν στο μόριό τους κάποιο άτομο ως ανιχνευτή. Τέτοια υποστρώματα είναι η 4-μεθυλ-ουμπελιφερόνη και η παρα-νιτροφαινόλη. Με το πρώτο υπόστρωμα η ανίχνευση γίνεται με βάση την εκπομπή φθορισμού, ενώ με το δεύτερο με την αλλαγή του χρώματος.

Τα τελευταία χρόνια με την χρήση της φασματομετρίας μάζας έχουν παραχθεί αρκετά ακόμα συνθετικά υποστρώματα. Με τα υποστρώματα αυτά αυξάνεται η ευαισθησία και επιτρέπεται η μέτρηση της δραστικότητας πολλών ενζύμων ταυτόχρονα (multiplexing) στο ίδιο δείγμα ξηράς σταγόνας αίματος[26]. Για να είναι αξιόπιστη η μέτρηση της δραστικότητας ενός ενζύμου πρέπει να γίνεται ταυτόχρονα, στο ίδιο δείγμα, μέτρηση της δραστικότητας ενός ακόμα λυσοσωμικού ενζύμου που δεν σχετίζεται με το υπό διερεύνηση νόσημα. Ως θετικός μάρτυρας (positive control) χρησιμοποιείται δείγμα από γνωστή περίπτωση λυσοσωμικού αθροιστικού νοσήματος. Ως αρνητικός μάρτυρας (negative control) χρησιμοποιείται δείγμα με φυσιολογική δραστικότητα του μετρούμενου ενζύμου. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων συγκρίνονται με το εύρος φυσιολογικών τιμών για το συγκεκριμένο ένζυμο και για τις συγκεκριμένες συνθήκες μέτρησης. Αν διαπιστωθεί έλλειψη δραστικότητας ενός ενζύμου, η αν η μετρούμενη δραστικότητα είναι πολύ χαμηλή αυτό θεωρείται διαγνωστικό για το αντίστοιχο λυσοσωμικό αθροιστικό νόσημα. Η επιβεβαίωση της διάγνωσης γίνεται με ανάλυση DNA. Πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι σε μερικές περιπτώσεις λυσοσωμικών νοσημάτων με όψιμη έναρξη ή με

βραδεία εξέλιξη διαπιστώνεται ικανοποιητική δραστικότητα των αντιστοιχών ενζύμων όταν χρησιμοποιούνται συνθετικά υποστρώματα. Η διάγνωση μπορεί τότε να επιβεβαιωθεί μόνο με γενετικό έλεγχο. Οι περισσότερες από τις παραλλαγές αυτές σχετίζονται με γνωστές μεταλλάξεις στο γονίδιο που κωδικοποιεί το ένζυμο. Τέλος πρέπει να υπενθυμιστεί ότι τα αρμόδια εργαστήρια πρέπει τακτικά να συμμετέχουν σε πρόγραμμα εξωτερικού ποιοτικού ελέγχου[27].

4.5 Ειδικά προβλήματα στη διάγνωση

Υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες η εργαστηριακή διάγνωση των ενζυμικών διαταραχών είναι δύσκολη. Παρακάτω αναφέρονται περιπτώσεις όπου για τη διάγνωση χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή και εμπειρία.

4.5.1 Ψευδής ανεπάρκεια

Αυτή προκύπτει από πολυμορφισμούς που ελαττώνουν την ενζυμική δραστικότητα χωρίς να προξενούν νόσημα, και μπορεί να οδηγήσει σε ψευδή θετική διάγνωση λυσοσωμικού αθροιστικού νοσήματος. Ψευδής ανεπάρκεια έχει καταγραφεί για τουλάχιστον εννέα λυσοσωμικά ένζυμα. Ιδιαίτερα συχνή είναι στην ανεπάρκεια της αρυλσουλφατάσης Α. Ανεπάρκεια του ενζύμου αυτού προκαλεί την μεταχρωματική λευκοδυστροφία. Με γενετικό έλεγχο μπορεί να διαπιστωθεί αν προκειται για την μετάλλαξη που προκαλεί το νόσημα ή για πολυμορφισμό που προκαλεί εικόνα ψευδούς ανεπάρκειας του ενζύμου. Γενικά όταν διαπιστώνεται ανεπάρκεια ενζύμου που όμως δεν συμβαδίζει με τα υπόλοιπα κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα θα πρέπει να διερευνάται το ενδεχόμενο της ψευδούς ανεπάρκειας.

4.5.2 Διαταραχές στις ενεργοποιητικές πρωτεΐνες των σφιγγολιπιδίων

Κατά τη διάγνωση των σφιγγολιπιδώσεων με την χρήση συνθετικών υποστρωμάτων συχνά παρατηρούνται φυσιολογικές δραστικότητες των αντιστοιχών ενζύμων που δεν συμφωνούν με την κλινική εικόνα και τα αποτελέσματα των προκαταρκτικών εξετάσεων. Αυτό μπορεί να συμβεί εξαιτίας διαταραχής σε κάποια από τις ενεργοποιητικές πρωτεΐνες των σφιγγολιπιδίων (SAP). Πέντε τέτοιες πρωτεΐνες έχουν καταγραφεί: η ενεργοποιητική πρωτεΐνη της GM2, και οι σαποσίνες A-D, οι οποίες προκύπτουν από το ίδιο πρόδρομο μόριο την *προσαποσίνη*. Τα λυσοσωμικά ένζυμα *in vivo* χρειάζονται τις ενεργοποιητικές πρωτεΐνες για να δράσουν στα διάφορα γλυκολιπίδια. Όμως *in vitro* μπορούν να δράσουν στα συνθετικά υποστρώματα και χωρίς την παρουσία των πρωτεϊνών αυτών. Έτσι η δραστικότητα

των ενζύμων αυτών φαίνεται φυσιολογική *in vitro*, όταν μετράται στα συνθετικά υποστρώματα, ενώ στην πραγματικότητα υπάρχει διαταραχή στην δραστικότητα έναντι του φυσιολογικού υποστρώματος *in vivo*, που προκαλείται από την έλλειψη της ενεργοποιητικής πρωτεΐνης. Έχουν περιγραφεί αρκετές παραλλαγές της γαγγλιοσίδωσης GM2, της νόσου Gaucher, της νόσου Krabbe και της μεταχρωματικής λευκοδυστροφίας που οφείλονται σε έλλειψη των ενεργοποιητικών πρωτεϊνών. Επίσης έχει περιγραφεί και ένα αθροιστικό νόσημα με σπλαχνική και νευρολογική συμμετοχή, που οφείλεται σε έλλειψη της προσαποσίνης. Για την τελική διάγνωση μπορεί να χρειαστεί ειδική λειτουργική δοκιμασία, ή ανίχνευση της ενεργοποιητικής πρωτεΐνης με ανοσολογική μέθοδο, ή μοριακός γενετικός έλεγχος.

4.5.3 Διαταραχές στην επεξεργασία και μεταφορά των λυσοσωμικών ενζύμων.

Έχει περιγραφεί μια κατάσταση που οσφείλεται σε ταυτόχρονη ανεπάρκεια πολλών λυσοσωμικών και μη σουλφατασών (MSD). Αυτή οφείλεται σε διαταραχή της μεταμεταφραστικής τροποποίησης όλων των ενζύμων αυτών. Έτσι όταν μετράται η δραστικότητα μιας συγκεκριμένης σουλφατάσης για την διάγνωση λυσοσωμικού αθροιστικού νοσήματος πρέπει να γίνεται ταυτόχρονα και μέτρηση κάποιας άλλης λυσοσωμικής σουλφατάσης για να αποκλειστεί η περίπτωση μιάς πολλαπλής ενζυμικής διαταραχής. (που δεν σχετίζεται με το υπό διερεύνηση νόσημα).

Εξάλλου ενδιαφέρον παρουσιάζει η βλεννολιπίδωση τύπου I και II. Εδώ η γενετική βλάβη δεν αφορά το ίδιο το λυσοσωμικό ένζυμο αλλά ένα άλλο ένζυμο που συμμετέχει στην μεταφορά λυσοσωμικών ενζύμων μέσα στα λυσοσώματα του συνδετικού ιστού. Έτσι σε καλλιέργειες ινοβλαστών του συνδετικού ιστού διαπιστώνεται ελαττωμένη ενζυμική δραστικότητα ενώ στο πλάσμα η δραστικότητα των ενζύμων αυτών είναι πολλάπλασια της φυσιολογικής. Αυτό συμβαίνει γιατί τα ένζυμικά μόρια δεν μπορούν να μεταφερθούν στον τόπο δράσης τους και αθροίζονται στο πλάσμα. Η διάγνωση γίνεται με καλλιέργειες ινοβλαστών και με γενετικό έλεγχο.

Στήν γαλακτοσιαλίδωση υπάρχει συνδυασμένη έλλειψη β-γαλακτοσιδάσης και νευραμινιδάσης 1. Αυτή οφείλεται σε έλλειψη της προστατευτικής πρωτεΐνης καθεψίνη Α. Έτσι όταν διαπιστώνεται διαταραχή σε ένα από τα ένζυμα αυτά, θα πρέπει να εξετάζεται και το άλλο ένζυμο για να διευκρινιστεί αν πρόκειται για συνδυασμένη διαταραχή και των δύο ενζύμων.

Εχει παρατηρηθεί μια διαταραχή, όπου διαπιστώνεται μεγάλη μείωση στην δραστικότητα της β-γλυκοσερεβροσιδάσης στους ινοβλάστες αλλά φυσιολογική δραστικότητα στα λευκά αιμοσφαίρια. Η διαταραχή αποδίδεται σε βλάβη μιας πρωτεΐνης που συμμετέχει στην ενδοκυττάρια μεταφορά του ενζύμου.

4.6 Διάγνωση λυσοσωμικών νοσημάτων που οφείλονται σε μη ενζυμικές πρωτεΐνες

4.6.1 Βλάβη σε μεταφορικές πρωτεΐνες της μεμβράνης των λυσοσωμάτων.

Υπάρχουν τρία εξαιρετικά σπάνια λυσοσωμικά νοσήματα που οφείλονται σε βλάβες στις μεταφορικές πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για τη μεταφορά μεταβολιτών διαμέσου της λυσοσωμικής μεμβράνης (κυστίνωση, νόσος εξ αθροίσεως σιαλικού οξέος και νόσος κοβαλαμίνης F). Η προκαταρκτική διάγνωση στις νόσους αυτές γίνεται με τον προσδιορισμό των ολιγοσακχαριτών στα ούρα. Η τελική διάγνωση μπορεί να γίνει με τη μέτρηση των αθροιζόμενων μεταβολιτών με φασματομετρία μαζας, ή με τον γενετικό έλεγχο.

4.6.2 Βλάβη σε άλλες λυσοσωμικές και ενδοσωμικές πρωτεΐνες.

Η κυκλοφορία της χοληστερόλης και των γλυκολιπιδίων είναι διαταραγμένη στην νόσο Nieman-Pick τύπου C (NPC). Η νόσος Nieman-Pick C μπορεί να διαγνωστεί με την ανίχνευση μη εστεροποιημένης χοληστερόλης και γλυκολιπιδίων στο λυσοσωμικό και ενδοσωμικό σύστημα με την χρήση χρώσης φιλιππίνης. Η δοκίμασια απαιτεί ιδιαίτερη εμπειρία, κυρίως διότι υπάρχουν πολλές παραλλαγές στα νοσήματα αυτά.

Η βλεννολιπίδωση τύπου IV είναι λυσοσωμικό αθροιστικό νόσημα που δεν οφείλεται σε ανεπάρκεια ενζύμου. Οφείλεται σε μετάλλαξη στο γονίδιο που κωδικοποιεί την βλεννολιπίνη που είναι μεμβρανικός υποδοχέας[28]. Η διάγνωση γίνεται με την ανίχνευση χαρακτηριστικών κυτταροπλασματικών εγκλείστων. Οι περισσότεροι ασθενείς έχουν αυξημένα επίπεδα γαστρίνης στο αίμα. Αυξημένη είναι η συχνότητα της νόσου σε Εβραίους Ασκενάζι. Δύο γνωστές μεταλλάξεις είναι υπεύθυνες για το 95% των περιπτώσεων.

Η νόσος Danon είναι σπάνιο λυσοσωμικό αθροιστικό νόσημα που κληρονομείται με X-φυλοσύνδετο τρόπο. Οφείλεται σε βλάβη στην μεμβρανική πρωτεΐνη LAMP2 που συμμετέχει στη μεταφορά των λυσοσωμικών ενζύμων. Η διάγνωση τίθεται με την ανίχνευση της διαταραχής στην πρωτεΐνη LAMP2 με ανοσοϊστοχημική μέθοδο, καθώς και με τον γενετικό έλεγχο[29].

4.7 Μοριακός γενετικός έλεγχος

Ο μοριακός γενετικός έλεγχος χρησιμοποιείται για να επιβεβαιώσει την βιοχημική διάγνωση και να αποκλείσει την ψευδοανεπάρκεια ενός ενζύμου. Επίσης είναι απαραίτητος στις περιπτώσεις που δεν μπορεί να γίνει διάγνωση μόνο με βιοχημικές δοκιμασίες όπως συμβαίνει στην νευρωνική κηρώδη λιποφουσκίνωση. Τα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα, όπως προαναφέρθηκε, κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπομένο τρόπο. Εξαιρέσεις αποτελούν οι νόσοι Danon, Fabry και Hunter που είναι X-φυλοσύνδετα.

Τα γονίδια που σχετίζονται με τη διάγνωση των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων έχουν αναγνωριστεί και κλωνοποιηθεί. Έτσι είναι δυνατή η αναγνώριση των περισσότερων μεταλλάξεων που ευθύνονται για τα νοσήματα αυτά. Το DNA απομονώνεται από δείγμα αίματος ή ινοβλαστών και ακολουθεί ανάλυση των μεταλλάξεων. Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι ανίχνευσης των μεταλλάξεων. Κάθε εργαστήριο χρησιμοποιεί μερικές από αυτές. Έτσι ελέγχεται πλήθος μεταλλάξεων όπως μικρές απαλείψεις νουκλεοτιδίων, μεταλλάξεις άνευ νοήματος καθώς και μεταλλάξεις, που προξενούν μεταβολή στην ποσότητα και την ποιότητα του παραγόμενου mRNA. Ολοένα και περισσότερο εφαρμόζεται διαγνωστικά η αλληλούχηση ολόκληρου του γονιδίου (sequencing). Μεταβολές στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων μπορεί να αντιστοιχούν σε γνωστές κλινικές οντότητες ή να αποτελούν καινοφανείς μεταλλάξεις, οπότε θα πρέπει να διερευνάται η σχέση τους με συγκεκριμένες κλινικές εικόνες.

Γενικά, τα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα χαρακτηρίζονται από έντονη γενετική ετερογένεια. Υπάρχουν μεταλλάξεις που εμφανίζονται σταθερά στα μέλη συγκεκριμένων οικογενειών, αλλά και μεταλλάξεις που είναι περισσότερο συχνές σε συγκεκριμένες εθνικές ομάδες ή γεωγραφικές περιοχές. Η ανίχνευση συγκεκριμένων μεταλλάξεων που έχουν συνδεθεί με κλινικές οντότητες μπορεί να δώσει άμεσα την διάγνωση, όπως στην νευρωνική κηρώδη λιποφουσκίνωση τύπου 3, στην κλασσική κυστίνωση και στο σύνδρομο Hurler.

Όταν τεκμηριωθεί μια συγκεκριμένη μετάλλαξη σε ένα ασθενή, σκόπιμο είναι να ελεγχθούν οι συγγενείς για την συγκεκριμένη μετάλλαξη. Αυτό μπορεί να γίνει με δοκιμασίες που ήδη υπάρχουν, ή με σχεδιασμό νέων δοκιμασιών για τις καινοφανείς μεταλλάξεις. Ιδιαίτερα δε για την ανίχνευση φορέων είναι απαραίτητος ο γενετικός έλεγχος, και αυτό ισχύει κυρίως για τα φυλοσύνδετα λυσοσωμικά νοσήματα.

Εξάλλου, ο προσδιορισμός του γονοτύπου είναι σημαντικός και για την πρόβλεψη της πορείας της νόσου αλλά και για την επιλογή ασθενών που θα μπορούσαν να ανταποκριθούν σε συγκεκριμένες θεραπείες. Σήμερα, ο μοριακός γενετικός έλεγχος αποτελεί αναπόσπαστο μέρος της διάγνωσης των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων.

4.8 Προγεννητική διάγνωση

Όταν τεκνηρωθεί η διάγνωση, ακολουθεί ο έλεγχος για πιθανούς φορείς στην οικογένεια. Όταν τεκνηρωθεί φορεία της νόσου στους γονείς και υπάρχει κύηση, θα πρέπει να γίνει ενζυμικός και μοριακός έλεγχος στο κύημα. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται οι ίδιες μέθοδοι που χρησιμοποιούνται και για την διάγνωση των ασθενών[30].

Για την προγεννητική διάγνωση μπορεί να χρειαστεί υλικό κυττάρων λαχνών (CVS), ή κυττάρων αμνιακού υγρού (αμνιοπαρακέντηση). Σήμερα η αμνιοκέντηση τείνει να αντικατασταθεί με την δειγματοληψία των χοριακών λαχνών. Με την μέθοδο αυτή η διάγνωση μπορεί να γίνει μέσα στο πρώτο τρίμηνο της κύησης. Μετά την λήψη δείγματος χοριακών λαχνών ακολουθεί λεπτομερής έλεγχος για επιμόλυνση με υλικό της μητέρας. Ακολουθεί έλεγχος με τεχνικές μέτρησης ενζυμικής δραστηριότητας καθώς και απομόνωση του DNA για την ανίχνευση μεταλλάξεων. Στις περιπτώσεις που οι μεταλλάξεις των γονέων είναι γνωστές, η ανίχνευση των συγκεκριμένων μεταλλάξεων στο κύημα είναι η καταλληλότερη προσέγγιση για την προγεννητική διάγνωση.

Αν γίνει ενζυμική διάγνωση σε υλικό χοριακών λαχνών θα πρέπει να γίνει ταυτόχρονος προσδιορισμός της ενζυμικής δραστηριότητας σε υλικό λαχνών υγιών ατόμων (υγιείς μάρτυρες).

Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι σε μερικά λυσοσωμικά νοσήματα μπορεί να παρατηρηθούν και χαρακτηριστικές δομικές μεταβολές στο υλικό των λαχνών. Η ανίχνευση των μεταβολών αυτών μπορεί να συμβάλει σημαντικά στην προγεννητική διάγνωση κάποιων λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων.

Σε περιπτώσεις *in vitro* γονιμοποίησης πρέπει να εφαρμοστεί προεμφυτευματικός γενετικός έλεγχος για την επιλογή των κατάλληλων εμβρύων.

Τέλος μπορεί να γίνει ανίχνευση μεταλλάξεων σε εμβρυϊκά κύτταρα που υπάρχουν στην μητρική κυκλοφορία, αλλά και σε έλευθερο εμβρυϊκό DNA που κυκλοφορεί εκεί. Η μέθοδος αυτή δίνει πολλές ελπίδες για την προγεννητική διάγνωση διότι είναι λιγότερο επεμβατική και πιο ακίνδυνη.

4.9 Μελλοντικές προοπτικές

Η εργαστηριακή διάγνωση των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων τα τελευταία χρόνια εξελίσσεται γρήγορα. Σε αυτό συνετέλεσε κυρίως η εισαγωγή νέων μεθόδων στην θεραπεία. Με τις νέες θεραπείες εμφανίστηκε η ανάγκη παρακολούθησης του θεραπευτικού αποτελέσματος με νέες ευαίσθητες τεχνικές. Με αυτές προσδιορίζονται αθροιζόμενα μόρια αλλά και πρωτεΐνες που είναι χαρακτηριστικές σε συγκεκριμένα λυσοσωμικά νοσήματα. Με τις μεθόδους αυτές βελτιώθηκε πολύ και η προκαταρκτική φάση (screening) της διάγνωσης των νοσημάτων αυτών. Ιδιαίτερη χρησιμότητα έχει ο προσδιορισμός ενζυμικής δραστηριότητας σε δείγματα ξηρής σταγόνας αίματος, που έγινε εφικτός χάρη στην βελτίωση των συμβατικών μεθόδων και ιδιαίτερα με τη χρήση φασματομετρίας μάζας[23].

Η χρήση των νεότερων μεθόδων της πρωτεομικής (πρωτεϊνικό προφίλ των λυσοσωμικών ενζύμων) θα μπορούσε στο μέλλον να οδηγήσει στην δημιουργία προκαταρκτικής δοκιμασίας κοινής για όλα τα λυσοσωμικά νοσήματα[31]. Εξάλλου ο γενετικός έλεγχος αναμένεται να γίνει πιο αποτελεσματικός καθώς η χρήση μικροσυστοιχιών και η αλληλούχηση DNA γίνονται όλο και πιο προσιτές. Τέλος, υπάρχουν νεότερες τεχνολογίες με πολλές προοπτικές στο μέλλον. Μία από αυτές (digital microfluidics) θα μπορούσε να επιτρέπει πολλαπλούς προσδιορισμούς ουσιών σε μία μόνο ξηρή σταγόνα αίματος βελτιώνοντας και απλοποιώντας σημαντικά την προκαταρκτική διάγνωση[32].

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΛΥΣΟΣΩΜΙΚΩΝ ΑΘΡΟΙΣΤΙΚΩΝ ΝΟΣΗΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΙΔΙΑΙΤΕΡΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΙΣ

5.1 Εισαγωγή

Το σημαντικότερο επίτευγμα των τελευταίων χρόνων στην έρευνα στα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα είναι η εισαγωγή αρκετών νέων ειδικών θεραπειών για τα νοσήματα αυτά. Κοινή πεποίθηση όλων είναι, ότι οι θεραπείες αυτές είναι αποτελεσματικότερες όταν η διάγνωση γίνει ενωρίς στην ζωή του παιδιού. Αυτό είναι λογικό διότι αν η διάγνωση δεν γίνει έγκαιρα θα εγκατασταθούν μόνιμες βλάβες που δεν είναι δυνατό να αναστραφούν αν η θεραπεία δεν έχει ξεκινήσει έγκαιρα. Έτσι οι κλινικοί γιατροί έχουν το βάρος μιας έγκαιρης διάγνωσης που θα επιτρέψει στο παιδί να επωφεληθεί από τις εξελίξεις στον τομέα της θεραπείας. Δεν υπάρχει γενική προκαταρκτική εξέταση (screening test) για τη διάγνωση λυσοσωμικών νοσημάτων στα νεογέννητα. Έτσι η διάγνωση δεν είναι πάντα εύκολη και για να τεθεί οριστικά χρειάζεται η συμβολή πολλών ιατρικών ειδικοτήτων. Κυρίως όμως προϋποθέτει την εγρήγορση, και την οξυδέρκεια του κλινικού παιδίατρου καθώς η κλινική εικόνα μπορεί να ποικίλει και να μην είναι χαρακτηριστική. Για παράδειγμα η ανεπάρκεια του ιδίου ενζύμου μπορεί σε κάποιους ασθενείς να εκδηλωθεί στην νεογνική περίοδο με εμβρυϊκό ύδρωπα, ενώ σε άλλους ασθενείς (με διαφορετική μεταλλαξη στο γονίδιο του ενζύμου) να πρωτοεμφανιστεί στην ενήλικη ζωή.

Σε αρκετούς ασθενείς τα συμπτώματα εμφανίζονται κατά τα πρώτους μήνες, ή έτη της ζωής. Οι πρώτες εκδηλώσεις μπορεί να είναι η επιβράδυνση ανάπτυξης του παιδιού ή κάποιες νευρολογικές διαταραχές. Συχνά εμφανίζεται σπλαχνομεγαλία και αδρά χαρακτηριστικά του προσώπου. Η έγκαιρη αναγνώριση των εκδηλώσεων αυτών θα βοηθήσει στην επιλογή των κατάλληλων διαγνωστικών εξετάσεων. Σε ολόένα και περισσότερους ασθενείς η διάγνωση λυσοσωμικού νοσήματος γίνεται στην ενήλικη ζωή. Η κλινική εικόνα εδώ είναι άτυπη και συνήθως λείπει η

σπληνομεγαλία και τα αδρά χαρακτηριστικά του προσώπου. Συχνά μοναδικές εκδηλώσεις είναι νευροψυχιατρικές διαταραχές.

5.2 Εμβρυϊκός ύδρωπας

Ο εμβρυϊκός ύδρωπας μπορεί να οφείλεται σε πολλές καταστάσεις που αφορούν το έμβρυο, τον πλακούντα ή την έγκυο. Οι διαταραχές αυτές πρέπει να διαγνωστούν έγκαιρα γιατί η θνησιμότητα είναι πολύ μεγάλη. Η διερεύνηση του εμβρυϊκού ύδρωπα στα λυσοσωμικά νοσήματα είναι πολύ σημαντική και έχει μελετηθεί διεξοδικά[33]. Είναι όμως σημαντικό να τονιστεί ότι και η απλή εξέταση του πλακούντα μπορεί να δώσει χρήσιμες ενδείξεις. Όταν ο εμβρυϊκός ύδρωπας οφείλεται σε λυσοσωμικό νόσημα ο πλακούντας είναι ευμεγέθης και ωχρός. Ακόμα και με την απλή μικροσκόπηση είναι δυνατό να διακριθεί κενοδοπιώδης εκφύλιση στα λυσοσώματα.

5.3 Δυσμορφικά χαρακτηριστικά προσώπου

Σε ασθενείς με λυσοσωμικά νοσήματα εμφανίζεται ένα χαρακτηριστικό προσωπίο. Τα χαρακτηριστικά του προσώπου των νεογνών αυτών είναι χονδροειδή (αδρά). Ιδιαίτερα χαρακτηριστικό είναι το προσωπίο αυτό στην βλεννολιπιδίωση τύπου I όπου μπορεί να παρατηρηθεί πολύ νωρίς (κατά την γέννηση) του παιδιού. Στα άλλα νοσήματα η εμφάνιση του παιδιού είναι φυσιολογική κατά την γέννηση ενώ το χαρακτηριστικό προσωπίο εμφανίζεται μέσα στο πρώτο έτος της ζωής. Συνήθως περιλαμβάνει προπέτεια του μετώπου, ευρεία βάση της μύτης, πάχυνση των ούλων και μακρογλωσσία. Σε μερικά νοσήματα τα παιδιά έχουν αυξημένο βάρος κατά την γέννηση, ενώ η ανάπτυξη είναι φυσιολογική στα πρώτα 2 με 3 έτη, και επιβραδύνεται μετά.

Επίσης υπάρχει εμφανής σκελετική δυσπλασία που χαρακτηρίζεται ως πολλαπλή δυσόστωση. Συνυπάρχουν αγκυλώσεις αρθρώσεων, ομφαλοκήλη και βουβωνοκήλη.

Ασθενείς με σοβαρή νόσο Gaucher τύπου II μπορεί να παρουσιάζουν δερματολογικές εκδηλώσεις όπως ιχθύωση ενώ συνυπάρχει ασυνήθιστο προσωπίο, αρθρογρύπωση, ηπατοσπληνομεγαλία και κήλες.

Δερματολογικές εκδηλώσεις μπορεί να υπάρχουν και σε ασθενείς με βλεννοπολυσακχαριδώσεις όπου εμφανίζονται χαρακτηριστικές γαλαζωπές μογγολοειδείς κηλίδες.

5.4 Απόφραξη ανωτέρων αεροφόρων οδών, συχνές αναπνευστικές λοιμώξεις και κώφωση.

Σε πολλά βρέφη με λυσοσωμικό νόσημα έχουν παρατηρηθεί παθολογικά σημεία κατά τον νεογνικό ακοολογικό έλεγχο. Στην συνέχεια της ζωής μπορεί να εμφανιστεί το χαρακτηριστικό προσωπείο, απόφραξη των ανωτέρων αεροφόρων οδών, υπνική άπνοια αποφρακτικού τύπου, και συχνές λοιμώξεις του ανωτέρου αναπνευστικού. Οι ασθενείς αυτοί μπορεί να χρειαστούν εκτίμηση από ωτορινολαρυγγολόγο πολύ πριν τεθεί η υποψία λυσοσωμικού νοσήματος. Γενικά σε βρέφη που υποβάλλονται σε χειρουργική ωτορινολαρυγγολογική επέμβαση στους πρώτους 12-18 μήνες της ζωής τους πρέπει να τίθεται η υποψία ύπαρξης υποκειμένου λυσοσωμικού νοσήματος και να διενεργείται ο διαγνωστικός έλεγχος[34]. Ειδικά στην μαννοσίδωση, η κώφωση είναι πρώιμο σύμπτωμα και εμφανίζεται σε όλους σχεδόν τους ασθενείς.

5.5 Καρδιακή νόσος

Καρδιακή νόσος μπορεί να υπάρχει σε πολλά λυσοσωμικά νοσήματα. Χαρακτηριστικό παράδειγμα είναι η βρεφική μορφή της νόσου Pompe, όπου κατά τη γέννηση μπορεί να εμφανιστεί καρδιακή ανεπάρκεια, αρρυθμία και καρδιομεγαλία. Σε αρκετούς από αυτούς τους ασθενείς η καρδιομεγαλία είχε ήδη διαγνωστεί με τον εμβρυϊκό υπέρηχο στο τρίτο τρίμηνο της κύησης. Συνήθως συνυπάρχει μακρογλωσσία και γενική υποτονία. Στο καρδιογράφημα μπορεί να εμφανιστούν σημεία υπερτροφικής μυοκαρδιοπάθειας. Στον βιοχημικό έλεγχο υπάρχει αύξηση της CPK. Στο επίχρισμα περιφερικού αίματος παρατηρούνται λεμφοκύτταρα με κενोटόπια.

Η νεογνική καρδιομυοπάθεια είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα αρκετών λυσοσωμικών νοσημάτων όπως η γαγγλιοσίδωση GM1 και το σύνδρομο Hurler (βλεννοπολυσακχαρίδωση τύπου I). Στους ασθενείς αυτούς μπορεί να επισυμβούν επεισόδια ισχαιμίας των στεφανιαίων αγγείων, τα οποία μπορεί να περάσουν απαρατήρητα εκτός αν αναζητηθούν προσεκτικά στο ηλεκτροκαρδιογράφημα και στο υπερηχογράφημα.[35]

Σε ηλικιωμένους ασθενείς με λυσοσωμικό νόσημα μπορεί να εμφανιστεί βαλβιδοπάθεια κυρίως στην αορτική ή την μιτροειδή βαλβίδα. Συχνά είναι αναγκαία η χειρουργική αντικατάσταση της βαλβίδας.

5.6 Ηπατοσπληνομεγαλία και ηπατοπάθεια.

Γενικά, η ηπατοσπληνομεγαλία στην νεογνική ηλικία μπορεί να έχει ποικίλες αιτίες. Οι κυριότερες είναι η ιογενής λοίμωξη και οι ανατομικές ανωμαλίες. Η διαφορική διάγνωση επιβάλλεται να γίνει γρήγορα γιατί είναι διαθέσιμες εξειδικευμένες θεραπείες.

Τα λυσοσωμικά νοσήματα συχνά παρουσιάζονται με ηπατομεγαλία και σπληνομεγαλία ενώ μπορεί να συνυπάρχει ασκίτης. Προσεκτική συνεκτίμηση κλινικών και ακτινολογικών ευρημάτων είναι απαραίτητη. Σε μερικές περιπτώσεις είναι απαραίτητη βιοψία μυελού η βιοψία ήπατος.

Ειδικά στην νόσο Niemann-Pick C (NP-C) η ηπατοπάθεια στη νεογνική περίοδο είναι ιδιαίτερα χαρακτηριστική. Υπάρχει σοβαρή ηπατική δυσλειτουργία και αύξηση της άμεσης χολερυθρίνης. Η εικόνα παραπέμπει συχνά σε ατρησία των χοληφόρων, η οποία μερικές φορές μπορεί να αποκλειστεί μόνο μετά από χειρουργική επέμβαση. Περίπου το ένα τρίτο των ασθενών θα καταλήξουν από ηπατική ανεπάρκεια. Οι υπόλοιποι μπορεί να εμφανίσουν αργή βελτίωση και τελικά να ανανήψουν από την ηπατική ανεπάρκεια.

Ηπατοσπληνομεγαλία μπορεί να εμφανιστεί και κατά την ενήλικη ζωή ασθενών στις νόσους Gaucher I και Niemann-Pick. Στον βιοχημικό έλεγχο τα επίπεδα των λιπιδίων είναι διαταραγμένα. Στον αιματολογικό έλεγχο υπάρχουν διαταραχές που οφείλονται στον υπερσπληνισμό και την προσβολή του μυελού των οστών.

5.7 Πολλαπλή δυσόστωση

Οι οστικές ανωμαλίες που εμφανίζονται ακτινολογικά στα λυσοσωμικά νοσήματα είναι γνωστές ως πολλαπλή δυσόστωση. Έχουν την πιο χαρακτηριστική μορφή σε ασθενείς που πάσχουν από βλεννοπολυσακχαριδώσεις (MPS).

Το κρανίο είναι μεγάλο και επίμηκες (μακροκεφαλία). Λόγω πρόωρης συνοστέωσης των ραφών μπορεί να πάρει χαρακτηριστικό σκαφοειδες σχήμα.

Η οδοντοειδής απόφυση στον δεύτερο αυχενικό σπόνδυλο συχνά είναι δυσπλαστική. Οι σπόνδυλοι στην θωρακική και οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης εμφανίζουν χαρακτηριστική πρόσθια παραμόρφωση με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ύβου, που συχνά θέτει την πρώτη υποψία στην διάγνωση[36].

Τα λαγόνια οστά παρουσιάζουν παραμόρφωση, ενώ χαρακτηριστική είναι και η επιπεδωμένη δυσπλαστική κοτύλη. Τα μακρά οστά είναι κοντά και παχιά. Η κλείδα και οι πλευρές προεξέχουν προς τα εμπρός. Τα μετακάρπια μπορεί να είναι οξύτερα στο εγγύς άκρο τους.

Σε κάποια από αυτά τα νοσήματα η ακτινολογική εικόνα μπορεί να είναι αρκετά χαρακτηριστική και να προσανατολίζει στη διάγνωση. Αλλοτε πάλι μπορεί να συνυπάρχουν ενδομήτρια κατάγματα και βιοχημικά ευρήματα υπερπαραθυρεοειδισμού.

Οι οστικές εκδηλώσεις συνήθως εμφανίζονται αρκετά αργά στην πορεία της νόσου. Κάποτε όμως, όπως στη νόσο Gaucher μπορεί να είναι το πρώτο σύμπτωμα υποκείμενου λυσοσωμικού νοσήματος. Έτσι μερικές φορές η ανάγγειος οστική νέκρωση ή ένα παθολογικό κάταγμα μπορεί να είναι οι πρώτες εκδηλώσεις της νόσου.

5.8 Νευρολογική συμπτωματολογία

Στην πλειοψηφία των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων υπάρχει συμμετοχή του νευρικού συστήματος και σε αρκετές περιπτώσεις είναι η σοβαρότερη εντόπιση. Σε άλλες πάλι περιπτώσεις η νευρολογική συμμετοχή παρουσιάζεται μόνο στις πιο γενικευμένες μορφές της νόσου όπως στη βλεννοπολυσακχαρίδωση τύπου I (MPS I).

Χαρακτηριστική είναι η συμμετοχή του νευρικού συστήματος στη βρεφική μορφή της νόσου Tay-Sachs. Εδώ η έναρξη των συμπτωμάτων από το νευρικό σύστημα είναι οξεία και αιφνίδια, δίνοντας την εντύπωση ότι πρόκειται για εγκεφαλίτιδα. Πρόκειται για βρέφη προς το τέλος του πρώτου έτους της ζωής που έχουν φυσιολογική ανάπτυξη και αιφνιδίως εμφανίζουν έντονους σπασμούς. Ακολουθεί νευροεκφύλιση, με απώλεια όρασης και σπαστικότητα. Οι ασθενείς καταλήγουν πριν την ηλικία των πέντε ετών. Στην οφθαλμολογική εξέταση παρατηρείται κλασσικά μια κερασόχροη κηλίδα στην περιοχή της ωχράς κηλίδας του αμφιβληστροειδή, η οποία συχνά εξαφανίζεται με την πρόοδο της νόσου[37].

Τυπικά, τα περισσότερα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα εκδηλώνονται με ψυχοκινητική οπισθοδρόμηση, δηλαδή η ψυχοκινητική εξέλιξη του παιδιού ξεκινά φυσιολογικά, ενώ μετά από κάποιο χρονικό διάστημα φαίνεται να επιβραδύνεται. Σε αυτό το στάδιο μπορεί να παρατηρηθεί ότι το παιδί δεν αναπτύσσει νέες δεξιότητες και υστερεί σε σχέση με τα συνομήλικα παιδιά. Η ψυχοκινητική εξέλιξη καθλώνεται σε κάποιο από τα σταδιά της και παύει να συνεχίζεται κανονικά. Τελος, σταδιακά οι δεξιότητες που έχουν αποκτηθεί αρχίζουν να χάνονται. Είναι μάλιστα χαρακτηριστικό ότι εκείνες οι δεξιότητες που αποκτήθηκαν πιο πρόσφατα είναι εκείνες που χάνονται ενωρίτερα. Τελικά το παιδί καταλήγει να μένει εξαρτημένο από το περιβάλλον του.

Σε μερικά νοσήματα η νευρολογική συμμετοχή μπορεί να ακολουθεί καθορισμένη μορφή, κοινή για πολλούς ασθενείς. Αυτό συμβαίνει για παράδειγμα στην βλεννοπολυσακχαριδωση τύπου III (Sanfilippo syndrome). Τα προσβεβλημένα παιδιά είναι φυσιολογικά μέχρι την ηλικία των 12 ως 18 μηνών. Στην ηλικία αυτή δεν μπορούν να αναπτύξουν φυσιολογική ομιλία. Αρχικά αυτο αποδίδεται συνήθως στην προσβολή του μέσου ωτός η ακόμα και στην κώφωση, που συχνά συνυπάρχουν στη νόσο. Όμως όταν αυτά διορθώνονται, η ομιλία εξακολουθεί να μη βελτιώνεται, ενώ όλη η εξέλιξη του παιδιού φαίνεται να έχει επηρεαστεί. Σε αυτά τα παιδιά δεν υπάρχουν οι βαριές σωματικές εκδηλώσεις που εμφανίζονται στις βλεννοπολυσακχαριδώσεις, ενώ το αδρό προσωπείο συχνά απουσιάζει.

Η διάγνωση τίθεται μόνο όταν εμφανίζονται οι χαρακτηριστικές για την νόσο διαταραχές της συμπεριφοράς. Αυτές περιλαμβάνουν υπερκινητικότητα και αϋπνία που κάνουν την φροντίδα του παιδιού δύσκολη. Με την πρόοδο της νόσου προστίθενται διαταραχές της στάσης και της βάδισης. Τα παιδιά γίνονται ασταθή και πέφτουν συχνά. Επίσης μπορεί να εμφανιστεί νευροπαθητική δυσφαγία. Στα μέσα της δεύτερης δεκαετίας της ζωής τους, τα παιδιά εξαρτώνται πλέον πλήρως από το περιβάλλον τους, και συνήθως καταλήγουν λίγα χρόνια αργότερα.

Η νευρωνική κηρώδης λιποφουσκίνωση είναι μία ομάδα νοσημάτων που φαίνεται να αποτελεί την συχνότερη αιτία νευροεκφυλισής στην παιδική ηλικία. Ανάλογα με τον τύπο της νόσου η νευροεκφύλιση έχει διαφορετική ηλικία έναρξης και διαφορετική ταχύτητα προόδου. Όμως κοινό χαρακτηριστικό σε όλες τις μορφές είναι η εμφάνιση σπασμών και η προοδευτική απώλεια όρασης. Σήμερα η διάγνωση έχει διευκολυνθεί αρκετά χάρη στις ενζυμικές τεχνικές και στην ανάλυση μεταλλάξεων του DNA.

Η νευρολογική συμμετοχή μπορεί να είναι πολύ χαρακτηριστική για κάποια νοσήματα, όπως στην νόσο Niemann-Pick τύπου C. Η νόσος εκδηλώνεται με δύο τύπους νευρολογικής συμμετοχής. Ο πρώτος τύπος αφορά στην διαταραχή στην επιτέλεση εκούσιων οφθαλμικών κινήσεων. Έντονο ανοιγοκλείσιμο των βλεφάρων πριν από κάθε εκούσια οφθαλμική κίνηση μπορεί να είναι το πρώτο σημάδι της διαταραχής. Η διαταραχή αφορά αρχικά μόνο στις κάθετες κινήσεις, σταδιακά όμως επηρεάζονται και οι οριζόντιες. Η δεύτερη μορφή νευρολογικής συμμετοχής στην νόσο παρουσιάζεται με αιφνίδια παροδική απώλεια του μυϊκού τόνου (καταπληξία). Αυτή μπορεί να διαρκεί μόνο μερικά δευτερόλεπτα, έχει όμως σημαντικές συνέπειες στις δραστηριότητες του ατόμου. Η κατάσταση πρέπει να διαφορίζεται από τη ναρκοληψία, που επίσης μπορεί να εμφανιστεί κατά την

πορεία της νόσου, καθώς επίσης και από την επιληψία. Η καταπληξία δεν ανταποκρίνεται στα αντιεπιληπτικά φάρμακα, ανταποκρίνεται όμως πολλές φορές, στα τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά.

5.9 Εμφάνιση συμπτωμάτων στην ενήλικη ζωή.

Υπάρχουν αρκετά λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα που εμφανίζονται κυρίως στην ενήλικη ζωή. Τέτοια είναι, η νόσος Gaucher τύπου 3, η νόσος Fabry, και η όψιμη ένδεια της όξινης μαλτάσης. Σε μερικά από αυτά τα νοσήματα μπορεί να υπάρχουν κάποιες εκδηλώσεις στην παιδική ηλικία που όμως περνούν απαρατήρητες. Για παράδειγμα οι ασθενείς με νόσο Fabry μπορεί να έχουν στην παιδική ηλικία παραισθησίες στα άκρα, η ακαθόριστους κοιλιακούς πόνους. Η διάγνωση όμως σπάνια γίνεται σε αυτή την ηλικία. Στην ενήλικη ζωή τους μπορεί να έχουν ενοχλήματα για τα οποία να παρακολουθούνται από γαστεροεντερολόγους ή ρευματολόγους και άλλες ιατρικές ειδικότητες, χωρίς να έχει γίνει η σωστή διάγνωση. Η διάγνωση συνήθως τίθεται μόνο μετά την εμφάνιση κάποιας πιο σοβαρής επιπλοκής της υποκείμενης νόσου.

Εξάλλου όλα τα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα που τυπικά εμφανίζονται στην βρεφική ή παιδική ηλικία, έχουν και παραλλαγές με έναρξη στην όψιμη παιδική ή στην ενήλικη ζωή του ατόμου. Έτσι, μέχρι την στιγμή της τελικής διάγνωσης οι ασθενείς αυτοί έχουν συνήθως εξεταστεί από γιατρούς πολλών ειδικοτήτων χωρίς αποτέλεσμα.

Συχνό παράδειγμα είναι η βλεννοπολυσακχαρίδωση τύπου 1. Ασθενείς που πάσχουν από τον τύπο της νόσου που έχει όψιμη έναρξη μπορεί να νοσηλευτούν σε ορθοπαιδική ή ρευματολογική κλινική για τη θεραπεία μη φλεγμονώδους αρθροπάθειας.

Το ίδιο συμβαίνει και για τις εκδηλώσεις που αφορούν το μυοσκελετικό σύστημα στα άλλα λυσοσωμικά νοσήματα. Οι ασθενείς αυτοί νοσηλεύονται συχνότατα σε ρευματολογικές ή ορθοπαιδικές κλινικές[38,39]. Πολλές φορές η εμφάνιση βαλβιδοπάθειας ή θόλωσης του κερατοειδούς αποτελεί το πρώτο σημείο που οδηγεί στην σωστή διάγνωση.

Επίσης και στα λυσοσωμικά αθροιστικά νοσήματα με έντονη νευρολογική συμμετοχή η διάγνωση μπορεί να καθυστερήσει. Πολλές φορές οι γνωσιακές διαταραχές εμφανίζονται όψιμα, ενώ προηγούνται άλλες διαταραχές όπως προοδευτική σπαστικότητα, δυστονία, αταξία και νευροπάθεια ή ακόμα μπορεί να υπάρχουν μόνο συμπτώματα από την ψυχική σφαίρα[40].

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΕΚΔΗΛΩΣΕΙΣ ΔΥΣΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΗΣ Β-ΓΑΛΑΚΤΟΣΙΔΑΣΗΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ1

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ

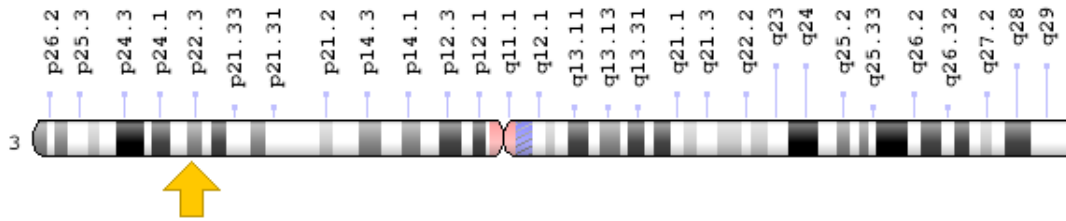
1.1 Εισαγωγή

Η δυσλειτουργία της β-γαλακτοσιδάσης οδηγεί στην εμφάνιση δύο αρκετά διαφορετικών κλινικών οντοτήτων. Αυτές είναι η βλενοπολυσακχαρίδωση IV τύπου B και η γαγγλιοσίδωση GM1. Τα ονόματα των νόσων αναφέρονται στα υποστρώματα του ενζύμου. Καθώς η β-γαλακτοσιδάση συμμετέχει στον καταβολισμό βλενοπολυσακχαριδών και γαγγλιοσιδών, η έλλειψή της οδηγεί σε άθροιση των βιομορίων που δεν μπορούν να καταβολιστούν. Για την κατανόηση των νόσων αυτών είναι απαραίτητη η παράθεση στοιχείων βιοχημείας του ενζύμου καθώς και των βλενοπολυσακχαριδών και γαγγλιοσιδών.

1.2 β- γαλακτοσιδάση

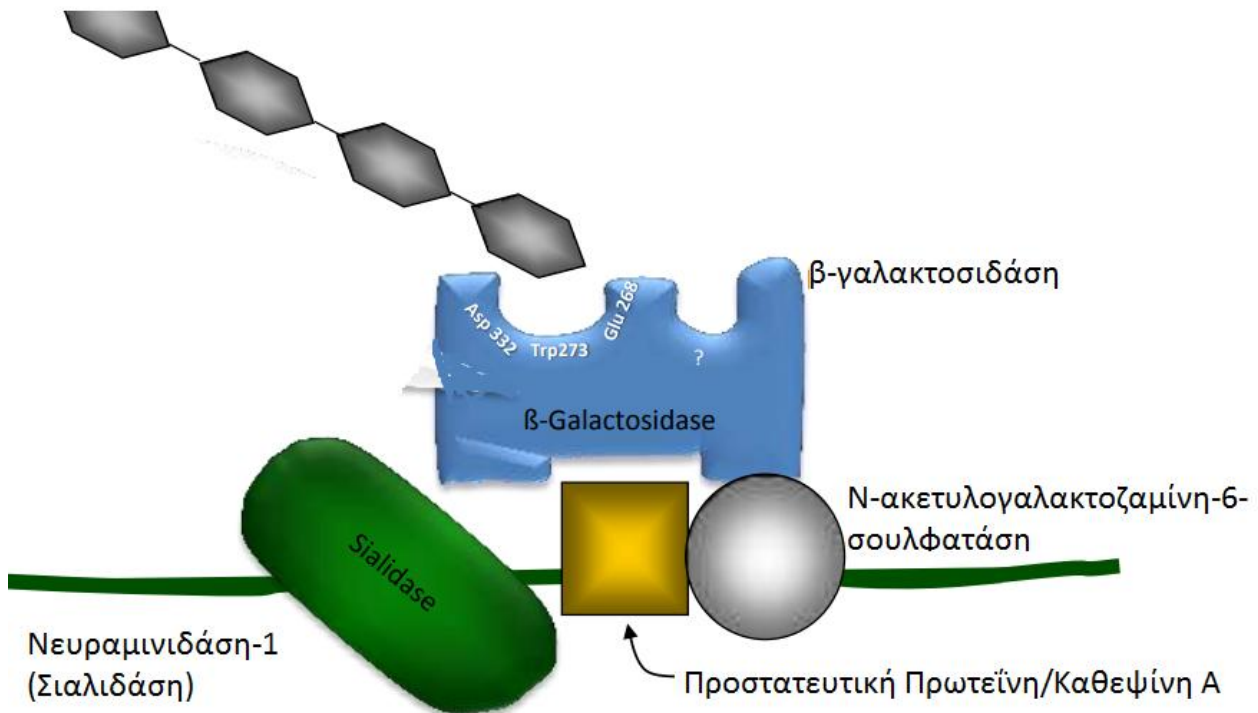
Η β-γαλακτοσιδάση είναι υδρολυτικό ένζυμο που καταλύει την διάσπαση του β-γλυκοσιδικού δεσμού. Η ανθρώπινη β-γαλακτοσιδάση κατατάσσεται ταξινομητικά στην οικογένεια 35 των γλυκοσιδικών υδρολασών.(EC 3.2.1.23,Gal)[42]. Η διάσπαση του β-γλυκοσιδικού δεσμού είναι απαραίτητη για τον καταβολισμό των γαγγλιοσιδών ,αλλά και της θειϊκής κερατάνης[43].

Η β-γαλακτοσιδάση χημικά είναι μια πρωτεΐνη.Το γονίδιο που την κωδικοποιεί αναφέρεται σαν γονίδιο *GLB1* και βρίσκεται στο βραχύ σκέλος του χρωμόσωματος 3, είναι μήκους 62,5 kb και αποτελείται από 6 εξόνια. Η ακριβής περιοχή του χρωμοσώματος είναι 3p21.3 (εικ 1). Με εναλλακτικό μάτισμα (alternative splicing) προκύπτουν πολλά διαφορετικά mRNA. Ένα από αυτά κωδικοποιεί την πρόδρομο πρωτεΐνη της β-γαλακτοσιδάσης .



Εικόνα 1. Η θέση του γονιδίου *GLB1* στο χρωμόσωμα 3.[46]

Το γονίδιο της β- γαλακτοσιδάσης κωδικοποιεί ένα πολυπεπτίδιο που αποτελείται από 677 αμινοξέα, και περιλαμβάνει μια εκκριτική αλληλουχία 23 αμινοξέων στο N-τελικό της ακρο.[44,45] Η πρόδρομη πρωτεΐνη της β-γαλακτοσιδάσης βρίσκεται στην γλυκοζυλιωμένη μορφή της και έχει μοριακό βάρος 88 kDA. Για την είσοδο στο λυσοσωμα απαιτείται η συνδεση με μόρια 6-φωσφορικής μανόζης. Με την είσοδο στο λυσόσωμα αποσπάται η το C-τελικό άκρο του μορίου και έτσι προκύπτει το μόριο της β-γαλακτοσιδάσης που έχει μοριακό βάρος 64kDA. Το αποσπασμένο C-τελικό ακρό δεν απομακρύνεται εντελώς αλλά φαίνεται να μένει συνδεδεμένο με το ώριμο ενζυμικό μόριο.[47]. Για την μετατροπή του ενζύμου στη δραστική μορφή του είναι απαραίτητος ο σχηματισμός συμπλόκου με τρία ακόμα ένζυμα ,την προστατευτική πρωτεΐνη καθεψίνη Α την Νευραμινιδάση 1 (Σιαλιδάση), και την Ν-ακετυλογαλακτοζαμίνη-6-σουλφατάση.[48,49](εικόνα 2).



Εικόνα 2. Το ενζυμικό σύμπλεγμα της β-γαλακτοσιδάσης[48,49]

Χωρίς τον σχηματισμό του συμπλόκου το ένζυμο είναι δραστικό μόνο έξω από τα λυσοσώματα. Για την εκδήλωση της πλήρους δραστικότητας εντός των λυσοσωμάτων είναι απαραίτητος ο σχηματισμός του λυσοσωμικού ενζυμικού συμπλόκου της β-γαλακτοσιδάσης. Αν υπάρξει διαταραχή στον σχηματισμό του ενζυμικού συμπλέγματος η δραστικότητα της β-γαλακτοσιδάσης ελαχιστοποιείται, χωρίς ωστόσο να καταργείται εντελώς. [50]

Επίσης είναι χαρακτηριστικό, ότι κατά την αντίδραση που καταλύεται, η στερεοχημεία των μορίων είναι ίδια στα αντιδρώντα και στα προϊόντα. Έχει βρεθεί ότι για να συμβεί αυτό ο μηχανισμός της κατάλυσης πρέπει να έχει δύο φάσεις, στις οποίες πρέπει να συμμετέχουν δύο καρβοξυλομάδες του ενζύμου. Η πρώτη συμμετέχει σε αντίδραση ομοιοπολικής κατάλυσης (πυρηνόφιλο) ενώ η δεύτερη συμμετέχει σε μηχανισμό οξοβασικής κατάλυσης. Έχει βρεθεί ότι η καρβοξυλική ομάδα που συμμετέχει στην ομοιοπολική κατάλυση βρίσκεται στο υπόλειμα γλουταμινικού οξέος στη θέση 268 ενώ κεντρικό ρόλο στον μηχανισμό έχει και το υπόλειμα Ασπαρτικού στη θέση 332. Εξάλλου έχει προταθεί ότι το καρβοξύλιο που

συμμετέχει στην οξειδωτική κατάλυση βρίσκεται στο Γλουταμινικό της θέσης 188.[51,52,54]

Πριν λίγα χρόνια έγινε γνωστή η τρισδιάστατη δομή του ενζύμου με την χρήση κρυσταλλογραφίας, και χαρτογραφήθηκαν πολλές από τις κλινικά σημαντικές μεταλλάξεις.[55] Ως τώρα δεν έχει βρεθεί καμία μετάλλαξη που να επηρεάζει το γλουταμινικό οξύ της θέσης 268. Ωστόσο πρέπει να σημειωθεί ότι η μετάλλαξη W273L όπου η Τρυπτοφάνη στην θέση 273 έχει αντικατασταθεί από Λευκίνη, και που παρατηρείται συχνότατα σε ασθενείς με Βλεννοπολυσακχαρίδωση IVB (v. Μορquio τύπου Β) είναι πολύ κοντά στη θέση αυτή. Έχει προταθεί ότι η συγκεκριμένη μετάλλαξη επηρεάζει εκλεκτικά τη συγγένεια του ενζύμου μόνο για τη θειϊκή κερατάνη.[56]

1.3 Βλεννοπολυσακχαρίδες (γλυκοζαμινογλυκάνες)

Οι βλεννοπολυσακχαρίδες (γλυκοζαμινογλυκάνες) ανήκουν στους ετεροπολυσακχαρίτες. Είναι δηλαδή πολυσακχαρίτιδικές ενώσεις που απαρτίζονται από διάφορα μόρια μονοσακχαριτών (σε αντίθεση με τους ομοπολυσακχαρίτες, που απαρτίζονται από όμοια μόρια μονοσακχαριτών).

Βρίσκονται σε αφθονία στον συνδετικό ιστό που αποτελείται από κύτταρα και από εξωκυττάρια ουσία. Η εξωκυττάρια ουσία, με τη σειρά της, αποτελείται από θεμέλια ουσία και ίνες κολλαγόνου και ελαστίνης. Βασικό συστατικό της θεμέλιας ουσίας είναι οι βλεννοπολυσακχαρίδες (ή γλυκοζαμινογλυκάνες). Οι βλεννοπολυσακχαρίδες όταν βρίσκονται σε διαλυμένη μορφή, προσδίδουν στο διάλυμα βλενώδη υφή λόγω της υψηλής τους γλοιότητας και ελαστικότητας. Σε αυτή τους την ιδιότητα οφείλεται και το όνομά τους.

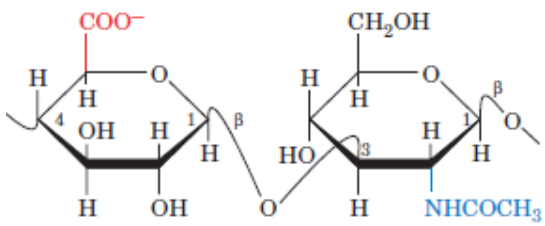
Οι βλεννοπολυσακχαρίδες ή γλυκοζαμινογλυκάνες είναι μακριά αδιακλάδωτα μόρια. Αποτελούνται από επαναλαμβανόμενες μονάδες δισακχαριτών. Οι δισακχαρίτες έχουν παρόμοια δομή σε όλες τις γλυκοζαμινογλυκάνες. (εικ.3)

Το πρώτο μέλος είναι ένα αμινοσάκχαρο. Μπορεί να είναι N-ακέτυλο-γλυκοζαμίνη ή N-ακέτυλο-γαλακτοζαμίνη. Η N-ακέτυλο-γλυκοζαμίνη προκύπτει από την γλυκοζαμίνη με προσθήκη μίας ακετυλομάδας στην αμινική ομάδα. Ομοίως, η N-ακέτυλο-γαλακτοζαμίνη προκύπτει από την γαλακτοζαμίνη.

Το δεύτερο μέλος του δισακχαρίτη μπορεί να είναι ουρονικό οξύ (γλυκουρονικό οξύ ή ιδουρονικό οξύ) ή γαλακτόζη.

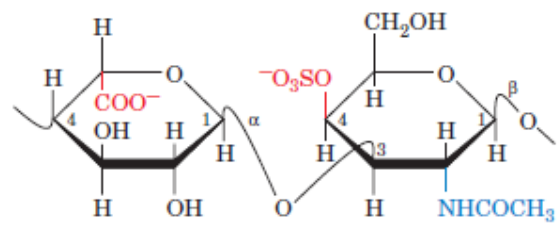
Στις γλυκοζαμινογλυκάνες ανήκουν κάποιες πολύ γνωστές ουσίες όπως η ηπαρίνη και το υαλουρονικό, καθώς και η θειϊκή κερατάνη που ανιχνεύεται σε σημαντικές

ποσότητες στον κερατοειδή του ματιού. Ανάλογα με τη δομή της επαναλαμβανόμενης δισακχαριτικής ομάδας προκύπτουν οι διάφορες γλυκοζαμινογλυκάνες. Στην επόμενη εικόνα φαίνονται οι δισακχαρίτες που απαρτίζουν τις σημαντικότερες γλυκοζαμινογλυκάνες (υαλουρονικό, θειϊκή δερματάνη, 4-θειϊκή χονδροϊτίνη, θειϊκή κερατάνη, 6-θειϊκή χονδροϊτίνη, και ηπαρίνη).

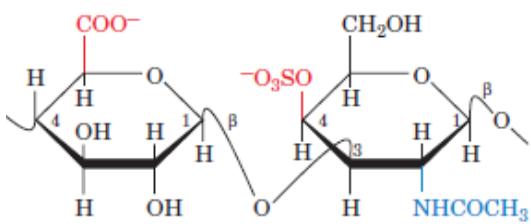
ΥΑΛΟΥΡΟΝΙΚΟ

ΓΛΥΚΟΥΡΟΝΙΚΟ

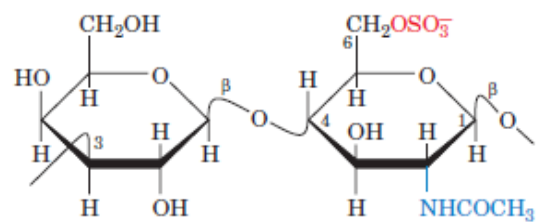
N-ΑΚΕΤΥΛΟ-ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ

ΘΕΙΙΚΗ ΔΕΡΜΑΤΑΝΗ

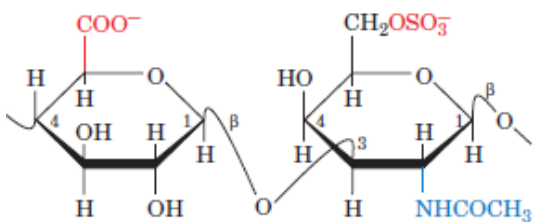
ΙΔΟΥΡΟΝΙΚΟ

4 ΘΕΙΙΚΗ-N-ΑΚΕΤΥΛΟ
ΓΑΛΑΚΤΟΖΑΜΙΝΗ**4-ΘΕΙΙΚΗ ΧΟΝΔΡΟΙΤΙΝΗ**

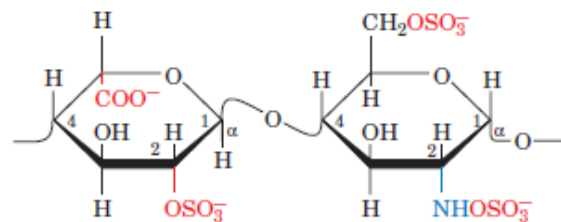
ΓΛΥΚΟΥΡΟΝΙΚΟ

4-ΘΕΙΙΚΗ
N-ΑΚΕΤΥΛΟ-ΓΑΛΑΚΤΟΖΑΜΙΝΗ**ΘΕΙΙΚΗ ΚΕΡΑΤΑΝΗ**

ΓΑΛΑΚΤΟΣΗ

6ΘΕΙΙΚΗ
N-ΑΚΕΤΥΛΟΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ**6-ΘΕΙΙΚΗ ΧΟΝΔΡΟΙΤΙΝΗ**

ΓΛΥΚΟΥΡΟΝΙΚΟ

6-ΘΕΙΙΚΗ
N-ΑΚΕΤΥΛΟ-ΓΑΛΑΚΤΟΖΑΜΙΝΗ**ΗΠΑΡΙΝΗ**2-ΘΕΙΙΚΟ
ΙΔΟΥΡΟΝΙΚΟ6-ΘΕΙΙΚΗ
N-ΘΕΙΙΚΗ-ΓΛΥΚΟΖΑΜΙΝΗ

Εκόνα 3. Οι δισακχαριτικές μονάδες των βλεννοπολυσακχαρίδων [57]

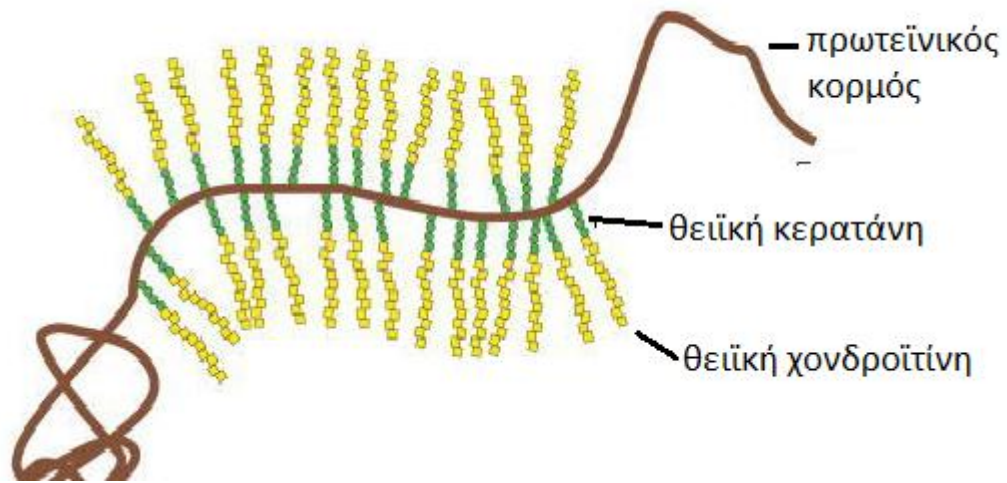
1.3.1 Ο βιολογικός ρόλος των βλεννοπολυσακχαριδών (γλυκοζαμινογλυκανών)

Ο βιολογικός ρόλος των γλυκοζαμινογλυκανών είναι αποτέλεσμα των φυσικών τους χαρακτηριστικών αλλά και της εντόπισής τους στην εξωκυττάρια ουσία του συνδετικού ιστού. Οι καρβοξυλικές και θειϊκές ομάδες που περιέχουν προσδίδουν στο μόριό τους αρνητικό φορτίο. Έτσι έλκουν στο περιβάλλον τους ιόντα νατρίου, που συνοδεύονται με μόρια νερού. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται ένα βλεννώδες κολλοειδές που συγκρατεί το νερό και προσδίδει στον συνδετικό ιστο αντοχή στην πίεση. Επίσης συνδέονται με τα άλλα συστατικά της εξωκυττάριας ουσίας (κολλαγόνο, λαμινίνη, ινονεκτίνη), συμβάλλοντας έτσι στη συνοχή και στη σταθερότητα του συνδετικού ιστού. Τέλος δημιουργούν συνθήκες που ευνοούν τη διάχυση ουσιών όπως θρεπτικά συστατικά, μεταβολίτες και ορμονικά δραστικές ουσίες.

Η θειϊκή κερατάνη είναι μια γλυκοζαμινογλυκάνη της οποίας το ένα μέλος της δισακχαριτικής αλυσίδας είναι γαλακτόζη. Το όνομά της παραπέμπει στον κερατοειδή του ματιού όπου ανιχνεύεται σε σημαντικές ποσότητες.

Οι γλυκοζαμινογλυκάνες σχηματίζουν σύμπλοκες ενώσεις με πρωτεΐνες. Οι ενώσεις αυτές ονομάζονται πρωτεογλυκάνες. Οι πρωτεογλυκάνες είναι βασικό συστατικό της θεμέλιας ουσίας και της βασικής μεμβράνης των επιθηλίων. Οι πρωτεογλυκάνες αποτελούνται από ένα πρωτεϊνικό κορμό, με τον οποίο συνδέονται ένα ή περισσότερα μόρια γλυκοζαμινογλυκανών. Οι γλυκοζαμινογλυκάνες συνδέονται στον πρωτεϊνικό κορμό με ομοιοπολικούς δεσμούς, ή με δεσμούς άλλου τύπου.

Στό σχήμα της εικόνας 4 φαίνεται η χαρακτηριστική δομή των πρωτεογλυκανών. Χρησιμοποιείται σαν παράδειγμα η Αγγρεκάνη, μια Πρωτεογλυκάνη που βρίσκεται σε αφθονία στους χόνδρους στους οποίους δίνει χαρακτηριστική αντοχή και ελαστικότητα. Διακρίνεται ο πρωτεϊνικός κορμός με τις προσδεμένες αλυσίδες θειϊκής κερατάνης και θειϊκής χονδροϊτίνης .

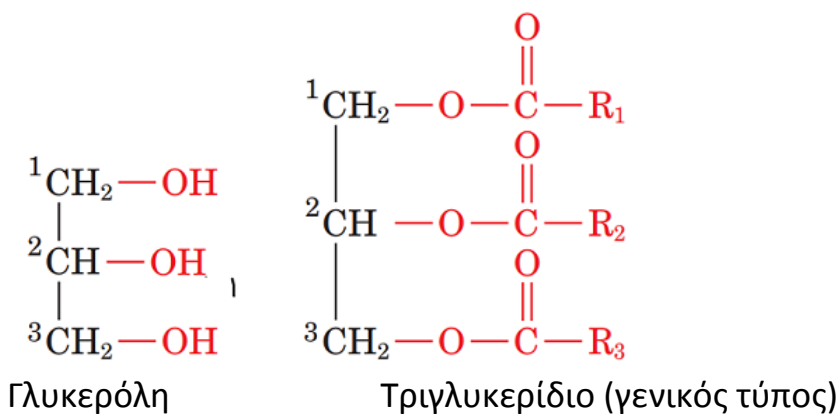


Εικόνα 4. Πρωτεογλυκάνη (Αγгреκάνη)[58]

1.4 Γαγγλιοσίδες

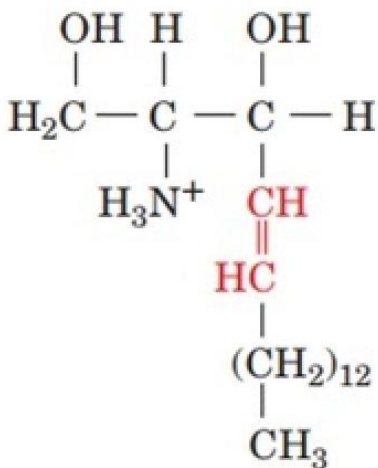
Οι γαγγλιοσίδες χημικά ανήκουν στην κατηγορία χημικών ενώσεων που ονομάζονται σφιγγολιπίδια. Τα σφιγγολιπίδια εντάσσονται στην ευρύτερη κατηγορία των λιπιδίων. Στα λιπίδια ανήκουν πολλές γνωστές βιολογικά σημαντικές χημικές ενώσεις όπως τα τριγλυκερίδια και τα φωσφολιπίδια. Η δομή των σφιγγολιπιδίων έχει ομοιότητες με την δομή των τριγλυκεριδίων.

Τα τριγλυκερίδια περιέχουν μία αλκοόλη, την γλυκερόλη, που συνδέεται με αλυσίδες λιπαρών οξέων. (Εικόνα 5)

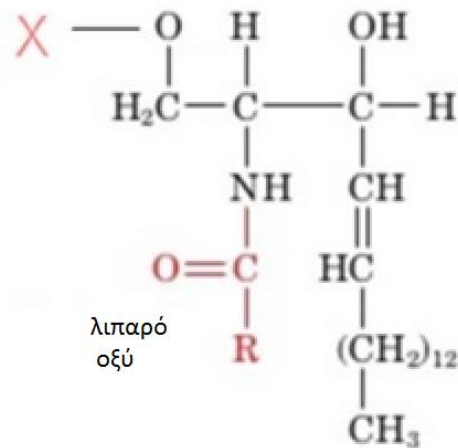


Εικόνα 5.[57]

Κατα παρόμοιο τρόπο, τα σφιγγολιπίδια περιέχουν μια αμινοαλκοόλη, την σφιγγοσίνη της οποίας η δομή της αποτέλεσε αίνιγμα για πολλά χρόνια μετά την ανίχνευσή της το 1884. [59] Αυτή συνδέεται με μια αλυσίδα λιπαρού οξέος στην αμινοομάδα και με μία άλλη ένωση σε υδροξυλική ομάδα που σημειώνεται ως X στο σχήμα της εικόνας 6.



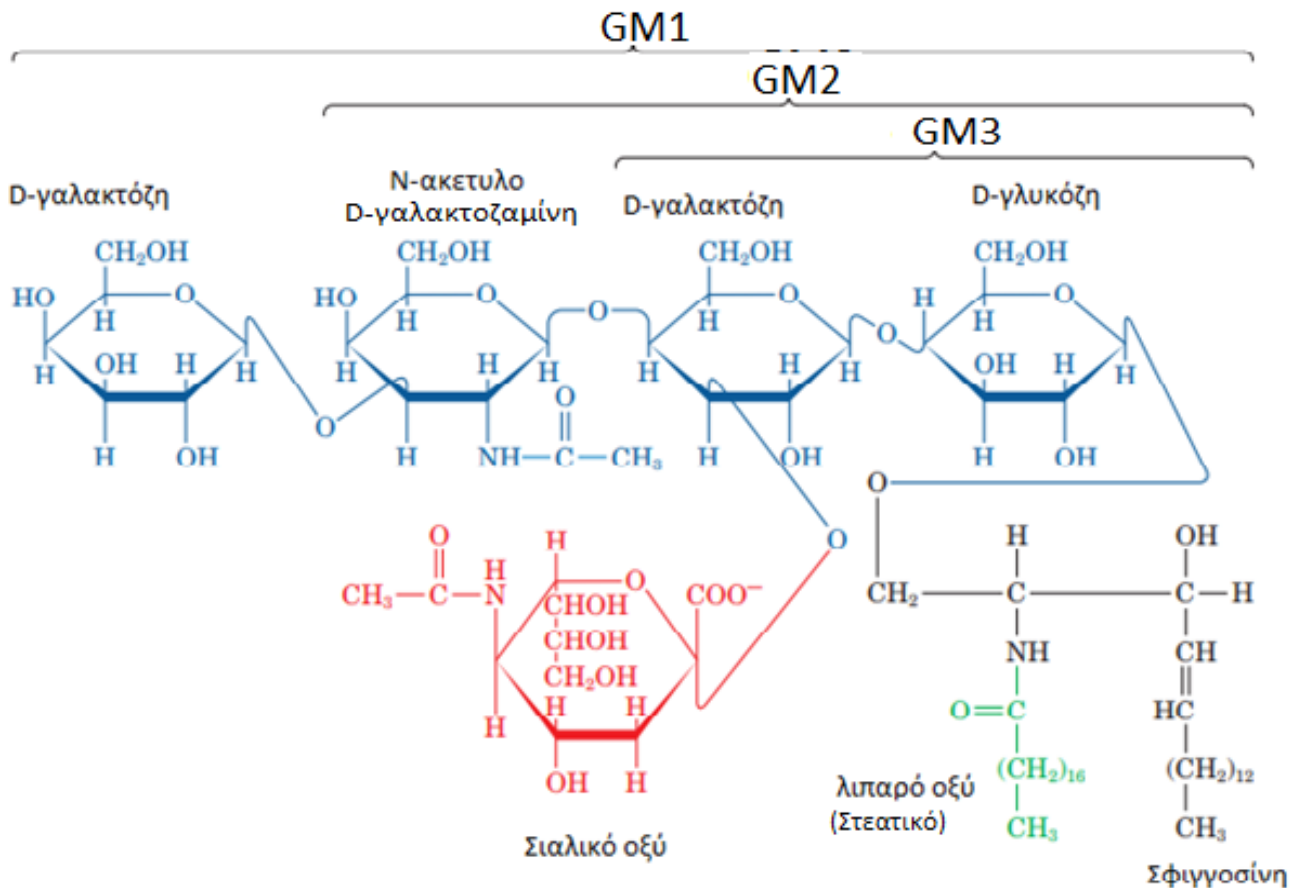
Σφιγγοσίνη



Σφιγγολιπίδιο (γενικός τύπος)

Εικόνα 6. [57]

Ανάλογα με το είδος του μορίου υποκαταστάτη (X), και το είδος του λιπαρού οξέος, προκύπτουν ομάδες σφινγολιπιδίων όπως οι σφινγομυελίνες, οι σερεβροσίδες και οι γαγγλιοσίδες. Οι γαγγλιοσίδες είναι τα πολυπλοκότερα σφινγολιπίδια. Στις γαγγλιοσίδες, η υδροξυλική ομάδα της σφινγοσίνης ενώνεται με μια ολιγοσακχαριτιδική ένωση που περιλαμβάνει τουλάχιστον ένα μόριο σιαλικού οξέος (N-ακετυλο-νευραμινικό οξύ, NANA). Οι πιο γνωστές από τις γαγγλιοσίδες ονομάζονται GM1, GM2, και GM3.



Γαγγλιοσίδες GM1, GM2, GM3.

Εικόνα 7.[57]

Από την εικόνα 7 είναι φανερό ότι οι γαγγλιοσίδες GM1, GM2 και GM3 διαφέρουν μεταξύ τους μόνο κατά ένα μόριο μονοσακχαρίτη στο τελικό σημείο της ολιγοσακχαριτιδικής τους αλυσίδας. Επίσης πρέπει να σημειωθεί ότι στη θέση του λιπαρού οξέος (στεατικό, στο σχήμα της εικόνας 7) μπορεί να βρεθούν πολλά άλλα λιπαρά οξέα με διαφορετικό μήκος και κορεσμό. Έτσι προκύπτουν πολλές γαγγλιοσίδες.

Οι γαγγλιοσίδες έχουν σημαντικούς βιολογικούς ρόλους. Αποτελούν συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών, και αναλογούν το 6% των λιπιδίων του εγκεφάλου αλλά υπάρχουν και σε άλλους ιστούς σε μικρότερα ποσοστά. Η ολιγοσακχαριτιδική ομάδα των γαγγλιοσιδών συνήθως προεξέχει από την επιφάνεια των κυτταρικών μεμβρανών. Έτσι δρουν ως υποδοχείς υποφυσιακών ορμονών αλλά και υποδοχείς για μικροβιακές τοξίνες, όπως η τοξίνη της χολέρας. Ακόμα λόγω της θέσης τους παίζουν σημαντικό ρόλο στη διακυτταρική επικοινωνία, συμμετέχοντας έτσι σε μηχανισμούς κυτταρικής αύξησης και διαφοροποίησης, καθώς και στην καρκινογένεση. Η διαταραχή στον καταβολισμό των γαγγλιοσιδών οδηγεί σε θανατηφόρα κληρονομικά νοσήματα που ονομάζονται γαγγλιοσιδώσεις. [57]

Η αποικοδόμηση των γαγγλιοσιδών γίνεται στα λυσοσώματα με διαδοχικές αντιδράσεις που καταλύονται με ειδικά ένζυμα.

Η διαδικασία ξεκινά από την διάσπαση της ολιγοσακχαριτικής αλυσίδας. Στην φάση αυτή δρουν τα παρακάτω ένζυμα:

1. β-γαλακτοσιδάση: αποσπά την D-γαλακτόζη από τη άκρο της ολιγοσακχαριτιδικής αλυσίδας.
2. Εξοζαμιניδάση Α: αποσπά την N-ακέτυλο-γαλακτοζαμίνη (GalNAc).
3. Γαγγλιοσιδική Νευραμινιδάση: αποσπά Σιαλικό οξύ (N-ακέτυλο-Νευραμινικό οξύ, NANA) .

Στις αντιδράσεις αυτές φαίνεται να συμμετέχει και μια ομάδα ενεργοποιητικών πρωτεϊνών (SAP), οι οποίες χωρίς να έχουν ενζυμική λειτουργία, φέρνουν σε επαφή την ολιγοσακχαριτική αλυσίδα της γαγγλιοσίδης με το κατάλληλο ένζυμο.

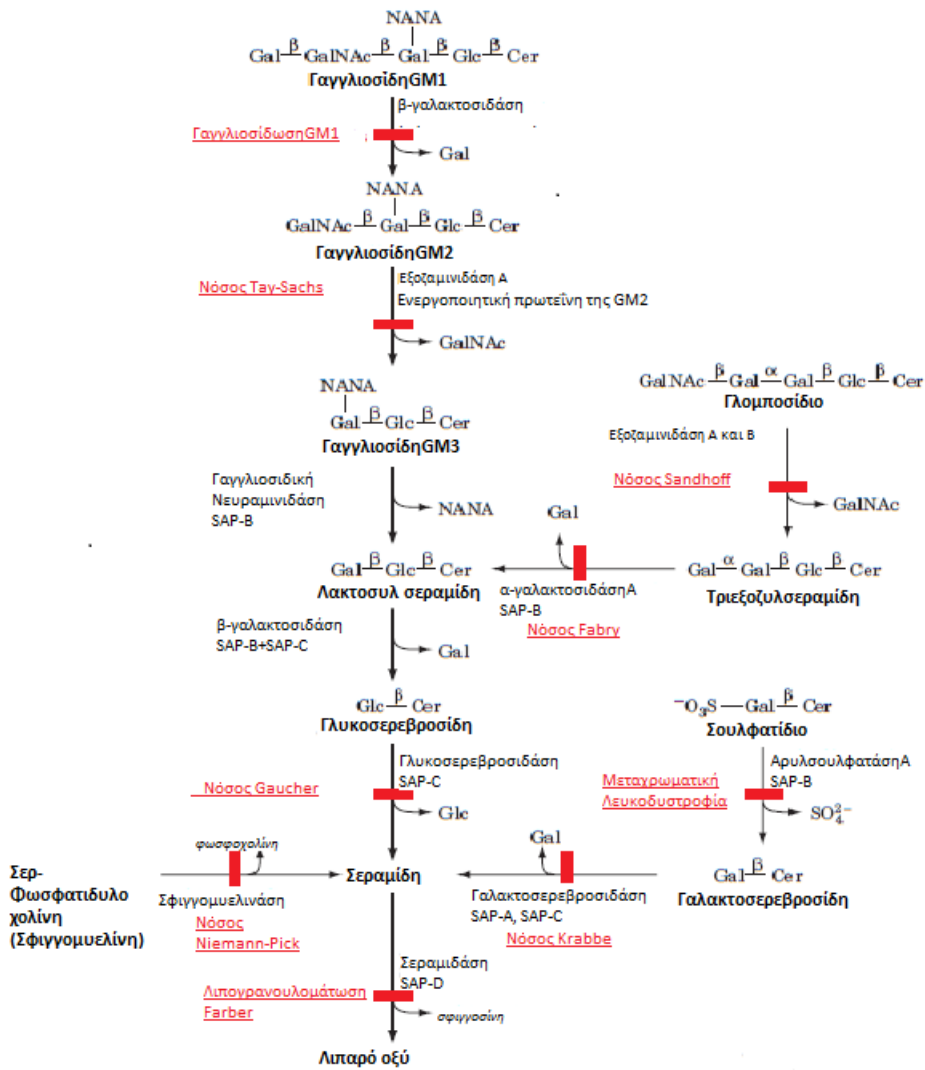
Κάποιες αλληλουχίες σακχάρων που παρατηρούνται στις γαγγλιοσίδες υπάρχουν επίσης και στις γλυκοζαμινογλυκάνες (βλεννοπολυσακχαρίδες). Έτσι ένζυμα που δρουν στην αποικοδόμηση των γλυκοζαμινογλυκανών έχουν δράση και στην αποικοδόμηση των γαγγλιοσιδών. Τα ένζυμα αυτά είναι κυρίως εξω-γλυκοσιδάσες , δηλαδή ένζυμα που αποσπούν τον τελευταίο μονοσακχαρίτη σε μια πολυσακχαριτική αλυσίδα, διασπώντας ένα γλυκοσιδικό δεσμό. Χαρακτηριστικό

παράδειγμα αποτελεί η β-γαλακτοσιδάση που αποσπά το τελικό μόριο β-D-γαλακτόζης από την γαγγλιοσίδη GM1. Το ίδιο ένζυμο μπορεί να δράσει και στις γλυκοζαμινογλυκάνες αποσπώντας το τελικό μόριο β-D-γαλακτόζης της θειϊκής κερατάνης. Αντίθετα, για να αποσπαστεί ο μονοσακχαρίτης που είναι απευθείας συνδεδεμένος με το μόριο της σφιγγοσίνης, απαιτούνται ειδικά ένζυμα που έχουν θέση μόνο στον μεταβολισμό των σφιγγολιπιδίων, χωρίς να συμμετέχουν στον καταβολισμό άλλων πολυσακχαριτικών ενώσεων.

Η έλλειψη κάποιου από τα ένζυμα ή των ενεργοποιητικών πρωτεϊνών που μετέχουν στην διάσπαση των γαγγλιοσίδων οδηγεί στη συσσώρευση των μορίων που προηγούνται στην καταβολική οδό. Η κληρονομική ανεπάρκεια σε κάποιο από τα ένζυμα αυτά οδηγεί σε κληρονομικά νοσήματα γνωστά ως γαγγλιοσιδώσεις.

Αν η ανεπάρκεια αφορά στην β-γαλακτοσιδάση, δεν αποσπάται το ακραίο μόριο γαλακτόζης της γαγγλιοσίδης GM1 με αποτέλεσμα να μην καταβολίζεται πρὸς γαγγλιοσίδη GM2. Η γαγγλιοσίδη GM1 συσσωρεύεται μέσα και έξω από τα λυσοσώματα με αποτέλεσμα την εμφάνιση της γαγγλιοσίδωσης GM1.

Στό σχήμα της εικόνας 8 φαίνονται τα στάδια του καταβολισμού της γαγγλιοσίδης GM1. Διακρίνονται τα ένζυμα και οι ενεργοποιητικές πρωτεΐνες που λαμβάνουν μέρος στο κάθε σταδιο, καθώς και οι διαταραχές που προκαλούνται από την έλλειψή τους.



Εικόνα 8. Ο καταβολισμός των γαγγλιοσίδων (Ένζυμα και διαταραχές)[57]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΝΟΣΟΛΟΓΙΑΣ

ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗΣ IVB / ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗΣ GM1

2.1 Εισαγωγή

Στό κεφάλαιο αυτό αναφέρονται συνοπτικά και κατ' αντιπαράθεση στοιχεία από την κλινική εικόνα, τη διάγνωση και τη θεραπεία των νόσων βλεννοπολυσακχαρίδωση IVB και γαγγλιοσίδωση GM1 με σκοπό να γίνουν αντιληπτές οι διαφορές αλλά και κάποιες ομοιότητες που εμφανίζουν.

2.2 Κλινικά χαρακτηριστικά

Το γονίδιο που κωδικοποιεί την β-γαλακτοσιδάση αναφέρεται γονίδιο *GLB1*. Η δυσλειτουργία του γονιδίου, λόγω μεταλλάξεων, οδηγεί στην εμφάνιση των δύο λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων με πολύ διαφορετική κλινική εικόνα και εξέλιξη: γαγγλιοσίδωση GM1, και η βλεννοπολυσακχαρίδωση IVB. Παλιότερα η γαγγλιοσίδωση GM1 αναφέρονταν ως "Ελλειψη β-γαλακτοσιδάσης-1" ,ενώ η βλεννοπολυσακχαρίδωση IVB αναφέρονταν ως "Σύνδρομο Morquio B".

ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗ GM1 (OMIM 230500)

Ανάλογα με το χρόνο εμφάνισης, η γαγγλιοσίδωση GM1 διακρίνεται σε τύπους: Τύπος 1 (Βρεφική), Τύπος 2 (όψιμη βρεφική, νεανική) και τύπος 3 (μορφή ενηλίκων). Φαινοτυπικά η γαγγλιοσίδωση GM1 παρουσιάζεται με ένα φάσμα εκδηλώσεων που μπορεί να είναι πολύ βαριές (στην βρεφική μορφή), ενδιάμεσης βαρύτητας (στην οψιμη παιδική και νεανική μορφή), ή ελαφριές (στην χρόνια μορφή/μορφή ενηλίκων). Η ταξινόμηση των μορφών σε αυτές τις κατηγορίες είναι σχετική, είναι όμως χρήσιμη για την κατανόηση της ποικιλότητας που παρουσιάζει η χρονική εμφάνιση και η εξέλιξη της νόσου καθώς και το προσδόκιμο επιβίωσης των ασθενών[60,61].

Τύπος 1 (βρεφική μορφή)

Εμφανίζεται πριν την ηλικία των 12 μηνών και συνήθως τους πρώτους 6 μήνες της ζωής. Σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να αναφέρονται διαταραχές κατά την κύηση όπως εμβρυϊκός ύδρωπας (6%) και καθυστέρηση στην ενδομήτρια ανάπτυξη (1%). Τα κυριότερα συμπτώματα της νόσου οφείλονται σε σοβαρή δυσλειτουργία του κεντρικού νευρικού συστήματος. Αρχικά εμφανίζεται καθυστέρηση στην ψυχοκινητική ανάπτυξη με υποτονία και έντονη απάντηση στα ακουστικά ερεθίσματα. Ακολουθεί σπαστικότητα και οπισθοδρόμηση στην ανάπτυξη. Στην οφθαλμολογική εξέταση παρατηρείται μια χαρακτηριστική κερασόχροη κηλίδα στην περιοχή της ωχράς κηλίδας του αμφιβληστροειδούς. Στό τέλος του πρώτου έτους της ζωής τα προσβεβλημένα βρέφη είναι τυφλά και και κωφά και εμφανίζουν σοβαρή δυσλειτουργία του κεντρικού νευρικού συστήματος που οδηγεί σε έντονη σπαστικότητα (απεγκεφαλισμός). Συχνά εμφανίζεται καρδιομυοπάθεια και σπασμοί. Μπορεί να συνυπάρχει ηπατοσπληνομεγαλία και υποθρεψία.

Συχνά υπάρχουν αδρά χαρακτηριστικά του προσώπου. Η μύτη μπορεί να είναι συμπιεσμένη στη βάση και αποπλατυσμένη στην κορυφή. Τα αυτιά έχουν χαμηλή πρόσφυση στο κρανίο. Τα ούλα είναι υπερτροφικά. Η γλώσσα είναι υπερτροφική. Το δέρμα παχυσμένο και υπάρχει αυξημένη τρίχωση. Σκελετική δυσπλασία μπορεί να υπάρχει από την αρχή, η να εμφανιστεί αργότερα στην πορεία της νόσου.

Η εξέλιξη της νόσου είναι ταχεία. Πλήρης τύφλωση είναι συχνή στο πρώτο έτος της ζωής. Τα προσβεβλημένα παιδιά καταλήγουν συνήθως κατά το δεύτερο ή τρίτο έτος της ζωής. Συνήθης αιτία θανάτου είναι η πνευμονία από εισρόφηση.

Τυπος 2 (όψιμη βρεφική και νεανική μορφή)

Η όψιμη βρεφική μορφή εμφανίζεται συνήθως μεταξύ τού πρώτου και τρίτου έτους της ζωής με επιβίωση μέχρι το πέμπτο με δέκατο έτος της ζωής. Η νεανική μορφή εμφανίζεται συνήθως ανάμεσα στο τρίτο και στο δέκατο έτος της ζωής. Τυπικά τα παιδιά σχολικής ηλικίας δεν έχουν την αναμενόμενη για την ηλικία ψυχοσωματική ανάπτυξη. Στην πορεία της νόσου εμφανίζεται καθήλωση σε κάποιο στάδιο της εξέλιξης, και στη συνέχεια οπισθοδρόμηση, με απώλεια των δεξιοτήτων που είχαν αποκτηθεί, αταξία και σπασμοί. Στη μορφή αυτή μπορεί να μην υπάρχουν σκελετικές ανωμαλίες. Η επιβίωση φτάνει μέχρι τη δεύτερη δεκαετία της ζωής.

Τύπος 3 (χρονία μορφή/μορφή ενηλίκων)

Η μορφή αυτή έχει περιγραφεί κυρίως στην Ιαπωνία. Τα συμπτώματα μπορεί να εμφανιστούν ανάμεσα στην όψιμη παιδική ηλικία μέχρι και την τρίτη δεκαετία της ζωής. Συνήθως εμφανίζεται με μυϊκή ατροφία και γενικευμένη δυστονία που οδηγεί σε διαταραχές της ομιλίας και της βάδισης. Στην πορεία μπορεί να εμφανιστούν θόλωση κερατοειδούς και εξωπυραμιδικά σημεία (παρκινσονισμός). Τα συνηθέστερα ευρήματα είναι : διαταραχές της βάδισης (44%), καρδιομυοπάθεια (38%), διαταραχή στην ομιλία (33%) και δυστονία (22%). Η διανοητική λειτουργία μπορεί να μην είναι επηρεασμένη στα αρχικά στάδια της νόσου, επηρεάζεται όμως συχνά στη μετέπειτα πορεία της νόσου.

Η πρόγνωση σε όλους τους τύπους γαγγλιοσίδωσης GM1 σχετίζεται με το βαθμό της νευρολογικής συμμετοχής. Οστόσο στην πλειονότητα των περιπτώσεων συνυπάρχουν και σκελετικές ανωμαλίες, όπως χαμηλό ανάστημα, κύφωση και σκολίωση. Στους περισσότερους ασθενείς έχουν καταγραφεί χαρακτηριστικά ιστολογικά ευρήματα στη νεκροψία, όπως μεγανευρίτες και έκτοπη δενδριτογένεση. Επίσης ανιχνεύονται εναποθέσεις γαγγλιοσίδης στα νευρικά κύτταρα ανάλογες με την ηλικία έναρξης και την ταχύτητα προόδου της νόσου.

ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗ IVB (OMIM253010)

Η βλεννοπολυσακχαρίδωση IV (Νοσος Morquio), περιλαμβάνει δύο τύπους (IVA και IVB), που δεν ξεχωρίζουν κλινικά αλλά οφείλονται σε έλλειψη διαφορετικών ενζύμων του λυσοσωμικού ενζυμικού συμπλέγματος.

Η μορφή A οφείλεται στην έλλειψη της N-ακετυλογαλατοζαμίνη-6-σουλφατάσης (GALNS). Η μορφή B οφείλεται στην έλλειψη της β-γαλακτοσιδάσης. Πρίν την εισαγωγή των μοριακών μεθόδων στην διαγνωστική των βλεννοπολυσακχαριδώσεων τα δημοσιευμένα στοιχεία αφορούσαν συνολικά την βλεννοπολυσακχαριδωση IV (IVA :95% , IVB : 5% των προσβεβλημένων ατόμων).

Η βλεννοπολυσακχαρίδωση IV χαρακτηρίζεται κυρίως από σκελετικές ανωμαλίες χαμηλό ανάστημα, θόλωση κερατοειδούς και προσβολή των βαλβίδων της καρδιάς.[61] *Συμπτώματα από το κεντρικό νευρικό σύστημα συνήθως δεν υπάρχουν (σε αντίθεση με την γαγγλιοσίδωση GM1).*

Κατά την γέννηση τα παιδιά εμφανίζονται φυσιολογικά. Τα συμπτώματα εκδηλώνονται μεταξύ του πρώτου και του τρίτου έτους της ζωής. Υπάρχουν και περιπτώσεις όπου τα συμπτώματα εμφανίζονται στην όψιμη παιδική ζωή ή ακόμα και κατά την εφηβεία. Οι πρώτες εκδηλώσεις της νόσου μπορεί να διαφέρουν κατά

περίπτωση. Στη βαριά μορφή της νόσου οι χαρακτηριστικότερες εκδηλώσεις είναι ο νανισμός, η κυφωσκολίωση, η βλαισσογονία και ο καρινοειδής θώρακας. Στην ελαφρύτερη μορφή της νόσου, οι πρώτες εκδηλώσεις είναι η δυσκαμψία και ο πόνος στο ισχίο (legg-Perthes disease)[62]. Αργότερα μπορεί να υπάρχει υπερκινητικότητα στις αρθρώσεις, που οφείλεται σε χαλαρότητα των συνδέσμων, και μπορεί να καταλήξει σε νευροπάθεια, όπως μυελοπάθεια με προοδευτική απώλεια της ικανότητας βάδισης από ατλαντοινιακή αστάθεια της αυχενικής μοίρας σπονδυλικής στήλης.

Από τα άλλα συστήματα μπορεί να υπάρχει αναπνευστική ανεπάρκεια, υπνική άπνοια αποφρακτικού τύπου, προσβολή των βαλβίδων της καρδιάς, διαταραχές της ακοής, θόλωση κερατοειδούς, και ηπατομεγαλία, που μπορεί να αυξάνουν σημαντικά την θνησιμότητα. Συμπτώματα από συμπίεση του νωτιαίου μυελού υπάρχουν σε σοβαρές μορφές της νόσου με καθυστερημένη διάγνωση.[63]

Τα αδρά χαρακτηριστικά του προσώπου, δεν είναι τόσο εκσημασμένα όσο σε άλλες βλεννοπολυσακχαριδώσεις. Τα παιδιά με βλεννοπολυσακχαρίδωση IV τυπικά έχουν φυσιολογική νοητική ικανότητα.

2.3 Ακτινολογικός έλεγχος σκελετού

ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗ GM1

Στην απλή ακτινογραφία ασθενών με γαγγλιοσίδωση GM1 μπορεί να φαίνονται οι σκελετικές ανωμαλίες που χαρακτηρίζουν πολλά λυσοσωμικά νοσήματα και αναφέρονται ως πολλαπλή δυσόστωση.

Στον τύπο 1 και 2

Κοινά ακτινολογικά ευρήματα μπορεί να εμφανίζονται σε αρκετές περιπτώσεις όχι όμως σε όλες.

Στο κρανίο: πάχυνση των οστών τού κρανίου και διάταση του τουρκικού εφιππίου με παραμόρφωση σε σχήμα J.

Στο θώρακα: υποπλαστικοί θωρακικοί και οσφυϊκοί σπόνδυλοι με χαρακτηριστική πρόσθια παραμόρφωση σαν ράμφος, πλευρές αποπεπλατυσμένες (σαν σπάτουλα) και θώρακας καρινοειδής με χαρακτηριστική προβολή τού στέρνου (τροπιδοειδές στέρνο).

Στα οστά της λεκάνης: παραμορφώσεις στα λαγόνια οστά και την κοτύλη, καθώς και αποπλάτυση στην κεφαλή του μηριαίου οστού.

Στα μακρά οστά: βράχυνση με πλατύτερη διαφυση, ενώ μετακάρπια οστά μπορεί να είναι διευρυμένα και να έχουν σφηνοειδή παραμόρφωση.

Στον τύπο 3. Εμφανίζονται μόνο ήπιες παραμορφώσεις των σπονδύλων.[64]

ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗ IV

Στή βλεννοπολυσακχαρίδωση IV υπάρχουν πάντα σοβαρές σκελετικές εκδηλώσεις που πρέπει να αναζητούνται γιατί καθοδηγούν τη διάγνωση.

Στό κranίο-αυχένα: υποπλασία του οδόντα που μπορεί να οδηγεί σε αστάθεια στη στήριξη του κρανίου.

Στον θώρακα: κυφοσκολίωση που προκαλεί παραμόρφωση. Αυτή οφείλεται σε σφηνοειδή παραμόρφωση ενός ή περισσοτέρων γειτονικών σπονδύλων, που οδηγεί στον σχηματισμό χαρακτηριστικού ύβου. Μπορεί να συνυπάρχουν παραμορφώσεις του στέρνου που δίνουν χαρακτηριστική μορφολογία στο θώρακα: τροπιδοειδές στέρνο (καρινοειδής θώρακας), σκαφοειδές στέρνο (χοανοειδής θώρακας) [65].

2.4 Μαγνητική τομογραφία εγκεφάλου

ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗ GM1

Στην γαγγλιοσίδωση GM1 εμφανίζονται χαρακτηριστικές αλλοιώσεις στην μαγνητική τομογραφία του εγκεφάλου.

- Διάχυτη εγκεφαλική ατροφία και ανωμαλίες της λευκής ουσίας.
- Μη ειδικές διαταραχές (Hyointensity) στις T2 ακολουθίες στην ωχρά σφαίρα και στα βασικά γάγγλια.

Ειδικότερα στην ενήλικη μορφή της νόσου υπάρχουν διαταραχές στην απεικόνιση του κελύφους του φακοειδούς πυρήνα, καθώς και ελαφρή εγκεφαλική ατροφία.[66]

ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗ IVB

Δεν υπάρχουν συνήθως χαρακτηριστικές αλλοιώσεις στην τομογραφία εγκεφάλου στην βλεννοπολυσακχαρίδωση IVB.

2.5 Έλεγχος γλυκοζαμινογλυκανών στα ούρα

ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗ GM1

Συχνά ανιχνεύονται γλυκοζαμινογλυκάνες σε χαρακτηριστικές αναλογίες. (Patern). Όμως για την τελική διάγνωση είναι απαραίτητος ο μοριακός γενετικός έλεγχος, η/και ο προσδιορισμός της ενζυμικής δραστηριότητας της β-γαλακτοσιδάσης.

ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗ IVB

Τα ευρήματα από τα ούρα εδώ βοηθούν πολύ στη διάγνωση. Ειδικότερα η απέκκριση θειϊκής κερατάνης στα ούρα είναι διαγνωστική για τη βλεννοπολυσακχαρίδωση IV, δεν αρκεί όμως για τη διάκριση μεταξύ βλεννοπολυσακχαρίδωσης IVA και IVB.

2.6 Επιβεβαίωση της διάγνωσης

Η οριστική διάγνωση νοσήματος σχετιζομένου με το γονίδιο *GLB1* τίθεται μόνο με τον προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας της β-γαλακτοσιδάσης και με τον μοριακό γενετικό έλεγχο. Στις μέρες μας οι γενετικές δοκιμασίες γίνονται ολοένα και πιο εύχρηστες. Ωστόσο εξακολουθούν να είναι σχετικά δαπανηρές, και ενίοτε η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων μπορεί να είναι δύσκολη λόγω των πολλών γενετικών παραλλαγών που ανιχνεύονται. Έτσι η κύρια διαγνωστική δοκιμασία για τις νόσους αυτές εξακολουθεί να είναι ο προσδιορισμός της ενζυμικής δραστηριότητας της β-γαλακτοσιδάσης στα λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος και στους ινοβλάστες του δέρματος.

Η διάγνωση της βλεννοπολυσακχαρίδωσης IVB μπορεί να τεθεί με αρκετή σιγουριά με την ανίχνευση θειϊκής κερατάνης στα ούρα και την ελαττωμένη δραστηριότητα της β-γαλακτοσιδάσης στα λευκά αιμοσφαίρια και στους ινοβλάστες, δέρματος.

Στη γαγγλιοσίδωση GM1 η υπολειπόμενη ενζυμική δραστηριότητα σχετίζεται με τον φαινότυπο που θα εκδηλωθεί. Όμως ο προσδιορισμός της δεν αρκεί για να προβλέψει με ακρίβεια τον τύπο της GM1 γαγγλιοσίδωσης. Το γεγονός ότι η υπολειπόμενη ενζυμική δραστηριότητα δεν σχετίζεται πλήρως με την κλινική εικόνα, μπορεί να οφείλεται στην χρήση τεχνητών υποστρωμάτων κατά τους προσδιορισμούς της ενζυμικής δραστηριότητας, καθώς και στην δράση τροποποιητικών γονιδίων που μπορούν να παρεμβαίνουν στην εκδήλωση του

φαινότυπου *in vivo*. Τέλος πρέπει να επισημανθεί ότι ο προσδιορισμός της ενζυμικής δραστηριότητας δεν μπορεί να ανιχνεύσει τους φορείς των νόσων αυτών.

Η οριστική διάγνωση μπαίνει με την ανίχνευση μοριακής παθογενετικής διαταραχής (μετάλλαξεων) που εντοπίζεται και στα δύο αλληλόμορφα χρωμοσώματα. Η κυριότερη μέθοδος που χρησιμοποιείται στον γενετικό έλεγχο είναι η αλληλούχιση (sequence analysis) με την οποία διαπιστώνονται αλλαγές στην αλληλουχία των νουκλεοτιδίων. Κάποιες φορές μπορεί να υπάρχει απάλλειψη ολόκληρου γονιδιακού τμήματος (π.χ ένος εξονίου). Σε αυτές τις περιπτώσεις απαιτείται η χρήση ειδικών μοριακών τεχνικών για την ανίχνευση απάλλειψης/αναδιπλασιασμού γονιδιακών τμημάτων, που μπορεί να μην ανιχνεύονται με την τεχνική της αλληλούχισης.

2.7 Παθολογική Φυσιολογία

ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗ GM1

Η γαγγλιοσίδωση GM1 οφείλεται σε παθολογικές μεταλλάξεις στο γονίδιο της β-γαλακτοσιδάσης (*GLB1*) που οδηγούν σε ελαττωμένη δραστηριότητα του ενζύμου β-γαλακτοσιδάση που συμμετέχει στον καταβολισμό του σφιγγολιπιδίου γαγγλιοσίδη GM1. Η ελάττωση στην δραστηριότητα του ενζύμου οδηγεί στην συσσώρευση τοξικών μεταβολιτών των σφιγγολιπιδίων εντός και εκτός των λυσοσωμάτων με αποτέλεσμα την διαταραχή της λειτουργίας των οργανιδίων αυτών σε ιστούς και όργανα. Χαρακτηριστική είναι η νευροεκφύλιση, που εντοπίζεται κυρίως στο κεντρικό νευρικό σύστημα, όπου η σύνθεση γαγγλιοσιδών είναι εντονότερη.

ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗ IVB

Παθολογικές μεταλλάξεις του ιδίου γονιδίου *GLB1* μπορεί να οδηγήσουν σε συσσώρευση θειϊκής κερατάνης που είναι υπεύθυνη για τις σκελετικές εκδηλώσεις της βλενοπολυσακχαρίδωσης IVB.

Η βλενοπολυσακχαρίδωση IVA που έχει τα ίδια συμπτώματα με την βλενοπολυσακχαρίδωση IVB οφείλεται σε παθολογικές μεταλλάξεις ενός άλλου γονιδίου (*GALNS*), το οποίο κωδικοποιεί ένα άλλο ένζυμο που συμμετέχει στην αποδόμηση της θειϊκής κερατάνης, την N-ακετυλο-γαλακτοζαμινο-6-σουλφατάση. Το ένζυμο αυτό, πιθανότατα, συμμετέχει και στο λυσοσωμικό ενζυμικό σύμπλεγμα.

2.8 Συσχέτιση γονότυπου-φαινότυπου

ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗ GM1

Έχουν βρεθεί πάνω από 150 παθογόνες μεταλλάξεις του γονιδίου *GLB1*. Σε κάθε έναν από τους τύπους της νόσου έχουν περιγραφεί μεταλλάξεις που είναι πίο συχνές και χαρακτηριστικές τον κάθε τύπο. Ωστόσο οι περισσότεροι ασθενείς είναι ετερόζυγοι για περισσότερες από μία από τις μεταλλάξεις που έχουν περιγραφεί. Έτσι η συσχέτιση του φαινότυπου με συγκεκριμένο γονότυπο είναι πολύ δυσχερής.[67]

Πρόσφατες μελέτες της δομής και της δραστικότητας του ενζύμου της β-γαλακτοσιδάσης έδειξαν ότι η γαγγλιοσίδωση GM1 οφείλεται σε μεταλλάξεις του γονιδίου *GLB1* που επηρεάζουν την δραστικότητα του ενζύμου έναντι του υποστρώματος γαγγλιοσίδη GM1, με το οποίο έχει *υψηλή συγγένεια*. Αντίθετα η βλεννοπολυσακχαρίδωση IVB οφείλεται σε μεταλλάξεις του ίδιου γονιδίου, που όμως επηρεάζουν μόνο τον καταβολισμό της θειϊκής κερατάνης χωρίς να επηρεάζεται μεταβολισμός της γαγγλιοσίδης GM1.

ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗ IVB

Έχουν περιγραφεί ειδικές μεταλλάξεις του γονιδίου *GLB1* στη νόσο αυτή. Με την κρυσταλλογραφική απεικόνιση τού ενζύμου έγινε αντιληπτό ότι οι μεταλλάξεις αυτές αφορούν αμινοξέα που εντοπίζονται κυρίως στην επιφάνεια του μορίου του ενζύμου, ενώ κάποιες μεταλλάξεις εντοπίζονται στον πυρήνα του μορίου, σε θέσεις που επιδρούν στην σταθεροποίηση της δευτεροταγούς, τριτοταγούς και τεταρτοταγούς δομής του πρωτεϊνικού μορίου.

Ωστόσο, δύο γνωστές μεταλλάξεις, αφορούν αμινοξέα που βρίσκονται στην περιοχή δέσμευσης του υποστρώματος. Μία από αυτές μάλιστα, η W273L, (αντικατάσταση της τρυπτοφάνης στην θέση 273 με λευκίνη), είναι πολύ συχνή, έχει μελετηθεί εκτενώς και έχει συσχετιστεί με συγκεκριμένο φαινότυπο. [45].

2.9 Επιδημιολογία

ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗ GM1

Η επίπτωση της γαγγλιοσίδωσης GM1 στον γενικό πληθυσμό υπολογίζεται σε 1:100.000 ως 1:300.000. Συχνότερη είναι η βρεφική μορφή με επίπτωση σε περιοχές με ειδικές γεωγραφικές και πολιτισμικές συνθήκες που μπορεί να είναι

πολύ μεγαλύτερη: Ειδικότερα στη Βραζιλία 1:17.000, σε πληθυσμούς Ρομά 1:10.000, ενώ στην νήσο Μάλτα 1:3700 γεννήσεις. Η επίπτωση της χρόνιας μορφής ενηλίκων είναι υψηλότερη στην Ιαπωνία, γεγονός που ίσως να οφείλεται στην έγκαιρη διάγνωση με την αυξημένη επαγρύπνηση για τη νόσο από τις υγειονομικές υπηρεσίες της χώρας[60].

ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΔΩΣΗ IVB

Όσον αφορά την επίπτωση της βλεννοπολυσακχαρίδωσης IVB πρέπει να σημειωθεί ότι πριν το 1980 οι δύο νόσοι IVB και IVA αναφέρονταν αθροιστικά ως βλεννοπολυσακχαρίδωση IV με επίπτωση από 1:75.000 γεννήσεις στη Βόρεια Ιρλανδία έως 1:640.000 γεννήσεις στη Δ. Αυστραλία. Με νεότερα στοιχεία φαίνεται ότι ειδικά η επίπτωση της βλεννοπολυσακχαρίδωσης IVB ανέρχεται σε 1:250.000 έως 1:1000.000 γεννήσεις.[68,69]

2.10 Μοριακή γενετική

Τα νοσήματα που σχετίζονται με το γονίδιο της *GLB1* είναι φαινοτυπικά δύο αρκετά διαφορετικές κλινικές οντότητες: γαγγλιοσίδωση GM1 χαρακτηρίζεται κυρίως από *νευρολογική συμπτωματολογία*, ενώ η βλεννοπολυσακχαρίδωση IVB χαρακτηρίζεται από *προοδευτική σκελετική δυσπλασία*.

Η γαγγλιοσίδωση GM1 οφείλεται στην άθροιση γαγγλιοσιδών που έχουν μια τελική β-γαλακτόζη στο μόριό τους. Αυτό οφείλεται στην ανεπάρκεια της β-γαλακτοσιδάσης που είναι απαραίτητη για την απόσπαση της τελικής β-γαλακτόζης. Έχει βρεθεί μάλιστα ότι υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της δραστηριότητας της β-γαλακτοσιδάσης και του ποσού των αθροιζόμενων μεταβολιτών. Ασθενείς με πολύ ελαττωμένη την δραστηριότητα της β-γαλακτοσιδάσης (βρεφική μορφή γαγγλιοσίδωσης GM1) έχουν τα υψηλότερα ποσά αθροιζόμενων μεταβολιτών.

Το γονίδιο *GLB1* διατηρήθηκε αναλλοίωτο σε πολλά είδη. Έχει περιγραφεί γαγγλιοσίδωση GM1 σε αρκετά είδη ζώων, όπως η γάτα, ο σκύλος, το πρόβατο και το ποντίκι. Από την μεταγραφή του γονιδίου προκύπτουν, με εναλλακτικό μάτισμα, (alternative splicing), διάφορα mRNA από τα οποία προκύπτουν διάφορες ισομορφές της β-γαλακτοσιδάσης. Ενα από αυτά τα mRNA έχει έκταση 2,5 Kb. Από την μετάφρασή του προκύπτει το δραστικό μόριο της β-γαλακτοσιδάσης. Από την μεταγραφή του γονιδίου *GLB1* προκύπτει και ένα βραχύτερο mRNA με 2,0 Kb. Από την μετάφραση αυτού του βραχύτερου mRNA προκύπτει μια ισομορφή της β-

γαλακτοσιδάσης η οποία δεν έχει ενζυμική δραστικότητα, αλλά φαίνεται να παίζει ρόλο στην διαδικασία της ελαστογένεσης. Το μόριο αυτό είναι γνωστό ως "δεσμευτική πρωτεΐνη της ελαστίνης" (Elastin Binding Protein EBP). [45]

Η δραστική μορφή της β-γαλακτοσιδάσης σχηματίζεται από μία πρόδρομη πρωτεΐνη μοριακού βάρους 88 kD , και μήκους 677 αμινοξέων. Με την αποκοπή του C- τελικού τμήματος του μορίου προκύπτουν δύο τμήματα, που όμως δεν διαχωρίζονται πλήρως, αλλά σχηματίζουν ένα ετεροδιμερές. Με την μέθοδο της κρυσταλλογραφίας ανακαλύφθηκε η τρισδιάστατη δομή του ενζύμου, και προσδιορίστηκε η μορφή της λειτουργικής περιοχής του ενζύμου καθώς και τα αμινοξέα του ενεργού κέντρου του. Σήμερα είναι παραδεκτό ότι, για να είναι δραστική η β-γαλακτοσιδάση, πρέπει να βρίσκεται σε διμερισμένη μορφή και επιπλέον να σχηματίσει ένα λειτουργικό σύμπλοκο με δύο ακόμα ένζυμα: την νευραμινιδάση 1 και την προστατευτική πρωτεΐνη/καθεψίνη A, ενώ έχει προταθεί και η συμμετοχή στο σύμπλοκο ενός ακόμα ενζύμου (N-ακετυλο-γαλακτοζαμινο-6-σουλφατάση). Έτσι γίνεται φανερό, ότι διάφορες μεταλλάξεις μπορεί να επηρεάσουν την δραστικότητα του ενζύμου με περισσότερους μηχανισμούς. Τέτοιοι μηχανισμοί είναι η βλάβη στην περιοχή πρόσδεσης υποστρώματος, η αδυναμία πύκνωσης του ενζυμικού μορίου, η διαταραχή στον σχηματισμό διμερούς, η διαταραχή στην λειτουργία του λυσοσωμικού ενζυμικού συμπλόκου κ.ά. Η κατανόηση των μηχανισμών αυτών μπορεί να βοηθήσει σημαντικά στην έρευνα για νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις.

2.11 Διαφορική Διάγνωση

ΒΛΕΝΝΟΠΟΛΥΣΚΧΑΡΙΔΩΣΗ IVB

Η βλενοπολυσακχαρίδωση IVB δεν μπορεί να διαφοριστεί κλινικά από την βλενοπολυσακχαρίδωση IVA που βρίσκεται σε αναλογία 95% των ατόμων με φαινότυπο βλενοπολυσακχαρίδωσης IV. Η διάγνωση της βλενοπολυσακχαρίδωσης IVA τίθεται με την ανεύρεση ελαττωμένης δραστικότητας του ενζύμου N-ακέτυλογαλακτοζαμίνο-6-σουλφατάση καθώς και με τον μοριακό γενετικό έλεγχο όπου ανιχνεύεται παθογόνος μετάλλαξη σε ομόζυγη μορφή.

ΓΑΓΓΛΙΟΣΙΔΩΣΗ GM1

Η διαφορική διάγνωση πρέπει να περιλαμβάνει τα παρακάτω:

α) Γαγγλιοσίδωση GM2

Αναφέρεται και ως έλλειψη εξοζαμινιδάσης A (v.Tay-sachs). Εμφανίζεται με διάφορες μορφές ποικίλης βαρύτητας (βρεφική, νεανική και μορφή ενηλίκων). Τα συμπτώματα από το κεντρικό νευρικό σύστημα είναι παρόμοια όπως στην γαγγλιοσίδωση GM1. Επίσης εμφανίζεται συχνά κερασόχροη κηλίδα στην ωχρά κηλίδα του αμφιβληστροειδούς. Στη γαγγλιοσίδωση GM2 απουσιάζουν οι σκελετικές και άλλες εκδηλώσεις.

β) Γαλακτοσιαλίδωση και Σιαλίδωση (Βλεννολιπίδωση I)

Η Γαλακτοσιαλίδωση και η Σιαλίδωση οφείλονται σε ανεπάρκειες ενζύμων που σχηματίζουν ενζυμικό σύμπλεγμα με την β-γαλακτοσιδάση.

Η Γαλακτοσιαλίδωση οφείλεται σε δυσλειτουργία της καθεψίνης A , που επηρεάζει την λειτουργικότητα της β-γαλακτοσιδάσης και της νευραμινιδάσης 1. Έτσι, στην γαλακτοσιαλίδωση η δραστηριότητα της β-γαλακτοσιδάσης περιορίζεται στο 15% της φυσιολογικής , ενώ η δραστηριότητα της νευραμινιδάσης 1 βρίσκεται μόνο 1% της φυσιολογικής. Γι αυτό το λόγο, όταν ανιχνεύεται ελάττωση στην δραστηριότητα της β-γαλακτοσιδάσης , πρέπει να προσδιορίζεται και η δραστηριότητα της καθεψίνης A και της νευραμινιδάσης 1 για να αποκλειστεί η περίπτωση της γαλακτοσιαλίδωσης. Η γαλακτοσιαλίδωση εμφανίζεται με τρεις μορφές:

i) Πρώιμη βρεφική

Εκδηλώνεται με εμβρυϊκό ύδρωπα, βουβωνοκήλη, ανωμαλία στην ανάπτυξη και ηπατοσπληνομεγαλία. Μπορεί να εμφανίζονται και άλλα συμπτώματα όπως πολλαπλή δυσόστωση, αδρά χαρακτηριστικά του προσώπου, θόλωση του κερατοειδούς, καρδιομεγαλία, κερασόχροη κηλίδα στην ωχρά περιοχή του αμφιβληστροειδούς και νεφρική ανεπάρκεια. Τα προσβεβλημένα βρέφη συνήθως καταλήγουν μέσα στο πρώτο έτος της ζωής.

ii) Οψιμη βρεφική μορφή

Εκδηλώνεται με χαμηλό ανάστημα, πολλαπλή δυστόστωση, καρδιακή βαλβιδοπάθεια, ηπατοσπληνομεγαλία, νοητική υστέρηση και αδρά χαρακτηριστικά του προσώπου. Μπορεί να υπάρχει κερασόχροη κηλίδα στον αμφιβληστροειδή και θόλωση του κερατοειδούς καθώς και απώλεια ακοής. Η επιβίωση εξαρτάται από τη σοβαρότητα της νόσου.

iii)Εφηβική/Μορφή ενηλίκων

Εμφανίζεται συνήθως γύρω στο 16ο έτος της ζωής, μπορεί όμως να εμφανιστεί σε ηλικίες 1-40 ετών. Εκδηλώνεται μεαταξία, μυϊκό κλόνο, σπασμούς, θόλωση κερατοειδούς και προοδευτική νοητική ανεπάρκεια. Μπορεί να υπάρχουν ανωμαλίες στη σπονδυλική στήλη, κερασόχροη κηλίδα στον αμφιβληστροειδή και απώλεια ακοής και όρασης. Η επιβίωση ποικίλει. Υψηλή επίπτωση της νόσου καταγράφεται στην Ιαπωνία.

Η σιαλίδωση (βλεννολιπίδωση I) οφείλεται σε ανεπάρκεια του ενζύμου νευραμινιδάση 1, που οδηγεί στην συσσώρευση σιαλωμένων όλιγο και πολυσακχαριδών στους ιστούς και τα υγρά του σώματος. Έχουν περιγραφεί δύο μορφές της νόσου ανάλογα με τον βαθμό της ελάττωσης στην δραστικότητα της νευραμινιδάσης 1. Η σιαλίδωση τύπου 2 είναι αυτή που έχει κλινική εικόνα που μοιάζει περισσότερο με την κλινική εικόνα της γαγγλιοσίδωσης GM1. Τόσο η σιαλίδωση τυπου 2 όσο και η γαγγλιοσίδωση GM1 μπορεί να έχουν διαφορετική βαρύτητα και να εμφανιστούν σε διαφορες ηλικίες. Κοινό γνώρισμα είναι η πολλαπλή δυσόστωση και η κερασόχροη κηλίδα στον αμφιβληστροειδή καθώς και η νοητική καθυστέρηση. Στη συγγενή μορφή προγεννητικά εμφανίζονται συμπτώματα όπως εμβρυϊκός ύδρωπας και ασκίτης. Η βρεφική μορφή εκδηλώνεται μέσα στο πρώτο έτος της ζωής, με ηπατοσπληνομεγαλία και οπισθοδρόμηση στην εξέλιξη του παιδιού, καθώς και αδρά χαρακτηριστικά του προσώπου. Αργότερα προστίθενται μυϊκός κλόνος, απώλεια ακοής, υπερτροφία ούλων και αύξηση του χάσματος μεταξύ των δοντιών. Το προσδόκιμο επιβίωσης μπορεί να φτάνει και μέχρι την εφηβεία. Η εφηβική μορφή εμφανίζεται συνήθως στην όψιμη παιδική, η πρώιμη εφηβική ηλικία. Παρατηρούνται αδρά χαρακτηριστικά του προσώπου, μυϊκός κλόνος και υπερκερατωσικές αλλοιώσεις του δέρματος. Η επιβίωση μπορεί να φθάσει μέχρι και στην ενήλικη ζωή.

Η σιαλίδωση τύπου 1 πρωτοεμφανίζεται μέσα στην πρώτη η και την δεύτερη δεκαετία της ζωής με διαταραχές στην όραση και στη βάδιση. Αργότερα προστίθεται μυϊκός κλόνος, αταξία και επιδείνωση των οπτικών διαταραχών.

Οι νοητικές λειτουργίες δεν επηρεάζονται.

Η διαφοροδιάγνωση τόσο της βλεννοπολυσακχαρίδωσης IVB όσο και της γαγγλιοσίδωσης GM1 πρέπει επίσης να γίνεται και από άλλα λυσοσωματικά νοσήματα όπως :

-Βλεννοπολυσακχαρίδωση I. Βασική διαφορά είναι ότι δεν υπάρχει κερασόχροη κηλίδα στον αμφιβληστροειδή, ενώ τα συμπτώματα από το μυοσκελετικό είναι εντονότερα με χαρακτηριστικές συσπάσεις μυών και αρθρώσεων.

-ΒλεννοπολυσακχαρίδωσηII. Κληρονομείται με φυλοσύνδετο τρόπο και εμφανίζεται μόνο σε άρρενες. Προεξάρχουν οι συσπάσεις μυών και αρθρώσεων, και χαρακτηριστικές δερματικές εκδηλώσεις ενώ απουσιάζει η θόλωση του κερατοειδούς.

-ΒλεννολιπίδωσηII. Η σκελετική δυσπλασία είναι εντονότερη και πρωιμότερη από τη γαγγλιοσίδωση GM1.

-ΒλεννολιπίδωσηIII. Τα συμπτώματα εμφανίζονται στην προσχολική ηλικία, όπως συμβαίνει και στην γαγγλιοσίδωση GM1. Προεξάρχει το χαμηλό ανάστημα και συχνά υπάρχει αρθρίτιδα του ώμου και της άκρας χείρας.

Όταν η γαγγλιοσίδωση GM1 εμφανίζεται στην ενήλικη ζωή πρέπει να γίνεται διαφοροδιάγνωση από άλλες καταστάσεις όπως: νόσος Parkinson, νωτιαία μυϊκή ατροφία, νωτιαία εγκεφαλική αταξία, γαγγλιοσίδωση GM2 με έναρξη στην ενήλικη ζωή, νόσο Huntington και νόσο Wilson.

Πρέπει να σημειωθεί ότι τα τελευταία χρόνια έχει εισαχθεί στην εργαστηριακή διαγνωστική ο προσδιορισμός αντισωμάτων έναντι της γαγγλιοσίδης GM1. Ο προσδιορισμός αυτός δεν έχει σχέση με την γαγγλιοσίδωση GM1. Η εξέταση έχει χρησιμότητα στη διάγνωση καταστάσεων όπως η πολυεστιακή κινητική νευροπάθεια και το σύνδρομο Guillain-Barre.

2.12 Θεραπευτικές προσεγγίσεις

Η θεραπεία για τα νοσήματα που σχετίζονται με το γονίδιο *GLB1* εξακολουθεί να είναι συμπτωματική. Ωστόσο η έρευνα στον τομέα αυτό έχει δώσει αισιόδοξα αποτελέσματα που βασίζονται τόσο σε *in vitro* μελέτες όσο και σε δοκιμές σε πειραματόζωα.

Σε πολλά λυσοσωματικά αθροιστικά νοσήματα έχει εφαρμοστεί με επιτυχία η μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων (HSCT). Η μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων έχει δοκιμαστεί σε έναν ασθενή με γαγγλιοσίδωση GM1 όπου η διάγνωση είχε γίνει πριν την εμφάνιση συμπτωμάτων. Η θεραπεία αυτή δεν μπόρεσε να αποτρέψει την εμφάνιση συμπτωμάτων. Η αποτυχία αυτής της θεραπευτικής προσέγγισης αποδίδεται στο γεγονός ότι τα βλαστικά αιμοποιητικά κύτταρα που χορηγήθηκαν δεν μπόρεσαν να περάσουν τον αιματοεγκεφαλικό

φραγμό ώστε να αποτρέψουν την άθροιση λιπιδίων στο κεντρικό νευρικό σύστημα[70].

Επίσης, θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης (ERT) με την παρεντερική χορήγηση του ανεπαρκούντος ενζύμου δεν φαίνεται να είναι χρήσιμη. Μεγαλομοριακές ενώσεις όπως πρωτεϊνικά ενζυμικά μόρια δεν μπορούν να περάσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό και να δράσουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα.

Ενθαρυντικά αποτελέσματα δίνει η έρευνα που αφορά μικρομοριακές ουσίες που θα μπορούσαν να περάσουν τον αιματοεγκεφαλικό φραγμο. Οι ουσίες αυτές δρουν με το μηχανισμό της φαρμακολογικής "πρωτεΐνης συνοδού" (pharmacological chaperon). Η έρευνα για τις φαρμακολογικές "πρωτεΐνες συνοδούς", και την πιθανή χρησιμότητά τους στην θεραπεία των λυσοσωμικών αθροιστικών νοσημάτων ξεκίνησε το 1990 μετά από την παράδοξη παρατήρηση ότι η δράση της α-γαλακτοσιδάσης αυξάνονταν, αντί να μειωθεί, όταν χρησιμοποιούνταν χαμηλές συγκεντρώσεις ιμινο-σακχάρων που είναι συναγωνιστικοί αναστολείς του ενζύμου. Οι φαρμακολογικές πρωτεΐνες συνοδοί είναι μικρομοριακές ουσίες που συνδέονται στο ενεργό κέντρο του ενζύμου. Είναι δηλαδή συναγωνιστικοί αναστολείς τού ενζύμου με αναστρέψιμη δράση. Η σύνδεση της φαρμακολογικής σαπερόνης στην ελαττωματική ενζυμική πρωτεΐνη οδηγεί στην αποκατάσταση της φυσιολογικής τρισδιάστατης δομής (αναδίπλωση) του μορίου. Έτσι δίνεται η δυνατότητα στο μεταλλαγμένο ένζυμο να διακινηθεί φυσιολογικά από το ενδοπλασματικό δίκτυο προς το σύστημα Golgi και κατόπιν έντος των λυσοσωμάτων, χωρίς να αποδομηθεί στην πορεία. Τελικά, μετά την απομάκρυνση του μορίου της φαρμακολογικής πρωτεΐνης συνοδού (αντιστρεπτός ενζυμικός αναστολέας), το μεταλλαγμένο ένζυμο μπορεί να ασκήσει την - έστω και ελαττωμένη- δράση του μέσα στο λυσόσωμα. Έτσι μπορεί να αποκατασταθεί μερικώς η δραστηριότητα του ενζύμου και να αποτραπεί η άθροιση αδιασπαστων μεταβολιτών. [71,72]

Μελέτες γίνονται σχετικά με τη δράση της N-octyl-4-epi-B-valienamine. Η ουσία αυτή είναι φαρμακολογική "πρωτεΐνη συνοδός" και έδωσε καλά αποτελέσματα σε πειράματα με ινοβλάστες ασθενών με γαγγλιοσίδωση GM1. Με την δράση της ουσίας αυτής μειώθηκε η εναπόθεση λιπιδίων και βελτιώθηκε συνολικά η διακίνηση των λιπιδίων εντός του κυττάρου. Ενθαρυντικά αποτελέσματα υπήρξαν από την χορήγηση της ουσίας αυτής σε ζωικά μοντέλα.[73]

Εξάλλου μελετάται και η χρήση της N-butyl-deoxyjojirimycin (NB-DNJ) στη θεραπεία της γαγγλιοσίδωσης GM1. Η ουσία αυτή χρησιμοποιείται ήδη στη θεραπευτική της νόσου Gaucher με το όνομα miglustat®. Πρόκειται για αναστολέα

του ενζύμου συνθετάση της γλυκοσυλσεραμίδης. Ο μηχανισμός δράσης της στην νόσο Gaucher είναι ο περιορισμός σύνθεσης γλυκοσφιγγολιπιδίων, δηλαδή του υποστρώματος που δεν μπορεί να διασπαστεί (SRT). Είναι όμως γνωστό ότι πέρα από την δράση της ως αναστολέας της δράσης της συνθετάσης της γλυκοσυλσεραμίδης, έχει και ενισχυτική δράση για άλλα ένζυμα, όπου δρά με μηχανισμό φαρμακολογικής "πρωτεΐνης συνοδού". Πειραματικά δεδομένα σε ζωικά μοντέλα γαγγλιοσίδωσης GM1 και Morquio B έδωσαν ενθαρυντικά αποτελέσματα. Και σύμφωνα με πρόσφατες αναφορές (2017) η miglustat® μπορεί να αναστρέψει την εξέλιξη της γαγγλιοσίδωσης GM1 τύπου εφηβικού-ενηλίκου, με τους εφήβους να ανακτούν τη βάδιση χωρίς υποστήριξη για λίγα μέτρα[74].

Διάφορα άλλα ιμινο-σάκχαρα έχουν δράση φαρμακολογικής "πρωτεΐνης συνοδού". Σε πειράματα σε ινοβλάστες ατόμων με γαγγλιοσίδωση GM1 αλλά και σε ζωικά μοντέλα της νόσου σημειώθηκε σημαντική αύξηση της υπολειματικής δραστηριότητας της β-γαλακτοσιδάσης μετά την χορήγηση τού ιμινοσακχάρου DL-HexDGJ [75]. Πρέπει όμως να σημειωθεί ότι τα αποτελέσματα των πειραμάτων για την χρήση φαρμακολογικών "πρωτεϊνών συνοδών" ήταν ικανοποιητικά μόνο σε περιπτώσεις που οφείλονταν συγκεκριμένες μεταλλάξεις, ενώ δεν ήταν ικανοποιητικά για όλους τους γονότυπους.

Τέλος, σημαντικές πρόοδοι έχουν σημειωθεί και στην έρευνα για γονιδιακή θεραπεία που γίνονται σε ζωικά μοντέλα γαγγλιοσίδωσης GM1.

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι η καλύτερη προσέγγιση για την αντιμετώπιση των νόσων αυτών στο μέλλον θα είναι ο συνδυασμός των διαφόρων θεραπευτικών δυνατοτήτων κατά περίπτωση ανάλογα με τον γονότυπο και τη βαρύτητα της κλινικής εικόνας.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. De Duve C, Pressman B, Gianetto R et al. Tissue fractionation studies: Intracellular distribution patterns of enzymes in rat-liver tissue. *Biochem J* 1955; 64 :604-617.
2. Hers HG. Alpha glycosidase deficiency in generalised glycogen storage disease (Pompe Disease). *Biochem J* 1963; 86: 11-16.
3. Fratantoni JC, Hall CW, Neufeld EF. The defect in Hurler and Hunter Syndromes deficiency of specific factor involved in mucopolysaccharide degradation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1969; 64:360-366
4. Brady RO, Kanfer JN, Bradley RM et al. Demonstration of a deficiency of glucocerebrosidase-cleaving enzyme in Gaucher's disease. *J Clin Invest* 1966; 45: 1112–1115.
5. Brady RO, Gal AE, Bradley RM et al. Enzymatic defect in Fabry's disease. Ceramidetrihexosidase deficiency. *N Engl J Med* 1967; 276:1163–1167
6. Brady RO, Pentchev PG, Gal E, et al. Replacement therapy for inherited enzyme deficiency: Use of purified glucocerebrosidase in Gaucher's disease. *N Engl J Med* 1974;291(19):989-93
7. Barton NW, Furbish FS, Murray GJ, et al. Therapeutic response to intravenous infusions of glucocerebrosidase in a patient with Gaucher disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1913–1916
8. Brady RO. Enzyme replacement therapy for lysosomal diseases *Annu Rev Med* 2006; 57: 283-296.
9. Walkley SU. Pathogenic cascades in lysosomal disease-Why so complex? *J Inher Metab Dis* 2009;32(2):181-189.

10. Sardiello M, Palmieri M, di Ronza A, et al. A gene network regulating lysosomal biogenesis and function. *Science* 2009; 325(5939):473-477.
11. Platt FM, Walkley SU. *Lysosomal Disorders of the Brain: Recent Advances in Molecular and Cellular Pathogenesis and Treatment*. Oxford: Oxford University Press 2004; xxvi, 447pp.
12. Wada R, Tiffet CJ, Proia RL. Microglial activation precedes acute neurodegeneration in Sandhoff disease and is suppressed by bone marrow transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(20):10954-10959.
13. Lloyd-Evans E, Morgan AJ, He X, et al. Niemann-Pick disease type C1 is a sphingosine storage disease that causes deregulation of lysosomal calcium. *Nat Med* 2008; 14(11): 1247-1255.
14. Lieberman AP, Puertolano R, Raben N, et al. Autophagy in lysosomal storage disorders. *Autophagy* 2012; 8(5):719-30.
15. Stromme P, Dobrenis K, Sillitoe RV, et al. X-linked Angelman-like syndrome caused by Slc9a6 knockout in mice exhibits evidence of endosomal-lysosomal dysfunction. *Brain* 2011; 134(11): 3369-3383.
16. Lee JH, Yu WH, Kumar A, et al. Lysosomal proteolysis and autophagy require presenilin 1 and are disrupted by Alzheimer-related PS1 mutations. *Cell* 2010; 141(7): 1146-1158.
17. De Paolo J, Goker-Alpan O, Samadar T, et al. The association between mutations in the lysosomal protein glycosylceramidase and parkinsonism. *Mov Disord* 2009; 24(11): 1571-1578.
18. Aulsebrook MG, Verbiest J, Hermans MP, et al. Frequency of glycogen storage disease type II in The Netherlands: implications for diagnosis and genetic counselling. *Eur J Hum Genet* 1999; 7: 713-716.

19. Martinuk F, Chen A, Mack A, et al. Carrier frequency of glycogen storage disease type II in New York and estimates of affected individuals born with the disease. *Am J Med Genet* 1998;79: 6972.
20. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE, et al. Prevalence of lysosomal storage disorders. *JAMA* 1999;281: 249-254.
21. Meikle PJ, Grasby DJ, Dean CJ, et al. Newborn screening for lysosomal storage disorders. *Mol Genet Metab* 2006; 88: 301-307.
22. Reuser AJ, Verheijen FW, Bali D, et al. The use of dried blood spot samples in the diagnosis of lysosomal storage disorders-current status and perspectives. *Mol Genet Metab*. 2011;104: 144-148
23. Meikle PJ, Fietz MJ, Hopwood J. Diagnosis of lysosomal storage disorders: current techniques and future directions. *Expert Rev Mol Diagn* 2004;4:677-691.
24. Filocamo M. and Morrone A. Lysosomal storage disorders: molecular basis and laboratory testing. *Hum Genom* 2011;5:156-169.
25. Mills K, Morris P, Lee P, et al. Measurement of urinary CDH and CTH by tandem mass spectrometry in patients hemizygous and heterozygous for Fabry disease. *J Inher Metab Dis* 2005; 28:35-48
26. Zhang XK, Elbin CS, Turecek F, et al. Multiplex lysosomal enzyme activity assay on dried blood spots using tandem mass spectrometry. *Methods Mol Biol* 2010; 603: 339-350.
27. Ruhiter GJ, Boer M, Weykamp CW, et al. External quality assurance programme for enzymatic analysis of lysosomal storage diseases: a pilot study. *J Inher Metab Dis* 2005;289:79-90.
28. Bach G, Zeevi DA, Frumpkin A, Kogot-Levin A. Mucopolidosis type IV and the mucopolipins. *Biochem Soc Trans* 2010;38: 1432-1435.

29. Fanin M, Nascimbeni AC, Fulizio L, et al. Generalized lysosome-associated membrane-2-defect explains multisystem clinical involvement and allows diagnostic screening in Danon disease. *Am J Pathol* 2006; 168: 1309-1320.
30. Lake BD, Young EP, Winchester BG. Prenatal diagnosis of lysosomal storage diseases. *Brain Path* 1998; 8: 133-149.
31. Fuller M, Tucker JN, Lang DL, et al. Screening patients referred to a metabolic clinic for lysosomal storage disorders. *J Med Genet* 2011; 48:422-5.
32. Millington DS, Sista R, Eckhardt A, et al., Digital microfluidics: a future technology in the newborn screening laboratory? *Semin Perinatol* 2010;34: 163-169.
33. Staretz-Chacham O, Lang TC, et al. Lysosomal storage disorders in the newborn. *Pediatrics* 2009; 123(4): 1191-1207.
34. Simmons MA, Bruce IA, Penney S, et al. Otorhinolaryngological manifestations of the mucopolysaccharidosis. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005; 69: 589-595.
35. van den Broek L, Backx AP, Coolen H, et al. Fatal coronary artery disease in an infant with severe mucopolysaccharidosis type I. *Pediatrics* 2011; 27: 1343-1346.
36. Mundada V, D'Souza N. Lumbar gibbus: early presentation of dysostosis multiplex. *Arch Dis Child* 2009; 94: 930-931.
37. Kivlin JD, Sanborn GE, Myers GG. The cherry-red spot in Tay-Sachs and other storage diseases. *Ann Neurol* 1985; 17:356-360.
38. Cimaz R, Coppa GV, Kone-Paut I, et al. Joint contractures in the absence of inflammation may indicate mucopolysaccharidosis. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2009; 7: 18.
39. Manger B, Mengel E, Schaefer RM. Rheumatologic aspects of lysosomal storage diseases. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 335-341.

40. Sevin M, Lesca G, Baumann N, et al. The adult form of Niemann-Pick disease type C. *Brain* 2007; 130: 120-133.
41. Metha A and Winchester B. *Lysosomal Storage Disorders. A practical Guide.* Wiley-Blackwell 2012
42. Henrissat B. A classification of glycosyl hydrolases based on amino acid sequence similarities. *Biochem J* 1991; 280: 309-16.
43. Aureli M, Mauri L, Ciampa M G, et al. GM1 ganglioside: past studies and future potential. *Mol Neurobiol* 2016;53: 1824-1842
44. Yamamoto Y, Hake CA, Martin BM. Isolation, characterization and mapping of a human acid beta-galactosidase cDNA. *DNA Cell Biol* 1990; 9(2):119-27
45. Callahan JW. Molecular basis of GM1gangliosidosis and morquio disease type B. Structure-function studies of lysosomal beta-galactosidase and the non-lysosomal beta-galactosidase-like protein. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1455(2-3): 85-103.
46. Genetics Home Reference U.S. National Library of Medicine.
47. van der Spoel A, Bonten E, d'Azzo A. Processing of lysosomal beta-galactosidase. The C-terminal precursor fragment is an essential domain of the mature enzyme. *J Biol Chem* 2000; 275(14):10035-40
48. Pshezhetsky AV, Ashamarina M. Lysosomal multienzyme complex: biochemistry, genetics and molecular pathophysiology. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol* 2001;69:81-114.
49. Paschke E, 18th Hungarian MPS conference 2012
50. Hoogeveen AT, Verheijen FW, Galjaard H. The relation between human lysosomal beta-galactosidase and its protective protein. *J Biol Chem* 1983; 258(20):1243-1246.

51. Suzuki Y, Oshima A, Namba E. β -Galactosidase deficiency (b-galactosidosis) GM1gangliosidosis and Morquio B disease. In: The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. McGraw-Hill; 2001 pp.3775-3809
52. Zhang S, Bagshaw R, Hilson W, et al. Characterization of β -galactosidase mutations Asp332->Asn and Arg148->Ser, and a polymorphism, Ser532->Gly, in a case of GM1 gangliosidosis. *Biochem J*. 2000; 348: 621-632
53. Koshland D, and Stein S. Correlation of bond breaking with enzyme specificity-cleavage point of invertase. *J Biol Chem* 1954; 208 (1): 139-48
54. McCarter JD, Burgoyene DL, Miao S. Identification of glu-268 as the catalytic nucleophile of human lysosomal beta-galactosidase precursor by mass spectrometry. *J Biol Chem* 1997; 272(1): 396-400.
55. [Ohto U](#), [Usui K](#), [Ochi T](#), et al. Crystal Structure of Human beta-Galactosidase. Structural Basis of GM1 Gangliosidosis and Morquio B Diseases. *J Biol Chem* 2012; 287(3): 1801-1812.
56. Oshima A, Yoshida D, Shimmoto M. Human beta-galactosidase gene mutations in morquio B disease. *Am J Hum Genet* 1991; 49: 1091-1093
57. Voet D, Voet J. In "Biochemistry" 4th edition 2011 :371-392, 1012
58. Varki A et al. In *Essentials of Glycobiology*. 3 edition. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press 2017
59. Thudichum JLW. *A treatise on the chemical constitution of the brain*, London, Bailliere, Tindal and Cox, 1884
60. Brunetti-Pierri N, Scaglia F. GM1 gangliosidosis: review of clinical molecular, and therapeutic aspects. *Mol Genet Metab* 2008; 94: 391-6

61. Cacciotti A, Garman SC, Rivera-Colon Y et al. GM1 gangliosidosis and Morquio B disease: an update on genetic alterations and clinical findings. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 782-90.
62. Montano AM, Tomatsu S, Gottesman GS, et al. International Morquio A registry: Clinical manifestation and natural history of Morquio A disease. *J Inher Metab Dis* 2007;30:165-174.
63. Hecht Jt, Scott CI Jr, Smith TK. Mild manifestations of the Morquio syndrome. *Am J Med Genet* 1984;18:369-371
64. Tomatsu S, Montano AM, Oikawa H, et al. Mucopolysaccharidosis type IVA (Morquio A disease): Clinical review and current treatment. *Curr Pharm Biotechnol* 2011;12:931-945.
65. Suzuki Y, Namba E, Matsuda J, et al. β -galactosidase deficiency (β -galactosidosis): GM1 gangliosidosis and Morquio B disease. In *The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (OMMBID)*. 2014; Chap151.
66. Tomatsu S, Yasuda E, Patel P, et al. Morquio A Syndrome: Diagnosis and Current and Future Therapies. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2014; 12(01): 141-151.
67. Erol I, Alehan F, Pourganher MA. et al. Neuroimaging findings in infantile GM1 gangliosidosis. *Eur Paediatr Neurol* 2006; 10 :245-248
68. Hofer D, Fantur K, Beck M, et al . Phenotype determining alleles in GM1 gangliosidosis patients bearig novel GLB1 mutations. *Clin Genet* 2010; 78:236-246.
69. Baechner F, Schiedeskamp C, Krummenauer F. Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. *J Inher Metab Dis* 2005;28: 1011-1017.
70. Shield JP, Stone J, Steward CG. Bone marrow transplantation correcting beta-galactosidase activity does not influence neurological outcome in juvenile GM1-gangliosidosis. *J Inher Metab Dis* 2005;28: 797-798

71. Pereira D, Valentao P, Andrade P. Tuning protein folding in lysosomal storage diseases. The chemistry behind pharmacological chaperones. *Chem Sci* 2018; 9:1740-1752
72. Fan JQ. A contradictory treatment for lysosomal storage disorders: inhibitors enhance mutant enzyme activity. *Trends Pharmacol Sci* 2003;24: 355-360
73. Higaki K, Li L, Bahrudin U, et al. Chemical chaperone therapy: chaperone effect on mutant enzyme and cellular pathophysiology in β -galactosidase deficiency. *Hum Mutat* 2011; 32:843-852.
74. Deodato F, Procopio E, Rampazzo A, et al. The treatment of juvenile/adult GM1-gangliosidosis with Miglustat may reverse disease progression. *Metab Brain Dis* 2017; 32(5):1529-1536.
75. Fantur KM, Wrodnigg TM, Stuetz AE, Pabst BM, Paschke E. Fluorous iminoalditols act as effective pharmacological chaperones against gene products from GLB1 alleles causing GM1gangliosidosis and Morquio B disease *J Inher Metab Dis* 2012; 35: 495-503.
76. Paschke E, Kresse H. Morquio disease , type-B: activation of GM1-beta-galactosidase by GM1-activator protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1982; 109(2): 568-75
77. Zhang S, McCarter J D, Okamura-Oho Y. Kinetic mechanism and characterization of human β -galactosidase precursor secreted by permanently transfected Chinese hamster ovary cells. *Biochem J.* 1994; 304: 281-288.
78. Regier DS, Tifft CJ. GLB1-Related Disorders. *Gene Reviews*
Initial Posting: October 17, 2013.
- .