

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Mukopolysacharidóza
Bakalářská práce

University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology

Mucopolysaccharidosis
Bachelor thesis

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Eunika Barabaszová**
Osobní číslo: **C18199**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Mukopolysacharidóza**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

1. Vypracovat teoretickou rešerši týkající se mukopolysacharidózy (MPS).
2. V první části stručně popsat mukopolysacharidy, jednotlivé typy a obecnou charakteristiku onemocnění mukopolysacharidóza.
3. Druhou část věnovat popisu klinického obrazu u 3 nejnámějších typů MPS.
4. V poslední části věnovat pozornost diagnostice těchto onemocnění.
5. V závěru se zaměřit na aktuální poznatky ohledně možnosti léčby.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Katarína Svrčková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

LS.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 25. 6. 2021

Eunika Barabaszová

PODĚKOVÁNÍ

Velmi děkuji mé vedoucí práce Mgr. Kataríně Svrčkové, Ph.D. za vstřícný a ochotný přístup, cenné rady a připomínky při zpracování bakalářské práce. Děkuji také své rodině a přátelům za podporu během celého studia.

ANOTACE

Bakalářská práce je věnována charakteristice onemocnění nesoucí název Mukopolysacharidóza. Stručně popisuje všech sedm typů onemocnění a větší pozornost věnuje klinickému obrazu třech nejznámějších typů MPS. Zabývá se také diagnostikou tohoto onemocnění a poslední část jsou popsány možnosti léčby.

KLÍČOVÁ SLOVA

Mukopolysacharidóza, mukopolysacharidy, klinický obraz, diagnostika, léčba

TITLE

Mucopolysaccharidosis

ANNOTATION

The bachelor thesis is devoted to the characteristics of the disease called Mucopolysaccharidosis. It briefly describes all the seven types of the disease and more attention is paid to the clinical features of the three best known types of MPS. It also deals with the diagnosis of the disease and description of treatment options in the last section.

KEYWORDS

Mucopolysaccharidosis, mucopolysaccharides, clinical features, diagnosis, treatment

OBSAH

1	ÚVOD.....	12
2	MUKOPOLYSACHARIDÓZA	13
2.1	Charakteristika mukopolysacharidózy	13
2.1.1	Historie objevení onemocnění	14
2.1.2	Výskyt a dědičnost.....	14
2.2	Mukopolysacharidy.....	15
2.3	Typy mukopolysacharidóz	16
2.3.1	Typ I.....	16
2.3.2	Typ II, Hunterův syndrom	17
2.3.3	Typ III, Sanfilippo syndrom	17
2.3.4	Typ IV, Morquio syndrom.....	18
2.3.5	Typ VI, Maroteaux-Lamyho syndrom.....	19
2.3.6	Typ VII, Sly syndrom	20
2.3.7	Typ IX, Natowiczův syndrom	21
3	KLINICKÝ OBRAZ.....	22
3.1	Mukopolysacharidóza typu I.....	22
3.1.1	Syndrom Hurlerové.....	22
3.1.2	Syndrom Hurler-Scheie a Scheie.....	24
3.2	Mukopolysacharidóza typu II	25
3.2.1	Typ IIA	25
3.2.2	Typ IIB.....	27
3.3	Mukopolysacharidóza typu III	27
4	DIAGNOSTIKA	30
4.1	Biomarkery.....	31
4.2	Enzymový test.....	32
4.3	Molekulárně genetická analýza.....	33

4.4	Novorozenecký screening	34
5	LÉČBA	35
5.1	Transplantace hematopoetických kmenových buněk.....	35
5.2	Enzymová substituční terapie	37
5.3	Terapie redukcí substrátu	38
5.4	Genová terapie	38
6	ZÁVĚR	40
7	POUŽITÁ LITERATURA	41

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Pupeční kýla [30]	22
Obrázek 2: Typický vzhled obličeje dítěte se syndromem Hurlerové [6]	22
Obrázek 3: Kamptodaktylie [32]	23
Obrázek 4: Zvětšený jazyk [36]	25
Obrázek 5: Otevřený skus [36]	25

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AAV	adenoasociované viry
CNS	centrální nervová soustava
DMM	dimethylmethylenová modř
DS	dermatansulfát
EST	enzymová substituční terapie
GAG	glykosaminoglykany
GSL	glykosfingolipidy
GT	genová terapie
HEB	hematoencefalická bariéra
I2S	iduronát-2-sulfatázy
LSO	lysozomální střeďavá onemocnění
MPS	mukopolysacharidóza
MR	magnetická rezonance
PCR	polymerázová řetězová reakce
PT	počítačová tomografie
SKS	sušená krevní skvrna
THKB	transplantace hematopoetických kmenových buněk
TRS	terapie redukcí substrátu
UDP	uridindifosfát

1 ÚVOD

Mukopolysacharidóza je dědičné onemocnění s poruchou degradace mukopolysacharidů, které se akumulují v různých orgánech a tkáních. Onemocnění je způsobeno nedostatkem nebo nesprávnou funkcí specifických lysozomálních enzymů, které katabolizují mukopolysacharidy, nazývané také jako glykosaminoglykany.

Mukopolysacharidóza se dělí do sedmi typů a mnoha podtypů, které se liší nedostatkem (nebo lépe sníženou aktivitou) různých enzymů a spektrem klinických příznaků. Jednotlivé typy se označují římskými číslicemi a jsou většinou pojmenovány po svých objevitelích. Liší se klinickým obrazem, nicméně většina postižených jedinců prožívá období normálního vývoje, po kterém následuje pokles tělesných anebo duševních funkcí. Dědičnost je autozomálně recesivní, kromě mukopolysacharidózy typu II, která je gonozomálně recesivní a je vázána na pohlavní chromozom X.

Pacienti mají často nízkou kvalitu života a dožívají se krátkého věku. Včasná a přesná diagnóza je tedy důležitá, avšak obvykle je zpožděna, dokud se neobjeví nevratné klinické příznaky. Diagnostika je založena na kvalitativním a kvantitativním měření mukopolysacharidů. Pozitivní výsledek by měl být potvrzen enzymovým testem, případně se může potvrdit molekulárně genetickou analýzou. Novorozenecký screening nabízí naději na včasnou identifikaci nemoci a zahájení léčby před rozvojem nevratných projevů nemoci.

Včasná a přesná diagnóza je zásadní pro poskytnutí vhodné podpůrné péče a specifické léčby onemocnění, je-li k dispozici. Vhodná léčba může zásadním způsobem ovlivnit kvalitu života pacienta a potenciálně zpomalit nebo zabránit rozvoji nevratných patologií.

2 MUKOPOLYSACHARIDÓZA

2.1 Charakteristika mukopolysacharidózy

Mukopolysacharidóza (MPS) označuje skupinu dědičně podmíněných metabolických nemocí způsobených poruchou degradace mukopolysacharidů s jejich následným hromaděním v různých orgánech. Porucha je způsobena nedostatkem nebo nesprávnou funkcí specifických lysozomálních enzymů, které katabolizují mukopolysacharidy na kratší podjednotky pro opětovné použití nebo vylučování. Postupem času se mukopolysacharidy akumulují v lysozomech v buňkách, v krvi, mozku, míše a pojivových tkáních. Výsledkem je trvalé progresivní poškození buněk, které ovlivňuje vzhled jednotlivce, jeho fyzické schopnosti, fungování orgánů a systémů a ve většině případů i duševní vývoj. Částečně degradované mukopolysacharidy se nejen ukládají v lysozomech, ale také se vylučují močí. [1-4]

Metabolismus (neboli látková výměna) je neustálý koloběh biochemických reakcí, přeměn a pochodů, při kterých se v buňkách tvoří chemické látky potřebné pro život a funkci buněk a tkání, ale současně se odbourávají i látky a odpadní produkty, které již nemají v těle uplatnění. Dědičné poruchy metabolismu vznikají při poruše funkce jednoho nebo více enzymů, které se podílejí na látkové výměně nebo změnách ve složení a množství strukturálních nebo transportních bílkovin. [5]

Mukopolysacharidóza zahrnuje sedm klinicky odlišných typů a četné podtypy onemocnění, které se liší nedostatkem jiných enzymů a spektrem závažnosti. Ačkoli se každá MPS klinicky liší, většina jedinců prožívá období normálního vývoje, po kterém následuje pokles tělesných anebo duševních funkcí. [6]

Toto onemocnění je zahrnuto do rozsáhlé skupiny vzácných onemocnění a řadí se do lysozomálních stádavých onemocnění (LSO). Všechny jsou charakterizovány intralysozomální akumulací sloučeniny v různých typech buněk a tkání. Lysozomy jsou intracelulární orgány obsahující enzymy, které hrají důležitou roli při odbourávání komplexních substrátů a makromolekul. Většina LSO je výsledkem nedostatečné aktivity enzymu způsobené mutací genu kódujícího příslušný enzym, chránící protein, proteinové aktivátory nebo endoplazmatické retikulum. Akumulace substrátů v lysozomech vede k narušení buněčné struktury, a nakonec k narušení buněčné a tkáňové funkce. V některých případech mohou být samotné substráty cytotoxické. Postižené tkáně sahají od kosterního a srdečního svalu po tkáně zahrnující centrální nervový systém. [7, 8]

2.1.1 Historie objevení onemocnění

V roce 1917 zaznamenal Charles Hunter u dvou bratrů z Kanady hrubé rysy v obličeji, mentální retardaci, velkou lebku a žebra ve tvaru vesla. První podrobný popis MPS však vytvořila Gertruda Hurlerová, německá pediatrička, v roce 1919, která se nechala inspirovat profesorem von Pfaundlerem. Morquio a Brailsford v roce 1929 podali přesný popis mukopolysacharidózy typu IV, v roce 1963 Sanfilippo definoval onemocnění typu III a Maroteaux a Lamy definovali onemocnění typu VI. [4]

Brante v roce 1952 identifikoval látky uložené u těchto pacientů jako mukopolysacharidy, a proto navrhl termín „mukopolysacharidóza“ k popisu těchto poruch. Dorfman a Lorincz (1957) dokumentovali zvýšené vylučování mukopolysacharidů močí a Van Hoof a Hers (1964) prokázali, že mukopolysacharidy jsou uloženy v lysozomech. Poté v roce 1965 Hers definoval vlastnosti lysozomálních strádavých chorob. McKusick navrhl systém klasifikace mukopolysacharidóz do šesti samostatných entit na základě fenotypu, rodinných vzorců a struktury specifických mukopolysacharidů v moči. [9]

V roce 1962 popsali Scheie a kolegové pacienta se zakalením rohovky, dysplázií skeletu a zhrubnutím rysů obličeje, což se zpočátku označovalo jako mukopolysacharidóza V, dokud nebylo zjištěno, že jde o mírnější formu typu I. [4]

2.1.2 Výskyt a dědičnost

Vrozené poruchy metabolismu jsou heterogenní skupinou poruch, které mohou být dědičné nebo se mohou objevit v důsledku spontánní mutace. Tato onemocnění zahrnují selhání metabolických drah zapojených buď do degradace, nebo skladování sacharidů, mastných kyselin a bílkovin. Ačkoli jakákoli vrozená chyba metabolismu je velmi vzácná, vezmeme-li ji jako skupinu, vrozené chyby se vyskytují u 1 z 2 500 porodů, což je činí docela běžnými. [10]

Mukopolysacharidózy jsou autozomálně recesivní poruchy, to znamená, že jedinec může být postižen pouze, když zdědí defektní gen od obou rodičů. Pokud mají oba rodiče jednu kopii defektního genu (tzn., jsou zdraví přenašeči), každé těhotenství s sebou nese jednu ze čtyř šancí, že bude dítě postiženo. Postižené dítě má v genu pro MPS mutaci na obou alelách, což vede k poruše funkce enzymu s projevy onemocnění. Jedinou výjimkou je MPS typu II, která má dědičnost gonozomálně recesivní a je vázána na pohlavní chromozom X. Znamená to, že tímto typem mohou onemocnět pouze chlapi, zatímco děvčata mohou být pouze přenašečky a postižený chromozom X mohou předat svým dětem. [2, 5]

2.2 Mukopolysacharidy

Mukopolysacharidy, také známy jako glykosaminoglykany (GAG), jsou negativně nabitě polysacharidové sloučeniny. Skládají se z opakujících se disacharidových jednotek, které jsou přítomny v každé savčí tkáni. Disacharidy jsou složeny z jednotek kyseliny uronové a hexosaminů. Typy kyseliny uronové mohou být buď kyselina β -D-glukuronová nebo její epimerizovaná verze C5, kyselina α -L-iduronová. Aminosacharidy mohou být buď na bázi glukózy (α -D- nebo β -D-glukosamin) nebo galaktózy (*N*-acetyl- β -D-galaktosamin). Jak název napovídá, předpona „glyko-“ označuje galaktózu nebo uronový cukr (kyselinu glukuronovou nebo iduronovou) připojený k aminoglykanu nebo amino cukru (*N*-acetylglukosamin nebo *N*-acetylgalaktosamin). [11, 12]

Proces biosyntézy GAG začíná v buněčné cytoplazmě syntézou pěti aktivovaných cukrů odvozených od uridindifosfátu (UDP). Tyto UDP-aktivované cukry jsou poté transportovány z cytoplazmy do Golgiho aparátu přes transmembránový protein pro další modifikaci. Výjimkou v biosyntéze GAG je kyselina hyaluronová, kdy namísto modifikace a sulfatace v Golgiho aparátu jsou prekurzorové cukry pro kyselinu transportovány z cytoplazmy do plazmatické membrány pro další zpracování bez sulfatace. Všechny ostatní GAG vyžadují další modifikační kroky, včetně sulfatace funkčních skupin. Modifikace epimerizací výsledných polysacharidových struktur enzymatickým působením je zodpovědná za produkci různých molekulárních struktur GAG a jejich výsledných vlastností. [11, 13]

V mnoha biologických systémech GAG interagují s proteiny za vzniku proteoglykanů a v důsledku toho mají řadu biologických a terapeutických funkcí. Proteoglykany jsou hlavní složkou základní látky pojivové tkáně a jsou také přítomny v mitochondriích, jaderných a buněčných membránách. Hlavní kategorie GAG jsou chondroitin-4-sulfát, chondroitin-6-sulfát, heparan sulfát, dermatansulfát, keratansulfát a kyselina hyaluronová. Katabolismus glykosaminoglykanů začíná endohydrolyzou polysacharidů na oligosacharidy, po které následuje postupné působení až 13 lysozomálních exoenzymů za účelem redukce těchto oligosacharidů na monosacharidy a anorganický síran. [13, 14]

Jejich funkce v těle jsou rozšířené a jsou určovány jejich molekulární strukturou. Historicky se předpokládalo, že funkce GAG je omezena na hydrataci buněk a udržení tvaru buňky. Důkazy však nyní naznačují, že GAG hraje klíčovou roli v buněčné signalizaci, která slouží k modulaci obrovského množství biochemických procesů. Mezi tyto procesy patří regulace buněčného růstu a proliferace, podpora buněčné adheze, antikoagulace a hojení ran. [11]

2.3 Typy mukopolysacharidóz

Mukopolysacharidózy se dělí do sedmi typů a mnoha podtypů, které jsou způsobené nedostatečnou produkcí jednoho z 11 lyzozomálních enzymů nebo nesprávnou funkcí těchto enzymů. Typy MPS se označují římskými číslicemi a jsou většinou pojmenovány po svých objevitelích. [2]

Mukopolysacharidóza typu V je dřívější označení syndromu Scheie. Později se však zjistilo, že u tohoto syndromu je nedostatek stejného enzymu jako u syndromu Hurlerové. Označení MPS typu V se tedy přestal používat a řadí se mezi MPS I. MPS VIII je zastaralé označení formy MPS popsané u jediného jedince s klinickými a biochemickými rysy MPS III a IV. Později se zjistilo, že porucha byla chybně diagnostikována, a proto MPS VIII není platnou lékařskou poruchou a nezařazuje se mezi ostatní typy MPS. [15]

2.3.1 Typ I

Mukopolysacharidóza typu I byla rozdělena do tří širokých podskupin na základě závažnosti příznaků – Hurler, Hurler-Scheie a Scheie syndrom. Scheieův syndrom byl dříve známý jako MPS V, než byl zahrnut do MPS I. Závažnost tohoto onemocnění je různá, jedinci s nejméně závažnou formou MPS mohou žít do dospělosti, zatímco jedinci s nejzávažnější formou umírají ve velmi nízkém věku. Syndrom Hurlerové je historický termín pro nejtěžší formu MPS, Scheieův syndrom je mírná forma. Děti s MPS I při narození často nevykazují žádné příznaky, ale po prvním roce života se u nich vyvinou komplikace. Některé děti mohou mít normální inteligenci a mírné až těžké fyzické příznaky, tento stav lze nazvat syndromem Hurler-Scheie. [2, 16]

Onemocnění MPS I je způsobeno nedostatkem enzymu zvaného α -L-iduronidáza. V těle proto dochází k hromadění fragmentů dvou různých GAG, dermatansulfátu a heparan sulfátu. Porucha je způsobena genovou mutací v genu IDUA, genu umístěném na chromozomu 4. V genu již bylo popsáno více než 100 různých mutací. V České republice se nejčastěji

vyskytují mutace označované jako W402X a Q70X, které vedou k těžké poruše funkce enzymu. [5, 13, 16]

2.3.2 Typ II, Hunterův syndrom

Typ II byl rozdělen do dvou skupin na základě závažnosti příznaků. Rozlišují se dva typy Hunterova syndromu – s časným a pozdním nástupem, často označovány velkými písmeny A a B. MPS IIA je časná, těžce probíhající forma s prvními příznaky v batolecím věku, lehčí typ onemocnění je MPS IIB s pozdějším začátkem obtíží a mírnějším průběhem. Klinické projevy jsou málokdy patrné již v novorozeneckém věku. Toto onemocnění se téměř výlučně vyskytuje u mladých mužů, i když byly hlášeny případy postižených žen. [1, 17]

Příčinou onemocnění je porucha funkce lysozomálního enzymu iduronát-2-sulfatázy (I2S), která je v těle kódována genetickou informací uloženou v genech. Porucha je způsobena mutací v genu IDS, která má za následek snížení nebo úplné eliminace funkce enzymu I2S. Tento enzym štěpí síran v molekulách sulfátové kyseliny α -L-iduronové, která je přítomna v heparan sulfátu a dermatansulfátu (DS). [5, 18]

2.3.3 Typ III, Sanfilippo syndrom

Typ III se také nazývá jako Sanfilippo syndrom a vyznačuje se závažnými neurologickými příznaky. Na biochemické i molekulární úrovni tvoří skupinu čtyř zcela různých onemocnění. Avšak na klinické úrovni mají podobný průběh i klinické projevy. Proto se na klinické úrovni mluví o MPS III, zatímco na biochemické a molekulární úrovni se odlišuje MPS IIIA – MPS IIID. Sanfilippo typu A je nejběžnější a je považován za nejtěžší typ s dřívější smrtí než u ostatních. Sanfilippo typu B je druhým nejčastějším typem a typy C a D se vyskytují vzácněji. Syndrom Sanfilippo je progresivní porucha, děti se po narození jeví jako zdravé, první příznaky se mohou objevovat od věku dvou let. [1, 19]

Sanfilippo syndrom se dělí do podtypů podle defektu jiného enzymu potřebného k úplné degradaci heparan sulfátu. Typ IIIA je způsoben poruchou funkce enzymu heparan *N*-sulfatázy, typ IIIB poruchou α -*N*-acetylglukosaminidázy, typ IIIC poruchou acetyl-CoA: α -glukosaminid acetyltransferázy, tento enzym se také nazývá jako transmembránový protein. Typ IIID je způsoben poruchou *N*-acetylglukosamin-6-sulfatázy. Porucha je způsobena mutací genu, u typu IIIA a IIIB se gen pro příslušný enzym nachází na chromozomu 17, typ IIIC má gen umístěn na chromozomu 8 a typ IIID na chromozomu 12. [2, 20]

2.3.4 Typ IV, Morquio syndrom

Typ IV, též nazýván jako Morquio syndrom, se dělí na dva podtypy IVA a IVB. Typ MPS IVA je častější, typ IVB byl popsán pouze u malého množství pacientů. Klinické příznaky jsou u obou typů podobné, ale u MPS IVB se jeví mírněji. Příznaky onemocnění se obvykle začínají objevovat ve věku od 1 do 3 let a s růstem dítěte se zhoršují. [2, 5]

Oba podtypy MPS IV jsou způsobeny poruchou jiného enzymu, který se podílí na degradaci keratansulfátu. Keratansulfát tvoří esenciální komponentu chrupavčitých tkání a rohovky. Mutace v genech GALNS a GLB1 jsou příčinou poruchy enzymu. Gen GALNS je lokalizován na chromozomu 16 a jeho mutace způsobuje onemocnění MPS IVA. Gen GLB1 je na chromozomu 3 a mutace způsobuje MPS IVB. U typu IVA chybí lysozomální enzym *N*-acetyl-galaktosamin-6-sulfatáza, která štěpí nejen keratansulfát, ale i chondroitin-6-sulfát. Typ IVB má nedostatek enzymu β -galaktosidázy. Metabolismus heparansulfátu a dermatansulfátu u pacientů s MPS IV je v pořádku, proto u pacientů nedochází k primárnímu postižení funkce centrální nervové soustavy na rozdíl od pacientů s MPS I-III. [5, 21]

Mezi příznaky patří zastavení růstu kolem 8. roku života, kostní abnormality jako je např. vyčnívající hrudní kost, zakřivená páteř ze strany na stranu. Dalšími příznaky jsou volné a velmi pružné hypermobilní klouby, může se objevit porucha chůze a postavení kolenních kloubů ve tvaru písmene X. Mezi závažné klinické komplikace patří dysplastické změny v atlanto-okcipitální oblasti, které mohou vést k útlaku krční míchy. U některých postižených jedinců dochází k opakovaným infekcím uší a ztrátě sluchu, zakalení oka, které může způsobit ztrátu zraku. Mezi další běžné rysy tohoto onemocnění patří mírně „hrubé“ rysy obličeje, tenká zubní sklovina, mnohočetné dutiny, abnormality srdečních chlopní, mírně zvětšená játra a pupeční nebo tříselná kýla. Inteligence není ovlivněna. Pacienti s MPS IVB mívají mírnější průběh onemocnění a obvykle dosahují i vyššího věku. [2, 5, 21]

Očekávaná délka života jedinců s MPS IV závisí na závažnosti příznaků. Těžce postižené osoby mohou přežít pouze do pozdního dětství nebo dospívání. Osoby s mírnějšími formami poruchy se obvykle dožívají dospělosti, i když jejich délka života může být snížena. Komprese míchy a obstrukce dýchacích cest jsou hlavními příčinami úmrtí. [21]

Pro diagnostiku MPS IVA jsou zapotřebí klinické, rentgenové a biochemické testy, protože některé klinické charakteristiky u MPS IVA se překrývají s jinými poruchami. Provádí se také genetická diagnostika a radiodiagnostika. Včasná a přesná diagnóza je zásadní pro optimalizaci léčby pacienta, která poskytuje lepší kvalitu života a prodlouženou životnost u

pacientů s MPS IVA. V současné době je u pacientů s MPS IVA k dispozici enzymová substituční terapie a transplantace hematopoetických kmenových buněk. [22]

2.3.5 Typ VI, Maroteaux-Lamyho syndrom

Typ VI, Maroteaux-Lamyho syndrom, má název odvozený od jmen dvou francouzských lékařů, kteří onemocnění jako první popsali. Onemocnění má proměnlivou škálu závažných příznaků. Pacienti s MPS VI vykazují běžné fyzické příznaky onemocnění MPS I, ale obvykle nedochází k poruše funkce centrální nervové soustavy. [2, 5]

Onemocnění je způsobeno nedostatkem enzymu *N*-acetylgalaktosamin-4-sulfatázy, neboli arylsulfatázy B, v důsledku mutace genu ARSB, který se nachází na chromozomu 5. Tento enzym je nezbytný pro lysozomální degradaci dermatansulfátu. Závažnost onemocnění se může lišit v závislosti na mutaci a zbytkové aktivitě ovlivněného enzymu. Na biochemické úrovni vede porucha funkce enzymu k zvýšenému vylučování DS v moči. [5, 23]

Klinický obraz MPS VI se velmi liší s ohledem na věk nástupu a rychlost progresu onemocnění, obvykle se dělí na dvě podskupiny – rychle rozvíjející se (těžká) forma a pomalu rozvíjející se (mírnější) forma. Těžká forma je charakterizována ve většině případů nástupem prvních příznaků do 2 nebo 3 let věku, růst se často zpomaluje po prvním roce života s úplným ukončením ve věku 3 až 4 let. Výška dospělých je obvykle menší než 120 cm. Mezi fyzikální nálezy patří hrudní deformita, ztuhlé klouby až porucha pohyblivosti, skolióza nebo kyfóza, makrocefalie a vyčínající břicho. Mezi další klinické nálezy patří srdeční onemocnění chlopně, snížená funkce plic, hepatosplenomegalie, sinusitida, zánět středního ucha, ztráta sluchu, spánková apnoe, zákal rohovky, onemocnění karpálního tunelu a tříselná nebo pupeční kýla. Pacienti s rychle rozvíjející se formou často umírají na srdeční selhání ve 2. nebo 3. dekádě života. U pacientů s mírnější formou MPS VI se mohou příznaky projevit až v průběhu dětství či dospívání. Klinické příznaky se rozvíjejí pomaleji, avšak v určitém okamžiku se většinou objeví závažné projevy onemocnění. [5, 24]

Pro diagnózu je potřebné enzymatické vyšetření v izolovaných leukocytech nebo kultivovaných kožních fibroblastech, molekulární genetické vyšetření, důkaz klinického fenotypu, rentgenové a biochemické testy. [5, 24]

Nejběžnější klinické možnosti léčby MPS VI jsou transplantace kostní dřeně a enzymová substituční terapie. Vzhledem k rizikům má transplantace kostní dřeně pro léčbu MPS VI omezené použití. Enzymové terapie zlepšují klinické projevy nemoci (jako je snížená pohyblivost, vytrvalost a růst) a uvádí se, že zpomalují progresi nemoci, avšak nezastavuje

progresi onemocnění a pacienti mohou vyžadovat další, obvykle chirurgické zákroky pro zvládnutí nejzávažnějších symptomů onemocnění, jako je náhrada srdeční chlopně nebo transplantace rohovky. [23]

2.3.6 Typ VII, Sly syndrom

Typ VII, nazývaná jako Sly syndrom, je jednou z nejméně běžných forem mukopolysacharidózy. Ve své nejzávažnější formě MPS VII způsobuje, že se děti rodí s vážným onemocněním nazývaném *hydrops fetalis*, při kterém se v těle zadržuje extrémní množství tekutiny. Přežití je v těchto případech obvykle několik měsíců nebo méně. Většina dětí s MPS VII je postižena méně závažně a dožívají se dospívání nebo mladých dospělých let. [2]

Onemocnění je charakterizována nedostatkem enzymu β -glukuronidázy, která se podílí na postupné degradaci tří GAG, a to chondroitinsulfátu, dermatansulfátu a heparan sulfátu. Porucha vede k akumulaci těchto částečně degradovaných fragmentů v lysosomech mnoha tkání a orgánů, což nakonec vede k buněčné a orgánové dysfunkci. Nedostatek enzymu je způsoben mutací genu GUSB, který se nachází na chromozomu 7. [25, 26]

Klinický obraz a progresse onemocnění MPS VII pokrývají široké spektrum závažnosti, od časných, těžkých, multisystémových projevů a progresivního mentálního postižení až po mírnější formu s pozdějším nástupem, méně klinických projevů a normální inteligenci. Pacienti mohou mít nízký vzrůst, dysplázií skeletu, kontraktury kloubů, hepatosplenomegálii, kýly, srdeční postižení, plicní nedostatečnost, zakalení rohovky, poškození sluchu a opakované infekce horních cest dýchacích a středního ucha. Často je přítomno zpoždění kognitivního, jazykového a sociálního vývoje a pacienti mohou mít poruchy chování, jako je hyperaktivita, potíže s pozorností a extrémní frustrace. Očekávaná délka života je obecně snížena kvůli častým infekcím horních cest dýchacích, neurodegenerativním komplikacím a abnormalitám gastrointestinálního traktu, ačkoli vzácně pacienti s mírnějším onemocněním přežili do své páté dekády života. [25, 26]

Prvním krokem diagnostiky je měření GAG dermatan, heparan a chondroitin sulfátu v moči. K potvrzení diagnózy lze použít molekulárně genetický test. Prenatální diagnostika je možná pomocí amniocentézy k měření aktivity GAG a genu GUSB nebo odběru choriových klků pro enzymatickou a genetickou analýzu. Včasná diagnóza a vhodná léčba pravděpodobně zlepší kvalitu života, ale u některých pacientů může diagnostika trvat několik let. [26]

Po mnoho let byly paliativní terapie jediným zdrojem pro pacienty s MPS, patří mezi ně operace, doplňování kyslíku, antibiotika, nesteroidní protizánětlivé léky a fyzikální terapie. Současné možnosti léčby zahrnují transplantaci hematopoetických kmenových buněk, kostní dřeně nebo kmenovými buňkami z pupečnickové krve, enzymovou substituční terapii. [25, 26]

2.3.7 Typ IX, Natowiczův syndrom

Typ IX je velmi vzácný typ, poprvé byl popsán Natowiczem roku 1996. Onemocnění je způsobeno mutací genu HYAL1, která vede k nedostatku enzymu hyaluronidázy. Gen je umístěn na chromozomu 3. Enzym je potřebný k degradaci kyseliny hyaluronové. Prognóza onemocnění závisí na závažnosti stavu. [27, 28]

Příznaky mohou zahrnovat přítomnost nádorů měkkých tkání, které se tvoří kolem kloubů, abnormality kostí a kloubů, erozi kosti kyčelní, přidružené potíže s chůzí, nižší vzrůst a infekce uší, které mohou vést k potížím se sluchem. U pacientů nebyla zaznamenána porucha inteligence ani duševního vývoje. Jasný klinický obraz ještě není plně znám, protože dosud nebylo identifikováno dostatečné množství případů s MPS IX. [27, 28]

Diagnostika může zahrnovat fyzikální a rentgenové vyšetření, genetické testování a vyšetření moči. Léčba je pouze symptomatická, jejímž účelem je zlepšení kvality života. Může se provést odstranění nádoru, ortopedická operace, substituční enzymová terapie, transplantace kostní dřeně. [28]

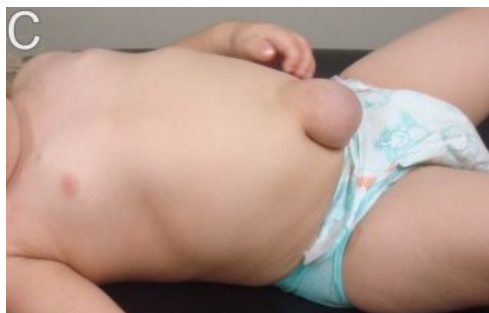
3 KLINICKÝ OBRAZ

3.1 Mukopolysacharidóza typu I

V minulosti byli pacienti zařazováni mezi tři podtypy MPS I, nebyly však identifikovány snadno měřitelné biochemické rozdíly a klinické nálezy se překrývaly. Dnes jsou většinou pacienti zařazeni do dvou skupin, buď závažná MPS I (syndrom Hurlerové) nebo oslabená MPS I (syndromy Hurler-Scheie a Scheie). [29]

3.1.1 Syndrom Hurlerové

Syndrom Hurlerové je nejzávažnější a nejběžnější forma MPS typu I, která je charakterizována časným nástupem fyzických a neurologických příznaků. Kojenci při narození vypadají normálně. Typické časné projevy jsou nespecifické, patří mezi ně pupeční nebo tříselná kýla (Obr. 1), infekce horních cest dýchacích. [29, 30]



Obrázek 1: Pupeční kýla [30]

Během prvního roku života mohou rodiče zpozorovat neobvyklý vzhled dítěte s hrubými rysy obličeje (Obr. 2). Charakteristické rysy obličeje zahrnují zvětšenou hlavu, velké zaoblené tváře, široký nos, rozšířené nosní dírky a silné rty. Kůže může být zesílená a nepružná. Vyskytuje se také hypertrichóza a orální abnormality – makroglosie (zvětšený vyčnívající jazyk), malé a široce rozmístěné zuby, nadměrný růst dásní a otevřený skus. [30, 31]

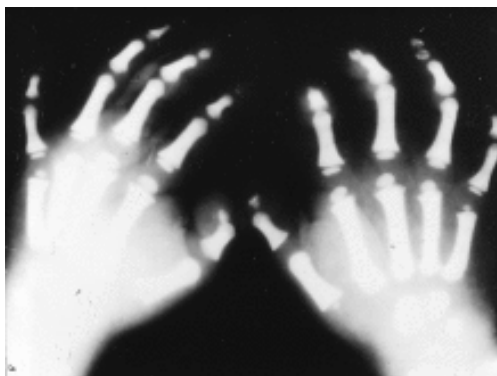


Obrázek 2: Typický vzhled obličeje dítěte se syndromem Hurlerové [6]

Hepatosplenomegalie, zvětšená játra a slezina, je způsobena ukládáním glykosaminoglykanů v těchto orgánech, nevede k orgánové dysfunkci. Často je popisována opakovaná rýma a infekce horních cest dýchacích, která vede k obstrukci horních cest dýchacích. Obstrukce se projevuje hlučným dýcháním, chrápáním a spánkovou apnoe. Mohou se objevovat i infekce dolních cest dýchacích projevující se dušností, kašlem, sípáním, zánětem průdušek (bronchitida) nebo zápalem plic (pneumonie). [29-31]

Běžná je ztráta sluchu v důsledku časté infekce středního ucha, která je způsobena dysfunkcí eustachovy trubice a poškozením osmého hlavového nervu. Oční poruchy zahrnují zakalení rohovky, oční hypertenzi, degeneraci sítnice, otok druhého hlavového nervu a refrakční vady. Degenerace sítnice se může nejprve projevit citlivostí na světlo a noční slepotí, může postupovat k tunelovému vidění až k ztrátě centrálního zorného pole. Kombinace degenerace sítnice a komprese zrakového nervu často vede ke slepotě. Zakalení rohovky také přispívá k oslepnutí. Vzácně se vyskytuje zelený zákal a oční hypertenze. [29, 30]

Dysostóza multiplex (onemocnění skeletu), je jedním z nejčastějších příznaků a vede ke zpomalení růstu až zastavení. Gibbusova deformita je jedním z prvních příznaků. Mezi další abnormality kostí patří zploštělá a zobákovitá těla obratlů, krátké a zesílené klíční kosti, zesílené a neuspořádané růstové ploténky, špatně tvarovaná pánev. Dlouhé kosti jsou krátké a mají široké hřídle. Vyskytuje se osteoartróza kyčelního kloubu a deformace kolen. Ztuhlost kloubů a omezený rozsah pohyblivosti kloubů se může objevit už ve věku dvou let. Deformace páteře může vést ke komplikacím zahrnujícím zachycení míchy, akutní poranění míchy a atlantookcipitální (skloubení mezi atlasem a kostí týlní) nestabilitu. Deformace kloubů často postihuje i malé klouby a projevuje se jako kamptodaktylie prstů (drápopitě zahnuté prsty, Obr. 3). [29-31]



Obrázek 3: Kamptodaktylie [32]

Kardiovaskulární postižení je také významným rysem MPS I a přispívá ke zkrácení života. Projevuje se zesílením srdečních chlopní, což má za následek špatnou pohyblivost chlopní a stenózu (zúžení) chlopní. Obojí může vést k přetížení síňového a komorového objemu, hypertrofii komor, systémové nebo plicní hypertenzi, a nakonec k systolické a diastolické dysfunkci. [30, 31]

Kognitivní vývoj dítěte se začíná zpomalovat někdy po půl roce života, během druhého roku života stagnuje a poté klesá. V době smrti je většina dětí těžce mentálně postižena. Mezi projevy postižení centrální nervové soustavy (CNS) patří špatná pozornost, adaptivní dovednost a řeč. [29, 31]

Z neznámých důvodů má mnoho pacientů pravidelně řídkou stolicí a průjem, někdy se střídá s obdobím zácpy. U některých se objevuje hydrocefalie způsobená hromaděním mozkomíšního moku, může vést ke kompresi mozku a rychlému kognitivnímu poklesu. [29]

Vzhledem k postižení různých orgánů a tkání vyžadují pacienti chirurgické zákroky. Smrt je obvykle způsobena kardiorespiračním selháním a nastává během prvních deseti let života. [29, 33]

3.1.2 Syndrom Hurler-Scheie a Scheie

Příznaky syndromu Hurler-Scheie se projevují v kojeneckém věku, ale ve srovnání se syndromem Hurlerové má střední závažnost. Fyzické příznaky snižují délku života do druhé nebo třetí dekády života. U pacientů se nevyskytuje kognitivní porucha, ale někteří mohou vykazovat mírné potíže s učením. [33]

Scheie syndrom je nejmírnější forma MPS I, příznaky se objevují později a postupují pomalu. Pacienti mají normální inteligenci a přežívají až do dospělosti. [33]

U obou syndromů se fyzický vzhled liší od syndromu Hurlerové. Rysy obličeje jsou méně zřejmé, pacienti mohou mít krátký krk, široká ústa a čtvercovou čelist. Postižení kostí a kloubů může být u některých závažné. Mezi další příznaky také patří poškození očí, ztráta sluchu, kardiovaskulární postižení, tříselná kýla, respirační komplikace, arachnoidální cysty a progresivní komprese míchy. [29]

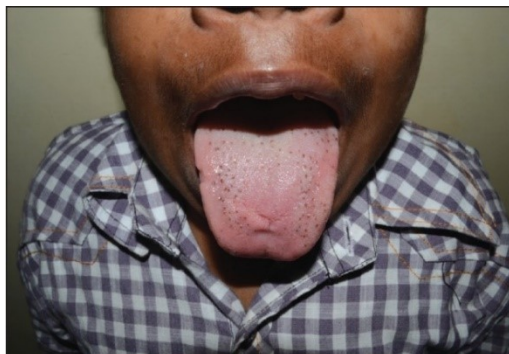
3.2 Mukopolysacharidóza typu II

Hunterův syndrom, také známý jako MPS II, je porucha vázána na X chromozomu, proto drtivá většina postižených jedinců jsou muži. Ve vzácných případech postihuje ženy. MPS II je chronické progresivní onemocnění s podobným klinickým obrazem MPS I. Onemocnění je variabilní ve věku nástupu i v rychlosti progresu, podle toho se dělí na dvě podskupiny – s časným nástupem (MPS IIA, těžká forma) a s pozdním nástupem (MPS IIB, mírná forma). [33, 34]

3.2.1 Typ IIA

Mukopolysacharidóza typu IIA je těžší forma a vyskytuje se častěji než typ IIB. Akumulace dermatansulfátu a heparan sulfátu vede k narušení několika procesů a je příčinou klinických projevů. [35]

Vzhled novorozenců je normální. Ve věku od osmnácti měsíců do čtyř let se objevuje zhrubnutí obličejových rysů. Děti mají zvětšený jazyk (Obr. 4), široký nos a nosní můstky, velké zaoblené tváře a silné rty. U některých se objevují kožní léze slonovinové barvy. Časté jsou zubní abnormality, jako je abnormální počet a tvar zubů, defekty skloviny, otevřený skus (Obr. 5) a předkus čelisti. Pacienti jsou náchylnější k výskytu zubního kazu, rozvoji cyst a abscesu kvůli zvýšené míře orální infekce. [34, 35]



Obrázek 4: Zvětšený jazyk [36]



Obrázek 5: Otevřený skus [36]

Zakalení rohovky není typickým rysem a dochází k tomu příležitostně na rozdíl od MPS I. Otok optického hlavového nervu také není častý, zatímco retinopatie (onemocnění sítnice) se vyskytuje častěji. Degenerace sítnice vede ke špatnému perifernímu vidění a noční slepotě, centrální poškození zraku u pacientů s MPS II je vzácné. [34]

U většiny pacientů dochází k vodivé a neurosenzorické ztrátě sluchu, která je komplikována opakovanými ušními infekcemi. Otok kleróza může přispět k vodivé ztrátě sluchu. Neurosenzorická ztráta sluchu může být zapříčiněna kompresí sluchového hlavového nervu, arachnoidální hyperplazii nebo sníženým počtem spirálních gangliových buněk. [34]

Zvýšené ukládání glykosaminoglykanů v dýchacích cestách a lymfatických orgánech se projevuje jako zvětšené mandle, zesílené hlasivky a zúžení průdušnice. Následkem je zúžení dýchacího průchodu, které vede k dýchacím potížím, hlučnému dýchání a obstrukční spánkové apnoe. Pacienti mají opakované sinusitidy a infekce středního ucha. K omezenému dýchání přispívají deformity hrudního koše a páteře. [35, 37]

U většiny chlapců je nadprůměrný růst do pěti let, poté je zpomalen, až zastaven. Za příčinu zastavení růstu se považuje selhání endochondrální osifikace v růstových ploténkách. Objevují se kontraktury kloubů, bolesti kloubů, ztuhlost a snížený rozsah kloubů, hrudní kyfóza, skolióza. Kontraktura a ztuhlost se nejčastěji vyskytuje v oblasti kyčle, kolena, kotníku, ramen a zápěstí. Postiženy jsou i malé klouby prstů za projevu kamptodaktylie a to vede ke ztrátě pohyblivosti ruky a ztrátě nezávislosti. Dochází k zánětu kyčelního kloubu, který může vést k časně artritidě. Deformity páteře stlačují míchu a nervové kořeny, může to způsobit svalovou slabost, paralýzu močového měchýře a inkontinenci střev. Pokud dojde ke značné kompresi, mohou ortopedické deformity vést k úmrtí. Velmi častá je dysostóza multiplex, dysplazie pánve, abnormality obratlů a žeber. Akumulace GAG kolem šlach může stlačit nerv v zápěstním kloubu a způsobit syndrom karpálního syndromu. GAG se ukládají také ve svalech, což vede k myopatii a smrti buněk svalového vřetene. [33-35, 37]

Akumulace dermatansulfátu a heparan sulfátu v srdečních chlopních způsobí zesílení chlopní, které vede k nedostatečné srdeční aktivitě. Může následovat onemocnění chlopní, hypertrofie levé komory a hypertenze. Obecnými nálezy jsou únava, srdeční šelest, kardiomyopatie a mitrální nebo aortální regurgitace. Dochází k celkovému snížení srdeční činnosti. [35, 37]

Gastrointestinální postižení vede k nepohodlí a ke snížení kvality života. Prvním znatelným příznakem je výčnělek břicha. Vyskytuje se progresivní a degenerativní

hepatosplenomegalie, která zvyšuje nitrobřišní tlak, což způsobuje zvýšení napětí na břišní stěně, a to může vést ke vzniku tříselné nebo pupeční kýly. Pacienti často trpí chronickou vodnatou a mukoidní stolicí. U starších pacientů může ztráta pohybu střev a ztráta svalové síly vést k zácpě. [35, 37]

Dvě třetiny pacientů vykazují neurologické projevy. Zpočátku se objevuje hydrocefalus, který má za následek zvětšení průměru lebky, které se projevuje jako makrocefalie. Poté následují potíže s chováním a pozorností, hyperaktivita, může se také objevit agresivita a tvrdohlavost. Přítomna je porucha spánku. Porucha pozornosti převládá u školních dětí a je přičítána sníženému objemu *corpus callosum*. Progrese projevů poškození CNS vede k vývojové regresi ve věku od šesti do osmi let. Pacienti ve školních letech mají také kognitivní pokles s podprůměrným školním výkonem. Jazykové dovednosti se obvykle rozvíjejí pomalu z důvodu kognitivního poklesu a postižení sluchu. Dalším důsledkem postižení CNS je častý epileptický záchvat, na kterém se podílejí abnormality bílé a šedé hmoty mozkové. Další komplikace nervového systému je spinální stenóza (zúžení páteřního kanálu), zejména v krční oblasti, a komprese míchy. [33-35, 37]

Pacienti se dožívají první nebo druhé dekády života. Smrt je primárně způsobena progresivním onemocněním dýchacích cest a následně postižením srdce v kombinaci s poklesem kognitivních funkcí. [34, 35]

3.2.2 Typ IIB

Pacienti s MPS IIB mají méně závažné klinické příznaky s malým nebo žádným postižením CNS, mají normální kognitivní a intelektuální vývoj a prodlouženou délku života. V pokročilém stádiu se může objevit degenerace sítnice a neurologické příznaky. [33, 37]

3.3 Mukopolysacharidóza typu III

Mukopolysacharidóza typu III je považována za jeden z nejběžnějších typů MPS. Podtypy MPS III se liší klinickou závažností, avšak neurologický pokles je patrný u všech jedinců a vede k těžkému mentálnímu postižení a vývojové regresi. Charakteristické somatické nálezy jsou obdobné u jiných typů MPS, ale jsou méně klinicky výrazné. [38, 39]

Syndrom Sanfilippo podtypu A je považován za nejagresivnější formu, pacienti se průměrně dožívají do 15 - 18 let. Podtyp B je o něco méně agresivní, pacienti se dožívají v průměru do 17 - 19 let. Podtyp C je méně agresivní forma a méně častá s průměrným přežitím 19 - 34 let. Podtyp D je velmi vzácný. [40]

Vývoj MPS III se skládá ze tří fází. První fáze začíná ve věku 1 - 3 let se zpomalením nebo zastavením kognitivního vývoje dítěte. Obvykle je patrné zhoršení řeči doprovázené problémy s chováním. Fyzický vývoj může být normální. Druhá fáze je charakterizována progresivním kognitivním poklesem, poruchami spánku a poruchami chování. Mezi poruchy chování patří agresivita, hyperaktivita, úzkostné a autistické chování. Tato fáze je ve věku 3 - 10 let. Třetí fáze nastává po 10. věku života dítěte a zahrnuje pokles motorických funkcí. Začíná se projevovat mentální postižení, poruchy chůze a další komplikace. U pacientů s mírným onemocněním se může objevit první fáze později a pomalejší progresse může vést k delšímu přežití. [39, 41]

Klinicky je Sanfilippo syndrom charakterizován těžkou degenerací centrálního nervového systému s mírným somatickým onemocněním. Těhotenství a porod jsou obvykle bezproblémové a časný vývoj je obvykle normální nebo téměř normální. Syndrom je pacientům diagnostikován přibližně ve věku 2 - 6 let. Prvním příznakem je obvykle zpoždění vývoje nebo problémy s chováním. [38, 42]

Dysmorfismus obličeje, i když je mírný, je u většiny pacientů a zahrnuje mírné hrubé rysy obličeje s výrazným širokým obočím, silné rty, zesílení helixů uší. U pacientů s hypertrichózou jsou často pozorovány hrubé a suché vlasy. Mnoho dětí trpí makrocefalií. Kůže je tvrdá a silná, někdy způsobuje potíže u venepunkcí. [39, 42]

U mladších pacientů jsou problémem opakované infekce uší, nosu a krku. Porucha sluchu se vyskytuje u mnoha pacientů, u těžších forem je běžná ztráta sluchu. Ta může být vodivá, sensorineurální nebo smíšená v důsledku kombinace opakovaného zánětu středního ucha, defektů středního ucha a abnormalit vnitřního ucha. [38, 39, 42]

Zákal rohovky se obvykle nevyskytuje. Pacienti však mohou mít v pozdním stádiu onemocnění atrofii zrakového nervu a degeneraci sítnice projevující se jako pigmentová retinopatie, špatné periferní vidění a šeroslepost. [39]

Ventrikulomegalie je často neočekávaným nálezem. Závažnost mentální retardace pacientů obecně souvisí se stupněm ventrikulární dilatace. Ventrikulomegalie se vyskytuje sekundárně po atrofii mozku a zhoršené reabsorpci mozkomíšního moku. U některých jedinců se může vyskytnout symptomatický hydrocefalus. U starších jedinců se často objevují epileptické záchvaty. [38, 39, 42]

Problémy s chováním jsou charakteristickým příznakem a obvykle začínají ve věku 3 - 5 let. Téměř všechny postižené děti vykazují hyperaktivitu nereagující na léky, agresivní a destruktivní chování, jako jsou výbuchy a záchvaty vzteku. Většina postižených je často obtížně zvládnutelná, zejména u jedinců s normální pohyblivostí a silou. Problémy s chováním s věkem klesají kvůli progresivní neurodegeneraci vedoucí ke snížené mobilitě a iniciativě. Dalším velmi častým příznakem je porucha spánku projevující se brzkým probuzením a častým nočním probuzením. Někteří pacienti vykazují úplné obrácení denního a nočního režimu. [39, 42]

Vývoj v raném dětství může být již od jednoho roku života zpožděn. Progresivní ztráta mentálních a motorických funkcí začíná u většiny postižených ve věku 3 - 6 let. Regrese intelektuálních funkcí, zejména řeči, předchází nástup motorické regrese. Míra mentální regrese se liší mezi pacienty. Verbální komunikace se ztrácí obvykle ve věku 10 - 15 let. Na konci prvního desetiletí života dochází k pomalé ztrátě dovedností, rozvoji poruch chůze a výskytu pyramidových jevů, které nakonec vedou k poruše vědomí a smrti. [38, 39, 42]

Postava pacientů bývá normální, mohou se vyskytovat mírné muskuloskeletální abnormality a deformity, mezi něž patří ztuhlost kloubů, skolióza a dysplazie kyčelního kloubu. Nálezy na skeletu většinou nejsou natolik závažné, aby vyžadovaly chirurgický zákrok. Osteonekróza femorální hlavy je častou příčinou bolesti kyčle. Může se vyskytnout syndrom karpálního tunelu. [39, 42]

V důsledku akumulace GAG se může objevit mírná hepatosplenomegalie, která nevede k dysfunkci. Častým nálezem jsou pupeční a tříselná kýla. Pacienti mohou mít opakující se nebo chronický průjem. S progresí neurodegenerace se u mnoha jedinců rozvinou potíže se žvýkáním a polykáním potravy, které zvyšují riziko aspirační pneumonie a úbytku hmotnosti v důsledku špatného krmení. Anatomické změny, nadbytek silných sekretů a neurologické poškození mohou způsobit u některých pacientů obstrukci dýchacích cest. Časté jsou infekce dýchacích cest a sinopulmonální infekce. [38, 39]

Přestože akumulace GAG v mitrální a aortální chlopni, myokardu je běžná, většina postižených nevyžaduje srdeční zákrok. Ejekční frakce levé komory je u dětí normální, u dospělých mírně narušená. Nedostatek klinických srdečních onemocnění v této populaci může být důsledkem zkrácené délky života a nečinnosti starších jedinců. [39]

Smrt obvykle nastává sekundárně ve druhé nebo třetí dekádě života po neurologické regresi nebo infekci dýchacích cest. Atypicky někteří jedinci s pozdějším nástupem, pomalejší progresí nebo mírným onemocněním mohou žít do 30 - 50 let. [39]

4 DIAGNOSTIKA

Pacienti s MPS mají často nízkou kvalitu a krátkou délku života a vyžadují včasnou léčbu. Včasná a přesná diagnóza MPS je zásadní pro poskytnutí vhodné podpůrné péče a specifické léčby onemocnění, je-li k dispozici. Včasné rozpoznání a vhodná léčba zásadním způsobem ovlivňují kvalitu života pacienta a mohou potenciálně zpomalit nebo zabránit rozvoji nevratných patologií. Diagnóza MPS je však obvykle zpožděna, dokud se neobjeví nevratné klinické příznaky. Velká pozornost by měla být věnována anamnéze pacientů a jejich rodin, protože MPS je dědičné onemocnění. Zvláštní pozornost ke stejným klinickým příznakům u ostatních členů rodiny by mohla pomoci diagnostikovat MPS. [41, 43]

Diagnóza MPS je v současné době založena na hodnocení GAG, měření enzymových aktivit a identifikaci genetických variant. Klinické podezření na MPS je základem pro stanovení koncentrace GAG v moči. Tyto koncentrace jsou zvýšené u všech typů MPS, výskyt normálních hladin není dostatečným důvodem k vyloučení této diagnózy u pacienta s klinickými příznaky. Kvalitativní testy GAG detekují typ vylučovaného GAG. [33, 43, 44]

Měření koncentrací GAG v moči lze provádět různými metodami. Jedním z doporučených testů je kvantifikace reakcí s roztokem dimethylmethylenová modř (DMM). Při kontaktu s GAG produkuje DMM sloučeninu, jejíž absorpční lze měřit při 520 nm. Moč by měla být udržována zmrazená, dokud nebude provedeno stanovení koncentrace GAG. [33]

Chromatografií nebo elektroforézou lze určit, který typ GAG je přítomen v nadbytku, to napomáhá definovat, které enzymy by měly být nejprve testovány. Diagnóza MPS by měla být potvrzena enzymatickým testem, dokumentujícím nedostatečnou aktivitu enzymu, která je specifická pro každý typ MPS. Určení správného typu MPS je nezbytné pro zajištění vhodného terapeutického postupu. [33, 43]

Identifikace variant ve specifických genech, které kódují každý enzym související s MPS, je užitečná pro potvrzení diagnózy, detekci nosiče, predikci fenotypu, genetické poradenství a pomoc při prenatální diagnostice. [44]

Často používané diagnostické metody klinických příznaků jsou rentgenové záření, počítačová tomografie (PT) a magnetická rezonance (MR). U pacientů s MPS I, II a III, kteří mají příznaky poškození centrálního nervu, může být poškození patrné na PT nebo MR mozku. K posouzení somatických příznaků je třeba vyšetřit zrak, sluch, ústní dutinu a dýchací systém. [41]

4.1 Biomarkery

Biomarkery jsou analyty, které lze měřit a použít k označení patologického nebo fyziologického procesu. Pokud je správně zvolen, může být biomarker užitečný pro diagnostiku, prognózu a také pro sledování terapeutické účinnosti. Protože MPS jsou primárně spojeny se skladováním GAG, jsou přirozeným biomarkerem GAG pro toto onemocnění. Mezi biomarkery GAG patří dermatansulfát, heparansulfát, keratansulfát a kyselina hyaluronová. Analýza močových GAG s DMM a elektroforéza jsou nepoužívanějšími metodami. [44]

U normálních subjektů se vylučování GAG močí mění s věkem, vyšší hodnoty byly zjištěny během prvních let života, poté následoval pomalý a stálý pokles. Kvalitativně většinu obsahu GAG v normální moči tvoří chondroitin-4-sulfát a chondroitin-6-sulfát, malé množství tvoří heparan sulfát. Pacienti s různými typy MPS se liší nejen v celkovém množství GAG vylučovaného močí, ale také v relativním podílu různých typů GAG. V rámci jednoho podtypu MPS se může vylučování GAG také lišit v závislosti na závažnosti fenotypu onemocnění. [43]

Diagnóza MPS by neměla být potvrzena ani vyloučena na základě jediného testu GAG, ačkoli testování GAG je obvykle prvním krokem v diagnostické cestě. [43]

Kromě použití přímých biomarkerů jsou užitečné i nepřímé biomarkery. Jedná se o molekuly, které nejsou primárním zásobním materiálem, ale ovlivňují buňky, tkáň nebo orgány v důsledku primárního skladování. Mezi zkoumané nepřímé biomarkery patří fibroblastový růstový faktor 2, komplex heparinový kofaktor II – trombin, poměr dermatanu k chondroitin sulfátu v moči a dipeptidyl peptidáza IV. [43, 44]

Poškození lysozomů v důsledku ukládání GAG také vede ke komplexní dysfunkci, která ovlivňuje sekundární biomarkery jako jsou glykosfingolipidy (GSL), fosfolipidy a cholesterol. GSL lze použít jako biomarkery pro poškození CNS. Dále lze jako biomarkery pro MPS použít několik zánětlivých markerů a markerů oxidativního stresu, protože progresivní ukládání GAG vede k neustálému zánětu a imunitním reakcím. [44]

Stále jsou zapotřebí dlouhodobé studie, protože nebyl nalezen ideální biomarker, který by byl specifický pro určitý typ nebo typy MPS. Pomohl by odlišit závažnější fenotyp od méně závažného, reagoval by na léčbu a byl by snadno detekovatelný. [43, 44]

Biomarkery lze analyzovat kvalitativně nebo kvantitativně. Kvalitativní analýzy umožňují identifikaci biomarkerů, ale mají nízkou citlivost a specifitu. Obvykle se používá

tenkovrstvá chromatografie oligosacharidů. Pro kvantitativní analýzy se mohou použít kolorimetrické metody nebo tandemová hmotnostní spektrometrie. [45]

4.2 Enzymový test

Aktivita enzymu se obvykle měří ve vzorku sušené krevní skvrny (SKS), plazmy, leukocytů nebo fibroblastů. Pro prenatální vyšetření jsou nejpoužívanější choriové klky a plodová voda. V postnatálním období se nejčastěji aktivita enzymu stanovuje v leukocytech a fibroblastech. [43, 44]

Výhodou použití fibroblastů jako vzorku je větší množství vzorku, ve kterém lze kultivovat větší počet buněk a testy lze opakovat bez nutnosti odběru nového vzorku. Nevýhoda použití souvisí s invazivním odběrem kožních biopsií a delší dobou zpracování výsledků. Tento postup je také dražší. [44]

Leukocyty z plné krve umožňují rychlejší zpracování, méně než dva týdny. Ve většině případů poskytují leukocyty dostatečný počet buněk pro analýzy, pokud by byl nedostatek buněk, může být jednoduše odebrán vzorek nový. Vzorky leukocytů jsou však vysoce citlivé na teplotní výkyvy. V případě, kdy nelze získat leukocyty, může se použít pro analýzu vzorek plazmy. [44]

Vzorek SKS nabízí značné praktické výhody jako je odběr, skladování a transport vzorků. Na jednom vzorku SKS lze provádět více testů enzymové aktivity. Nicméně některé enzymy jsou teplotně citlivé, po usušení vzorku na kartě by měla být karta skladována při teplotě 4 °C. Testy jsou citlivé a specifické, avšak pozitivní výsledky vyžadují potvrzení testováním aktivity u leukocytů nebo fibroblastů. [43, 44]

Nejpoužívanější reakce je založena na kvantifikaci aktivity enzymu v biologických tekutinách pomocí katalýzy. U většiny enzymových testů pro diagnostiku lysozomálních poruch je použita spektrofluorimetrie, která využívá enzymově specifické substráty s fluorogenním radikálem ke generování produktu fluoroforu, který absorbuje energii při specifické vlnové délce a poté ji emituje při jiné vlnové délce. Ta slouží k určení množství vyrobeného produktu. Spektrofotometrie je také široce používanou technikou. [45]

Specifické nedostatky enzymů jsou spojeny s každým podtypem MPS. Někteří pacienti mají velmi nízké hladiny enzymů *in vitro*, ale normální hladiny *in vivo*, tento stav se nazývá pseudodeficiency. Potenciální přítomnost pseudodeficiency představuje omezení pro

enzymatické testy a měla by být vyšetřena, kdykoli se výsledky enzymatického testu neshodují s fenotypem pacienta. [44]

4.3 Molekulárně genetická analýza

Molekulárně genetická analýza zahrnuje kromě vyhledávání abnormálních sekvencí v genu kódujícím konkrétní enzym i hledání známých mutací způsobujících onemocnění. Pokud je pacientovi diagnostikován specifický typ MPS a je známa jeho mutace, může se tato informace použít pro testování nosiče a prenatální testování sourozenců. [43]

Molekulární analýza je užitečná pro potvrzení diagnózy MPS, pokud není možné provést enzymový test v leukocytech nebo fibroblastech, dále pokud výsledky enzymové analýzy nejsou jasné a v případě podezření na pseudodeficienci. Dalším využitím je prenatální diagnostika, diagnóza syndromů podobných MPS a predikce fenotypu, pokud nedostatek enzymu a klinické informace neumožní jasné rozlišení mezi těžkými a oslabenými formami. Stanovení genotypu může být užitečné při detekci nosiče a výběru možností terapie [43-45]

Mezi geny spojenými s MPS existuje vysoká alelická heterogenita, která je hlavní příčinou širokého spektra pozorovaného u těchto poruch a nelze ji vždy korelovat se zbytkovou aktivitou enzymu. [44]

Pro rychlou detekci mutací způsobujících onemocnění jsou k dispozici různé molekulární postupy, z nichž každý má své vlastní indikace a omezení. Standardní metodou je sekvenování podle Sangera, která umožňuje identifikaci genetických variací, jako jsou bodové mutace a malé inserce a delece. Avšak vzhledem k alelické heterogenitě a skutečnosti, že tato metoda může analyzovat pouze jeden segment DNA najednou, jde o pracný, časově náročný a nákladný proces. [44]

Pro detekci dalších typů variant, jako jsou komplexní přesmyky, existují metody založené na genově cílené deleční, duplikační analýze, např. kvantitativní polymerázová řetězová analýza, amplifikace multiplexní ligace závislá na sondách, genově zaměřená microarray. Mezi další metody molekulární analýzy patří analýza polymorfismu délky restričních fragmentů, amplifikační-refrakterní mutační systém nebo polymerázová řetězová reakce (PCR) v reálném čase. [44, 45]

Nová technologie, sekvenování nové generace, umožňuje sekvenování velkých genomových oblastí v krátkém časovém období při relativně nízkých nákladech a nahrazuje analýzu jednotlivých genů. Aplikace technologie zahrnuje sekvenování genomových oblastí

amplifikovaných pomocí PCR, sekvenování celého exomu a genomu. Tato technologie slouží k překonání široké klinické a genetické heterogenity MPS. Technologie by mohla být cenným diagnostickým nástrojem pro hledání nových genů spojených se vzácnými stavy, rozšíření rozpoznávaného fenotypového spektra známé nemoci a objasnění složitých fenotypů. [44, 45]

4.4 Novorozenecký screening

Výsledky léčby se zdají být lepší, pokud je onemocnění identifikováno v raném dětství, proto se provádí screening na MPS u vysoce rizikových skupin. Screening novorozenců nabízí naději na identifikaci nemoci a zahájení léčby před rozvojem nevratných projevů nemoci. MPS, pro které je dostupná léčba, jsou vhodné pro screening novorozenců, protože včasný zásah může mít významný dopad na výsledek onemocnění. [43, 44]

Mnoho studií naznačuje, že je možné provést screening na 10 lysozomálních onemocnění měřením lysozomálních enzymatických aktivit v SKS. Sekvenování DNA není v současné době první volbou pro screening novorozenců, v některých případech se považuje za doplňkovou metodu. Využívání biomarkerů také není první volbou, protože doba analýzy je příliš dlouhá a míra falešně pozitivních výsledků je vysoká. Biomarkery se používají k potvrzení případů, kdy jsou enzymové testy abnormální. [43, 44]

Hlavními metodami používanými pro screening MPS jsou kvantifikace lysozomálních enzymů digitální mikrofluidikou pro MPS I a II a tandemová hmotnostní spektrometrie pro MPS II, IIIB, IVA, VI a VII. Rozvoj technologie digitálních mikrofluidních čipů převedl konvenční fluorimetrické enzymové testy na vysoce výkonné metody schopné simultánně analyzovat více enzymů. Tandemová hmotnostní spektrometrie analyzuje proteiny a substráty v SKS, a tak usnadňuje screening novorozenců. [44, 46]

Dopad, který má diagnostika a léčba pacienta s MPS na rodinu je obrovský, včasný zásah může zpomalit progresi onemocnění a zlepšit kvalitu života pacienta a jeho rodiny. [44]

Hlavní obavou při screeningu lysozomálních onemocnění je přítomnost pseudodeficiency, která může způsobit zátěž rodinám a zdravotním systémům. Stanovení GAG pomocí tandemové hmotnostní spektrometrie může sloužit k odhalení pseudodeficiency. Další důležitou záležitostí je, jak sledovat a případně léčit pacienty, u nichž se předpokládá, že budou mít pozdní formu onemocnění. [30, 45]

5 LÉČBA

Jakmile je diagnóza MPS potvrzena, měla by být včas poskytnuta specifická léčba. Léčba MPS znamená zpomalení progresu onemocnění a zlepšení kvality života. Hlavními možnostmi pro pacienty s MPS jsou paliativní léčba, chirurgický zákrok a léčba specifická pro onemocnění. [41]

V klinické praxi je v současné době pro pacienty s MPS k dispozici transplantace hematopoetických kmenových buněk (THKB) a enzymová substituční terapie (EST). THKB je standardem léčby u pacientů s MPS I mladších 2 let nebo bez postižení CNS. Intravenózní EST je konvenční léčbou, která vede k částečnému zlepšení stavu měkkých tkání a aktivity denního života. Genová terapie (GT) a terapie redukcí substrátu (TRS) jsou novějšími možnostmi léčby, avšak stále ještě u nich probíhají klinické studie. [41, 47]

Před příchodem THKB a EST byla hlavním cílem léčby prevence a léčba komplikací. Tato léčba byla založena na multidisciplinárním týmu, v němž byla velmi důležitá účast různých lékařských specializací, např. kardiologie, anesteziologie, ortopedie, neurochirurgie. V 80. letech byla navržena léčba MPS pomocí THKB a v 90. letech byla vyvinuta EST. [33]

Doporučení pro léčbu MPS jsou založena na mnoha faktorech, mezi něž patří typ MPS, klinická závažnost, prognóza, současné klinické příznaky, věk při nástupu, rychlost progresu, očekávání rodiny, finanční zátěž, proveditelnost, dostupnost, rizika a přínosy s dostupnými terapiemi. [48]

5.1 Transplantace hematopoetických kmenových buněk

Hematopoetická kmenová buňka má pozoruhodnou vlastnost samoobnovující se buňky, která produkuje enzymy. Vylučuje deficitní enzym a kolonizuje tkáň s deficitem enzymu, to umožňuje konstantní výměnu mezibuněčných enzymů. Hlavními zdroji kmenových buněk jsou kostní dřeň, periferní krev a pupečnicková krev. [45]

Transplantace kostní dřeně u dospívajících pacientů byla nahrazena transplantací kmenových buněk periferní krve kvůli jednoduchosti odběru dárců. Transplantace buněk z periferní krve je spojena s menšími komplikacemi a lepšími výsledky. Mezi lepší výsledky patří snížená hematologická a imunitní odpověď, menší potřeba antibiotik, kratší pobyt v nemocnici a menší nežádoucí účinky u dárce. U dospělých pacientů je však preferovaným zdrojem kostní dřeň, protože v tomto případě je menší výskyt reakce štěpu proti hostiteli.

Nepříbuzná pupečnicková krev je zdrojem díky jejímu rychlému získání a snižuje komplikace imunitní tolerance. [48]

Transplantace hematopoetických kmenových buněk je založena na předpokladu, že transplantované buňky mohou pronikat do různých tkání a orgánů a poté produkovat dostatek enzymu ke zmírnění příznaků. Protože dárcovské buňky v těle nepřetržitě vylučují enzymy, považuje se THKB za trvalou léčbu. [41]

Klinické studie prokázaly účinnost THKB pro MPS I, II, IVA, VI a VII, ale ne pro MPS III. Míra, do jaké je léčba účinná, závisí na věku pacienta, stádiu onemocnění v době zákroku, typu MPS a typu dárce. THKB může zlepšit klinické projevy MPS, jako jsou pohyblivost kloubů, zrak, sluch, kardiopulmonální funkce, hrubé obličejové rysy, obstrukce horních cest dýchacích, respirační funkce a hepatosplenomegalie. Není však schopna významně zlepšit klinické projevy onemocnění v kostech, rohovce, abnormality srdečních chlopní nebo jakékoli předchozí kognitivní a intelektuální účinky onemocnění. [41, 48]

Pro většinu MPS není THKB léčbou kurativní. Může však zpomalit progresi onemocnění a zlepšit míru přežití a kvalitu života. Nejzásadnějším faktorem pro zlepšení výsledků léčby je transplantace, která je provedena co nejdříve, nejlépe pokud je pacient stále bez příznaků. Po diagnostice MPS provedenou screeningem novorozenců mohou pacienti podstoupit transplantaci již ve dvou týdnech věku. [45]

Pro zlepšení klinických výsledků lze THKB kombinovat s EST, genovou terapií, terapií redukcí substrátu, protizánětlivými látkami a molekulami, které zvyšují propustnost hematoencefalické bariéry (HEB). [45]

Hlavním omezením THKB je odmítnutí transplantátů navzdory shody dárců, avšak vyskytuje se vzácně. Mezi další nevýhody patří časově náročný proces hledání přijatelného dárce pro transplantaci a také úmrtnost a nemocnost související s transplantací. Pokrok v medicíně však umožňuje snížení rizik úmrtnosti. [41, 48]

Velkou výhodou THKB oproti EST je, že dárcovské buňky mohou procházet HEB a diferencovat se, a tím zlepšovat neurologické poškození. Repopulace CNS je však velmi pomalý proces, který obvykle trvá několik měsíců, proto je potřeba včasné podání THKB. Bylo prokázáno, že THKB zlepšuje poškození CNS u MPS I, II, a VII. Mezi další výhodou THKB patří jednorázový postup, který umožňuje příjemci mít nepřetržitý zdroj enzymu a také rychlou

clearance GAG. Uvádí se, že THKB vede k lepší metabolické korekci ve srovnání s použitím EST. [45, 48]

5.2 Enzymová substituční terapie

Enzymová substituční terapie zavádí funkční enzym přímo do těla pacienta, který je absorbován do buňky membránovými receptory a nahrazuje katalytický účinek chybějícího nebo nefunkčního lysozomálního enzymu. To vede ke snížení akumulace GAG ve vnitřních orgánech a srdci a vede ke snížení nebo normalizaci vylučování GAG močí. EST zlepšuje pohyblivost kloubů a respirační funkce. Na druhou stranu se ukázalo, že má omezený dopad na jiné tkáně a orgány, jako jsou srdeční chlopně, kosti a rohovka. [45, 49]

Stejně jako THKB zaznamenaly klinické studie pozitivní výsledky EST u MPS I, II, IVA, VI a VII. U pacientů s MPS III jsou výsledky neuspokojivé, protože MPS III je speciální typ MPS, který zahrnuje hlavně onemocnění centrálního nervu. Účinnost EST je snížena nízkou úrovní penetrace HEB a neúčinným dodáváním do avaskulárních tkání. Vzhledem k velké variabilitě fenotypů s různou mírou progresu a různému věku při zahájení léčby mohou být terapeutické účinky u jednotlivých pacientů velmi odlišné. [41, 50]

Pro léčbu neurologického postižení preklinické studie na zvířatech ukázaly, že proveditelné způsoby podání EST jsou založeny na přímém dodání terapeutického enzymu do mozku. Toho lze dosáhnout intraparenchymální nebo intrathekální injekcí. [49]

Nevýhodou EST je, že vyžaduje celoživotní opakované infuze příslušného exogenního enzymu. Množství enzymu, které musí být podáno k účinné léčbě všech postižených buněk, tkání nebo orgánů, může být poměrně velké a produkce tohoto množství enzymu může být velmi nákladná. Další nevýhoda spočívá v tom, že infundované enzymy mohou způsobit v těle příjemce imunitní reakci, která vede k produkci protilátek proti těmto enzymům. Protilátky jsou hlavně třídy IgG, vzácně se vyskytují IgM, a jsou schopné narušit biologickou aktivitu proteinu a tím se sníží celková účinnost léčby. [45, 48, 50]

Enzymová substituční terapie je dobře snášena a nebylo zjištěno žádné zvýšené riziko reakce štěpu proti hostiteli nebo selhání štěpu. Proto se EST stala rutinní podpůrnou léčbou při THKB u pacientů s MPS I. Většina nežádoucích reakcí spojených s infuzí jsou mírná až střední a zahrnují vyrážku, kopřivku, angioedém, bronchokonstrikci, rýmu, horečku, nevolnost a zvracení. Dají se snadno odstranit přerušением nebo zpomalením rychlosti infuze nebo podáním antihistaminik, antipyretik, kortikosteroidů. [50]

5.3 Terapie redukcí substrátu

Zatímco cílem EST je snížit primární akumulaci GAG zvýšením jejich degradace exogenním podáváním rekombinantních enzymů, je jiný terapeutický přístup, terapie redukcí substrátu, zaměřena na snížení přebytku substrátu inhibicí jeho syntézy. Inhibitory syntézy substrátu jsou malé molekuly, které jsou schopné překonat HEB a mohou mít potenciál k léčbě postižení CNS. Malé molekuly se podávají perorálně ve formě tablet. [49]

Genistein, ze sóji odvozený isoflavon, je první molekulou, která byla identifikována jako potenciální terapeutický lék pro TRS u pacientů s MPS s neurologickými projevy. Genistein inhibuje tyrosinkinázou aktivaci receptoru epidermálního růstového faktoru, a tím inhibuje signál, který vede k transkripci enzymů odpovědných za syntézu GAG. Ačkoli genistein dosud neprokázal významné zlepšení neurologických výsledků a klinických účinků, zůstává TRS jako možnost k léčbě MPS, protože identifikace nových léků může poskytnout lepší výsledky. [41, 49]

Miglustat je iminový cukr, který inhibuje syntézu glukosylceramidu, z kterého se syntetizují gangliosidy. Gangliosidy jsou sekundárně akumulované sloučeniny u některých pacientů s MPS. Redukci sekundárních substrátů, jako jsou gangliosidy, je třeba u miglustatu ještě prozkoumat. [49]

5.4 Genová terapie

Genová terapie je zavedení terapeutického genu do buněk pacienta. Tato nová terapie je trvalá a nevyžaduje vhodného dárce, jako THKB, ani nemá omezení u HEB, jako u EST. Terapeutickým cílem je dosažení dlouhodobé genové exprese a produkce proteinů. [41, 45]

V současné době se používají dvě hlavní metody GT, terapie *in vivo* nebo *ex vivo*. U *in vivo* terapie je virus nesoucí terapeutický gen aplikován přímo do těla pacienta. Při terapii *ex vivo* je gen přenesen do somatických buněk získaných od pacienta a poté jsou buňky transplantovány zpět do těla příjemce. V tomto případě může nastat imunitní reakce na vektor nebo genové produkty. [41, 47]

In vivo GT je založena na konceptu poskytnutí funkční kopie defektního genu, který se přenáší pomocí různých virových i nevirálních vektorových systémů. Používají se retroviry, lentiviry, adenoviry a adenoasociované viry (AAV). Zjistilo se však, že retrovirové vektory jsou neúčinné kvůli krátkodobé expresi genu a nežádoucím účinkům. Nejčastěji se používají AAV vektory, protože jsou bezpečné a poskytují výrazně dlouhou expresi transgenů (přeneseného

genu). Virové vektory lze aplikovat různými způsoby podání. Přímé podání do CNS je vhodné, pokud je hlavním terapeutickým cílem CNS a virové vektory se tam dostávají přes parenchym nebo mozkomíšni mok. Při podání vektoru do mozkomíšního moku je výhodou prostup vektoru do krevního oběhu, čímž může působit i na somatické tkáně. Hlavní nevýhodou je omezená dlouhodobá genová exprese a toxicita. Dalším způsobem podání je systémová injekce, často podávána intravenózně. Tento způsob účinně cílí na somatické orgány a tkáně. [47, 51]

Ex vivo GT zahrnuje odběr a purifikaci cílových buněk, hematopoetických kmenových buněk, které jsou *in vitro* transdukovány za účelem exprese terapeutického genu. Pro GT *ex vivo* se k přenosu genů lysozomálního enzymu do buněk příjemce používají především gammaretroviry a lentiviry. Použití lentivirového vektoru je spojeno s nižším rizikem inzerční mutagenese. Preklinické studie ukázaly, že použití terapie *ex vivo* může mít terapeutický dopad na výsledek onemocnění. [47, 51]

Výběr virového vektoru pro přenos genetického materiálu do lidského těla přináší určité problémy. Počet virových vektorů dostupných pro terapeutické použití je stále omezený. Jakékoli virové vektory mohou vést k možnosti, že se v organismu vyvine imunitní odpověď. Pravděpodobnost již existující imunity proti virovému vektoru se zvyšuje s věkem pacienta, což činí terapii neúčinnou. [47]

Genová terapie pro MPS zatím není v klinické praxi schválena. Je slibným přístupem k léčbě genetických poruch, jako je MPS, a zkoumá se již tři desetiletí. Preklinické studie již prokázaly potenciální přínos GT na několika myších modelech s MPS. Studují se také nové technologie, jako je editace genomu zprostředkovaná nukleázami se zinkovými prsty. [47, 51]

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce je literární rešerší zabývající se tématem Mukopolysachridóza. Práce je zaměřená na obecnou charakteristiku onemocnění, popis mukopolysacharidů a jednotlivých typů MPS. Větší pozornost je věnována popisu klinických obrazů třech nejznámějších typů MPS, diagnostice onemocnění a možnostmi léčby.

Mukopolysacharidóza je vzácné dědičné onemocnění provázené akumulací mukopolysacharidů v různých tkáních a orgánech, která vede k závažným a život ohrožujícím patologiím. Mukopolysacharidy, nazývané také jako glykosaminoglykany, jsou negativně nabitě polysacharidové sloučeniny složené z opakujících se disacharidových jednotek, které jsou přítomny v každé savčí tkáni. Jejich funkce v těle jsou určeny molekulární strukturou. GAG hrají klíčovou roli v řadě biochemických procesů, mezi něž patří regulace buněčného růstu a proliferace, podpora buněčné adheze, antikoagulace a hojení ran. Všechny typy MPS jsou charakterizovány deficitem lysozomálních enzymů potřebných pro metabolismus GAG.

Pacienti s MPS mají často nízkou kvalitu a krátkou délku života a vyžadují včasnou léčbu. Diagnóza onemocnění je však obvykle zpožděna, dokud se neobjeví nevratné klinické příznaky. Léčba MPS znamená zpomalení progresu onemocnění a zlepšení kvality života. V současné době jsou pro pacienty k dispozici transplantace hematopoetických kmenových buněk a enzymová substituční terapie, které jsou účinné u MPS I, II, IVA, VI a VII. Genová terapie a terapie redukcí substrátu jsou novějšími navrhovanými možnostmi léčby, které mají velký potenciál v léčbě, avšak stále ještě u nich probíhají klinické studie.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] MALINOVÁ, Věra a Tomáš HONZÍK. Lysosomální onemocnění - současné možnosti diagnostiky a terapie (dokončení): Lysosomal storage diseases: current diagnostic and therapeutic options (continued). *Pediatric pro praxi* [online]. Olomouc: Solen, 2013, **14**(3), 157-160 [cit. 2020-10-19]. ISSN 1803-5264. Dostupné z: <https://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2013/03/03.pdf>
- [2] Mucopolysaccharidoses fact sheet. *National institute of neurological disorders and stroke* [online]. 2019 [cit. 2020-10-19]. Dostupné z: <https://www.ninds.nih.gov/Disorders/Patient-Caregiver-Education/Fact-Sheets/Mucopolysaccharidoses-Fact-Sheet>
- [3] MICHALS MATALON, Kimberlee a Reuben MATALON. Mucopolysaccharidoses. *Encyclopedia of the neurological sciences* [online]. Elsevier, 2014, 135-138 [cit. 2020-10-19]. ISBN 9780123851574. DOI:10.1016/B978-0-12-385157-4.00105-6 Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123851574001056>
- [4] BUKHARI, Marwan A. S. Mucopolysaccharidoses. *Rheumatology* [online]. Elsevier, 2015, 1711-1714 [cit. 2020-10-19]. DOI:10.1016/B978-0-323-09138-1.00208-4 Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323091381002084>
- [5] MICHALÍK, Jan, Jiří ZEMAN, Lenka VITNEROVÁ a kol. *Mukopolysacharidóza* [online]. Olomouc, 2010 [cit. 2020-10-20]. ISBN 978-80-86417-11-0. Dostupné z: <https://svp-vzacnaonemocneni.cz/portal/wp-content/uploads/4-Mukopolysacharidoza.pdf>
- [6] MATALON, Reuben a Kimberlee MICHALS MATALON. Mucopolysaccharidoses. *Encyclopedia of the neurological sciences* [online]. Elsevier, 2003, 237-241 [cit. 2020-10-20]. ISBN 9780122268700. DOI:10.1016/B0-12-226870-9/01991-2 Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B0122268709019912>
- [7] POUPĚTOVÁ, Helena, Jana LEDVINOVÁ, Linda BERNÁ a kol. The birth prevalence of lysosomal storage disorders in the Czech Republic: comparison with data in different populations. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online]. 2010, **33**(4), 387-396 [cit. 2020-10-20]. ISSN 0141-8955. DOI:10.1007/s10545-010-9093-7 Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1007/s10545-010-9093-7>
- [8] HERZOG, Roland W., ZOLOTUKHIN, Sergei, ed. Lysosomal storage diseases. *A guide to human gene therapy* [online]. World Scientific, 2010 [cit. 2020-10-20]. ISBN 9814280909. Dostupné z: https://app.knovel.com/web/view/khtml/show.v/rcid:kpGHGT0002/cid:kt009XEQ42/viewerType:khtml/root_slug:guide-human-gene-therapy/url_slug:lysosomal-storage-diseases?b-q=mucopolysaccharidosis&sort_on=default&b-subscription=true&b-group-by=true&page=3&b-sort-on=default&b-content-type=all_references&include_synonyms=no&view=collapsed&zoom=1&q=mucopolysaccharidosis
- [9] SCHIFFMANN, Raphael. *Mucopolysaccharidoses* [online]. MedLink Neurology, 1993, updated 2020 [cit. 2020-10-20]. Dostupné z: <https://www.medlink.com/article/mucopolysaccharidoses>

- [10] JEANMONOD, Rebecca, Edinen ASUKA a Donald JEANMONOD. Inborn errors of metabolism. *StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2020 [cit. 2020-10-20]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459183/>
- [11] CASALE, Jarett a Jonathan S. CRANE. Biochemistry, Glycosaminoglycans. *StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2020 [cit. 2020-10-26]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544295/>
- [12] MULLOY, Barbara, ed. *Glycosaminoglycans and proteoglycans* [online]. MDPI - Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 2018 [cit. 2020-10-26]. ISBN 9783038428350. Dostupné z: <https://www.doabooks.org/doi/func=search&query=rid:27255>
- [13] FULLER, Maria, Peter J. MEIKLE a John J. HOPWOOD. Glycosaminoglycan degradation fragments in mucopolysaccharidosis I. *Glycobiology* [online]. 2004, **14**(5), 443-450 [cit. 2020-10-26]. ISSN 1460-2423. DOI:10.1093/glycob/cwh049 Dostupné z: <https://academic.oup.com/glycob/article-lookup/doi/10.1093/glycob/cwh049>
- [14] WRAITH, James Edmond. Mucopolysaccharidoses. *Emery and rimoin's principles and practice of medical genetics* [online]. Elsevier, 2013, 1-40 [cit. 2020-10-20]. ISBN 9780123838346. DOI:10.1016/B978-0-12-383834-6.00107-5 Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780123838346001075>
- [15] Mucopolysaccharidoses. *National Organization for Rare Disorders* [online]. c2020 [cit. 2021-02-22]. Dostupné z: <https://rarediseases.org/rare-diseases/mucopolysaccharidoses/>
- [16] KUGLER, Mary, RN. Hurler syndrome (MPS I Disease) symptoms and treatment. *Verywellhealth* [online]. New York: Dotdash, c2020, 2020 [cit. 2020-10-27]. Dostupné z: <https://www.verywellhealth.com/hurler-syndrome-mps-i-2860929>
- [17] KUGLER, Mary, RN. Hunter syndrome symptoms and treatment: A rare genetic condition that mostly affects males. *Verywellhealth* [online]. New York: Dotdash, c2020, 2019 [cit. 2020-10-27]. Dostupné z: <https://www.verywellhealth.com/hunter-syndrome-2860353>
- [18] Mucopolysaccharidosis type II. *MedlinePlus: Trusted health information for you* [online]. Bethesda, updated 2020 [cit. 2020-10-27]. Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/mucopolysaccharidosis-type-ii/#description>
- [19] What is Sanfilippo Syndrome? *Team sanfilippo foundation* [online]. New York, c2020 [cit. 2020-10-29]. Dostupné z: <https://teamsanfilippo.org/what-is-sanfilippo-syndrome>
- [20] Sanfilippo Syndrome Types A, B, C, and D (MPS III). *The medical biochemistry page* [online]. c2020 [cit. 2020-10-29]. Dostupné z: <https://themedicalbiochemistrypage.org/sanfilippo-syndrome-types-a-b-c-and-d-mps-iii/>
- [21] Mucopolysaccharidosis type IV. *MedlinePlus: Trusted health information for you* [online]. Bethesda, updated 2020 [cit. 2020-10-29]. Dostupné z: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/mucopolysaccharidosis-type-iv/>
- [22] SAWAMOTO, Kazuki, José ÁLVAREZ GONZÁLEZ, Matthew PIECHNIK a kol. Mucopolysaccharidosis IVA: Diagnosis, treatment, and management. *International journal of molecular sciences* [online]. 2020, **21**(4), 1-26 [cit. 2020-11-02]. ISSN 1422-

0067. DOI:10.3390/ijms21041517 Dostupné z: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/4/1517>
- [23] ENTCHEV, Eugeni, Ingrid JANTZEN, Philippe MASSON a kol, FOURNEL-GIGLEUX, Sylvie, ed. Odiparcil, a potential glycosaminoglycans clearance therapy in mucopolysaccharidosis VI—Evidence from in vitro and in vivo models. *PLOS ONE* [online]. 2020, **15**(5), 1-22 [cit. 2020-11-03]. ISSN 1932-6203. DOI:10.1371/journal.pone.0233032 Dostupné z: <https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0233032>
- [24] VALAYANNOPOULOS, Vassili, Helen NICELY, Paul HARMATZ a kol. Mucopolysaccharidosis VI. *Orphanet journal of rare diseases* [online]. 2010, **5**(5), 1-20 [cit. 2020-11-03]. ISSN 1750-1172. DOI:10.1186/1750-1172-5-5 Dostupné z: <https://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-5-5>
- [25] MONTAÑO, Adriana M., Ngu LOCK-HOCK, Robert D. STEINER a kol. Clinical course of sly syndrome (mucopolysaccharidosis type VII). *Journal of medical genetics* [online]. 2016, **53**(6), 403-418 [cit. 2020-11-03]. ISSN 0022-2593. DOI:10.1136/jmedgenet-2015-103322 Dostupné z: <https://jmg.bmj.com/lookup/doi/10.1136/jmedgenet-2015-103322>
- [26] MORRISON, Alexandra, Esmee OUSSOREN, Tabea FRIEDEL a kol. Pathway to diagnosis and burden of illness in mucopolysaccharidosis type VII – a European caregiver survey. *Orphanet journal of rare diseases* [online]. 2019, **14**(1), 1-11 [cit. 2020-11-03]. ISSN 1750-1172. DOI:10.1186/s13023-019-1233-z Dostupné z: <https://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13023-019-1233-z>
- [27] FENZL, Carlton R., Kyla TERAMOTO a Majid MOSHIRFAR. Ocular manifestations and management recommendations of lysosomal storage disorders I: mucopolysaccharidoses. *Clin ophthalmol* [online]. 2015, **9**(1), 1633–1644 [cit. 2020-11-05]. DOI:10.2147/OPHT.S78368 Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4567234/>
- [28] Mucopolysaccharidosis Type IX. *DoveMed* [online]. 2016 [cit. 2020-11-05]. Dostupné z: <https://www.dovemed.com/diseases-conditions/mucopolysaccharidosis-type-ix/>
- [29] CLARKE, Lorne A. Mucopolysaccharidosis type I. *GeneReviews®* [online]. Seattle: University of Washington, 2002 [updated 2016], 1-27 [cit. 2020-11-11]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1162/>
- [30] KUBASKI, Francyne, Fabiano DE OLIVEIRA POSWAR, Kristiane MICHELIN-TIRELLI a kol. Mucopolysaccharidosis Type I. *Diagnostics* [online]. 2020, **10**(3), 1-23 [cit. 2020-11-11]. ISSN 2075-4418. DOI:10.3390/diagnostics10030161 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32188113/>
- [31] HAMPE, Christiane S., Julie B. EISENGART, Troy C. LUND a kol. Mucopolysaccharidosis Type I: A Review of the Natural History and Molecular Pathology. *Cells* [online]. 2020, **9**(8), 1-26 [cit. 2020-11-11]. ISSN 2073-4409. DOI:10.3390/cells9081838 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32764324/>
- [32] ALROY, Joseph, Maria L. GARCÍA-MOLINER a Robert Edward LEE. The Pathology of the Skeleton in Lysosomal Storage Diseases. *Pathobiology of Human Disease* [online].

- Elsevier, 2014, 874-892 [cit. 2020-11-11]. ISBN 9780123864574. DOI:10.1016/B978-0-12-386456-7.03112-9 Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386456-7.03112-9>
- [33] GIUGLIANI, Roberto, Andressa FEDERHEN, Maria Verônica MUÑOZ ROJAS a kol. Mucopolysaccharidosis I, II, and VI: brief review and guidelines for treatment. *Genetics and Molecular Biology* [online]. 2010, **33**(4), 589-604 [cit. 2020-11-11]. ISSN 1678-4685. DOI:10.1590/S1415-47572010005000093 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21637564/>
- [34] SCARPA, Maurizio. Mucopolysaccharidosis Type II. *GeneReviews*® [online]. Seattle: University of Washington, 2007, 1-20 [updated 2018] [cit. 2020-11-18]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1274/>
- [35] STAPLETON, Molly, Francyne KUBASKI, Robert W. MASON a kol. Presentation and treatments for Mucopolysaccharidosis Type II (MPS II; Hunter Syndrome). *Expert Opinion on Orphan Drugs* [online]. 2017, **5**(4), 295-307 [cit. 2020-11-18]. ISSN 2167-8707. DOI:10.1080/21678707.2017.1296761 Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5693349/>
- [36] SAURABH, Gaiind, Harish S. KRISHNAMOORTHY, Srk NANDAN a kol. Hunter's syndrome: A case report. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry* [online]. 2015, **33**(1), 66-68 [cit. 2020-11-18]. ISSN 0970-4388. DOI:10.4103/0970-4388.149011 Dostupné z: <http://www.jisppd.com/text.asp?2015/33/1/66/149011>
- [37] HASHMI, Mydah S. a Vikas GUPTA. Mucopolysaccharidosis Type II. *StatPearls* [online]. Treasure Island: StatPearls Publishing, 2020 [cit. 2020-11-18]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560829/>
- [38] ANDRADE, Fernando, Luis ALDÁMIZ-ECHEVARRÍA, Marta LLARENA a kol. Sanfilippo syndrome: Overall review. *Pediatrics International* [online]. 2015, **57**(3), 331-338 [cit. 2021-02-16]. ISSN 13288067. DOI:10.1111/ped.12636 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25851924/>
- [39] WAGNER, Victoria F. a Hope NORTHRUP. Mucopolysaccharidosis Type III. *GeneReviews*® [online]. Seattle: University of Washington, 2019, 1-23 [cit. 2021-02-16]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK546574/>
- [40] BENETÓ, Noelia, Lluïsa VILAGELIU, Daniel GRINBERG a kol. Sanfilippo Syndrome: Molecular Basis, Disease Models and Therapeutic Approaches. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, **21**(21), 1-20 [cit. 2021-02-16]. ISSN 1422-0067. DOI:10.3390/ijms21217819 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33105639/>
- [41] ZHOU, Jing, Jing LIN, Wing Ting LEUNG a kol. A basic understanding of mucopolysaccharidosis: Incidence, clinical features, diagnosis, and management. *Intractable & Rare Diseases Research* [online]. 2020, **9**(1), 1-9 [cit. 2021-02-16]. ISSN 2186-361X. DOI:10.5582/irdr.2020.01011 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32201668/>
- [42] VALSTAR, Marlies J., George J. G. RUIJTER, Otto P. VAN DIGGELEN a kol. Sanfilippo syndrome: A mini-review. *Journal of Inherited Metabolic Disease* [online].

- 2008, **31**(2), 240-252 [cit. 2021-02-16]. ISSN 0141-8955. DOI:10.1007/s10545-008-0838-5 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18392742/>
- [43] LEHMAN, Thomas J. A., Nicole MILLER, Becky NORQUIST a kol. Diagnosis of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology* [online]. 2011, **50**(5), 41-48 [cit. 2021-02-24]. ISSN 1462-0324. DOI:10.1093/rheumatology/ker390 Dostupné z: https://academic.oup.com/rheumatology/article/50/suppl_5/v41/1778437
- [44] KUBASKI, Francyne, Fabiano de Oliveira POSWAR, Kristiane MICHELIN-TIRELLI a kol. Diagnosis of Mucopolysaccharidoses. *Diagnostics* [online]. 2020, **10**(3), 1-21 [cit. 2021-02-25]. ISSN 2075-4418. DOI:10.3390/diagnostics10030172 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32235807/>
- [45] POSWAR, Fabiano de Oliveira, Filippo VAIRO, Maira BURIN a kol. Lysosomal diseases: Overview on current diagnosis and treatment. *Genetics and Molecular Biology* [online]. 2019, **42**(1), 165-177 [cit. 2021-02-25]. ISSN 1678-4685. DOI:10.1590/1678-4685-gmb-2018-0159 Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6687355/>
- [46] DONATI, Maria Alice, Elisabetta PASQUINI, Marco SPADA a kol. Newborn screening in mucopolysaccharidoses. *Italian Journal of Pediatrics* [online]. 2018, **44**(2), 25-34 [cit. 2021-02-25]. ISSN 1824-7288. DOI:10.1186/s13052-018-0552-3 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30442156/>
- [47] SAWAMOTO, Kazuki, Hui-Hsuan CHEN, Carlos J. ALMÉCIGA-DÍAZ a kol. Gene therapy for Mucopolysaccharidoses. *Molecular Genetics and Metabolism* [online]. 2018, **123**(2), 59-68 [cit. 2021-03-26]. ISSN 10967192. DOI:10.1016/j.ymgme.2017.12.434 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29295764/>
- [48] TAYLOR, Madeleine, Shaukat KHAN, Molly STAPLETON a kol. Hematopoietic Stem Cell Transplantation for Mucopolysaccharidoses: Past, Present, and Future. *Biology of Blood and Marrow Transplantation* [online]. 2019, **25**(7), 226-246 [cit. 2021-03-26]. ISSN 10838791. DOI:10.1016/j.bbmt.2019.02.012 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30772512/>
- [49] FECAROTTA, Simona, Serena GASPERINI a Giancarlo PARENTI. New treatments for the mucopolysaccharidoses: from pathophysiology to therapy. *Italian Journal of Pediatrics* [online]. 2018, **44**(2), 135-143 [cit. 2021-03-26]. ISSN 1824-7288. DOI:10.1186/s13052-018-0564-z Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30442204/>
- [50] PARINI, Rossella a Federica DEODATO. Intravenous Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidoses: Clinical Effectiveness and Limitations. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, **21**(8), 1-30 [cit. 2021-03-26]. ISSN 1422-0067. DOI:10.3390/ijms21082975 Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32340185/>
- [51] FRALDI, Alessandro, Marta SERAFINI, Nicolina Cristina SORRENTINO a kol. Gene therapy for mucopolysaccharidoses: in vivo and ex vivo approaches. *Italian Journal of Pediatrics* [online]. 2018, **44**(2), 145-154 [cit. 2021-03-26]. ISSN 1824-7288. DOI:10.1186/s13052-018-0565-y Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30442177/>