

# Lizosomske bolesti nakupljanja

---

**Tkalčić, Magdalena**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2023**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:400519>

*Rights / Prava:* [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-15**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Magdalena Tkalčić

## **Lizosomske bolesti nakupljanja**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Magdalena Tkalčić

# **Lysosomal storage diseases**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Biologije na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod mentorstvom izv. prof. dr. sc. Maje Matulić.

---

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Lizosomske bolesti nakupljanja

Magdalena Tkalčić

Ravnice 48, 10000 Zagreb, Hrvatska

Lizosomi su organeli uključeni u razgradnju tvari unutar stanice, a osim toga imaju bitnu ulogu u održavanju homeostaze. Razgradnja hranjivih tvari je složen proces u koji je uključeno oko 60 vrsta različitih enzima. Ako postoji greška i u jednom koraku procesa može doći do nakupljanja nerazgrađenih tvari što može poremetiti normalnu funkciju različitih tkiva i organa. Lizosomske bolesti nakupljanja su nasljedne bolesti i nastaju zbog mutacija u genima bitnim za sintezu enzima uključenih u razgradnju tvari. Mogu se podijeliti na nekoliko načina, a u ovome radu opisane su prema supstratu koji se nakuplja u stanici i prema vrsti enzima poremećene funkcije. Tehnike dijagnosticiranja i liječenja lizosomskih bolesti nakupljanja napredovale su posljednjih godina, a danas se baziraju na detekciji mutacija i razvoju genske terapije.

**Ključne riječi:** lizosom, mukopolidoza II, nasljedne bolesti, lizosomske bolesti nakupljanja, metabolizam

(22 stranica, 6 slika, 0 tablica, 35 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv. prof. dr. sc. Maja Matulić

# BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

## Lysosomal storage diseases

Magdalena Tkalčić

Ravnice 48, 10000 Zagreb, Croatia

Lysosomes are organelles involved in the breakdown of substances inside the cell and play an important role in maintaining homeostasis. The breakdown of nutrients is a complex process involving about 60 different enzymes. If there is an error even in one step of the process, undegraded substances can accumulate, leading to disruption of the normal function of various tissues and organs. Lysosomal storage diseases are inherited diseases and are caused by mutations in genes essential for the synthesis of enzymes involved in the breakdown of different substances. They can be divided in several ways. In this thesis they are presented according to the substrate that accumulates in the cell and according to the enzyme affected. Techniques for diagnosing and treating lysosomal storage diseases have advanced a lot in the latest years, and today they are based on gene mutation detection and development of the gene therapy.

**Keywords:** lysosome, mucopolipidosis II, hereditary diseases, lysosomal storage diseases, metabolism

(22 pages, 6 figures, 0 tables, 35 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: dr. sc. Maja Matulić, Assoc. prof.

# Sadržaj

<b>1. UVOD .....</b>	<b>1</b>
<b>2. LIZOSOMI.....</b>	<b>2</b>
2.1. NASTANAK ENDOSOMA .....	4
<b>3. MOLEKULARNA OSNOVA LIZOSOMSKIH BOLESTI NAKUPLJANJA .....</b>	<b>8</b>
3.1 MUKOLIPIDOZA II ILI BOLEST I .....	8
3.2. PODJELA LIZOSOMSKIH BOLESTI NAKUPLJANJA S OBZIROM NA SUPSTRATE .....	10
<b>4. TEHNIKE DIJAGNOSTICIRANJA .....</b>	<b>14</b>
<b>5. LIJEČENJE.....</b>	<b>16</b>
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>18</b>
<b>7. LITERATURA .....</b>	<b>20</b>

# 1. Uvod

Lizosomi su organeli, prvi puta otkriveni 1950-ih, koji predstavljaju ključna središta za unutarstaničnu razgradnju i procese recikliranja tvari (Nowosad i Besson 2022). Sadrže niz enzima koji kataliziraju hidrolitičko cijepanje različitih makromolekula. Unutrašnjost lizosoma karakterizira kiseli pH, koji se održava mehanizmima protonske pumpe koji osiguravaju optimalnu aktivnost ovih enzima. Ovo mikrookruženje omogućuje lizosomima da učinkovito sudjeluju u razgradnji složenih molekula kao što su proteini, lipidi, nukleinske kiseline i ugljikohidrati (Alberts i sur. 2022). Lizosomi igraju ključnu ulogu u staničnoj homeostazi recikliranjem hranjivih tvari i razgradnjom neželjenih staničnih komponenti autofagijom. Ako i jedna komponenta lizosoma ima grešku, može doći do teških i ozbiljnih poremećaja nakupljanja (Gieselmann 1995).

Lizosomske bolesti nakupljanja obuhvaćaju heterogenu skupinu nasljednih metaboličkih poremećaja karakteriziranih nenormalnim nakupljanjem neprobavljenih supstrata unutar lizosoma (Sun 2018). Ovi poremećaji proizlaze iz genetskih mutacija koje ometaju aktivnost i stabilnost lizosomskih enzima ili oštećuju proteine lizosomske membrane, što rezultira nefunkcionalnim putovima lizosomske razgradnje (Donida i sur. 2017). Posljedično, nakupljanje supstrata ometa stanične funkcije i dovodi do širokog raspona kliničkih manifestacija. Klinička slika lizosomskih bolesti nakupljanja je raznolika i može utjecati na više organskih sustava (Fumić i sur. 2004). Neurološki simptomi, uključujući sporiji mentalni razvoj, epileptičke napadaje i poremećaje kretanja, često se opažaju kod poremećaja kao što su Tay-Sachsova i Niemann-Pickova bolest te mukopolisaharidoza (MPS) (Leal i sur. 2023). Ostale bolesti, kao što su Gaucherova i Fabryjeva bolest, uglavnom pokazuju simptome uvećanja jetre i slezene, te hematološkim i kardiovaskularnim poremećajima (Sun 2018). Poremećaji kostura, problemi s vidom i respiratorni poremećaji također se mogu pojaviti kod pojedinih bolesti (Gieselmann 1995). Točna i pravovremena dijagnoza lizosomskih bolesti nakupljanja presudna je za učinkovito liječenje (Platt i sur. 2018). Dijagnoza često uključuje kombinaciju kliničke procjene, biokemijskog testiranja i genetske analize (Jiang i sur 2020). Napredak u molekularnoj genetici, uključujući tehnologije sekvenciranja sljedeće generacije, značajno je poboljšao dijagnostičke mogućnosti, omogućujući prepoznavanje mutacija koje uzrokuju bolest i ranu intervenciju (Kido i sur. 2023). Razumijevanje patofiziologije lizosomskih bolesti nakupljanja na staničnoj i molekularnoj razini ostaje aktivno područje istraživanja. Cilj ovog rada je napraviti pregled lizosomskih bolesti nakupljanja te metoda njihove dijagnoze i liječenja.

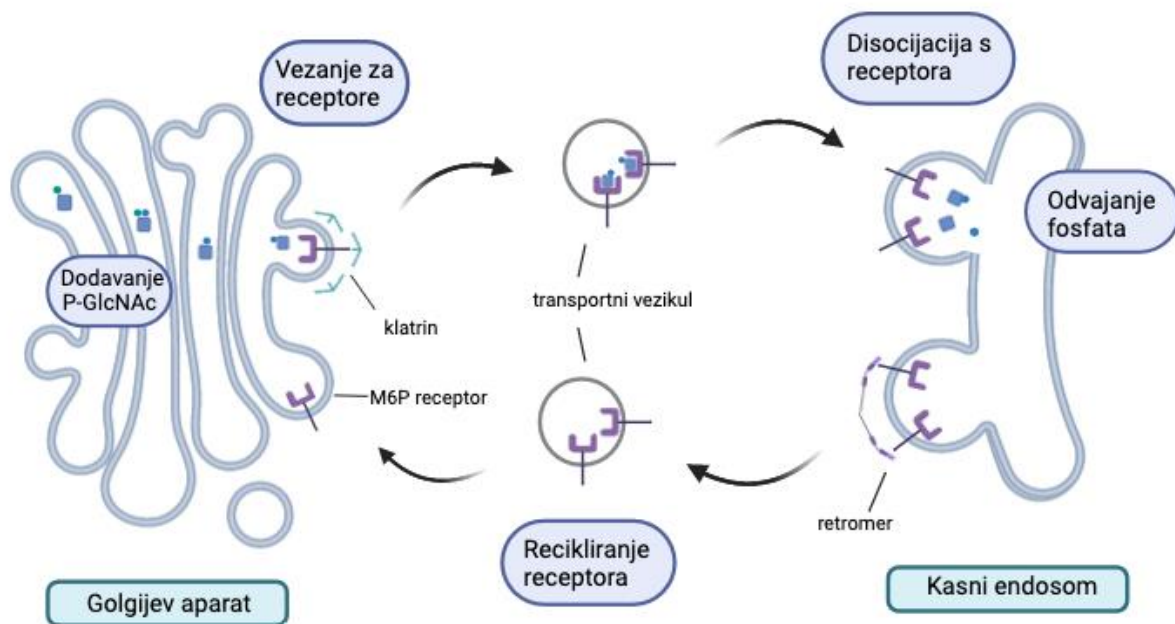


## 2. Lizosomi

Metabolizam u životinjskim stanicama obuhvaća zamršenu mrežu biokemijskih reakcija koje se odvijaju kako bi se održao život, potaknuo rast i održale stanične funkcije. Ovaj složeni proces uključuje dvije temeljne komponente: katabolizam i anabolizam (Alberts i sur. 2022). Katabolizam uključuje razgradnju složenih molekula, kao što su ugljikohidrati, lipidi i proteini, u manje jedinice, oslobađajući energiju u obliku adenzin trifosfata (ATP). Ta se energija koristi za pokretanje raznih staničnih aktivnosti. Anabolizam, s druge strane, obuhvaća sintezu složenih molekula iz jednostavnijih, za što je potreban unos energije (Cooper 2019). Ovi metabolički putovi strogo su regulirani kako bi odgovorili na energetske zahtjeve stanice i okolišne signale. Zajedno, metabolizam upravlja proizvodnjom energije, iskorištavanjem hranjivih tvari i sintezom molekula, tvoreći biokemijski temelj neophodan za funkcionalnost i preživljavanje životinjskih stanica (Cooper 2019).

Metabolizam stanica usko je povezan s lizosomima. Oni su sastavne komponente animalnih stanica te predstavljaju središnje organele koji upravljaju procesima unutarstanične razgradnje i recikliranja (Gieselmann 1995). Lizosomi su mjesto susreta različitih intracelularnih puteva prometa: nastaju sazrijevanjem kasnih endosoma, fagosoma, vezikula nastalih makropinocitozom, kao i autofagosoma (Alberts i sur. 2022). Zatvorene lipidnom dvoslojnom membranom, ove stanične strukture poznate su po svojoj kiseloj unutrašnjosti (pH je oko 5), što je rezultat mehanizama pumpanja protona, koji kataliziraju optimalnu enzimsku aktivnost unutar svog mikrokruženja (Sun 2018). Sadrže oko 60 različitih hidrolitičkih enzima, uključujući proteaze, lipaze, glikozidaze i nukleaze, koji zajedno sudjeluju u razgradnji različitih makromolekula (Cooper 2019). Lizosomske hidrolaze sintetiziraju se na hrapavom endoplazmatskom retikulumu (ER), gdje dolazi i do njihove modifikacije glikozilacijom (Alberts i sur. 2022). Lizosomske hidrolaze imaju tzv. signalni uzorak, trodimenzionalnu strukturnu domenu koju prepoznaje N-acetilglukozamin-1-fosfotransferaza (Dogterom i sur. 2019). Procesima glikozilacije u ER i Golgiju ovi proteina dobivaju šećerne lance koji završavaju manozom. Ta se završna manozna modifikira, tako da nastaje specifični biljeg lizosomskih proteina, manozna 6-fosfat, potreban za ciljani transport u lizosome (Ranjit i Kylvat 2020). Enzim N-acetilglukozamin-1-fosfotransferaza prepoznaje njihov signalni uzorak i katalizira reakciju prijenosa N-acetilglukozamin-1-fosfata (GlcNAc-1-fosfat) na manozni ostatak te nastaje

GlcNAc-1-fosfo-6-manoza (Otomo i sur. 2009). Drugi korak se odvija u *trans* cisterni Golgijevog aparata gdje fosfodiesteraza odvaja GlcNAc te ostaje manozna 6-fosfat (M6P) (Alberts i sur. 2022). Ovako modificirani proteini pakiraju se u klatrinske vezikule na *trans* kraju Golgijevog aparata, pomoću specifičnih receptora koji prepoznaju M6P (Dogterom i sur. 2021). Ubrzo nakon odvajanja vezikule raspada se klatrinski omotač, da bi se vezikula mogla fuzionirati s kasnim endosomom. Zbog nižeg pH u kasnom endosomu hidrolaze disociraju s receptora M6P. Dodatno, fosfat se uklanja s domene M6P kako bi se osiguralo da se hidrolaze slučajno ne vrate u Golgijev aparat. Receptori za M6P se recikliraju vezikulama obavijenim tzv. retromerima, kojima se vraćaju u Golgijev aparat (Alberts i sur. 2022). Ovaj proces je prikazan Slikom 1.



**Slika 1.** Shematski prikaz procesiranja lizosomskih hidrolaza u Golgijevom aparatu i njihov prijenos u kasne endosome. Hidrolaze dolaze u Golgijev aparat iz endoplazmatskog retikuluma. Pomoću signalnog uzorka koji prepoznaje N-acetilglukozamin-1-fosfotransferaza u *cis* cisterni Golgijevog aparata dolazi do dodavanja P-GlcNAc na manozni ostatak glikolizirane hidrolaze. U drugom koraku odvaja se GlcNAc s proteina i ostaje manozna 6-fosfat koja služi kao biljeg lizosomskih proteina. Na *trans* kraju Golgijevog aparata nalaze se receptori za M6P i omogućuju pakiranje enzima u klatrinske vezikule. Nakon odvajanja vezikule dolazi do raspada klatrinskog omotača, a nakon fuzije vezikule s kasnim endosomom zbog niskog pH dolazi do disocijacije hidrolaza i receptora. Zadnji korak je odvajanje fosfata s M6P. Receptori se nakupljaju na

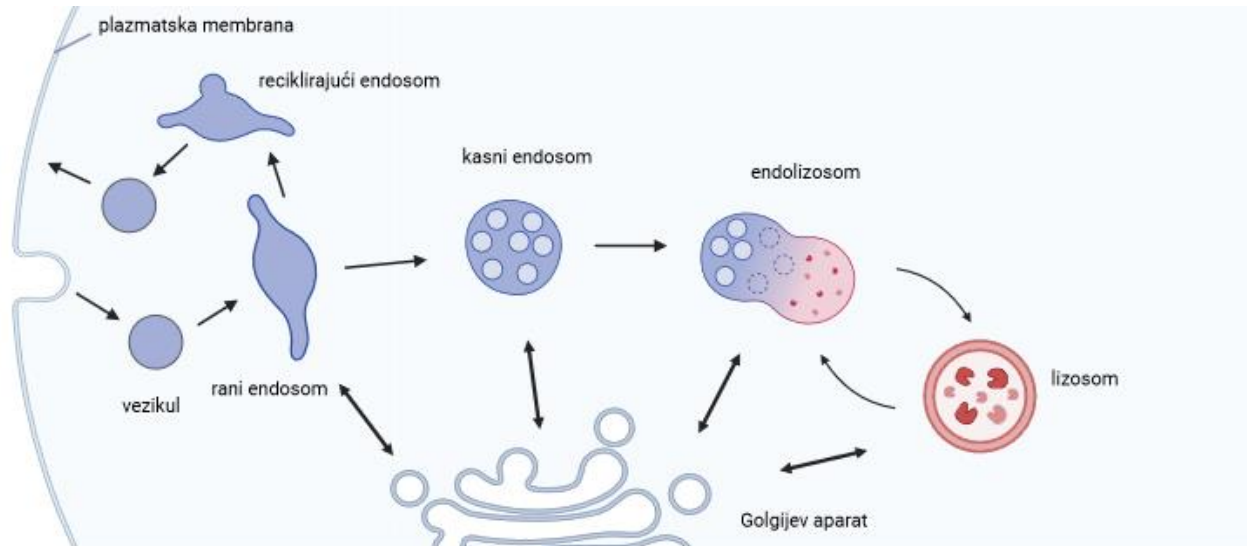
mjestima gdje se nalaze molekule retromera te se recikliraju i vraćaju natrag na membranu Golgijevog aparata. Preuzeto i prilagođeno prema Alberts i sur. 2022.

Razgradnja svakog metabolita kompleksan je i kaskadni proces. Taj sustav mora djelovati usklađeno kako bi bila osigurana pravilna razgradnja proteina, lipida, nukleinskih kiselina i ugljikohidrata kroz hidrolitičko cijepanje kovalentnih veza. Ovaj proces ne samo da pomaže u oslobađanju i pohrani stanične energije, već također osigurava pravilno procesiranje potencijalno štetnih nusproizvoda (Kohler i sur. 2018).

## 2.1. Nastanak endosoma

Tvari ulaze u stanicu procesima endocitoze, koja može biti endocitoza posredovana receptoria, endocitoza posredovana receptorima, pinocitoza i fagocitoza (Schmid i sur. 2014). Pinocitoza je „stanično pijenje“, kontinuirani proces, čiji je najbolje opisan oblik endocitoza posredovana receptorima. Pinocitozom u stanicu ulaze male molekule nutrijenata koji su topivi u vodi (Cooper 2019). Neke pinocitne vezikule nastaju na dijelovima membrane koji se nazivaju lipidnim splavima i sadrže veće koncentracije kolesterola, glikosfingolipida i specifične strukturne proteine poput kaveolina. Kaveolini su proteini uronjeni u staničnu membranu s citosolne strane. S obzirom da su integralni membranski proteini, kaveolini ne disociraju s vezikula (Alberts i sur. 2022). Fagocitoza je karakteristična za pojedine tipove stanica poput makrofaga, kojim se u stanicu unose veće čestice, poput mikroorganizama ili mrtvih stanica, a posredovana je specifičnim receptorima (Besterman i sur. 1982). Endocitoza posredovana receptorima započinje vezanjem liganda, makromolekule, za membranski receptor. Receptori mogu biti povezani i nalaziti se u jamicama obloženim klatrinom, te njihovo vezanje liganda okida nastanak vezikule s klatrinskim omotačem (Schmid i sur. 2014). Endocitozom nastaju rani endosomi, nakon „odmatanja“ klatrinskog omotača i fuzijom vezikula. Rani endosomi su sortirajući organeli, od njih se mogu odvajati vezikule kao reciklirajući endosomi koji vraćaju receptore na membranu, ili prenose sadržaj na druge dijelove stanične membrane kod polarnih stanica (transcitoza). Neki rani endosomi ili njihovi dijelovi sazrijevaju u kasne endosome. Daljnjim zakiseljavanjem i

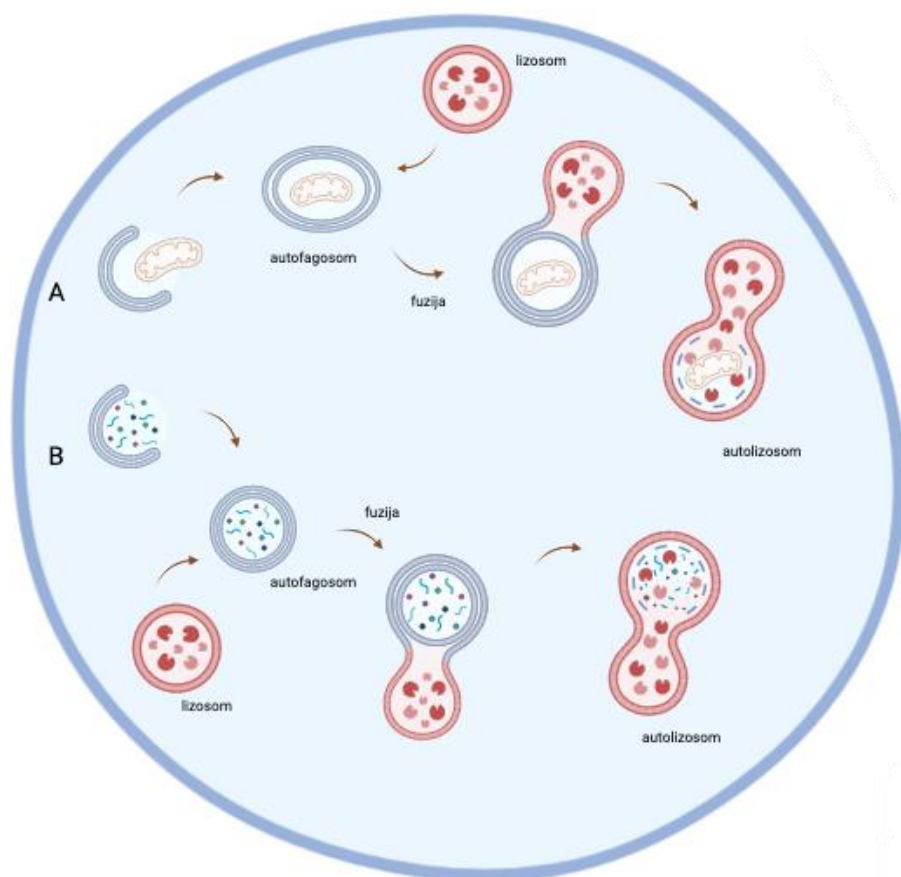
dopremom vezikula s enzimima iz Golgija, nastaju endolizosomi i kasnije lizosomi (Alberts i sur. 2022). Taj proces prikazan je Slikom 2.



**Slika 2.** Shematski prikaz endocitnog puta od plazmatske membrane do lizosoma. Na membrani se nalaze receptori za koje se vežu metaboliti i endocitozom ulaze u stanicu. Nastale vezikule su rani endosomi koji se spajaju s transportnim vezikulima koji pupaju s Golgijevog aparata. Prije maturacije kojom nastaje kasni endosom, receptori se recikliraju i vraćaju natrag na plazmatsku membranu. Maturacija uključuje dodatno zakiseljavanje čime nastaju kasni endosomi. Njihovim spajanjem s transportnim vezikulima koji sadrže lizosomske hidrolaze nastaju lizosomi. Preuzeto i prilagođeno prema Alberts i sur. 2022.

Također, lizosomi su aktivno uključeni u autofagiju, mehanizam koji olakšava razgradnju i recikliranje staničnih komponenti, osobito tijekom razdoblja nestašice hranjivih tvari ili staničnog stresa. Autofagija je proces kojim stanica razgrađuje i uklanja makromolekule, velike proteinske agregate, nepotrebne ili oštećene organele (Alberts i sur. 2022). Postoji više vrsta autofagije, autofagija posredovana šaperonima gdje se u autofagosom unose specifične makromolekule, makroautofagija i mikroautofagija (Cooper 2019). Do mikroautofagije dolazi za vrijeme staničnog stresa i nedostatka nutrijenata kada autofagosom zahvati dio citoplazme (Klionsky 2004). Makroautofagijom stanica obuhvati ciljani organel tzv. dvostrukom preautosomskom membranom koja omogućuje razgradnju cijelog organela (Alberts i sur. 2022). Još nije poznato

na koji točno način stanica označi koji organel će ući u proces autofagije ali poznata su četiri glavna koraka autofagije (Klionsky 2004). Prvo se izdužuju membrane budućeg autofagosoma i nastaje polumjesečasta struktura koja obuhvaća dio citoplazme, spajanjem membrane u cjelovitu strukturu nastaje autofagosom koji se u idućem koraku spoji s lizosomom, prikazano Slikom 3. Lizosomski enzimi zatim razgrađuju zatvoreni materijal, otpuštajući njegove sastavne molekule natrag u citosol za ponovnu upotrebu u proizvodnji energije ili sintezi novih molekula.



**Slika 3.** Shematski prikaz makroautofagije (A) i mikroautofagije (B). U oba procesa prvo nastaju membrane čijim zatvaranjem nastaje autofagosom. Autofagosom se tada fuzionira s lizosomom te nastaje autolizosom i počinje razgradnja njegovog sadržaja. Preuzeto i prilagođeno prema Alberts i sur. 2022.

Lizosomi također reguliraju stanični metabolizam kroz njihovu uključenost u senzore hranjivih tvari i signalne putove (Nowosad i Besson 2022). Mogu „osjetiti“ količinu nutrijenata, tj.

osjetljivi su na pojedine aminokiseline, pomoću kompleksa proteina koji se nalaze na površini njihove membrane, te aktiviraju kompleks mTORC1. Kompleks mTORC1 je glavni regulator staničnog metabolizma i ima sposobnost odgovoriti na širok spektar vanjskih signala poput količine aminokiselina, kisika, nutrijenata ili oštećenje DNA (Nowosad i Besson 2022). Sukladno s tim podacima mogu pokrenuti procese sinteze proteina, nukleotida i lipida ili autofagiju. U svjetlu njihovih dinamičkih funkcija, lizosomi su intrinzično povezani s nizom patofizioloških stanja (Sun 2018). Poremećaji lizosomskog skladištenja, koji proizlaze iz genetskih mutacija koje ometaju funkciju lizosomskog enzima, rezultiraju nenormalnim nakupljanjem supstrata unutar ovih organela, izazivajući staničnu disfunkciju.

### 3. Molekularna osnova lizosomskih bolesti nakupljanja

Lizosomske bolesti nakupljanja nastaju kad dolazi do akumulacije makromolekula koje ne mogu biti razgrađene u lizosomu. Postoji oko 70 poznatih bolesti, nasljedne su, prenose se uglavnom autosomno recesivno. Samo su tri vezane za X kromosom (Rajkumar i Dumpa 2022). Mogu se podijeliti u dvije osnovne skupine. U većini poremećaja, genetske mutacije dovode do sinteze nefunkcionalnih lizosomskih enzima, pa dolazi do nakupljanja njihovih supstrata, a u manjem broju dolazi do greške u transportu proteina u lizosom, što ima za posljedicu nemogućnost razgradnje većeg broja supstrata (Donida i sur. 2017). Mukolipidoza II (ML II) je bolest kod koje je nefunkcionalan enzim bitan za obilježavanje i dopremu lizosomskih proteina iz Golgija u lizosome, a posljedica toga je sekrecija lizosomskih hidrolaza u krvotok (Kudo i sur. 2006). Nakupljanje nerazgrađenih supstrata unutar stanica onemogućava normalnu funkciju stanica i može imati različite posljedice. Sve ostale bolesti se mogu podijeliti na pet skupina s obzirom na to o kojem supstratu se radi.

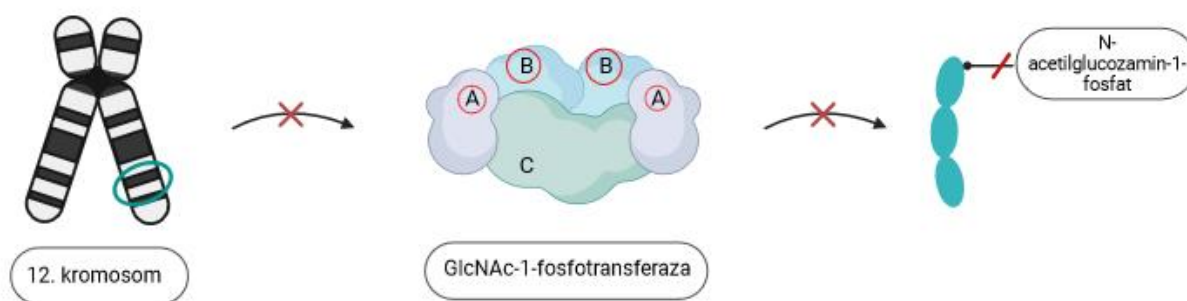
#### 3.1 Mukolipidoza II ili bolest I

Mukolipidoze su skupina od četiri tipa rijetkih nasljednih metaboličkih poremećaja koje se često dijagnosticiraju već u djetinjstvu (Dogterom i sur. 2021). Svi tipovi su svrstani pod istim nazivom, mukolipidoza, jer se simptomi preklapaju sa simptomima mukopolisaharidoza i sfingolipidoza te se mislilo da dolazi do nakupljanja isključivo mukopolisaharida i lipida u stanicama. Kasnije je, međutim, otkriveno da su to mnogo kompleksnije bolesti koje zahvaćaju više metaboličkih puteva u isto vrijeme (Otomo i sur. 2009).

Mukolipidoza II je najteži oblik mukolipidoza (Dogterom i sur. 2021), a uzrokuje ju nefunkcionalan enzim N-acetilglukozamin-1-fosfottransferaza (GlcNAc-1-fosfottransferaza) odnosno mutacija gena *GNPTAB* (Tiede i sur. 2005). Posljedica toga je izlučivanje svih lizosomskih hidrolaza u krv. Enzim GlcNAc-1-fosfottransferaza građen je od dvije alfa i dvije beta katalitičke podjedinice kodirane genom *GNPTAB* i dvije gama podjedinice koje su kodirane genom *GNPTG* i služe za prepoznavanje supstrata (Ranjit i Kylat 2020). Ovaj enzim sudjeluje u prvom koraku pripreme lizosomskih hidrolaza za transport iz Golgijevog aparata u lizosome, prikazano Slikom 4. Katalizira reakciju prijenosa N-acetilglukozamin-1-fosfata na manozni



ostatak koji se nalazi na N kraju proteina (Tiede i sur. 2005). U prvom koraku nastaje GlcNAc-1-fosfo-6-manoza, a idući korak katalizira fosfodiesteraza i konačni produkt je manozna 6-fosfat koja služi kao marker za transfer proteina u lizosom (Gieselmann 1995). Ako GlcNAc-1-fosfotransferaza ne funkcionira, lizosomske hidrolaze, koje su pravilno sintetizirane, nemaju marker pomoću kojega bi bile unesene u lizosom te se transportiraju do stanične membrane i izlučuju u krv. Tada se neprobavljene molekule nakupljaju unutar stanica i u citosolu tvore inkluzije, nakupine koje mogu biti različitih sastava, veličina i oblika; zbog toga je ovaj sindrom dobilo naziv bolest inkluzijskih stanica (Leroy i O'brien 1976). Nakupljanje tvari u stanicama dovodi do oštećenja različitih organskih sustava te su simptomi teška retardacija rasta, skeletna displazija, psihomotorna retardacija i specifične crte lica poput ispupčenih obraza, očiju i širokog nosa (Leroy i sur. 1972). Prosječni životni vijek oboljelih su dvije godine (Dogterom i sur. 2021).



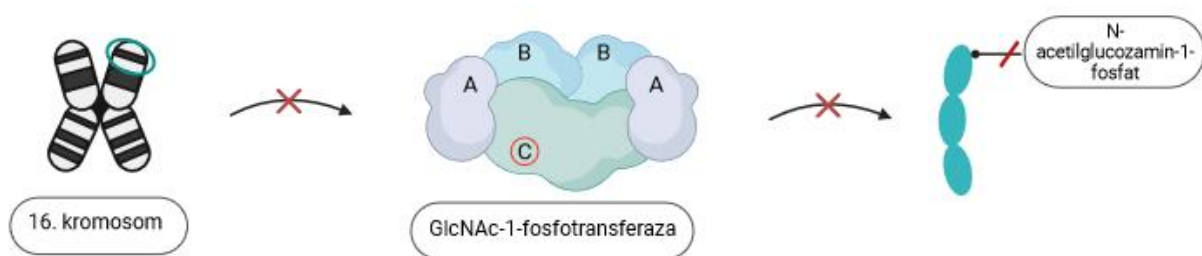
**Slika 4.** Shematski prikaz utjecaja mutacije gena *GNPTAB* na pravilno procesiranje lizosomskih hidrolaza u Golgijevom aparatu. Zelenim krugom označen je gen *GNPTAB* koji se nalazi na položaju 12q23.1, mutacija u tom genu dovodi do nepravilne sinteze alfa (označene slovom A) i beta (označene slovom B) podjedinica enzima GlcNAc-1-fosfotransferaze. Zbog neaktivnog enzima ne dolazi do transfera N-acetilglucozamin-1-fosfata na manozni ostatak koji se nalazi na N kraju hidrolaza te u konačnici ne nastaju markeri pomoću kojih bi te hidrolaze mogle ući u lizosom. To uzrokuje bolest nakupljanja mukopolisaharidozu II. Preuzeto i prilagođeno prema Alberts i sur. 2022.



### 3.2. Podjela lizosomskih bolesti nakupljanja s obzirom na supstrate

Razgradnja makromolekula je složen proces jer je za svaku funkcionalnu skupinu potreban drugi enzim te ako jedan enzim u nizu nije funkcionalan proces se ne može nastaviti. Simptomi bolesti variraju ovisno o tome u kojem koraku razgradnje je došlo do greške te zbog toga postoji velik broj poremećaja koji se mogu podijeliti na pet skupina ovisno o tome koji je metabolički put zahvaćen. Slikom 5 prikazana su različita mjesta u kojima može doći do greške. Prema vrsti supstrata dijele se na: mukolipidoze, mukopolisaharidoze, oligosaharidoze, sfingolipidoze i glikogenoze (Fumić 2004).

U slučaju mukolipidoze I dolazi do nakupljanja sialiloligosaharida zbog neaktivnog enzima alfa-N-acetil neuraminidaze koji katalizira uklanjanje terminane sialne kiseline s glikoproteina i glikolipida (Heroman i sur. 2008). Mutacija gena za gama podjedinicu enzima N-acetilglukozamin-1-fosfotransferaze (*GNPTG*) dovodi do nastanka mukolipidoze tipa III (ML III), prikazano Slikom 5. Za razliku od ML II, ML III ima širi fenotipski spektar i tri podtipa. Podtip alfa i beta su teži oblici te pacijenti umiru u djetinjstvu dok je gama lakši te je prosječni životni vijek 33 godine (Dogterom i sur. 2021). Kod mukolipidoze IV dolazi do nakupljanja mukopolisaharida i lipida unutar stanica te je zbog toga svrstana u lizosomske bolesti nakupljanja. Međutim, daljnjim istraživanjima dokazalo se da je nakupljanje tih supstrata posljedica greške u kasnom endocitnom putu (Slaugenhaupt 2002).



**Slika 5.** Shematski prikaz utjecaja mutacije gena *GNPTG* na pravilno procesiranje lizosomskih hidrolaza. Gen *GNPTG* označen je zelenim krugom i nalazi se na položaju 16p13.3, mutacija u tom genu dovodi do nepravilne sinteze gama podjedinice označene slovom C enzima GlcNAc-1-fosfotransferaze. Zbog neaktivnog enzima ne dolazi do transfera N-acetilglukozamin-1-fosfata na manozni ostatak koji se nalazi na N kraju hidrolaza te u konačnici ne nastaju markeri pomoću

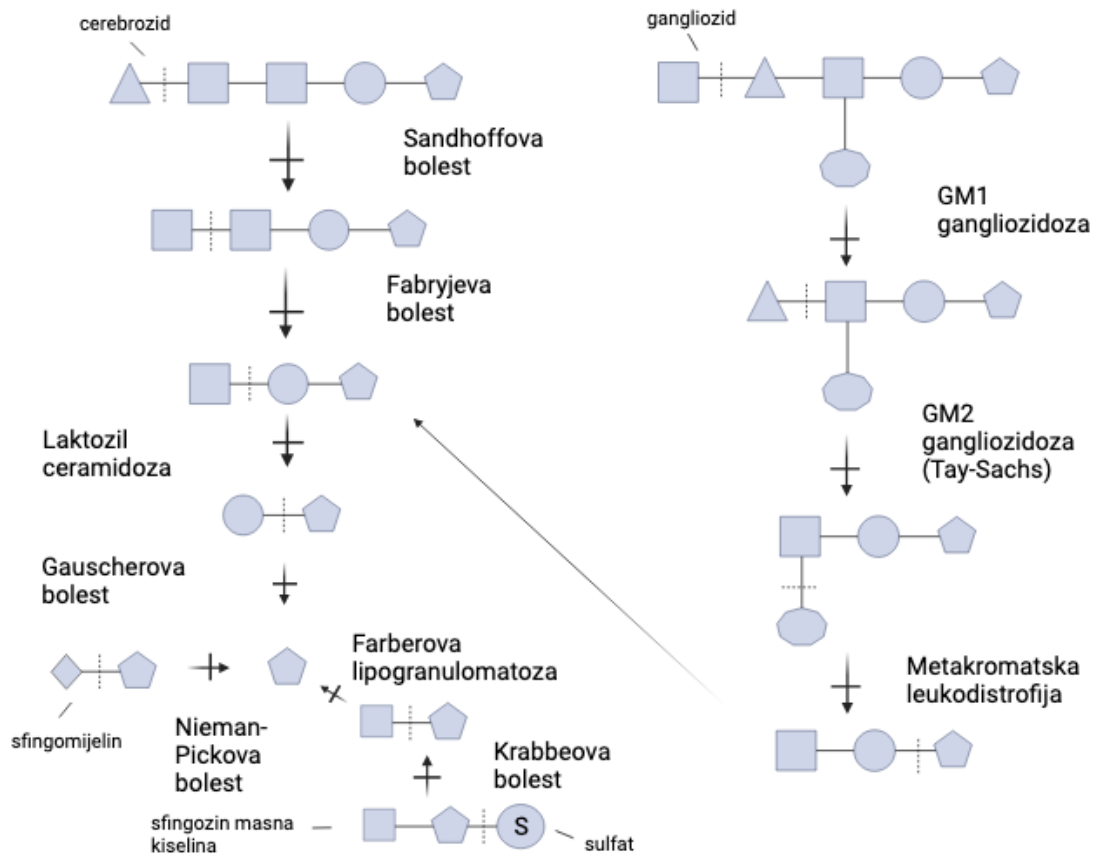
kjih bi te hidrolaze mogle ući u lizosom. To uzrokuje nastajanje mukopolidoze III. Preuzeto i prilagođeno prema Alberts i sur. 2022.

Mukopolisaharidi ili glikozaminoglikani (GAG) su kompleksni linearni ugljikohidrati klasificirani u pet skupina: heparan sulfat, dermatan sulfat, kondroitin sulfat, keratan sulfat i hijaluronska kiselina i osnovna im je funkcija izgradnja ekstracelularnog matriksa (Sun 2018). U njihovu razgradnju uključeno je nekoliko enzima. Mutacije u kodirajućim genima tih enzima dovode do nastanka mukopolisaharidoza (MPS) i ovisno o tome koji je enzim zahvaćen postoji deset tipova bolesti (Leal i sur. 2023). Hurlerov sindrom (MPS I), Hunterov sindrom (MPS II) i Sanfilippov sindrom (MPS III) su samo neke od njih. Hurlerov sindrom posljedica je mutacije gena *IDUA* koji se nalazi na X kromosomu i kodira enzim alfa-L-iduronidazu (Sun 2018). Nedostatak ovog enzima dovodi do nakupljanja heparan sulfata i dermatan sulfata u stanicama i tkivima, što uzrokuje skeletne abnormalnosti, kognitivne poteškoće, hepatosplenomegaliju (povećanje jetre i slezene) (Leal i sur. 2023). Hunterov sindrom posljedica je nedostatka enzima iduronat-2-sulfataze kodiranog genom *IDS* (Sun 2018). Izostanak tog enzima također dovodi do nakupljanja heparan sulfata i dermatan sulfata, što uzrokuje slične simptome kao i Hurlerov sindrom, ali s manje izraženim neurološkim simptomima (Leal i sur. 2023). Sanfilippov sindrom posljedica je nedostatka enzima N-acetilglukozaminidaza, heparan sulfat sulfataze, alfa-N-acetilglukozaminidaza ili N-acetilglukozaminil-1-fosfat transferaze uključenih u razgradnju heparan sulfata (Sun 2018). S obzirom da se radi o nekoliko različitih enzima postoje četiri tipa Sanfilippovog sindroma. Svi tipovi imaju iste simptome te su oni slični kao i kod Hurlerovog sindroma, ali s manje izraženim skeletnim abnormalnostima (Leal i sur. 2023). Oligosaharidi su kratki šećerni lančani spojevi prisutni u različitim tkivima i organima. Nedostatak enzima odgovornih za njihovu pravilnu razgradnju rezultira nakupljanjem tih spojeva i oštećenjem različitih organskih funkcija. Oligosaharidoze su progresivne bolesti koje dijele mnoge simptome s mukopolisaharidozama, ali se pojavljuju rjeđe i oboljeli imaju teže neurološke simptome (Fateen i sur. 2018). Poznato je sedam poremećaja vezanih za sedam različitih enzima.

Sfingolipidi su sastavni dio staničnih membrana građeni su od baze sfingozina na koju mogu biti vezane razne bočne skupine (Kolter i Sandhoff 2006). Ovisno o strukturi bočnih skupina postoje četiri vrste sfingolipida: cerebrozid, sfingomijelin, globozid i ganglioizid (West 1977). Kako bi se ove makromolekule mogle razgraditi, potrebno je prvo ukloniti bočne skupine dok završni

produkt ne postane ceramid (West 1977). Kada enzimi zaslužni za uklanjanje tih skupina ne funkcioniraju dolazi do sfingolipidoza. Sfingolipidoze su najčešće lizosomske bolesti nakupljanja i do sada je poznato 11 poremećaja (Kolter i Sandhoff 2006). Gaucherova bolest se u populaciji javlja s učestalosti od 1/40000, a kod Aškenaskih Židova čak 1/1000 (Sun 2018). Gaucherovu bolest uzrokuje nakupljanje glukozilceramida u lizosomima makrofaga zbog neaktivnog enzima glukocerebrozidaze (Kolter i Sandhoff 2006). To nakupljanje najviše utječe na jetru, slezenu i koštanu srž te su simptomi hepatosplenomegalija, spor rast djeteta, bol u kostima i anemija. Postoje tri tipa bolesti, tip I ne uzrokuje posljedice u mentalnom razvoju djeteta dok tipovi II i III imaju kao posljedicu mentalnu retardaciju (Sun 2018). Fabryjeva bolest je rijetka nasljedna uzrokovana mutacijom gena *GLA* koji se nalazi na kromosomu X (Sun 2018). Mutacija uzrokuje manjak enzima alfa-galaktozidaze te dovodi do nakupljanja globozida globotriaosilceramida (Gb3). Dob u kojoj bolest postane izražena je vrlo varijabilna, a kasnija pojava bolesti povezana je s blažim oblikom (Kolter i Sandhoff 2006). Prema dobi u kojoj se simptomi bolesti počnu pojavljivati Fabryjeva bolest može se podijeliti na dva tipa (Kido i sur. 2023). Neki od prepoznatljivih simptoma su bol u rukama i nogama, zamućenje rožnice, napadi vrućice, ali može dovesti i do zatajenja bubrega i srca (Sun 2018).

Glikogen je kompleksni polisaharid koji se skladišti u stanicama jetre i mišića kao glavni izvor energije. Glikogenoze su uzrokovane mutacijama u genima odgovornim za enzime uključene u sintezu ili razgradnju glikogena. Nedostatak funkcionalnih enzima rezultira nakupljanjem nepropisno razgrađenog glikogena unutar stanica. Ovo nakupljanje može ometati normalno funkcioniranje različitih organa, kao što su jetra, srce, mišići i mozak. Simptomi glikogenoza mogu varirati ovisno o specifičnoj vrsti bolesti, ali često uključuju hepatosplenomegaliju, hipoglikemiju (nisku razinu šećera u krvi), miopatiju (mišićnu slabost) te neurološke manifestacije kao što su epileptički napadaji i mentalna retardacija (Stone i sur. 2023). Trenutno je prepoznato više od 15 različitih tipova glikogenoza, a svaki je uzrokovan mutacijama u različitim genima odgovornim za enzime uključene u sintezu ili razgradnju glikogena (Stone i sur. 2023). Pompeova bolest je rezultat mutacije u genu *GAA* što uzrokuje deficijenciju enzima alfa-glukozidaze, koji je odgovoran za razgradnju glikogena. Dolazi do nakupljanja glikogena u tkivima, a najviše su pogođeni srčani i skeletni mišići. To može rezultirati kardiomiopatijom (srčanim problemima) i miopatijom (Kohler i sur. 2018).



**Slika 6.** Razgradnja makromolekula je kompleksan proces jer je za odvajanje svake funkcionalne skupine s molekule potreban drugi enzim. Također, metabolički putevi su često povezani jer imaju zajedničke intermedijere. Shema prikazuje puteve razgradnje tri makromolekule, cerebrozida, gangliozida i sfingozin masne kiseline. Ovisno o tome u kojem je koraku razgradnje došlo do greške posljedice su drugačije te dovode do drugih poremećaja. Preuzeto i prilagođeno prema Alberts i sur. 2022.

## 4. Tehnike dijagnosticiranja

Dijagnoza lizosomskih bolesti nakupljanja nije jednostavna zbog njihove različite kliničke prezentacije, simptoma koji se preklapaju i rijetkosti pojedinih bolesti. Dijagnosticiranje zahtijeva multidisciplinarni pristup koji uključuje kliničku procjenu, laboratorijsko testiranje i genetičku analizu (Jiang i sur. 2020). Tijekom godina, napredak u dijagnostičkim tehnikama značajno je poboljšao identificiranje specifičnih poremećaja, omogućujući prilagođenije terapijske pristupe. Rana i točna dijagnoza ključna je za pravovremenu intervenciju i optimalno zbrinjavanje bolesnika (Fumić i sur. 2004).

Klinička procjena stručnjaka ključna je za prepoznavanje karakterističnih znakova i simptoma povezanih s određenim poremećajem poput sporijeg razvoja, povećanja organa, nenormalnosti kostura i neuroloških problema (Kohler i sur. 2018). Međutim, zbog varijabilnosti u prezentaciji bolesti i preklapanja simptoma više poremećaja, dijagnoza koja se temelji samo na kliničkim značajkama ne može dati točne rezultate. Prema tome, laboratorijska ispitivanja neizostavni su korak u točnoj dijagnozi bolesti. Biokemijske analize otkrivaju nenormalne razine aktivnosti lizosomskih enzima ili nakupljanje određenih supstrata u krvi, urinu ili u drugim tkivima. Najčešći način analize je kultiviranje fibroblasta ili leukocita (Chamoles i sur. 2001). Kako su te tehnike vremenski zahtjevne, početkom 2000-tih počela se sve više primjenjivati tehnika analiziranja osušenih mrlja krvi u kojima je moguće odrediti koncentraciju lizosomskih enzima te se ona često koristi za dijagnosticiranje kod novorođenčadi (Chamoles i sur. 2001). Međutim, u toj metodi svi enzimi stvaraju isti krajnji produkt te nije moguće odrediti koji je enzim nefunkcionalan. Iz tog razloga se počela koristiti analiza masenom spektrometrijom gdje je moguće koristiti specifične supstrate i pratiti aktivnost više različitih enzima u isto vrijeme (Chunli i sur. 2013). Stručnjaci mogu ispitati deformacije kostura, organomegaliju i bolesti središnjeg živčanog sustava pomoću radiografija, CT-a i magnetske rezonancije (MRI). Oni su ključni za prepoznavanje i praćenje bolesti nakupljanja jer daju vitalne informacije o zahvaćenosti organa i napredovanju bolesti. Biopsije tkiva, posebice iz zahvaćenih organa, pružaju bitne informacije o staničnoj patologiji kod ovih poremećaja. Elektronska mikroskopija nudi ultrastrukturne uvide u lizosomski skladišni materijal i stanične abnormalnosti, pomažući u razlikovanju različitih lizosomskih bolesti nakupljanja (Jiang i sur. 2020). S obzirom da bolesti nakupljanja imaju genetsku osnovu korelacije genotip-fenotip daju uvid u odnos između

specifičnih genetskih mutacija i kliničkih manifestacija. Moderna molekularna genetička analiza potpuno je promijenila način na koji se lizosomske bolesti nakupljanja dijagnosticiraju. Točna i brza dijagnoza omogućena je identifikacijom mutacija koje uzrokuju bolest korištenjem tehnika kao što su Sangerovo sekvenciranje, sekvenciranje sljedeće generacije (NGS) i sekvenciranje cijelog genoma (WES). Posebno ciljani paneli NGS mogu učinkovito istražiti brojne gene povezane s bolestima nakupljanja odjednom, poboljšavajući dijagnostičku preciznost (Kido i sur. 2023). Može se provesti i ciljano testiranje kako bi se potvrdila dijagnoza ako se iz simptoma sumnja na određeni poremećaj. Identifikacija nositelja lizosomskih bolesti nakupljanja genetskim testiranjem ključna je za planiranje obitelji i genetsko savjetovanje.

## 5. Liječenje

Proučavanje molekularnih i staničnih mehanizama koji stoje iza lizosomskih bolesti nakupljanja značajno je napredovalo tijekom vremena, što je rezultiralo stvaranjem novih terapijskih pristupa.

Prvi uspješni pokušaj liječenja lizosomskih bolesti nakupljanja bilo je presađivanje koštane srži djetetu s Hurlerovim sindromom. Ova metoda se i danas koristi pri liječenju novorođenčadi s Hurlerovim sindromom jer se dokazalo da sprječava razvoj neuroloških simptoma (Platt i sur. 2018). Nakon toga, temelj liječenja lizosomskih bolesti nakupljanja dugo je bila terapija nadomjestite enzima (ERT). Strategija podrazumijeva liječenje enzimima koji su izolirani iz krvi ili tkiva zdrave osobe te bi zamijenili disfunkcionalni lizosomski enzim. Najbolji rezultati vidljivi su u liječenju Gaucherove bolesti, ali se koristi i u liječenju Pompeove bolesti, Fabryjeve bolesti i MPS tipa I, II i IV (Ohashi 2012). Liječenje Gaucherove bolesti ovom tehnikom ima najbolje rezultate jer je terapija enzimima usmjerena na makrofage koji vrlo efikasno primaju dobivene enzime. U drugim bolestima je enzime potrebno unijeti u čvrsta tkiva u koja enzimi slabo prodiru ili uopće ne mogu doprijeti. Na primjer, ERT uopće ne može doprijeti do mozga (Lachmann 2011). Također, moguća je i pojava imunološke reakcije primatelja. Terapijom redukcije supstrata (SRT) pokušava se smanjiti nakupljanje supstrata unutar lizosoma. U ovoj metodi, enzimi povezani sa sintezom supstrata su inhibirani specifičnim spojevima. Niemann-Pickova bolest tip C i Gaucherova bolest tip 1 sada se mogu liječiti miglustatom i eliglustatom, inhibitorima glukozilceramid sintaze, što inhibira prvi korak biosinteze glikosfingolipida (Platt i sur. 2018). SRT se može kombinirati s drugim metodama i time povećati mogućnost liječenja. Ako se kod osobe oboljele od lizosomske bolesti nakupljanja sintetiziraju nepravilno složeni enzimi moguće je pokušati ispraviti njihovu strukturu pomoću šaperona. Do sada jedini provjereno djelotvoran lijek je migalastat koji se koristi u tretiranju Fabryjeve bolesti i stabilizira mutirane enzime te povećava njihovu katalitičku sposobnost (Platt i sur. 2018).

Baveći se temeljnim uzrokom poremećaja, genska terapija potpuno je promijenila način liječenja. Preciznost i učinkovitost genske terapije poboljšane su lentivirusnim vektorima i tehnologijom CRISPR-Cas9, otvarajući obećavajuće nove mogućnosti liječenja za širi raspon lizosomskih bolesti nakupljanja. Trenutno postoje dvije glavne metode genetske terapije. Jedna metoda je unos rekombiniranog (nemutiranog) gena u pacijenta pomoću vektora. Druga metoda je uređivanje gena stanica uzetih od pacijenta te ispravljanje genetske greške u laboratoriju, zatim

ponovno vraćanje "poboljšanih" stanica pacijentu (Platt i sur. 2018.). Ova metoda je privukla interes jer bi mogla liječiti mutacije u stanicama koje se ne dijele, poput neurona. Osim trenutno korištenih metoda liječenja, novije metode mogle bi utjecati na to kako će se lizosomske bolesti nakupljanja liječiti u budućnosti. Male interferirajuće RNA (siRNA) i antisense oligonukleotidi (ASO) primjeri su terapeutika temeljenih na RNA koji imaju sposobnost modificiranja ekspresije gena, ispravljanja pogrešaka spajanja i smanjenja nakupljanja opasnih supstrata. Nedavno istraživanje pokazalo je da su ASO učinkoviti u poboljšanju karakteristika bolesti i obnavljanju enzimske aktivnosti na životinjskim modelima (Coutinho i sur. 2020). Raznolikost lizosomskih bolesti nakupljanja zahtijeva upotrebu prilagođene medicinske strategije koja uzima u obzir genotip, težinu bolesti i jedinstvene karakteristike pacijenta. Kombinirane terapije koje su usmjerene na različite čimbenike bolesti imaju potencijal za poboljšanje rezultata liječenja. Unatoč impresivnom napretku, postoje problemi s liječenjem ovih poremećaja. Prepreke koje treba prevladati uključuju imunske reakcije na supstituciju enzima, ograničeno prodiranje terapijskih lijekova u tkiva i potencijalne nepoželjne posljedice manipulacije gena. Osim toga, visoke cijene izrade i isporuke ovih lijekova postavlja pitanje njihove pristupačnosti.



## 6. Zaključak

Lizosomi su organeli koji predstavljaju ključna središta za unutarstaničnu razgradnju i procese recikliranja tvari te imaju bitnu ulogu u održavanju homeostaze. Razgradnja hranjivih tvari je složen proces u koji je uključeno oko 60 vrsta različitih enzima, koji kataliziraju hidrolitičko cijepanje različitih makromolekula poput proteina, lipida, nukleinskih kiselina i ugljikohidrata. Ako postoji greška i u jednom koraku procesa može doći do nakupljanja nerazgrađenih tvari što može poremetiti normalnu funkciju različitih tkiva i organa. Lizosomske bolesti nakupljanja su rijetke, ali teške nasljedne bolesti uzrokovane mutacijama gena bitnim za sintezu enzima uključenih u razgradnju tvari. Posljedice mutacije gena su nakupljanje nerazgrađenih metabolita u stanicama i tkivima što uzrokuje oštećenje tih tkiva.

Postoji oko 70 poznatih bolesti nakupljanja, a prenose se uglavnom autosomno recesivno. Mogu se podijeliti u dvije osnovne skupine. U većini poremećaja, genetske mutacije dovode do sinteze nefunkcionalnih lizosomskih enzima, pa dolazi do nakupljanja njihovih supstrata, a u manjem broju dolazi do greške u transportu proteina u lizosom, što ima za posljedicu nemogućnost razgradnje većeg broja supstrata.

ML II je bolest kod koje je enzim, odgovoran za obilježavanje i dopremu lizosomskih proteina iz Golgija u lizosome, nefunkcionalan pa je posljedica toga sekrecija lizosomskih hidrolaza u krvotok. Sve ostale bolesti se mogu podijeliti na pet skupina s obzirom na to o kojem supstratu se radi. Prema tome dijele se na: mukolipidoze, mukopolisaharidoze, oligosaharidoze, sfingolipidoze i glikogenoze. Simptomi lizosomskih bolesti nakupljanja često uključuju ometanje normalne funkcije nekih organa poput, srca, jetre, slazene i mišića, deformacije kostura te neurološke probleme, poput epilepsije i mentalne retardacije.

Liječenje ovih bolesti nije lak zadatak, međutim, dijagnoza ovih poremećaja značajno je napredovala pojavom novih dijagnostičkih tehnika i multidisciplinarnе suradnje. Klinička procjena, biokemijski testovi, molekularna genetička analiza i histološki pregled zajedno doprinose točnoj i pravovremenoj dijagnozi. Integracija ovih metoda ne samo da pomaže u potvrđivanju prisutnosti bolesti nakupljanja, već također pomaže u identificiranju specifičnog podtipa i uvođenju personaliziranih terapija. Metode liječenja lizosomskih bolesti nakupljanja neprestano se razvijaju, od metoda nadomjestne terapije do najsuvremenijih genskih terapija i

novih strategija temeljenih na RNA koje još nisu u kliničkoj upotrebi. Ovi terapijski pristupi imaju potencijal pružiti pacijentima personalizirane i učinkovitije alternative liječenja.

## 7. Literatura

1. Alberts B., Heald R., Johnson A., Morgan D., Raff M., Roberts K., Walter P. (2022): *Molecular biology of the cell*. W. W. Norton & Company. New York.
2. Besterman J.M., Airhart J.A., Low R.B. (1982): Macrophage phagocytosis: analysis of particle binding and internalization. *American Journal of Physiology*. **242**: 339-346.
3. Chamoles N. A., Blanco M., Gaggioli D. (2001): Diagnosis of  $\alpha$ -l-Iduronidase Deficiency in Dried Blood Spots on Filter Paper: The Possibility of Newborn Diagnosis. *Clinical Chemistry*. **47**: 780–781.
4. Chunli Y., Qin S., Hui Z. (2013): Enzymatic Screening and Diagnosis of Lysosomal Storage Diseases. *North American Journal of Medical Sciences*. **6**:186-193.
5. Cooper G. M. (2019): *The cell : a molecular approach*. Oxford University Press. Oxford.
6. Coutinho M. F., Santos J. I., S. Mendonça L., Matos L., Prata M. J., Jurado A., Pedroso de Lima M. C., Alves S. (2020): Lysosomal Storage Disease-Associated Neuropathy: Targeting Stable Nucleic Acid Lipid Particle (SNALP)-Formulated siRNAs to the Brain as a Therapeutic Approach. *International Journal of Molecular Sciences*. **21**: 5732.
7. Dogterom E.J., Wagenmakers M. A. E. M., Wilke M., Demirdas S., Muschol N. M., Pohl S., Meijden J. C., Rizopoulos D., Ploeg A. T., Oussoren E. (2021): Mucopolipidosis type II and type III: a systematic review of 843 published cases. *Genetics in Medicine*. **23**: 2047–2056.
8. Donida B., Jacques C. E. D., Mescka C. P., Rodrigues D. G. B., Marchetti D. P., Ribas G., Giugliani R., Vargas C. R. (2017): Oxidative damage and redox in Lysosomal Storage Disorders: Biochemical markers. *Clinica Chimica Acta*. **466**: 46-53.
9. Fateen E., Ismail M. F., El-Boghdady N. A., Aglan M., Ibrahim M., Radwan A. (2018): Differential diagnosis of mucopolysaccharidosis and oligosaccharidosis of a sample of Egyptian children. *Bulletin of Faculty of Pharmacy*. **56**: 213-217.
10. Fumić K., Barić I., Mrić M., Maradin M. (2004): Lizosomske bolesti nakupljanja - suvremena dijagnostika i nove mogućnosti liječenja. *Paediatrica Croatica*. **48**: 160-168.
11. Gaudioso Á., Silva T. P., Ledesma M. D. (2022): Models to study basic and applied aspects of lysosomal storage disorders. *Advanced Drug Delivery Reviews*. **190**: 114532.

12. Gieselmann V. (1995): Review: Lysosomal storage diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1270**: 103-136.
13. Heroman J. W., Rychwalski P., Barr C. C. (2008): Cherry Red Spot in Sialidosis (Mucopolipidosis Type I). *Archives of Ophthalmology*. **126**: 270–271.
14. Jiang Z., Lau Y. K., Wu M., Casal M. L., Smith L. J. (2020): Ultrastructural analysis of different skeletal cell types in mucopolysaccharidosis dogs at the onset of postnatal growth. *Journal of Anatomy*. **238**: 416-425.
15. Kido J., Sugawara K., Nakamura K. (2023): Gene therapy for lysosomal storage diseases: Current clinical trial prospects. *Frontiers in Genetics*. **14**: 1064924.
16. Klionsky D.J. (2005): Autophagy. *Current Biology*. **15**: 282-283.
17. Kohler L., Puertollano R., Raben N. (2018): Pompe Disease: From Basic Science to Therapy. *Neurotherapeutics*. **15**: 928–942.
18. Kolter T., Sandhoff K. (2006): Sphingolipid metabolism diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*. **1758**: 2057–2079.
19. Kudo M., Brem M. S., Canfield W. M. (2006): Mucopolipidosis II (I-Cell Disease) and Mucopolipidosis IIIA (Classical Pseudo-Hurler Polydystrophy) Are Caused by Mutations in the GlcNAc Phosphotransferase  $\alpha/\beta$ -Subunits Precursor Gene. *The American Journal of Human Genetics*. **78**: 451-463.
20. Lachmann R. H. (2011): Enzyme replacement therapy for lysosomal storage diseases. *Current Opinion in Pediatrics*. **23**: 588-593.
21. Leal A. F., Benincore-Flórez E., Rintz E., Herreño-Pachón A. M., Celik B., Ago Y., Alméciga-Díaz C. J., Tomatsu S. (2023): Mucopolysaccharidoses: Cellular Consequences of Glycosaminoglycans Accumulation and Potential Targets. *International Journal of Molecular Sciences*. **24**: 477-498.
22. Leroy J., Ho M., Macbrinn M., Zielke K., Jacob J., O'brien J.S. (1972): I-Cell Disease: Biochemical Studies. *Pediatric Research*. **6**: 752–757.
23. Leroy J., O'brien J.S. (1976): Mucopolipidosis II and III: different residual activity of beta-galactosidase in cultured fibroblasts. *Clinical Genetics*. **9**: 533-539.
24. Nowosad A., Besson A. (2022): Lysosomes at the Crossroads of Cell Metabolism, Cell Cycle, and Stemness. *International Journal of Molecular Sciences*. **23**: 2290.

25. Ohashi T. (2012): Enzyme replacement therapy for lysosomal storage diseases. *Pediatric Endocrinology Reviews*. **1**: 26-34.
26. Otomo T., Muramatsu T., Yorifuji T., Okuyama T., Nakabayashi H., Fukao T., Ohura T., Yoshino M., Tanaka A., Okamoto N., Inui K., Ozono K., Sakai N. (2009): Mucopolidosis II and III alpha/beta: mutation analysis of 40 Japanese patients showed genotype–phenotype correlation. *Journal of human genetics*. **54**: 145–151.
27. Platt F. M., d’Azzo A., Davidson B. L., Neufeld E. F., Tiffit C. J. (2018): Lysosomal storage diseases. *Nature Reviews Disease Primers*. **4**: 27.
28. Rajkumar V., Dumpa V. (2022): Lysosomal Storage Disease. StatPearls. Treasure Island (FL). StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563270/> (pristupljeno 24.7.2023.).
29. Ranjit I., Kylat M. D. (2020): Mucopolidosis II. *The Journal of Pediatrics*. **229**: 302-304.
30. Schmid S. L., Sorkin A., Zerial M. (2014): Endocytosis: Past, Present and Future. *Cold Spring Harbor Perspective in Biology*. **6**: 022509.
31. Slausenhaupt S. A. (2002): The Molecular Basis of Mucopolidosis Type IV. *Current Molecular Medicine*. **5**: 445-450.
32. Stone W. L., Basit H., Adil A. (2023): Glycogen Storage Disease. StatPearls. Treasure Island (FL). StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459277/> (pristupljeno 3.8.2023.).
33. Sun A. (2018): Lysosomal storage disease overview. *Annals of Traditional Medicine*. **6**: 476.
34. Tiede, S., Storch, S., Lübke, T., Henrissat B., Bargal R., Raas-Rothschild A., Braulke T. (2005): Mucopolidosis II is caused by mutations in *GNPTA* encoding the  $\alpha/\beta$  GlcNAc-1-phosphotransferase. *Nature Medicine*. **11**: 1109–1112.
35. West H. H. (1977): The sphingolipidoses an overview. *Postgraduate Medicine*. **61**: 90-95.