

Probirni test za mukopolisaharidozu 1

Tihana Pavošević

mag.med.biochem

KBC Osijek - Odjel za kliničko laboratorijsku dijagnostiku

fppt.com

Nasljedne metaboličke bolesti



mutacija određenog gena
↓
poremećaj strukture i funkcije
određenog proteina
↓
biokemijski poremećaj
↓
razvoj odgovarajuće kliničke
slike

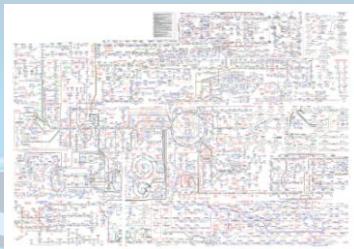
- monogenetske bolesti
- nasljeđuju se po Mendelovom zakonu nasljeđivanja
- većina je autosomno recesivna
- manje X- vezano, vrlo rijetko autosomno dominantne, najmanje mitohondrijskim nasljeđivanje
- oboljeli se uglavnom rađaju normalni, prvi poremećaji u djetinjstvu
- učestalost u populaciji iznimno mala (1% novorođenčadi)

fppt.com

skupine nasljednih metaboličkih bolesti

1. podjela prema:

- metabolitu
- defektnom proteinu
- metaboličkom putu
- funkciji enzima
- staničnoj organeli
- patofiziološka podjela



2. podjela prema poremećaju metabolizma:

- aminokiselina
- ciklusa ureje
- ugljikohidrata (monosaharida i glikogena)
- steroida
- lipida
- purina i/ili pirimidina
- porfirina
- bakra
- organske acidemije
- peroksisomski poremećaji
- poremećaji fja mitohondrija
- lizosomske bolesti nakupljanja

fppt.com

Mogućnosti liječenja

- transplantacija hematopoetskih matičnih stanica
- transplantacija jetre
- enzimska nadomjesna terapija
- nove generacije biotehnološki modificiranih lijekova
- terapija "chaperonima"
- genska terapija



potreba za ranim kliničkim prepoznavanjem (**klinička slika nije dovoljna!!!**)

fppt.com

Laboratorijska dijagnostika nasljednih metaboličkih poremećaja

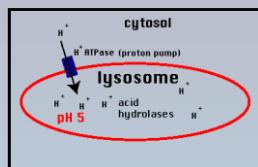
Prema načinu organizacije i pristupa laboratorijskoj dijagnostici razlikujemo:

- 1. sustavno traganje** (novorođenački probir)
- 2. selektivno traganje**



fppt.com

Lizosomske bolesti nakupljanja (LSD)



- Lizosomi:**
- stanične organele
 - kiseli pH
 - proces katabolize
 - hidrolitički enzimi

Uzrok LSD:

- 1. nedostatak ili značajno snižena aktivnost nekog lizosomskog enzima**
- 2. nedostatak nekog od pomoćnih proteina:**
 - proteinski kofaktor
 - lizosomski membranski protein
 - protein uključen u posttranslacijske modifikacije
 - transportni protein

Posljedica: **postepeno nakupljanje odgovarajućeg nerazgrađenog materijala → oštećenje stanice → oštećenje lokalnog tkiva**



normalni fibroblasti



fibroblasti bolesne osobe

fppt.com

Podjela lizosomskih bolesti nakupljanja

Prema strukturi nakupljenog supstrata:

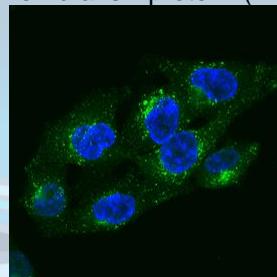
1. mukopolisaharidoze
2. sfingolipidoze
3. lipidoze
4. oligosaharidoze
5. mukolipidoze
6. glikogenoze
7. neuronalne ceroidne lipofuscinoze
8. poremećaji prijenosa

fppt.com

klinička slika: HETEROGENA!!!

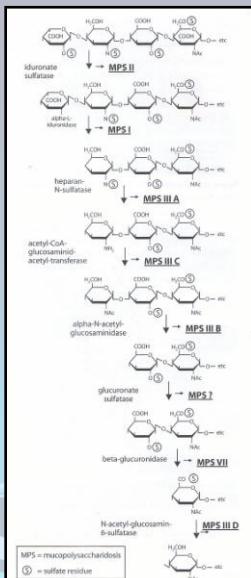
dijagnostička obrada:

- započinje analizom GAG i oligosaharida u urinu
- za postavljanje dijagnoze test potvrde (visokospecifični 4-metilumbeliferonski supstrati) iz homogenata leukocita ili kulture fibroblasta
- novi biljezi: lizosomski membranski proteini (LAMP1 i LAMP2)



fppt.com

Mukopolisaharidoze (MPS)



- mukopolisaharidoze - poremećaji koji nastaju zbog nakupljanja GAG

- nakupljanje GAG uzrokovano je nepravilnom razgradnjom postraničnih ugljikohidratnih lanaca tih kiselih mukopolisaharida u lisozimima
- nerazgrađeni materijal pohranjuje se u lisozimima parenhimskog i mezenhimskog tkiva

- pojedini tipovi uzrokovani manjkom različitih enzima

fppt.com

Klasifikacija MPS

tip MPS	deficitaran enzim
teški MPS I H	α-L-iduronidaza
blagi MPS I S	α-L-iduronidaza
intermedijarni MPS I H/S	α-L-iduronidaza
MPS II	iduronat-2-sulfataza
MPS IIIA	heparan-N-sulfataza
MPS IIIB	α-N-acetyl-D-glukozaminidaza
MPS IIIC	acetiltransferaza (acetil CoA:α-glukozaminid-N-acetiltransferaza)
MPS IID	N-acetylglukozamin-6-sulfatza
MPS IVA	N-acetylgalaktozamin-6-sulfatza
MPS IVB	β-D-galaktozidaza
MPS VI	arilsulfataza B (N-acetylgalaktozamin-4-sulfataza)
MPS VII	β-D-glukozidaza
MPS IX	hijaluronidaza-1

fppt.com

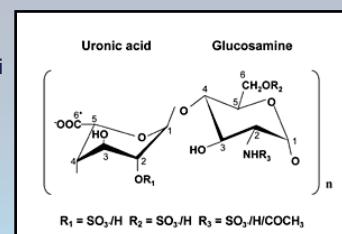
Klasifikacija MPS

tip MPS	naziv sindroma
teški MPS I H	Hurlerin sindrom
blagi MPS I S	Scheieov sindrom
intermedijarni MPS I H/S	Hurler/Scheie sindrom
MPS II	Hunterov sindrom
MPS IIIA	Sanfilippov sindrom A
MPS IIIB	Sanfilippov sindrom B
MPS IIIC	Sanfilippov sindrom C
MPS IIID	Sanfilippov sindrom D
MPS IVA	Morquioov sindrom A
MPS IVB	Morquioov sindrom B
MPS VI	Maroteaux-Lamyjev sindrom
MPS VII	Slyev sindrom
MPS IX	-

Grđa glikozaminoglikana

- **linearni rigidni polimeri** (polisaharidi) izgrađeni od velikog broja ponavljajućih disaharidnih jedinica.
 - pojedina disaharidna jedinica se sastoji od:

1. **heksouronske kiseline** (glukuronske ili iduronske kiseline) ili **heksoze galaktoze** (samo keratan sulfat)
 2. jednostavnog šećera - **aminošećera** (heksozamin): N- acetilglukozamin ili N-acetilgalaktozamin



- mnogi od aminošćera su esterificirani u sulfate
 - podjedinice su međusobno povezane glikozidnim vezama koje mogu biti α i β konfiguracije
 - velik stupanj heterogenosti između podjedinica (stupnjevi sulfatacija, acetilacija i vezanje drugih monosaharida)

Vrste glikozaminoglikana

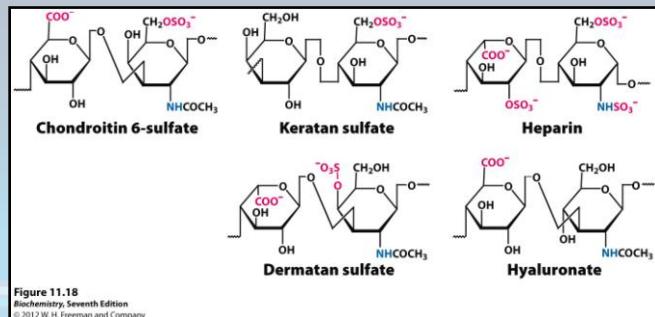
Podjeljeni su u dvije skupine:

- **nesulfatirani GAG:**

 - hijaluronska kiselina/hijaluronat

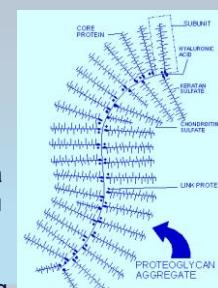
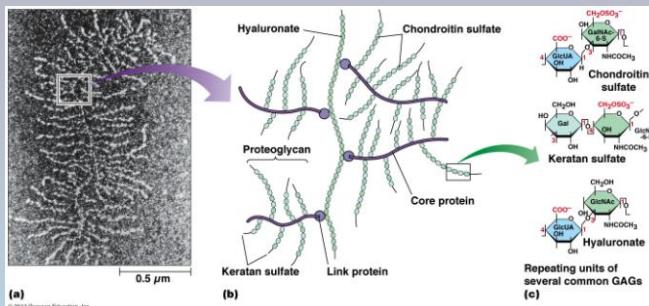
- **sulfatirani GAG:**

 - hondroitin-4-sulfat
 - hondroitin-6-sulfat
 - dermatan-sulfat
 - keratan sulfat
 - heparan sulfat
 - heparin



fppt.com

Proteoglikani



- veliki molekulski kompleksi koji čine osnovu vezivnog tkiva koji se sastoje od **proteinske srži** (5% molekule) za koju su vezani dugački **polisaharidni lanci** (95% molekule)
- u osnovi proteoglikanske molekule nalazi se **hijaluronat**
- na njega su bočno vezani glikozaminoglikani preko sržnog proteina

fppt.com

Uloga GAG

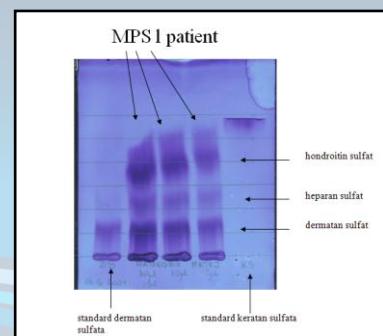
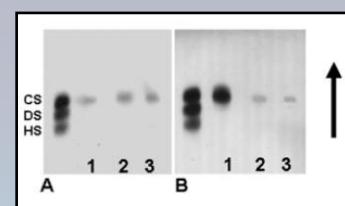
tip tkiva	mehanička svojstva	protein	GAG
kosti	opterećenje težinom (čvrstoća na pritisak)	kolagen tipa 1	hondroitin sulfat, hijaluronska kiselina, keratan sulfat
hrskavica, rebra	čvrstoća na pritisak, slabo trenje, dobra elastičnost	kolagen tipa 2	hondroitin sulfat, (keratan sulfat)
tetive	velika čvrstoća na tlak, slaba elastičnost	kolagen tipa 1	dermatan sulfat, hondroitin sulfat
velike krvne žile	velika rastezljivost, otpornost na kidanje	elastin, kolagen tipa 3, kolagen tipa 4	hondroitin sulfat, hijaluronska kiselina dermatan sulfat, heparan sulfat, (heparin)
tekutina u zglobovima	podmazivanje, ublažavanje udara		hijaluronska kiselina
koža	čvrstica kod umjerene rastezljivosti i savijanja	kolagen tipa 1, kolagen tipa 3, keratin	dermatan sulfat, hijaluronska kiselina
bazalna membrana	dobra mogućnost izvijanja, funkcija odvajanja, selektivno permabilna	kolagen tipa 4	heparan sulfat (?)
kornea	providna, čvrsta	kolagen tipa 1, kolagen tipa 2	keratan sulfat hondroitin (hondroitin sulfat)

fppt.com

Dijagnostika MPS

Dijagnostiku se preporučava napraviti u ova četiri koraka:

1. nespecifični skrining test (test probira) izlučivanja GAG mokraćom;
2. diferencijacija GAG u mokraći - provjera distribucije GAG izlučenih u mokraći (TLC ili elektroforeza)
3. analiza enzimske aktivnosti na temelju osnovane sumnje iz drugog koraka - potvrđni test za nedostatak određenog enzima
4. molekularnom analizom identificirati točnu mutaciju u genu za određeni enzim

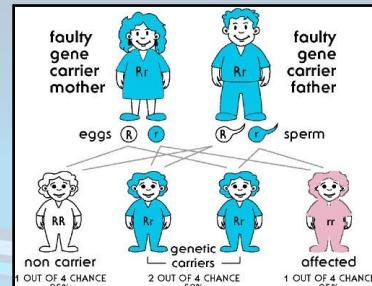


fppt.com

Mukopolisaharidoza tipa 1

- deficit enzima **α -L-iduronidaze**
- oblici MPS 1:
 1. teži oblik ili MPS 1-H (Hurlerin sindrom) 1:100 000
 2. blaži oblik ili MPS I-S (Scheieov sindrom) 1:500 000
 3. intermedijarni oblik MPS I-H/S (Hurler-Scheieov sindrom) 1:115 000

- autosomno-recesivno nasljeđivanje
- povećano i kvalitativno i kvantitativno izlučivanje GAG u mokraći
- kod kvalitativne analize povećane su količine dermatan sulfata i heparan sulfata



fppt.com

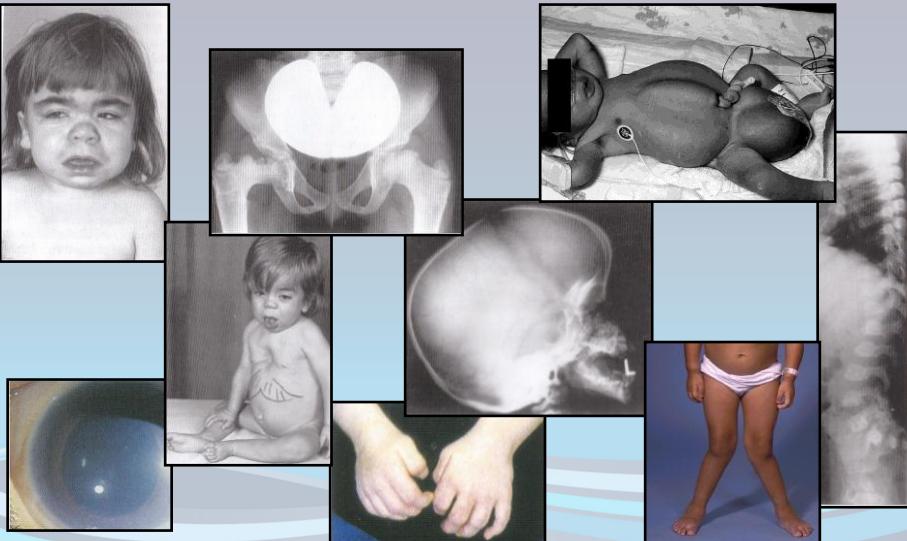
Klinička slika

kranofacialni	grube crte lica,
fizički	makroglosija
izgled	zadebljanje usana, zadebljanje ušnih lobula,
	kosa gruba i gusta
trbuš i prsa	"pileća prsa"
	hepatosplenomegalija
kostur	progresivna koštana displazija patuljast rast
	deformacija kralježnice
	koljena su valgus ili varus deformirana
	loša formiranost zjedlice
	deformiteti zglobova
	"pandža ruke"
	sindrom karpalnog tunela
oftamotološki	zamućenje rožnice
	glaukom
	degeneracija mrežnice
	moguća sljepoća

kardiovaskularni	zadebljanje i ukrućivanje srčanih zalisaka
	mitralna i aortalna regurgitacija
	aritmije
	bolesti koronarnih arterija
sluh	moguć gubitak slуха
otorinolaringologija	kronični rahitis
	prošireni krajnici i adenoidi
	uvećan jezik
	bučno disanje
	noćna apneja
gastrointestinalni	preponske kile
sustav	pupčane kile
	meka i/ili tvrda stolica
glava	hidrocefalus
	makrocefalus
intelekt	psihomotorno zaostajanje
	salbe intelektualne sposobnosti
	ograničene jezične vještine

fppt.com

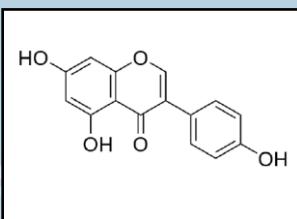
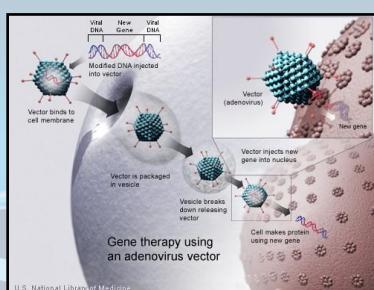
Klinička slika MPS 1



fppt.com

Mogućnosti liječenja MPS I

1. enzimska nadomjesna terapija (laronidaza)
2. transplacacija hematopoetskih matičnih stanica
3. genska terapija
4. supresija preranih stop maticacija Q70X i W402X (aminoglikozidi)
5. terapija smanjenja sinteze supstrata
6. simptomatsko liječenje

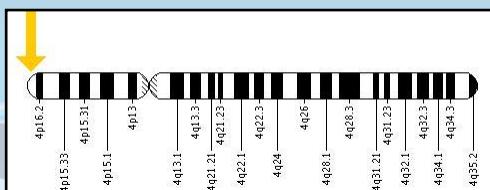
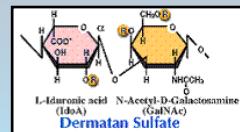
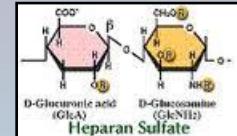


fppt.com



α -L-iduronidaza

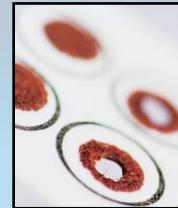
- enzim neophodan za razgradnju glikozaminoglikana
- glikozidaza koja kida α - glikozidnu vezu α -L-iduronskog ostatka sa nereducirajućeg kraja GAG
- takve skupine nalazimo u dva GAG: **heparan-sulfatu i dermatan-sulfatu**
- Gen koji kodira za sintezu α -L-iduronidaze smješten je na kraćem p kraku kromosoma 4 na poziciji 16.3



fppt.com

Mogućnosti mjerena

1. **fluorometrijska metoda** – mjeri se enzimska aktivnost (4-metilumbeliferil- α -L-iduronid)
2. **masena spektrometrija** – mjeri se enzimska aktivnost
3. **imunokemijska metoda** - mjeri se koncentracija enzimskog proteina



Određivanje može biti napravljeno u različitim tjelesnim tekućinama

fppt.com

Analiza uzorka osušene kapi krvi na filter papiru

DBS – engl. *dried blood spots*

- puna krv
- iz pete ili prsta ruke
- sušenje 4 h (vrijeme sušenja ne utječe na analizu)
- uvjet za analit: otporan na sušenje i mogućnost selektivne ekstrakcije s filter papira

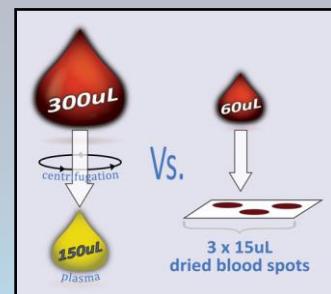


fppt.com

Analiza uzorka osušene kapi krvi na filter papiru

PREDNOSTI

- mali volumen krvi (60 μ L; odlično za pedijatrijske uzorke)
- uzorkovanje pojednostavljeno i manje invazivno od venepunkcije
- nema potrebe za centrifugiranjem niti drugim koracima pripreme uzorka
- nema potrebe za alikvotiranjem uzorka
- pohrana uzorka zauzima malo prostora
- kap krvi dovoljna za obavljanje testa u više serija
- brža i lakša obrada od obrade iz leukocita i fibroblasta
- prijevoz uzorka siguran (može se slati poštom!!!)
- većina analita stabilna na sobnoj temp. sušenja
- mala opasnost (virusi gube infektivnost procesom sušenja)
- komercijalno dostupni reagensi
- manji trošak analize
- pogodna za neonatalni probir i epidemiološke studije
- mikrotatarska pločica i LC-MS analiza

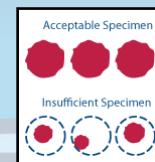


fppt.com

Analiza uzorka osušene kapi krvi na filter papiru

NEDOSTACI

- selektivnost eluiranja analita s filter papira (rješenje:dodatno eluiranje?)
- nestabilnost analita
- obvezno određivanje aktivnosti i kontrolnog enzima (ugl. β -galaktozidaze)
- automatizacija metoda (novije vrijeme tandem MS)
- veličina uzorka (različita od labosa do labosa)
- razlika u opremi
- kemikalije u vodi
- nema smjernica za DBS uzorkovanja (postoje samo smjernice o prihvativljivost uspješne validacije)
- vrijednost hematokrita utječe na analizu
- različiti tipovi kartica (eluiranje pojedinih analita)
- mjesto bušenja na kartici



fppt.com

Spot Check

Valid specimen:



Allow a sufficient quantity of blood to soak through to completely fill the preprinted circle on the filter paper. Fill all required circles with blood. Do not layer successive drops of blood or apply blood more than once in the same collection circle. Avoid touching or smearing spots.

Invalid specimen:



1. Specimen quantity insufficient for testing.



2. Specimen appears scratched or abraded.



3. Specimen not dry before mailing.



4. Specimen appears supersaturated.



5. Specimen appears diluted, discolored or contaminated.



6. Specimen exhibits serum rings.



7. Specimen appears clotted or layered.

Possible causes:

- Removing filter paper before blood has completely filled circle or before blood has soaked through to second side.
- Applying blood to filter paper with a capillary tube.
- Allowing filter paper to come into contact with gloved or ungloved hands or substances such as hand lotion or powder, either before or after blood specimen collection.
- Applying blood with a capillary tube or other device.
- Mailing specimen before drying for a minimum of four hours.
- Applying excess blood to filter paper, usually with a device.
- Applying blood to both sides of filter paper.
- Squeezing or "milking" of area surrounding the puncture site.
- Allowing filter paper to come into contact with gloved or ungloved hands or substances such as alcohol, formula, antiseptic solutions, water, hand lotion or powder, etc., either before or after blood specimen collection.
- Exposing blood spots to direct heat.
- Not wiping alcohol from puncture site before making skin puncture.
- Allowing filter paper to come into contact with alcohol, hand lotion, etc.
- Squeezing area surrounding puncture site excessively.
- Drying specimen improperly.
- Applying blood to filter paper with a capillary tube.
- Touching the same circle on filter paper to blood drop several times.
- Filling circle on both sides of filter paper.

fppt.com

Istraživanje

fppt.com

Cilj istraživanja

MPS 1 vrlo teška bolest → što ranija dijagnostika → što ranija terapija

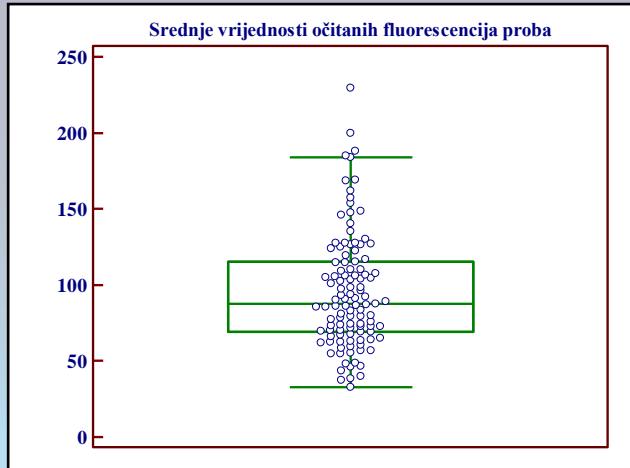
1. cilj prvog dijela istraživanja

Optimirati in house probirni test za MPS 1 iz uzorka osušene kapljice krvi na filter papiru (DBS) koja koristi specifični komercijalni 4-MUF supstrat za α-L-iduronidazu

2. cilj drugog dijela

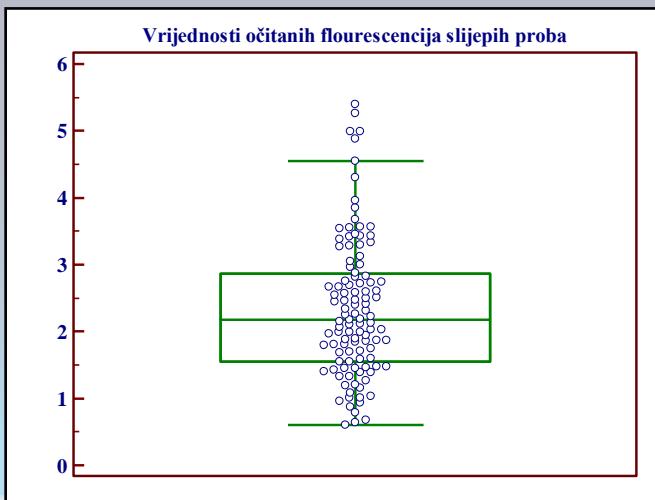
istraživanja je usporediti ovu optimiranu "klasičnu metodu" određivanja α-L-iduronidaze iz uzoraka DBS s modificiranim metodom (modificirana metoda je klasična metoda kojoj je pridodan dodatan korak sa TCA u cilju smanjenja interferencije hemoglobina).

fppt.com



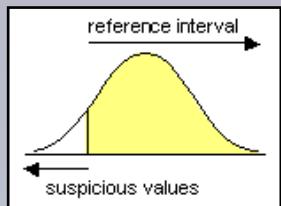
Box&Whisker plot raspodjеле vrijednosti fluorescencije proba

fppt.com



Box&Whisker plot raspodjеле vrijednosti fluorescencije slijepih proba

fppt.com



Određivanje cut-off vrijednosti

referentni raspon: 95%	izračun po metodi za normalnu distribuciju	izračun po neparametrijskoj percentil metodi
90% CI	22,971 – 43,533	37,543 – 55,002
preporučeni referentni interval	33,252	45,072

referentni raspon: 90%	izračun po metodi za normalnu distribuciju	izračun po neparametrijskoj percentil metodi
90% CI	36,742 - 57,304	46,260 – 62,007
preporučeni referentni interval	47,023	55,029

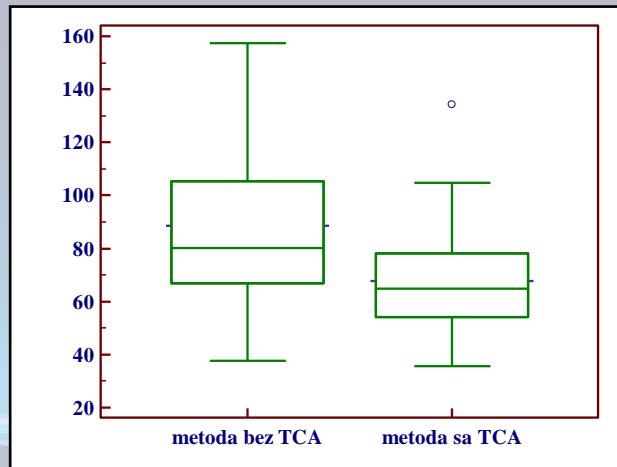
fppt.com

dijagnostička osjetljivost i specifičnost metode

→	osjetljivost (Se)	100,00%	2,50% – 100,00%
→	specifičnost (Sp)	95,54%	89,89% – 98,53%
	pozitivni omjer vjerojatnosti (LRpoz)	22,40	9,51 – 52,76
	negativni omjer vjerojatnosti (LRneg)	0,00	
	prevalecija bolesti	0,88%	0,02% – 4,83%
	pozitivna prediktivna vrijednost (PR+)	16,67%	0,42% – 64,12%
	negativna prediktivna vrijednost (PR-)	100,00%	96,61% – 100,00%

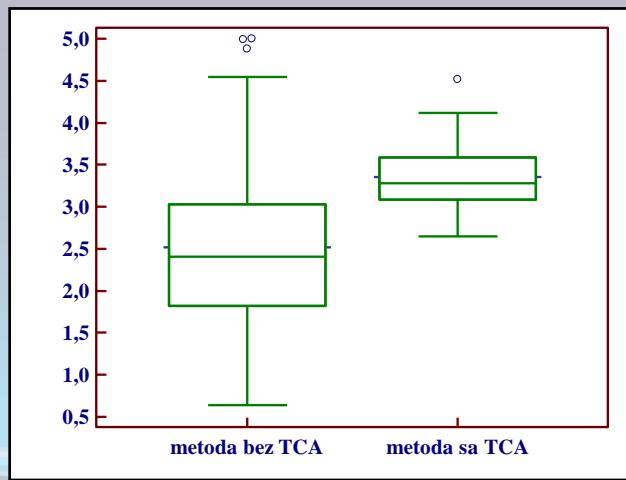
fppt.com

Usporedba fluorescencije proba



fppt.com

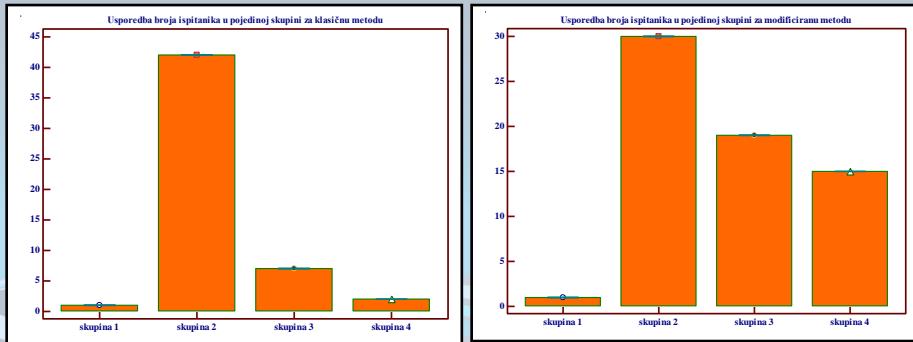
Usporedba fluorescencije slijepih proba



fppt.com

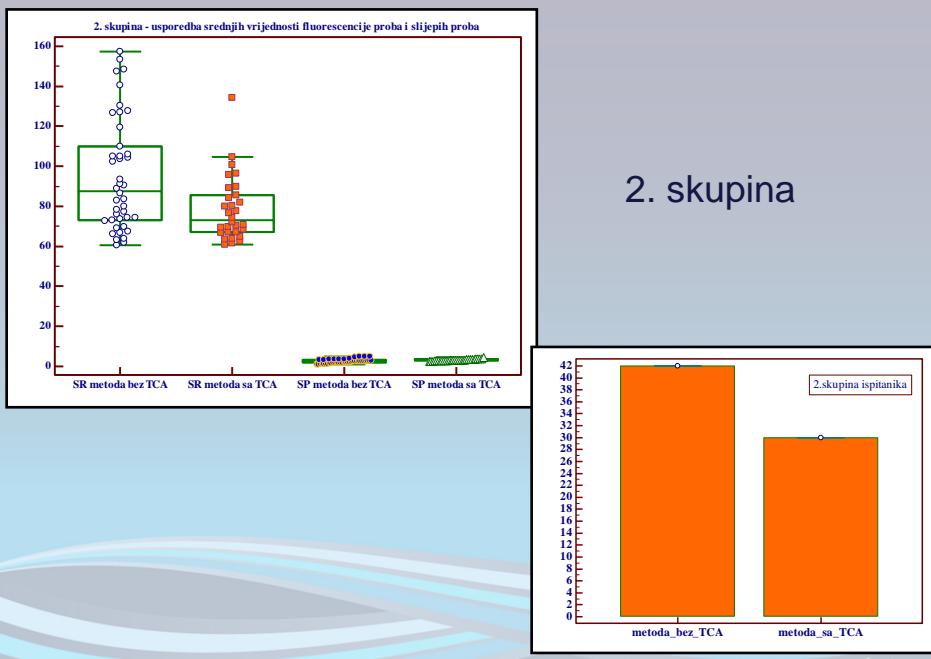
uzoci raspoređeni u 4 skupine:

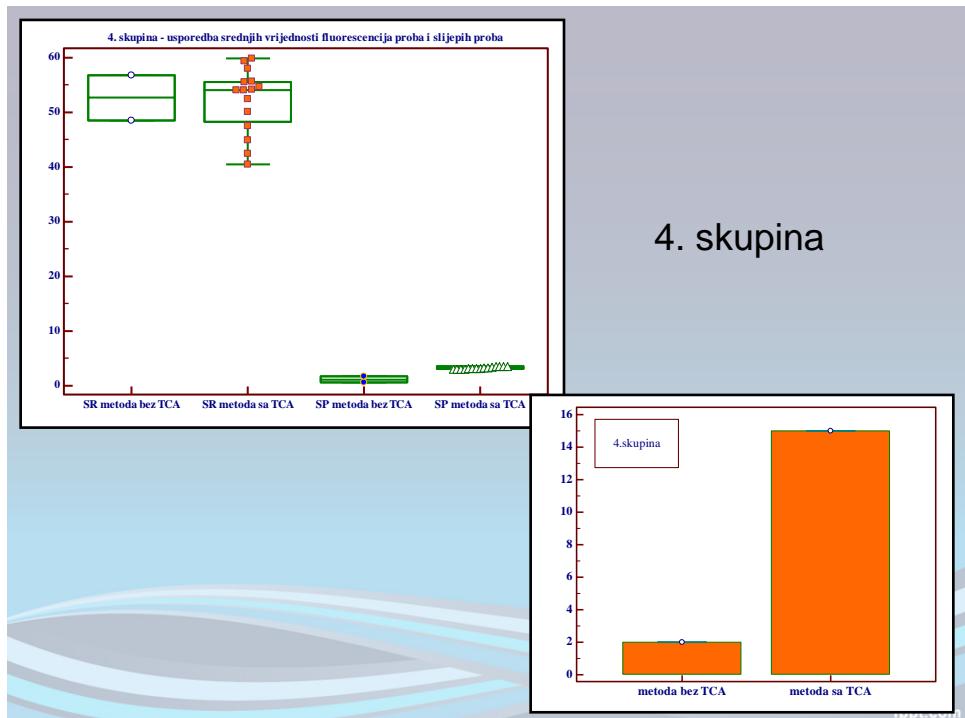
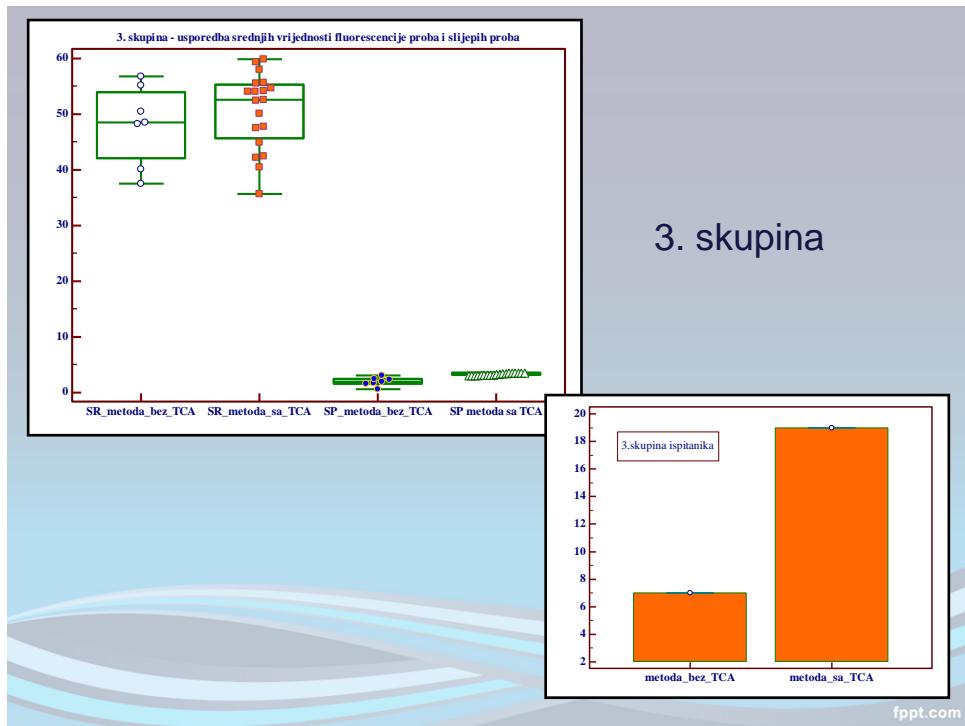
1. skupina – bolesni ispitanici odnosno pozitivne kontrole
2. skupina – zdravi ispitanici koji su potvrđeni ovom metodom
3. skupina – bolesni ispitanici odnosno ispitanici u kojima je rezultat pretrage granična vrijednost (tj. onima kojima je očitana vrijednost fluorescencije u interval od 30 do 60) – granični ispitanici
4. skupina – ispitanici kod kojih su vrijednosti u jednoj od metoda svrstane u granične ispitanike, a u drugoj su svrstane u zdravu populaciju



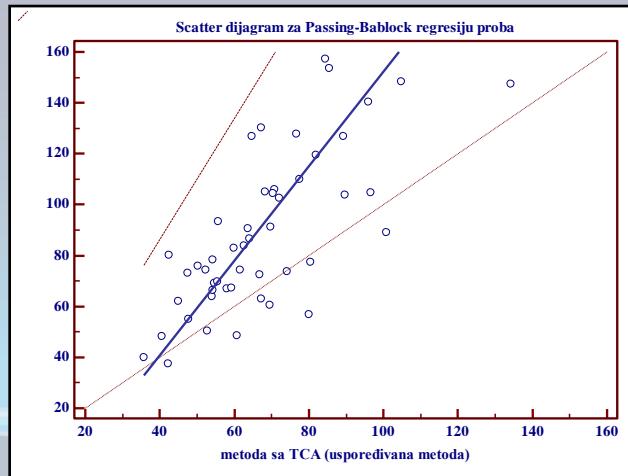
fppt.com

2. skupina





Passing-Bablok pravac regresije



$$y = -33,4668 + 1,8590x$$

fppt.com

Usporedba osjetljivosti i specifičnosti

metoda bez TCA

osjetljivost (Se)	100,00%	2,50% – 100,00%
specifičnost (Sp)	95,92%	86,02% – 99,50%
pozitivni omjer vjerojatnosti (LR _{poz})	24,50	6,30 – 55,20
negativni omjer vjerojatnosti (LR _{neg})	0,00	
prevalecnja bolesti	2,00%	0,05% – 10,65%
pozitivna prediktivna vrijednosti (PR ₊)	33,33%	0,84% – 90,57%
negativna prediktivna vrijednost (PR ₋)	100,00%	92,45% – 100,00%

metoda sa TCA

osjetljivost (Se)	100,00%	2,50% – 100,00%
specifičnost (Sp)	89,00%	77,77% – 96,60%
pozitivni omjer vjerojatnosti (LR _{poz})	9,80	4,27 – 22,49
negativni omjer vjerojatnosti (LR _{neg})	0,00	
prevalecnja bolesti	2,00%	0,05% – 10,65%
pozitivna prediktivna vrijednosti (PR ₊)	16,67%	0,42% – 64,12%
negativna prediktivna vrijednost (PR ₋)	100,00%	91,96% – 100,00%

fppt.com

ZAKLJUČCI

- za rutinski rad pretraživanja na MPS tipa I iz uzorka suhe kapi krvi na filter papiru bolje je koristiti klasičnu *in house* metodu od modificirane s TCA
- za *cut-off* vrijednost *in house* metode bez TCA se preporuča vrijednost fluorescencije od 45 pri na spektrofotometru VARIAN i pod uvjetima koje smo optimizirali
- zdravi ispitanici daju jači izlazni signal fluorescencije u metodi bez TCA, a srednje vrijednost graničnih ispitanika su podjednake, dok metoda sa TCA daje previše graničnih ispitanika
- svaku izmjerenu aktivnost ispod *cut-off* vrijednosti potrebno je u najkraćem roku provjeriti u drugom biološkom materijalu: homogenatu leukocita ili kultiviranih kožnih fibroblasta, a konačnu dijagnozu potvrditi analizom DNA
- laboratorij koji koristi ovu *in house* metodu treba se uključiti u vanjsku procjenu kvalitete čim ona postane dostupna
- Passing-Bablok regresijska nalaza potvrđuje statistički znatnu razliku između dvije metode, te da ne postoji proporcionalna razlika između ove dvije metode.
- modificiranu *in house* metodu trebalo bi ispitati s nekim drugim agensom koji precipitira hemoglobin (suspenzija cinka, dodatak cinkovog sulfata/barijevog hidroksida) i ustanoviti hoće li tada doći do poboljšanja metode

fppt.com

LITERATURA

- Ashton LJ, Brooks DA, McCourt PAG, Muller VJ, Clements PR, Hopwood JJ. Immunoquantification and enzyme kinetics of α-L-iduronidase in cultured fibroblasts from normal controls and mucopolysaccharidosis I patients. *Am J Hum Genet.*, 1992, 50, 787-794.
- Baxter MA, Wynn RF, Deakin JA, Bellantuono I, Edington KG, Cooper A, Besley GTN, Church HJ, Wraith JE, Carr TF, Fairbrain LJ. Retrovirally mediated correction of bone marrow-derived mesenchymal stem cells from patients with mucopolysaccharidosis type I. *Blood*, 2002, 99, 1857-1859.
- Bilić-Zulle L. Analitička evaluacija metoda. U: Osnove biostatistike u svakodnevnoj praksi. Šimundić AM, urednica, Zagreb, Medicinska naklada, 2008, str. 57-65. Regression. *Biochimia Medica*, 2011, 21(1), 49-52.
- Bilić-Zulle L. Comparasion of methods: Passing and Bablok
- Blanchard S, Sadilek M, Scott CR, Turecek F, Galeb MH. Tandem mass spectrometry for the direct assay of lysosomal enzymes in dried blood spots application to screening newborns of mucopolysaccharidosis I. *Clin Chem*, 2008, 54(12), 2067-2070.
- Brooks DA, Fabrega S, Hein LK, Parkinson EJ, Durand P, Yogoalingan G, Matte U, Giugliani R, Dasvarma A, Eslahpazire J, Henrissat B, Monon JP, Hopwood JJ, Lehn P. Glycosidase active site mutations in human α-L-iduronidase. *Glycobiology*, 2001, 11 (9), 741-750.
- Chamoles NA, Blanda M, Gaglioli D. Diagnosis of α-L-iduronidase deficiency in dried blood spots on filter paper: The possibility of newborn diagnosis. *Clin Chem*, 2001, 47, 780-781.
- Chamoles NA, Blanco MB, Gaglioli D, Casentini C. Hurler-like phenotype: Enzymatic diagnosis in dried blood spots on filter paper. *Clin Chem*, 2001, 47:12, 2098-2102.
- Čvorović D, Čepelak I. Štrausova medicinska biokemiјa. Zagreb, Medicinska naklada, 2009, str. 14-17, 545-538.
- Detalji o lijeku: Aldurazyme, 2012, <http://www.almp.hr>, pristupljeno 12.6.2013.
- Dried blood spots replacing plasma samples, 2009., <http://dddmag.com>, pristupljeno 17.6.2013.
- Dried blood spot sampling and analysis, 2013, <http://www.jazdilifeiences.com>, pristupljeno 17.6.2013.
- Ekstracelularni matriks za medicinski odsek, 2009, www.server.medfak.ni.ac.rs, pristupljeno 12.6.2013.
- Fumić Ksenija, Barić Ivo, Mrsić Mirando i Maradin Miljenka. Lizosomske bolesti nakupljanja - suvremena - suvremena dijagnostika i nove mogućnosti liječenja. *Paediatr Croat*, 2004, 48, 160-168.
- Frequently asked questions, 2013, <http://www.medcalc.org>, pristupljeno 25.6.2013.

fppt.com

LITERATURA 2

- Gelb MH, Turecek F, Scott CR, Chamoles NA. Direct multiplex assay of enzymes in dried blood spots by tandem mass spectrometry for the newborn screening of lysosomal storage disorders. *J Inherit Metab Dis*, 2006, 29 (2-3), 397-404.
- Gene therapy, 2013, <http://www.ghr.nlm.nih.gov>, pristupljeno 12.6.2013.
- Genistein in mucopolysaccharidoses: Results og clinical trials, 2012, <http://www.mps2012.eu>, pristupljeno 26.6.2013.
- Granić P, Maradin M. Evropska kontrola kvalitete – ERDNIM (pričak preliminarnih rezultata). *Biochimia medica*, 1996, 23, 239-244.
- Harmonizacija specijalističkih i visokodiferentnih pretraga iz područja medicinske biokemije, laboratorijske imunologije i analitičke toksikologije, 2009 <http://www.hkmb.hr>, pristupljeno 9.6.2013.
- IDUA, 2008, <http://www.ghr.nlm.gov>, pristupljeno 10.6.2013.
- Ilakovac V. Testiranje statističkih hipoteza i neke zamke. *Biochimia Medica*, 2009, 19 (1), 10-16.
- Inherited metabolic disorders, 2005., <http://www.akronchildrens.org>, pristupljeno 5.7.2005.
- Jakóbkiewicz-Banecka J, Pirowska E, Narajczyk M, Barańska S, Węgrzyn G. Genistein-mediated inhibition of glycosaminoglycan synthesis, which corrects storage in cells of patients suffering from mucopolysaccharidoses, acts by influencing an epidermal growth factor – dependent pathway. *Journal of Biomedical Science*, 2009, 16, 26 – 35.
- Keeling KM, Brooks DA, Hopwood JJ, Li P, Thompson JN, Bedwell DM. Gentamicin-mediated suppression of Hurler syndrome stop mutations restores a low level of α-L-iduronidase activity and reduces lysosomal glycosaminoglycan accumulation. *Hum. Mol. Genet.*, 2001, 10 (3), 291-299.
- Kircher Gerit S, Bajbouj M, Miebach E, Beck M. Mucopolysaccharidoses – A guide for physicians and parents. Bremen, UNI-MED, 2007, str. 12-40, 66-86.
- Kłoska A, Jakóbkiewicz-Banecka J, Narajczyk M, Banecka-Majkutewicz Z, Węgrzyn G. Effects of flavonoids on glycosaminoglycan synthesis: implications for substrate reduction therapy in Sanfilippo disease and other mucopolysaccharidoses, *Metab Brain Dis*, 2011, 26, 1-8.
- Kłoska A, Narajczyk M, Jakóbkiewicz-Banecka J, Gryniewicz G, Szeja W, Gabina-Cimińska M, Węgrzyn G. Synthetic genistein derivatives as modulators of glycosaminoglycan storage. *Journal of Translational Medicine*, 2012, 10, 152-163.
- Lakshmy R. Analysis of the use of dried blood spot measurements in disease screening. *J Diabetes Sci Technol.*, 2008, 2(2), 242-243.
- Lazaric K. Validacija analitičkih metoda – osnovna načela. *Svijet po mjeri*, 2012, 1, 61 – 64.
- Lehman TJA, Miller N, Norquist B, Underhill L, Keutzer J. Diagnosis of the mucopolysaccharidoses. *Rheumatology*, 2011, 50, 41-42.

LITERATURA 3

- Ligutić I, Juretić D, Lipovac K, Bingulac-Popović J, Žuvela V. Mukopolisaharidoze: suvremena dijagnostika i prevencija. *Arhiv zašt. majke & djeteta*, 1991, 35, 109-124.
- Lukacs Z. Mucopolysaccharides. U: Laboratory guide to the methods in biochemical genetics. Blau N, Duran M, Gibson KM, urednici, Berlin, Springer, 2008, str. 288 -324.
- Mahalingam K, Janani S, Priya S, Elango EM, Sundari RM. Diagnosis of mucopolysaccharidoses: how to avoid false positives and false negatives. *Indian J Pediatr*, 2004, 71, 29-32.
- Marusteri M, Bacarea V. Kako odabratи pravi test za procjenu statističke značajnosti razlike između skupina?. *Biochimia Medica*, 2010, 2011, 15-32.
- Minguez JJ, Erices A, Congent P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2001, 226, 507-520.
- Mucopolysaccharidoses type I, 2002, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>, pristupljeno 10. 6. 2013.
- Müller KB, Rodrigues MDB, Pereira VG, Martins AM, D'Almeida V. Reference values for lysosomal enzymes activities using dried blood spots samples – a Brazilian experience. *Diagnostic Pathology*, 2010, 5, 65.
- Müller KB, Pereira VG, Martins AM, Almeida V. Evaluation of α-iduronidase in dried blood spots in an accurate tool for mucopolysaccharidoses I diagnosis. *J Clin. Lab. Anal.*, 2011, 25, 251-254.
- Raslich MA, Marker RJ, Stutes SA. Odabir i tumačenje dijagnostičkih pretraga. *Biochimia medica*, 2007, 17(2), 151-161.
- Samavka V. Rezultati metabolitskog probira u Hrvatskoj. *Hrvatski časopis za javno zdravstvo*, 2005, 2, 55-61.
- Sertić J i sur. Klinička kemija i molekularna dijagnostika. Zagreb, Medicinska naklada, 2008, 118-123.
- Scott HS, Anson DS, Orson AM, Nelson PV, Clements PR, Morris CP, Hopwood JJ. Human α-L-iduronidase: cDNA isolation and expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1991, 88, 9695-9699.
- Šimundić AM. Interval pouzdanosti. *Biochimia Medica*, 2008, 18(2), 154-161.
- Test ID: IDSB5 – Alpha- L- iduronidase, Blood spot, 2012, <http://www.mayomedicallaboratories.com>, pristupljeno 17. 6. 2013.
- Tolar J, Orchard PJ. α-L-iduronidase therapy for mucopolysaccharidoses type I. *Biologics: Targets & Therapy*, 2008, 2(4), 743-751.
- Turnpenny P, Ellard S. Emeryjeve osnove medicinske genetike. Zagreb, Medicinska naklada, 2011, str. 167-184.
- Wang D, Eadala B, Sadilek M, Chamoles NA, Turecek F, Scott CR, Gelb MH. Tandem mass spectrometric analysis of dried blood spots for screening of mucopolysaccharidoses I in newborns. *Clin Chem*, 2005, 51(5), 898-900.
- Wraith JE. The first 5 years of clinical experience with laronidase enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidoses I. *Expert Opin. Pharmacother.*, 2005, 6(3), 489-506.

Hvala na pažnji! ☺



fppt.com