

Dijagnoza i terapijski odgovor kod djece s neuronskom ceroidnom lipofuscinozom tip 2 u Kliničkom bolničkom centru Rijeka

Kostanjki, Marija

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:135082>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-19**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
STUDIJ MEDICINE

Marija Kostanjski

DIJAGNOZA I TERAPIJSKI ODGOVOR KOD DJECE S NEURONSKOM CEROIDNOM
LIPOFUSCINOZOM TIP 2 U KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU RIJEKA

Diplomski rad



Rijeka, 2024.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI INTEGRIRANI PREDDIPLOMSKI I DIPLOMSKI
STUDIJ MEDICINE

Marija Kostanjski

DIJAGNOZA I TERAPIJSKI ODGOVOR KOD DJECE S NEURONSKOM CEROIDNOM
LIPOFUSCINOZOM TIP 2 U KLINIČKOM BOLNIČKOM CENTRU RIJEKA

Diplomski rad

Rijeka, 2024.

Mentor rada: doc. dr. sc. Jelena Radić Nišević, dr. med.

Diplomski rad ocijenjen je 2. srpnja 2024. godine na Katedri za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. prof. dr. sc. Igor Prpić, dr. med.

2. doc. dr. sc. Kristina Lah Tomulić, dr. med.

3. prof. dr. sc. Goran Palčevski, dr. med.

Rad sadrži 45 strana, 10 slika, 4 tablice i 35 literaturnih navoda.

ZAHVALA

Najprije, iskreno zahvaljujem svojoj mentorici, poštovanoj doc. dr. sc. Jeleni Radić Nišević, dr. med, koja je uz mene od samog početka mog znanstvenog rada i s kojom sam napisala svoj prvi prikaz slučaja ikada, na petoj godini Fakulteta. Hvala Vam na svakoj izdvojenoj minuti svoga slobodnog vremena, savjetu, strpljenju i bodrenju tijekom pisanja radova. Velika mi je čast što ste mi mentorica.

Hvala i izv. prof. dr. sc. Nini Perezi, dr. med., na pomoći i korisnim savjetima tijekom mog puta u svijet znanosti.

Želim zahvaliti i svim prijateljima i kolegama na brojnim divnim uspomenama, a posebice svojim prijateljicama Dori, Pauli, Heleni, Leici i Loreni, što su uz mene već više od 15 godina, što su moje najvjernije navijačice i što me bodre i motiviraju svakoga dana! Hvala i Mati, Tini i Matei na velikoj podršci i pomoći te slavljenju svakog mog uspjeha kao da je dobitak u casinu. Hvala mome Krugomrku: Josipu, Cimi i Lukasu, koji su zdušno gurali naprijed, ne samo mene, već i po potrebi moj Twingo! S vama je svaki moj klasično mukotrpan deveti mjesec bio lakše osvojen! Hvala našem Josipu što nam je otvorio vrata i srce svoje „Brajde 10“, svaki puta kada je to bilo potrebno.

Najdublje zahvale idu mojoj obitelji, Mami, Tati i Sekici; hvala Vam što ste moj najjači oslonac, najveći obožavatelji i vjerna utjeha. Svojom nesebičnom žrtvom, molitvom i bezuvjetnom podrškom, omogućili ste mi sve u životu, pa tako i ovaj predivan period mog studiranja.

Na kraju, hvala Gospodinu, koji mi daje snagu i mir, i bez kojeg danas ne bih bila tu gdje jesam.

Ćao, zdravo; Vaša M.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1 Neurodegenerativne bolesti u djece	1
1.2 Neurometaboličke bolesti u djece	2
1.3 Lizosomske bolesti nakupljanja	3
1.4 Neuronske ceroidne lipofuscinoze	6
1.5 Neuronska ceroidna lipofuscinoza tip 2	11
1.5.1 Klinička slika CLN2	11
1.5.2 Dijagnostika CLN2	12
1.5.3 Liječenje CLN2	16
1.5.4 Diferencijalna dijagnoza	19
2. CILJEVI RADA	20
3. ISPITANICI I POSTUPCI	21
3.1 Ispitanici	21
3.2 Metode ispitivanja	21
3.3 Statistička obrada podataka	21
4. REZULTATI	22
5. RASPRAVA	32
6. ZAKLJUČAK	36
7. SAŽETAK	37
8. SUMMARY	38
9. LITERATURA	40
10. ŽIVOTOPIS	45

POPIS SKRAĆENICA I AKRONIMA

CLN2 (engl. *ceroid lipofuscinosis, neuronal type 2*) - neuronska ceroidna lipofuscinoza tip 2

DEM-CHILD (engl. *Dementia in Childhood*)

EEG (engl. *electroencephalogram*) - elektroencefalogram

EM (engl. *electron microscopy*) - elektronska mikroskopija

ENT - enzimaska nadomjesna terapija

FPO - fotoparoksizmalni odgovor

HML skala (engl. *Hamburg Motor-Language Scale*)

IBIS - Integrirani bolnički informacijski sustav

IFS - intermitentna fotostimulacija

KBC - Klinički bolnički centar

LBN - lizosomske bolesti nakupljanja

MPS - mukopolisaharidoze

MR - magnetna rezonancija

NCL - neuronske ceroidne lipofuscinoze

NGS (engl. *next-generation sequencing*) - sekvenciranje nove generacije

OCT (engl. *optical coherence tomography*) - optička koherentna tomografija

PPT1 (engl. *palmitoyl-protein thioesterase 1*) - palmitoil-protein tioesteraza 1

TPP1 (engl. *tripeptidyl peptidase 1*) - tripeptidil peptidaza 1

WCMC (engl. *Weill Cornell Medical College*)

1. UVOD

1.1 Neurodegenerativne bolesti u djece

Neurodegenerativne bolesti u djece predstavljaju heterogenu skupinu rijetkih poremećaja koji uzrokuju progresivnu disfunkciju i degeneraciju živčanog sustava. Često rezultiraju invaliditetom i skraćenim životnim vijekom.

Etiologija ovih bolesti višestruka je, s genetskim mutacijama kao najčešćim uzrokom, koje se mogu naslijediti autosomno recesivno, autosomno dominantno ili X-vezano. Mutacije u specifičnim genima dovode do abnormalnosti u proteinima, što rezultira staničnom disfunkcijom i smrću neurona. Osim genetskih uzroka, neurodegenerativne bolesti mogu biti izazvane metaboličkim poremećajima i kroničnim virusnim infekcijama, dovodeći do akutne ili kronične upale i oštećenja živčanog tkiva.

Klinička prezentacija ovih bolesti može varirati od akutne, fulminantne do brzo i sporo progresivne. Gubitak motoričkih funkcija često je prvi znak, a manifestira se kao poteškoće u hodanju, mišićna slabost, problemi s koordinacijom i finom motorikom. Kognitivni simptomi, poput intelektualnih poteškoća i regresije već stečenih sposobnosti, također su česti. Epileptički napadaji su učestali i mogu varirati od blagih do teških. Progresija simptoma obično vodi do potpune ovisnosti o skrbi i značajnog smanjenja kvalitete života. Osim navedenih simptoma, može doći i do progresivnog gubitka vida, sluha, govora, problema s hranjenjem i demencije (1).

Oštećenje sive tvari mozga može rezultirati teškim intelektualnim oštećenjima, problemima sa sluhom, vidom i epileptičkim napadajima, dok oštećenje bijele tvari može uzrokovati gubitak motoričkih sposobnosti, spasticitet i ataksiju.

Neurodegenerativne bolesti mogu započeti neonatalno, u ranoj i kasnoj infantilnoj dobi te tijekom adolescencije. Od onih koje počinju neonatalno, ističu se Von Gierkeova bolest,

neonatalna adrenoleukodistrofija, mukolipidoza tipa II i Alexanderova bolest. Primjeri nekih neurodegenerativnih bolesti kod djece koje se javljaju u infantilnoj dobi su Pompeova bolest, infantilni i kasno infantilni tip neuronske ceroidne lipofuscinoze, Gaucherova bolest, Tay-Sachsova bolest i Niemann-Pickova bolest. Tijekom adolescencije javljaju se juvenilni tip neuronske ceroidne lipofuscinoze, Sanfilipov sindrom i Laforina bolest (1,2).

1.2 Neurometaboličke bolesti u djece

Neurometaboličke bolesti obuhvaćaju skupinu poremećaja karakteriziranih nedostatkom ili disfunkcijom enzima ili vitamina potrebnih za određene kemijske reakcije u tijelu. Nedostatak ili nepravilno djelovanje enzima može rezultirati nedostatkom važnih produkata (metabolita) u mozgu, što uzrokuje specifične vrste neurometaboličnih bolesti. Nedostatak tih metabolita ometa normalan razvoj mozga te može dovesti do nakupljanja toksičnih metaboličkih produkata u mozgu, posebno u dječjem mozgu koji je u razvoju. Najčešći znakovi ovih nasljednih metaboličkih poremećaja su neurološki simptomi, pri čemu globalno zaostajanje u neurološkom razvoju često predstavlja prvi simptom progresivnih bolesti (3).

Rana dijagnoza neurometaboličkih bolesti ključna je jer omogućuje pravovremeno uvođenje odgovarajuće terapije. U mnogim slučajevima, terapija može spriječiti smrtni ishod ili značajno poboljšati dugoročne neurološke posljedice. S druge strane, kašnjenje u dijagnozi ili pogrešna dijagnoza mogu rezultirati nepovratnim oštećenjem mozga u razvoju (4).

Dijagnostička obrada neurometaboličkih bolesti kod djece obično počinje rutinskim laboratorijskim testovima; isključivanjem mogućih poremećaja putem jednostavnih

testova urina. Na primjer, vakuole u limfocitima periferne krvi mogu ukazivati na neke od tih bolesti, poput lizosomskih bolesti nakupljanja (LBN), infantilnog oblika Pompeove bolesti ili raznih tipova mukopolisaharidoza (MPS). Međutim, nedostatak tih vakuola ne znači nužno i odsutnost poremećaja.

Ovisno o rezultatima rutinskih testova, odlučuje se o specifičnim metaboličkim testovima koji uključuju mjerenje koncentracija različitih tvari, poput aminokiselina, organskih kiselina i vitamina u plazmi, likvoru i urinu.

Analiza likvora vrlo je važna jer se metaboliti u likvoru mogu koristiti kao pokazatelji promjena u mozgu i leđnoj moždini. Osnovne pretrage likvora uključuju biokemijske pretrage (proteina, laktata, glukoze i klorida), organoleptički pregled (boja, izgled), citološke analize (morfološka analiza i ukupan broj stanica), analize aminokiselina te analize neurotransmitera. Također, mjerenje niskih koncentracija specifičnih biomarkera u likvoru nužno je za praćenje tijeka liječenja neurometaboličkih bolesti.

Novije laboratorijske metode prilagođene su za rad s malim količinama uzoraka, što omogućuje analize iz suhe kapi krvi ili urina s filter-papira. Ovaj pristup poboljšava dostupnost precizne laboratorijske dijagnostike, što je ključno za provođenje probira kod novorođenčadi na sve više rijetkih neurometaboličkih poremećaja (5).

1.3 Lizosomske bolesti nakupljanja

Lizosomi su organeli otkriveni 1950-ih godina, ključni za unutarstaničnu razgradnju složenih molekula i procese recikliranja tvari (6). Sadrže mnogobrojne enzime koji potiču hidrolitičko razlaganje različitih makromolekula. Unutrašnjost lizosoma ima kiseli pH, koji se održava mehanizmima protonske pumpe, što omogućuje optimalnu aktivnost tih enzima. Igraju ključnu ulogu u održavanju stanične homeostaze putem

recikliranja hranjivih sastojaka i razgradnjom neželjenih staničnih struktura autofagijom. Greške u funkciji lizosoma dovode do nakupljanja nerazgrađenih supstrata, što rezultira oštećenjem stanica i okolnog tkiva te disfunkcijom organa (7).

Mehanizmi koji uzrokuju nakupljanje makromolekula uključuju nedostatak aktivnosti lizosomskih enzima, poremećaje u posttranslacijskoj modifikaciji i transportu enzima te nedostatak transmembranskih transportera i regulatornih proteina (8).

Lizosomske bolesti nakupljanja (LBN) heterogena su skupina nasljednih metaboličkih poremećaja u kojima dolazi do abnormalnog nakupljanja neprobavljenih supstrata unutar lizosoma (9).

Procjenjuje se da postoji više od 70 takvih bolesti, s učestalošću od otprilike jedan slučaj na 7 500 novorođene djece (10). Neke od ovih bolesti češće se javljaju u određenim populacijama, poput Gaucherove bolesti kod Aškenazi Židova ili Pompeove bolesti u Nizozemskoj i Tajvanu (8).

Ove bolesti često se dijele prema vrsti nakupljenog supstrata na mukopolisaharidoze, neuronske ceroidne lipofuscinoze, mukolipidoze, lipidoze, sfingolipidoze, oligosaharidoze, glikogenoze i poremećaje prijenosa. Nadalje, mogu se klasificirati i prema patogenezi, što uključuje poremećaje u razgradnji glikana, lipida i proteina, nedostatak lizosomskih transportnih proteina te poremećaje u prijenosu proteina u lizosome (8).

Karakteristično je za ove bolesti progresivni klinički tijek, pri čemu brzina progresije varira ovisno o specifičnoj bolesti i individualnim čimbenicima pacijenta. Genetske mutacije koje uzrokuju ove bolesti mogu narušiti funkciju i stabilnost lizosomskih enzima ili mogu oštetiti proteine na membranama lizosoma, što rezultira poremećajima

u putevima lizosomske razgradnje (11). Ova nakupina supstrata unutar stanica ometa njihovu normalnu funkciju i dovodi do različitih kliničkih manifestacija.

Simptomi ovih bolesti mogu se pojaviti u različitim životnim razdobljima, a bolesti se dijele prema težini kliničke slike na infantilne, juvenilne i adultne oblike, pri čemu jasnu granicu često nije jednostavno postaviti te se sve češće prepoznaje kontinuum simptoma (8). Ovi simptomi mogu varirati od blagih do teških oblika, s nekim oblicima koji se manifestiraju čak i intrauterino (8). Oni uključuju dismorfiju, hepatosplenomegaliju, kardiomiopatiju, promjene na koži ili kosi, slabost mišića i vezivnog tkiva, oštećenje sluha i vida te razne neurološke simptome poput usporenog psihomotornog razvoja, epilepsije i progresivnog neurološkog propadanja, osobito u slučaju neuronskih ceroidnih lipofuscinoza (NCL) (12).

Dijagnoza lizosomskih bolesti započinje osnovnim laboratorijskim i dijagnostičkim pretragama, a daljnja dijagnostika uključuje specijalizirane testove poput testova probira, enzimske analize te genske analize, koja je danas nezaobilazna u dijagnostici nasljednih bolesti. Korisno je napraviti i oftalmološki i kardiološki pregled, neuroslikovne i ultrazvučne pretrage, rendgensko snimanje i citološki razmaz periferne krvi za otkrivanje nakupljanja supstrata u leukocitima.

Terapijski pristupi uključuju enzimsku nadomjesnu terapiju, transplantaciju matičnih hematopoetskih stanica, farmakološke šaperone, inhibitore sinteze supstrata te gensku terapiju, koja je u fazama kliničkih istraživanja za neuronsku ceroidnu lipofuscinozu tip 2 (CLN2) i neke druge neuronske ceroidne lipofuscinoze. Osim specifičnog liječenja, pacijentima je nužno osigurati potpurnu i simptomatsku terapiju te redovito praćenje u zdravstvenim ustanovama (8).

1.4 Neuronske ceroidne lipofuscinoze

Neuronske ceroidne lipofuscinoze (NCL), poznatije pod nazivom Battenova bolest, predstavljaju grupu rijetkih, progresivnih i nasljednih neurodegenerativnih poremećaja koji zahvaćaju živčani sustav (13). Naziv "neuronska ceroidna lipofuscinoza" uvodi se na temelju histokemijskih i ultrastrukturnih značajki, što omogućuje razlikovanje NCL-a od ostalih neurodegenerativnih bolesti (14).

Sve NCL bolesti u djetinjstvu i većina u odrasloj dobi nasljeđuju se autosomno recesivno, osim jednog dominantnog oblika koji se javlja kod odraslih, Parryjeve bolesti, povezane s mutacijama u genu CLN4 (15). NCL bolesti karakterizira akumulacija autofluorescentnih ceroidnih lipopigmenata, podjedinica C mitohondrijskih ATP sintetaza ili aktivatorskih proteina A i D sfingolipida unutar lizosoma, posebno u mozgu, što rezultira njegovim progresivnim propadanjem.

Proteini koji su odgovorni za NCL mogu biti topljivi lizosomski enzimi, proteini s više membranskih domena unutar lizosoma ili endoplazmatskog retikuluma, ili pak proteini povezani sa sinaptičkim vezikulama (14).

NCL su rijetke bolesti rasprostranjene širom svijeta, s incidencijom od 1 do 3 na 100 000 ljudi i prevalencijom od oko 2 do 4 na milijun ljudi (15).

Prvi opis NCL-a dao je Otto Christian Stengel 1826. godine, opisujući poremećaj s početkom u mladosti, sa sljepoćom i progresivnom demencijom. Godine 1903. Frederick Batten identificirao je sličan klinički entitet i bio prvi koji je opisao neuropatologiju "cerebralne degeneracije s makularnim promjenama". Godine 1905. Spielmeyer i Vogt izvijestili su o sličnom poremećaju pa se juvenilna NCL često naziva Batten-Spielmeyer-Vogtova bolest. Janský i Bielschowsky opisali su sličan poremećaj s "kasnim infantilnim" početkom, poznat kao kasna infantilna NCL ili

Janský-Bielschowsky bolest. Kufs je definirao bolest s početkom u odrasloj dobi sa sličnim patološkim karakteristikama, ali bez značajnog gubitka vida, poznatu kao NCL s početkom u odrasloj dobi ili Kufsova bolest. Otprilike 50 godina kasnije, Haltia i Santavuori opisali su poseban oblik s infantilnim početkom. Klasična infantilna NCL također je poznata kao Haltia-Santavuori bolest (16).

Prije otkrića uzročnih gena, neuronske ceroidne lipofuscinoze bile su primarno klasificirane prema dobi pojavnosti simptoma, gdje su se razlikovali kongenitalni, infantilni, kasni infantilni, juvenilni i odrasli oblici, te prema ultrastrukturnim abnormalnostima pronađenim elektronskim mikroskopom: granularni osmiofilni depoziti (engl. *granular osmiophilic deposits*) u infantilnoj NCL, krivolinijski oblici (engl. *curvilinear profiles*) u kasnoj infantilnoj NCL, kao otisak prsta (engl. *fingerprint bodies*) u juvenilnoj NCL i pravolinijski oblici (engl. *rectilinear profiles*) u NCL-u odrasle dobi (13,16).

Identificirano je 14 oblika NCL-a, nazvanih prema uzročnoj genetskoj mutaciji. Svaki oblik bolesti označen je kraticom CLN (engl. *ceroid lipofuscinosis, neuronal*) i brojem koji ukazuje na tip/oblik bolesti (17). Tablica 1 prikazuje mutirane gene za svaki tip NCL-a i povezane proteine.

Tablica 1. Klasifikacija NCL bolesti. Preuzeto i prilagođeno prema Mink i sur., 2013. te Schulz i sur., 2013. (16,18).

NCL	Gen	Protein
CLN1 ~ Infantilni ~ Kasni infantilni ~ Juvenilni ~ Odrasli	<i>CLN1/PPT1</i>	PPT1
CLN2 ~ Kasni infantilni ~ Juvenilni	<i>CLN2/TPP1</i>	TPP1
CLN3 ~ Juvenilni	<i>CLN3</i>	Lizosomski transmembranski protein
CLN4 ~ Odrasli	<i>CLN4/DNAJC5</i>	Topljivi cisteinski nitasti protein α
CLN5 ~ Kasni infantilni ~ Juvenilni ~ Odrasli	<i>CLN5</i>	Topljivi lizosomski protein
CLN6 ~ Kasni infantilni ~ Odrasli	<i>CLN6</i>	Transmembranski protein endoplazmatskog retikuluma
CLN7 ~ Kasni infantilni	<i>CLN7/MFSD8</i>	Lizosomski transmembranski protein
CLN8 ~ Kasni infantilni ~ EPMR	<i>CLN8</i>	Transmembranski protein endoplazmatskog retikuluma
CLN10 ~ Kongenitalni ~ Kasni infantilni ~ Juvenilni ~ Odrasli	<i>CLN10/CTSD</i>	Katepsin D
CLN11 ~ Odrasli	<i>CLN11/GRN</i>	Progranulin
CLN12 ~ Juvenilni	<i>CLN12/ATPI3A2</i>	ATP-aza tip 13A2
CLN13 ~ Odrasli	<i>CLN13/CTSF</i>	Katepsin F
CLN14 ~ Infantilni	<i>CLN14/KCTD7</i>	Tetramerna domena kalijevog kanala koja sadrži protein tip 7

Četiri tipa NCL-a uzrokovana su poremećajima u lizosomskim enzimima (CLN1, CLN2, CLN10, CLN13), dok su drugi uzrokovani poremećajima u transmembranskim proteinima (CLN3, CLN6, CLN7, CLN8) (19). Mutacije u genu za ATP-azu (CLN12) i genu za kalijev kanal (CLN14) također uzrokuju NCL bolest. Nedavno identificirani gen CLN4 (*DNAJC5*) kodira protein s pretpostavljenom funkcijom u sinapsama (20).

Zajednička karakteristika svim NCL bolestima je progresivni gubitak vida zbog zahvaćanja retine, epileptički napadaji, gubitak motoričkih i govornih funkcija te demencija.

Današnja dijagnostika NCL-a temelji se na sveobuhvatnoj analizi kliničkih simptoma, elektrofizioloških pretraga poput EEG-a, magnetnoj rezonanciji mozga, histološkim testovima te genskim analizama (18). Dijagnoza se potvrđuje genskim analizama, dok se nedostatak enzima može detektirati samo kod infantilnog (CLN1) i kasnog infantilnog oblika (CLN2). Ove se analize mogu provesti koristeći uzorak suhe kapi krvi na filter-papiru.

Specijalni centar za NCL i ostale demencije u dječjoj dobi u Hamburgu osnovan je prije više od 20 godina i godišnje liječi oko 170 pacijenata sa svim vrstama NCL bolesti. Međunarodna baza podataka DEM-CHILD, registar NCL bolesti, osnovana je u Hamburgu u sklopu FP7 projekta DEM-CHILD financiranog od strane Europske unije (*A Treatment-Oriented Research Project of NCL Disorders as a Major Cause of Dementia in Childhood*). Cilj projekta bio je napraviti registar bolesnika s potvrđenom NCL mutacijom radi detaljnog opisa kliničkog tijeka bolesti, varijabilnosti genotip-fenotip te razvoja mogućnosti liječenja NCL-a.

Unutar baze podataka prikupljaju se različite vrste podataka, podijeljene u statičke i dinamičke skupove podataka NCL pacijenata iz 19 zemalja Europe,

Sjeverne i Južne Amerike te Azije (15,21). Statički podaci ne mijenjaju se tijekom vremena i uključuju osnovne informacije poput genetske dijagnoze, dobi početka simptoma te dosegnutog psihomotornog razvoja. Dinamički podaci prikupljaju se tijekom vremena i mijenjaju s progresijom bolesti, obuhvaćajući kliničke procjene i rezultate pregleda u određenim vremenskim intervalima. Ove su vrste podataka objašnjene u Tablici 2.

Tablica 2. Pregled vrsta podataka (statički/retrospektivni, dinamički/prospektivni). Preuzeto i prilagođeno prema Nickel i sur., 2022. (21).

Statički podaci	Dinamički podaci
Demografski podaci	Skale progresije bolesti
Genetska dijagnoza	MR/OCT/EEG
Povijest bolesti (dob pri postavljanju dijagnoze, simptomi bolesti...)	Klinički testovi
Dob postizanja razvojnih prekretnica psihomotornog razvoja	QoL upitnici*

*QoL upitnici (engl. *Quality of Life*) - upitnici o procjeni kvalitete života.

Trenutno ne postoji specifično liječenje za većinu tipova NCL-a. Terapija je uglavnom simptomatska, s ciljem ublažavanja simptoma, usporavanja napretka bolesti i poboljšanja kvalitete života. Genska terapija za liječenje određenih oblika NCL-a još je uvijek u fazi eksperimentalnih ili kliničkih istraživanja. Većina oboljelih od NCL-a pati od farmakorezistentne epilepsije. Zahvaljujući bržoj i pravovremenoj dijagnostici u posljednjih nekoliko godina, primijećen je napredak u smanjenju učestalosti epileptičkih napadaja kod djece s NCL-om i samom liječenju epilepsije.

1.5 Neuronska ceroidna lipofuscinoza tip 2

Neuronska ceroidna lipofuscinoza tip 2 (CLN2) rijedak je autosomno recesivni, neurodegenerativni lizosomski poremećaj uzrokovan manjkom aktivnosti enzima lizosomske serin proteaze, tripeptidil peptidaze 1 (TPP1), koji je kodiran TPP1/ CLN2 genom na kratkom kraku kromosoma 11 na lokusu 15.5 (11p15.5). Ovaj poremećaj predstavlja najčešći uzrok demencije u djece.

Verity i sur. (22) identificirali su CLN2 kao najčešću etiologiju u kohortnom istraživanju od 2636 djece s potvrđenom dijagnozom demencije. Drugo istraživanje u Australiji navodi prevalenciju dječje demencije od 2,1 slučaja na 100 000 djece, pri čemu je najmanje 7,5 % slučajeva pripisano NCL-u kao vodećem uzroku (23).

Karakteristično je za CLN2, kao i za ostale oblike NCL-a, nakupljanje autofluorescentnih materijala unutar lizosoma u neuronima središnjeg živčanog sustava i endotelnih retinalnih stanica, što dovodi do njihova progresivnog gubitka (24,25). Procjenjuje se da oko 14 000 ljudi diljem svijeta pati od CLN2, a globalna prevalencija ovog poremećaja iznosi između 0,6 i 0,7 na milijun stanovnika (10).

1.5.1 Klinička slika CLN2

Klinička slika CLN2 obuhvaća simptome i znakove koji se mogu pojaviti u različitim fazama bolesti. Rani simptomi uključuju usporen razvoj govora, epileptičke napadaje i motoričke poremećaje. Usporen razvoj govora često je prvi indikator bolesti, pri čemu dijete može kasniti u postizanju tipičnih jezičnih razvojnih prekretnica. Na primjer, prva jednostavna riječ može biti usvojena tek sa 18 mjeseci ili kasnije, prva dvoriječna rečenica sa 24 mjeseca ili kasnije, a potpuna rečenica tek sa 36 mjeseci.

Ovaj simptom javlja se u 83 % djece prije pojave epileptičkih napadaja te u 57 % slučajeva kao prvi rani simptom bolesti (26).

Klasični oblik CLN2 bolesti najčešće se manifestira neprovociranim epileptičkim napadajima i/ili mioklonom ataksijom u kasnom infantilnom razdoblju (obično između 2. i 4. godine), često praćenim progresivnim pogoršanjem vida, motoričkih i jezičnih funkcija, demencijom u djetinjstvu i ranom smrću. Atipični fenotipovi mogu imati kasniji početak bolesti i ponekad duži životni vijek (27).

Epileptički napadaji mogu biti raznoliki u svojoj manifestaciji, uključujući žarišne, mioklone, toničke, atoničke, toničko-kloničke napadaje i apsanse. Prvi neprovocirani epileptički napadaj, uz prethodnu anamnezu usporenog razvoja govora, može visoko sugerirati dijagnozu CLN2 (17,26).

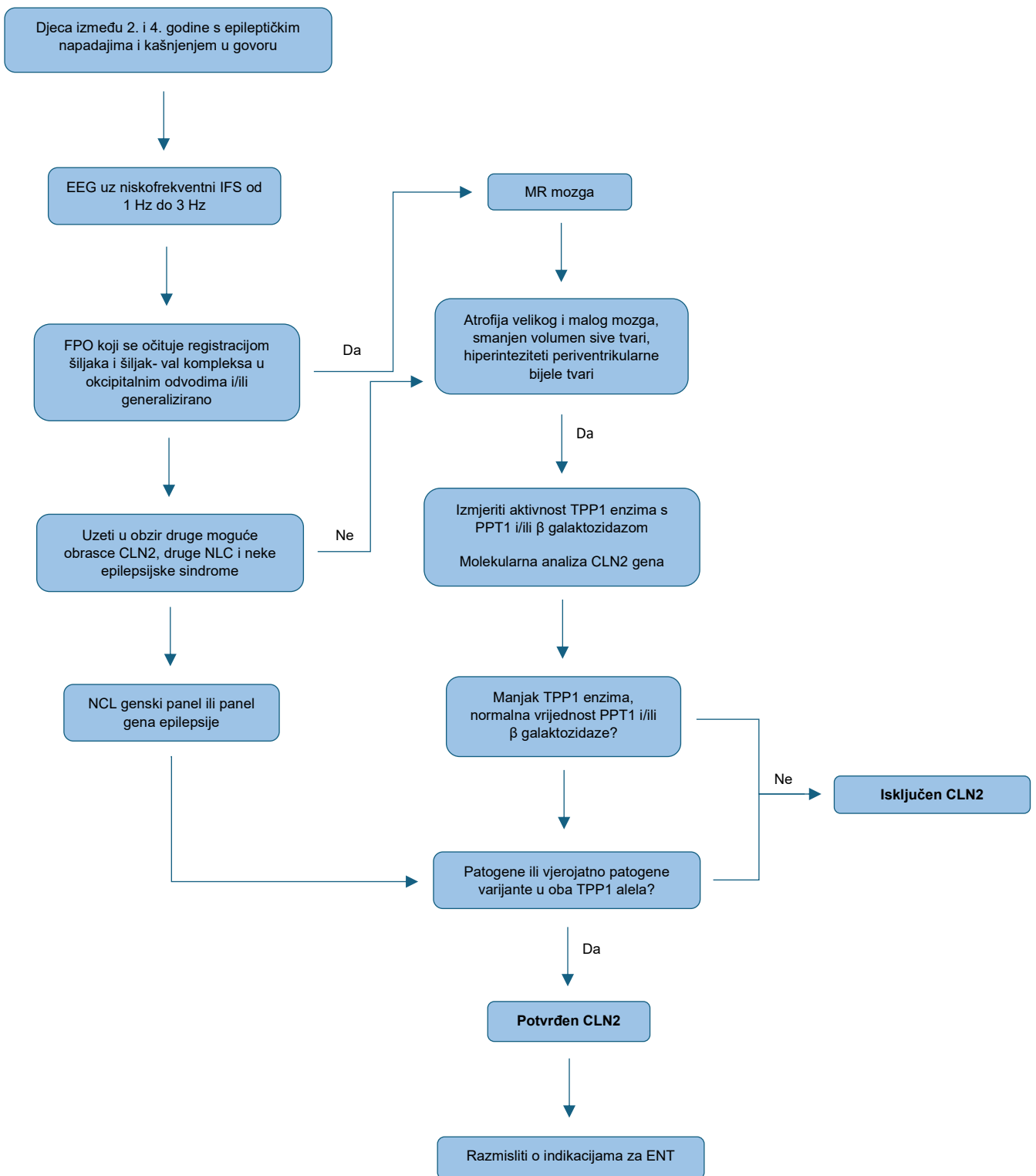
Motorički poremećaji, poput nespretnosti, poremećaja koordinacije, tremora, učestalih spontanih padova, hoda na širokoj osnovi, hipotonije i hipertonije, također se javljaju u ranoj fazi bolesti. Ataksija, kao izraženiji motorički poremećaj, obično se razvija nakon početka epileptičkih napadaja (28).

1.5.2 Dijagnostika CLN2

Elektroencefalogram (EEG) u ranoj fazi bolesti može pokazivati nespecifične promjene, kao što su usporena osnovna aktivnost i suspektni epileptiformni grafoelementi. Standardne frekvencije intermitentne fotostimulacije (IFS) obično ne izazivaju fotoparoksizmalni odgovor (FPO), ali upotreba niskofrekventnog IFS-a od 1 Hz do 3 Hz može rezultirati FPO-om, što se manifestira kao registracija šiljak-val kompleksa u okcipitalnim odvodima ili generalizirano (17). Ovo predstavlja rani neurofiziološki pokazatelj CLN2 bolesti. Drugim riječima, EEG može pokazivati

povećane amplitude ispada u okcipitalnim regijama kao odgovor na niskofrekventni fotopodražaj, s frekvencijom identičnom stimulaciji u toj regiji (29). FPO koji se javlja pri niskofrekventnom IFS-u također se može naći i kod progresivne mioklone epilepsije, što je korisno za diferencijalnu dijagnozu epileptičkih sindroma u djece predškolske dobi (17).

Neuroslikovne pretrage, poput magnetne rezonancije (MR) mozga, ključne su za dijagnostiku djece s neprovociranim epileptičkim napadajima povezanim s CLN2. Promjene koje se često opažaju uključuju atrofiju malog mozga, cerebralnu atrofiju, smanjenje debljine kore mozga te hiperintenzitete periventrikularne bijele tvari. U prikazima slučajeva koji uključuju 12 pacijenata, cerebelarna atrofija zabilježena je kod 92 % pacijenata, dok je cerebralna atrofija prisutna kod 67 % pacijenata. Linearni hiperintenzitet središnje bijele tvari imalo je 83 % djece, u 50 % djece primijećeno je stanjenje korpusa kalozuma, a 8 % imalo je hipointenzivitet talamusa. (17,31).



Slika 1. Algoritam koji pomaže u dijagnostici CLN2.

Preuzeto i prilagođeno prema Dyke i sur., 2016. (29).

Laboratorijska dijagnostika CLN2 uključuje analizu aktivnosti enzima tripeptidil peptidaze 1 (TPP1). TPP1 je serinska egzopeptidaza u lizosomima, neosjetljiva na pepstatin, a analizira se fluorogenim supstratom *Ala-Ala-Phe-7-amido-4-metilumarinom*. Za ovu analizu važno je da svaki laboratorij uspostavi svoj referentni interval. Enzimska aktivnost TPP1 najčešće se mjeri u leukocitima iz pune krvi, ali može se analizirati i u fibroblastima, suhim kapima krvi te slini. Validacija enzimskih testova za preciznu interpretaciju rezultata važna je za otkrivanje razlika u aktivnosti enzima između oboljelih, nositelja i zdravih pojedinaca.

Kako bi se točno interpretirali rezultati aktivnosti TPP1 enzima, za osiguranje kvalitete uzorka važno je izmjeriti kontrolne enzime. Palmitoil-protein tioesteraza 1 (PPT1), koja se koristi za dijagnostiku CLN1, odgovarajući je kontrolni enzim zbog svoje slične stabilnosti kao TPP1. Procjena PPT1 enzimske aktivnosti pomaže u ocjeni kvalitete uzorka i isključivanju CLN1 bolesti. Nadalje, kao alternativni kontrolni enzim može poslužiti i bilo koji lizosomski enzim koji nije povezan s NCL bolestima (24).

Klinička elektromikroskopska (EM) ispitivanja zahtijevaju biopsiju kože ili drugih tkiva kako bi se utvrdilo nakupljanje specifičnih materijala za skladištenje karakterističnih za CLN2 bolest. Također, mogu se koristiti biopsije rektuma, skeletnih mišića i konjunktive. EM analiza često pokazuje krivolinijske profile, ponekad miješane s profilima otisaka prstiju, što može ukazivati na atipične fenotipove CLN2 (24).

Konačna molekularna dijagnoza CLN2 postavlja se identifikacijom dviju patogenih mutacija u TPP1/CLN2 genu, često potvrđenih metodom genskog sekvenciranja sljedeće generacije (engl. *next generation sequencing*, NGS). TPP1/CLN2 gen sastoji se od 13 egzona i ima duljinu od 6.7 kilobaza. Dvije najčešće mutacije povezane s CLN2 bolesti su c.622C>T (p.Arg208Ter) i c.509-1G>C (17,24).

U slučajevima u kojima se sumnja na NCL preporučuje se upotreba panela NCL gena, uz dodatnu procjenu enzimske aktivnosti PPT1 kao metode probira. Multidisciplinarni pristup u ranoj fazi bolesti ključan je za pravovremenu dijagnozu i pristup bolesti, što značajno doprinosi očuvanju kvalitete života pacijenata s CLN2 (24).

1.5.3 Liječenje CLN2

Liječenje rijetkih progresivnih neurodegenerativnih poremećaja kod djece sve više uključuje farmakološku terapiju, uz pružanje potporne i palijativne skrbi. Ako se terapija započne u ranim fazama bolesti, može imati pozitivan utjecaj na razne simptome bolesti (31).

Cerliponaza alfa, rekombinantni proenzim TPP1 (poznat i kao zimogen), koji cijepa lizosomske tripeptide s N-kraja proteina, ključna je enzimska terapija koja smanjuje nakupljanje lizosomskog materijala u središnjem živčanom sustavu pacijenata s CLN2. Ova terapija dostupna je u Europi i Americi od 2017. godine.

Klinička procjena bolesnika s CLN2 bolesti često se provodi pomoću Hamburg skale. Hamburg skala ocjenjuje progresiju bolesti kroz motoričku i jezičnu funkciju, epileptičke napadaje te regresiju vida. Modificirana verzija ove ljestvice, poznata kao CLN2 skala kliničke procjene (engl. *CLN2 Clinical Rating Scale*), fokusira se isključivo na motoričku i jezičnu funkciju, adaptirajući Hamburg skalu (engl. *Hamburg Motor-Language Scale* – HML skala) kako bi osigurala dosljedne ocjene u multinacionalnim istraživanjima. Pacijenti moraju imati ocjenu najmanje tri na ovoj ljestvici kako bi bili kandidati za enzimsku nadomjesnu terapiju (ENT). Analize koje uspoređuju CLN2 skalu kliničke procjene s HML skalom, pokazuju veliku sličnost, što je detaljno objašnjeno u Tablici 3 (32).

Tablica 3. Hamburg skala i CLN2 skala kliničke procjene koje se koriste za procjenu pacijenata s CLN2 bolesti. Preuzeto i prilagođeno prema Sampaio i sur., 2023. (29).

Funkcionalna sposobnost	Hamburg skala	Bodovi	CLN2 skala kliničke procjene
Motorička funkcija	Normalan hod	3	Sasvim normalan hod; bez izražene ataksije i bez patoloških padova
	Česti padovi, očita nespretnost	2	Abnormalan hod, česti padovi, samostalno hoda > 10 koraka
	Hoda samo uz pomoć ili samo puzanje	1	Za hoda potreba pomoć ili može samo puzati
	Nepokretan, većinom vezan za krevet	0	Nepokretan, većinom vezan za krevet
Govorna funkcija	Normalan govor (maksimum pojedinca)	3	Naizgled normalan govor; razumljiv i primjeren dobi; još nije zabilježen pad funkcije
	Govor postao značajno abnormalan	2	Gubitak riječi, razumljiv, ali abnormalan govor (gore od maksimuma pojedinca)
	Teško razumljiv	1	Teško razumljiv
	Nerazumljiv ili ne govori	0	Nerazumljiv ili ne govori
Vidna funkcija	Prepoznaje stvari i uzima ih	3	
	Nekoordinirano uzimanje stvari	2	
	Reagira na svjetlost	1	
	Nema reakcije na vidni podražaj	0	
Epileptički napadaji	Nema napadaja u 3 mjeseca	3	
	1 - 2 napadaja u 3 mjeseca	2	
	1 napadaj mjesečno	1	
	> 1 napadaj mjesečno	0	

Hamburg skala, razvijena za procjenu napredovanja CLN2 bolesti, ocjenjuje četiri domene: motoričku funkciju (sposobnost hodanja), vizualnu funkciju, govor i epileptičke napadaje. Svaka domena ocjenjuje se na skali od 0 do 3, s maksimalnim rezultatom od 12. Kako bi se održala dosljednost ocjenjivanja u multinacionalnim istraživanjima, Hamburg skala prilagođena je tako da ocjenjuje samo motoričku i jezičnu funkciju, što rezultira rezultatom od 0 do 6, usklađenim s CLN2 skalom kliničke procjene (32).

Preporučena doza cerliponaze alfa za pacijente s CLN2 je 300 mg intraventrikularno svaka dva tjedna. Hrvatski zavod za zdravstveno osiguranje (HZZO) odobrio je liječenje cerliponazom alfa u Hrvatskoj od 2020. godine, pod uvjetom potvrđene dijagnoze CLN2 na temelju kliničkih i genetskih pokazatelja.

Kriteriji za početak i nastavak liječenja obuhvaćaju dijagnozu CLN2 temeljenu na kliničkim značajkama i smanjenju aktivnosti TPP1 enzima, što se dodatno potvrđuje genskim testiranjem, te potvrdu da nema drugih progresivnih, životno ugrožavajućih bolesti. Nadalje, pacijent mora imati klinički stupanj bolesti veći ili jednak dva boda prema CLN2 skali kliničke procjene motoričke (M) i govorne (G) domene te biti pod nadzorom tima Bolničkog povjerenstva za lijekove Kliničkog bolničkog centra (KBC-a) Rijeka, svakih šest mjeseci. Prva evaluacija provodi se nakon 18 mjeseci primjene terapije, a zatim svakih 12 mjeseci radi procjene napretka ili stabilnosti bolesti.

Kriteriji za prekid liječenja uključuju neučinkovitost terapije kod pacijenata koji su s tri ili više godina započeli liječenje, ako se tijekom prvih 18 mjeseci liječenja utvrdi gubitak za više od dva boda prema CLN2 kliničkoj skali, koji perzistira nakon najmanje tri infuzije. Također, kriteriji uključuju nesuradnju pacijenta i pojavu dodatnih progresivnih stanja koja ugrožavaju život.

Terapija se prekida i kod pacijenata koji su već duže od 18 mjeseci pod liječenjem ako se utvrdi pad za više od jednog boda (tj. dva ili više bodova) prema CLN2 kliničkoj skali u odnosu na procjenu iz prethodnog dvanaestomjesečnog razdoblja liječenja, pri čemu taj gubitak perzistira tijekom minimalno tri infuzije. Nadalje, liječenje se prekida i ako bolest napreduje do ireverzibilne ocjene 0. Pacijenti koji dobiju ocjenu 0 trebaju biti ponovno procijenjeni dva puta unutar razdoblja od 12 tjedana kako bi se utvrdilo da taj pad nije rezultat neke druge bolesti (33).

Prosječno vrijeme koje je potrebno da se od pojave prvih simptoma postavi dijagnoza iznosi otprilike dvije godine. Svako kašnjenje u definiranju dijagnoze sprječava početak enzimske nadomjesne terapije (ENT) cerliponazom alfa u ranom stadiju bolesti, što je ključno za usporavanje simptoma ove brzoprogresivne neurodegenerativne bolesti (17).

1.5.4 Diferencijalna dijagnoza

U slučaju novonastalih napadaja kod male djece, diferencijalna dijagnoza uključuje različite epileptičke sindrome: Ohtahara sindrom, Dravet sindrom, Lennox-Gastaut sindrom, miokloničko-astatičku epilepsiju (Dooseov sindrom), West sindrom i Landau-Kleffnerov sindrom. Također, treba razmotriti nedostatak GLUT1, benigne mioklone epilepsije, progresivne mioklone epilepsije poput Laforine bolesti, Unverricht-Lundborgove bolesti, mioklone epilepsije s nepravilnim crvenim vlaknima, zajedno s drugim kanalopatijama i metaboličkim sindromima povezanim s mioklonom epilepsijom, uključujući sialidoze i galaktosialidozu.

Kod epilepsije i progresivne neurodegeneracije u djece, važno je nadalje razmotriti i druge moguće uzroke poput ganglioziidoza, mukopolisaharidoza, mukolipidoza, Niemann-Pickove bolesti tipa C, peroksisomalnih poremećaja, mitohondrijskih poremećaja, Gaucherove bolesti tipa III i leukodistrofija.

Iako se simptomi mnogih od ovih poremećaja i sindroma razlikuju od klasične prezentacije CLN2 bolesti, prirodne varijacije u kliničkoj prezentaciji često otežavaju ranu, brzu i preciznu dijagnozu CLN2. Razlikovanje ovih poremećaja i sindroma je teško jer mnogima od njih nedostaju biokemijski dijagnostički testovi, kao što su testovi aktivnosti enzima i/ili testovi biomarkera, što može usporiti vrijeme postavljanja dijagnoze. Srećom, postoji biokemijski test za dijagnozu bolesti CLN2 (24).

2. CILJEVI RADA

Glavni je cilj ovog rada istaknuti ključne rane simptome koji bi mogli potaknuti sumnju kod liječnika na CLN2 u ranim fazama bolesti te naglasiti važnost brze dijagnostike i terapije ove bolesti.

Sporedni ciljevi su:

- Analizirati kliničke karakteristike djece s dijagnosticiranom CLN2 u KBC-u Rijeka
- Procijeniti terapijski odgovor na liječenje cerliponazom alfa kod pacijenata s CLN2 u KBC-u Rijeka
- Ispitati faktore koji mogu utjecati na terapijski uspjeh kod djece s CLN2
- Istaknuti dostupne dijagnostičke metode i testove za rano prepoznavanje CLN2
- Analizirati utjecaj rane dijagnostike CLN2 na terapijski odgovor i dugoročne ishode pacijenata
- Podići svijest o CLN2 kao neurodegenerativnoj bolesti čija se progresija može usporiti primjenom odgovarajuće terapije
- Istaknuti važnost rane dijagnoze i terapije CLN2 u poboljšanju kvalitete života djece oboljele od ove bolesti te njihovih obitelji.

3. ISPITANICI I POSTUPCI

3.1 Ispitanici

Ovo retrospektivno istraživanje provedeno je na Zavodu za neurologiju i dječju psihijatriju Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Rijeka, koji je jedini Referentni centar za liječenje CLN2 enzimskom nadomjesnom terapijom, cerliponazom alfa, u Hrvatskoj. U istraživanju je sudjelovalo šestero djece (pet djevojčica i jedan dječak) kojima je dijagnosticirana CLN2 bolest u razdoblju od 2019. do 2024. godine. Informirani pristanak roditelja ili zakonskog skrbnika svakog pacijenta dobiven je prije uključanja u istraživanje. Provođenje ovog istraživanja odobrilo je Etičko povjerenstvo KBC-a Rijeka (Klasa: 003-05/24-01/77).

3.2 Metode ispitivanja

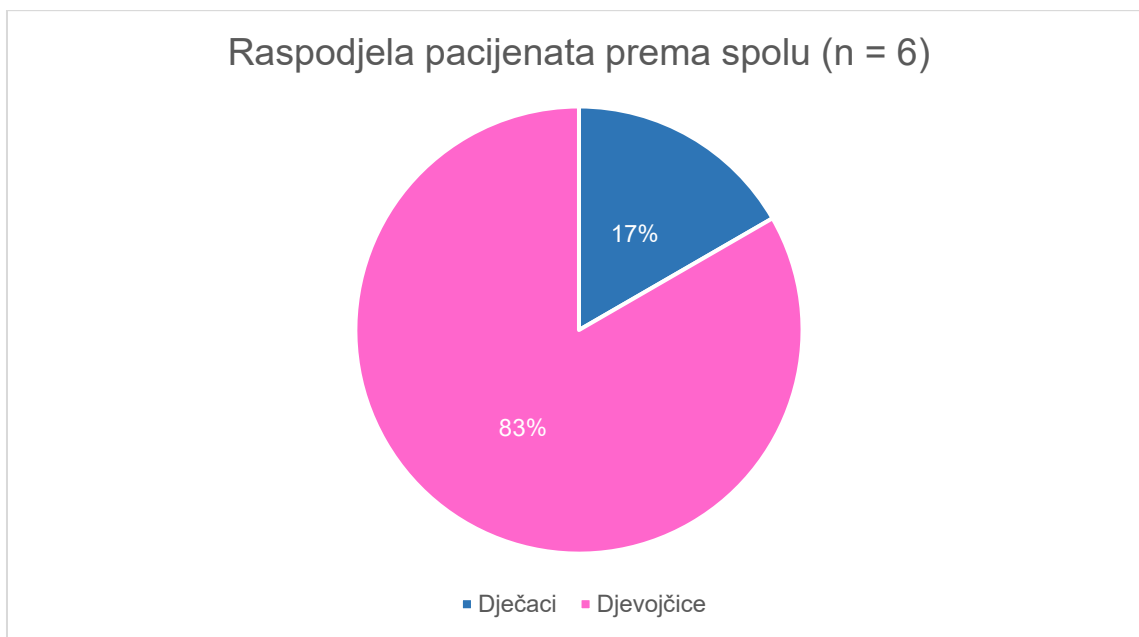
Podaci za istraživanje prikupljeni su analizom dostupne medicinske dokumentacije iz elektroničke baze podataka KBC-a Rijeka (Integrirani bolnički informacijski sustav – IBIS) i arhive Klinike za pedijatriju KBC-a Rijeka. Prikupljeni podaci uključuju: spol, dob pri pojavi prvih simptoma, vrijeme do postavljanja dijagnoze, dob pri postavljanju dijagnoze, kliničke karakteristike pacijenata, EEG i MR nalaze, vrijednosti enzima TPP1, mutacije u CLN2 genu, sudjelovanje u liječenju enzimskom nadomjesnom terapijom, ishod bolesti do *cutt-off* datuma te dob smrti pacijenata (ukoliko su preminuli). Dobiveni rezultati uspoređeni su s rezultatima dostupnih istraživanja u literaturi.

3.3 Statistička obrada podataka

U istraživanju su korištene metode deskriptivne statistike. Podaci su analizirani korištenjem Microsoft Excel alata te prikazani u obliku grafikona i tablica.

4. REZULTATI

U ovo istraživanje bilo je uključeno šestero pacijenata (pet iz Hrvatske i jedan iz Bosne i Hercegovine), od kojih su pet bile djevojčice (83 %) i jedan dječak (17 %). Raspodjelu pacijenata prema spolu prikazuje Slika 2.



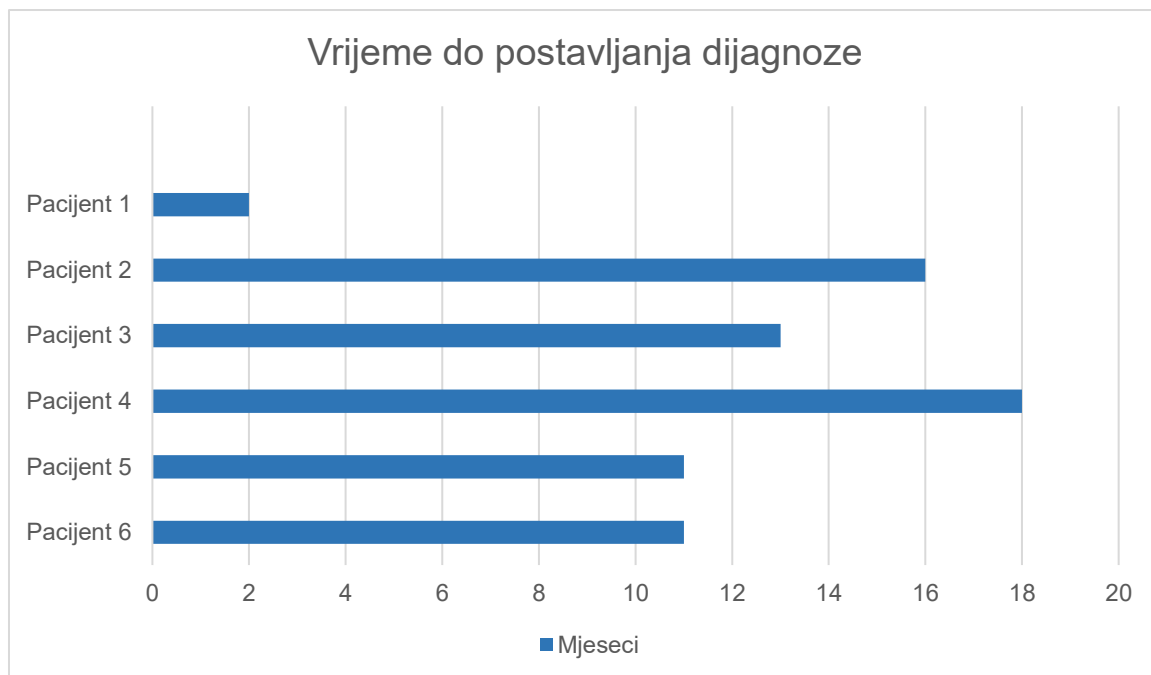
Slika 2. Raspodjela pacijenata prema spolu.

Tablica 4 prikazuje podjelu pacijenata prema spolu, godini javljanja prvog simptoma, vremenu proteklom od javljanja prvog simptoma do konačne dijagnoze, karakteristikama inicijalnih i ostalih simptoma, vrijednostima enzima TPP1, mutacijama u CLN2 genu, početku liječenja te dobi smrti za pacijente koji su preminuli.

Tablica 4. Karakteristike pacijenata uočene tijekom kliničke procjene.

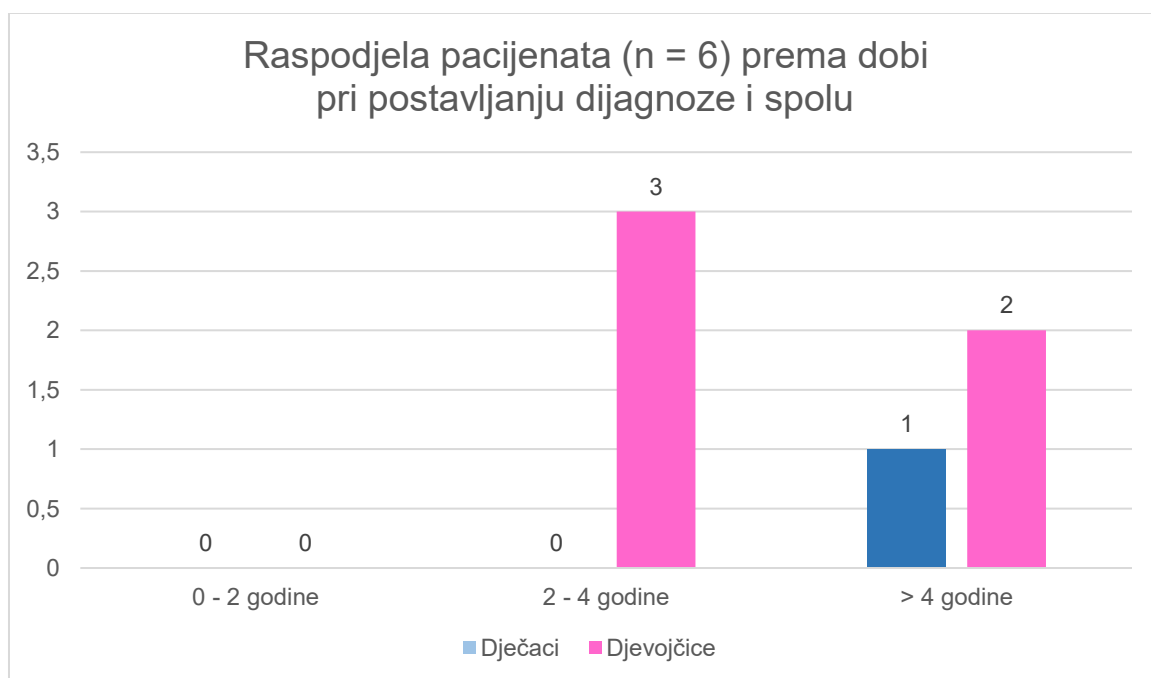
Pacijent	Spol	Dob pri pojavi prvih simptoma (godine/mjeseci)	Vrijeme do postavljanja dijagnoze	Dob pri postavljanju dijagnoze	Inicijalni simptomi pacijenata	Ostali simptomi	Aktivnost TPP1 enzima (nmol/h/mg protein)	Mutacija u CLN2 genu	Liječenje cerliponazom alfa	Dob smrti
1	Ž	3 godine	2 mjeseca	3 godine i 2 mjeseca	Toničko-klonički epileptički napadaji	Motorna i jezična regresija	0	c.509-1G>C; c.622C>T, p.(Arg208*)	Da, započeto s 3 godine i 3 mjeseca	Živa
2	M	3 godine i 8 mjeseci	1 godina i 4 mjeseca	5 godina	Toničko-klonički epileptički napadaji, motorna i jezična regresija	Hipotonija, neurološka regresija, odsutnost refleksa, spazam mišića	0	c.509-1G>C; c.622C>T, p.(Arg208Ter)	Ne, zbog loših motornih i jezičnih funkcija	7 godina i 10 mjeseci
3	Ž	3 godine	1 godina i 1 mjesec	4 godine i 1 mjesec	Miokloničko-astatički epileptički napadaji, razdražljivost	Motorna i jezična regresija sve do dobitka verbalne komunikacije, hiperrefleksija, tremor, hipotonija	0,01	c.509-1G>C; c.622C>T, p.(Arg208*)	Ne, roditelji odbili liječenje	Živa
4	Ž	3 godine i 5 mjeseci	1 godina i 6 mjeseci	4 godine i 11 mjeseci	Žarišni napadaji s gubitnom svijesti i motorna regresija	Regresija u razvoju, motorna i jezična regresija, gubitak vida	0,01	c.509-1G>C; c.622C>T, p.(Arg208*)	Kliničko ispitivanje s 5 godina	Živa
5	Ž	2 godine i 6 mjeseci	11 mjeseci	3 godine i 5 mjeseci	Febrilni napadaji praćeni neurološkim pogoršanjem	Motorna i jezična regresija	0	c.509-1G>C; c.622C>T, p.(Arg208Ter)	Da, započeto s 3 godine i 8 mjeseci	Živa
6	Ž	2 godine i 8 mjeseci	11 mjeseci	3 godine i 7 mjeseci	Febrilni napadaji, ataksija, motorna regresija	Progresivan gubitak vida, tremor, jezična regresija	0	c.509-1G>C; c.614T>A	Da, započeto s 3 godine i 10 mjeseci	Živa

Medijan dobi pri pojavi prvih simptoma iznosio je 3 godine (raspon: od 2 godine i 6 mjeseci do 3 godine i 8 mjeseci) s inicijalnim simptomima koji su uključivali febrilne napadaje (n = 2), žarišne napadaje (n = 1), toničko-kloničke napadaje (n = 2) i miokloničko-astatičke napadaje (n = 1) te jezičnu regresiju (n = 6). Medijan vremena od početnih simptoma do dijagnoze bio je 1 godina (raspon: od 2 mjeseca do 1 godine i 6 mjeseci), a medijan dobi pri postavljanju dijagnoze iznosio je 3 godine i 10 mjeseci (raspon: od 3 godine i 2 mjeseca do 5 godina). Jedan je pacijent preminuo u dobi od 7 godina i 10 mjeseci. Slika 3 prikazuje vrijeme od pojave prvih simptoma do postavljanja dijagnoze po svakom pojedinačnom pacijentu.



Slika 3. Vrijeme od pojave prvih simptoma do dijagnoze po pojedinačnom pacijentu.

Pri postavljanju dijagnoze nije bilo ispitanika mlađih od dvije godine (0 %). Troje ispitanika bilo je u dobi između dvije i četiri godine (50 %), dok je troje bilo starije od četiri godine (50 %), što je prikazano na Slici 4.



Slika 4. Raspodjela pacijenata prema dobi pri postavljanju dijagnoze i spolu.

U svih šest pacijenata provedena je kombinacija enzimskog i genetskog testiranja. Ispitivanje aktivnosti enzima TPP1 pokazalo je značajno smanjene razine kod svih pacijenata: 0 *nmol/spot*45h* kod četiri pacijenta (n = 4) i 0,01 *nmol/spot*45h* kod dva pacijenta (n = 2).

Za sve pacijente provedeno je genetsko testiranje CLN2 gena. Svi pacijenti (n = 6) bili su složeni heterozigoti; svi (n = 6) su pacijenti imali mutaciju c.509-1G>C. Tri pacijenta (n = 3) imala su ovu mutaciju u kombinaciji s c.622C>T (p.Arg208*), dva (n = 2) su je imala u kombinaciji s c.622C>T (p.Arg208Ter) mutacijom, a jedan (n = 1) ju je pacijent imao u kombinaciji s c.614T>A. Ovi su nalazi u skladu s prethodnim istraživanjima (npr. DEM-CHILD baza podataka).

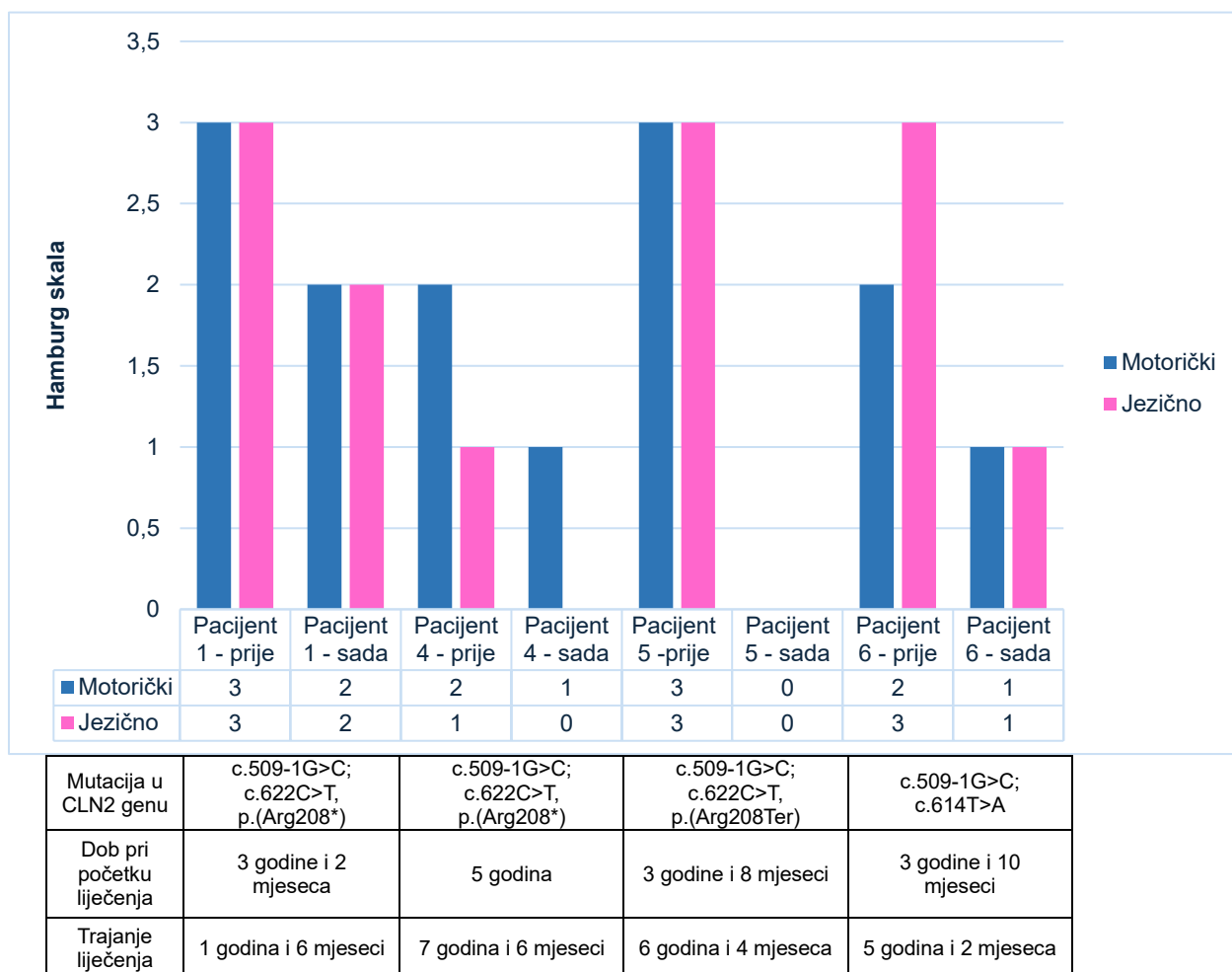
Uspoređujući EEG nalaze pacijenata, kod Pacijenta 1 bilježe se generalizirani nepravilni šiljak-val kompleksi tijekom intermitentne fotostimulacije (IPS), dok Pacijent 2 pokazuje sporadične šiljak-val komplekse, pretežno frontalno, s propagacijom prema posteriornim dijelovima. Snimke Pacijenta 3 otkrivaju sporadične generalizirane šiljak-val komplekse, osobito u dubokim fazama sna, dok Pacijent 4 prikazuje kontinuirane šiljak-val komplekse, izraženije na lijevoj strani i povremene visokovoltazne oštre valove tijekom sna. Pacijenti 5 i 6 imaju generalizirane poli šiljak-val komplekse tijekom sna, uz povremene niže voltažne šiljke temporalno.

MR mozga napravljen je kod svih šest pacijenata (n = 6). Među njima, nalazi su se razlikovali. Medijan vremena od pojave prvih simptoma do prvog MR mozga bio je jedan mjesec. Dva pacijenta (n = 2) pokazivala su malformacije u području stražnje lubanjske jame. MR Pacijenta 1 otkrila je voluminozni prikaz anterokranijalnog segmenta klivusa, koji se utiskivao u područje sfenoidnog sinusa. Pacijent 2 imao je atipičnu rotaciju hipoplastičnog vermisa u inferiornom segmentu, proširenu četvrtu komoru koja je široko komunicirala s proširenom cisternom magnom, blago stanjen

korpus kalozum u posteriornom dijelu i poremećaj mijelinizacije bijele tvari, izrazitije visokofrontoparijetalno u bilateralnim okcipitalnim regijama. Pacijent 3 pokazivao je asimetriju okcipitalnih rogova lateralnih ventrikula. MR Pacijenta 4 imala je nešto drugačiji nalaz, s normoponiranim ventrikularnim sustavom i blago proširenom četvrtom komorom te prominentnom cisternom magnom, što se razlikovalo od malformacija opisanih kod Pacijenata 2 i 3. MR Pacijenata 5 i 6 ukazivale su na hipoplaziju vermisa.

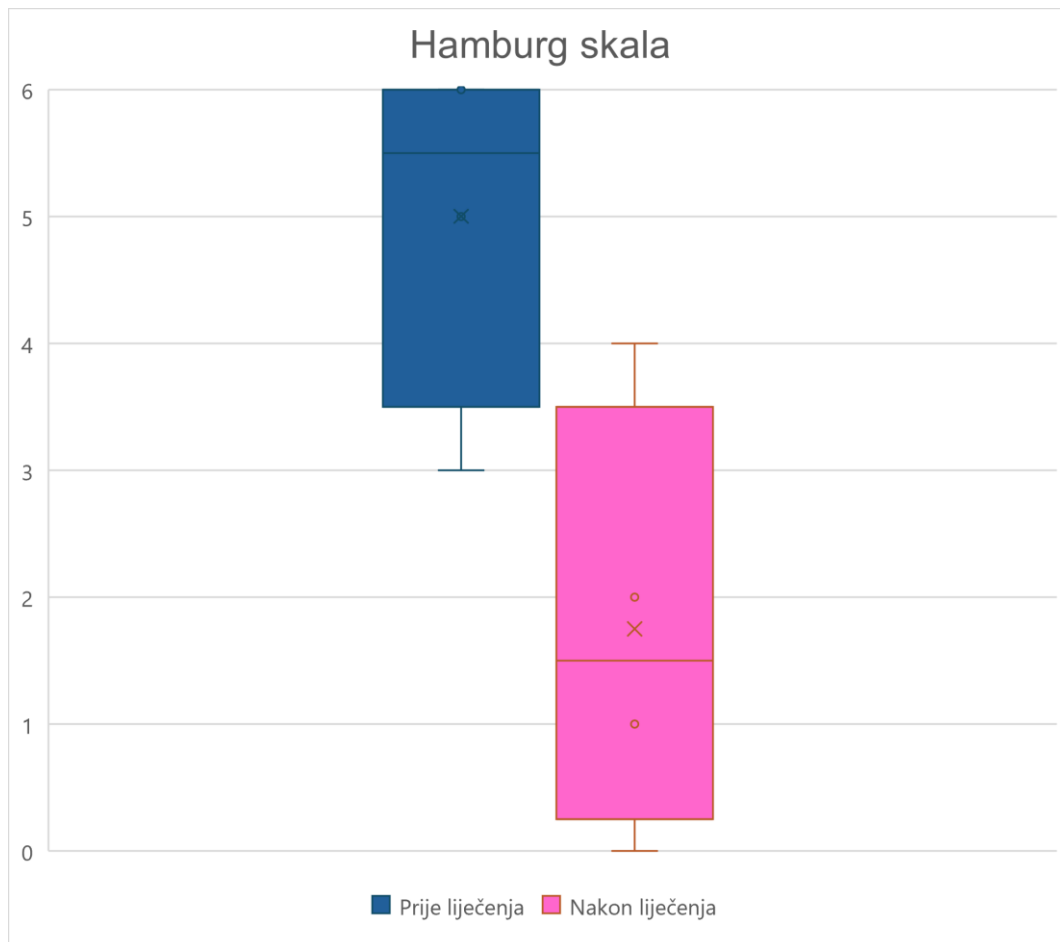
U ovom istraživanju, četvero od šest pacijenata ($n = 4$) bilo je liječeno enzimskom nadomjesnom terapijom, cerliponazom alfa. Ti pacijenti uključuju Pacijenta 1, Pacijenta 4, Pacijenta 5 i Pacijenta 6, kako je navedeno u Tablici 4. Medijan dobi početka prvih simptoma kod liječenih pacijenata bio je 2 godine i 10 mjeseci (raspon: od 2 godine i 6 mjeseci do 3 godine i 5 mjeseci), dok je medijan dobi pri postavljanju dijagnoze bio 3 godine i 6 mjeseci (raspon: od 3 godine i 2 mjeseca do 4 godine i 11 mjeseci). Epilepsija je bila početni simptom kod sva četiri slučaja unutar ove podskupine pacijenata, dok je motorna regresija bila dodatni početni simptom u dva slučaja ($n = 2$).

Slika 5 prikazuje vrijednosti Hamburg skale prije i nakon enzimske nadomjesne terapije za liječene pacijente. Vrijednosti ispod opisuju mutaciju u CLN2 genu, dob pri početku liječenja i trajanje liječenja.



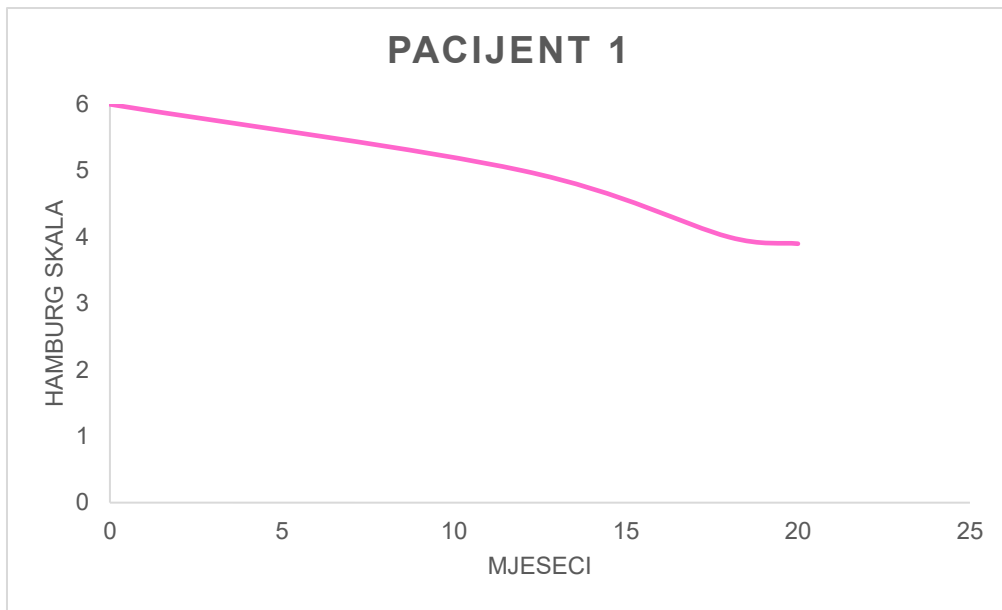
Slika 5. Vrijednosti Hamburg skale prije enzimske nadomjesne terapije i na datum uzimanja podataka za četiri pacijenta liječena cerliponazom alfa. Tablica ispod prikazuje mutaciju u CLN2 genu, dob pri početku liječenja i trajanje terapije.

Medijan vrijednosti Hamburg skale prije liječenja cerliponazom alfa iznosio je 5,5 boda (raspon: od 3 do 6 bodova), dok je nakon liječenja iznosio 1,5 (raspon: od 0 do 4 boda) što prikazuje Slika 6.



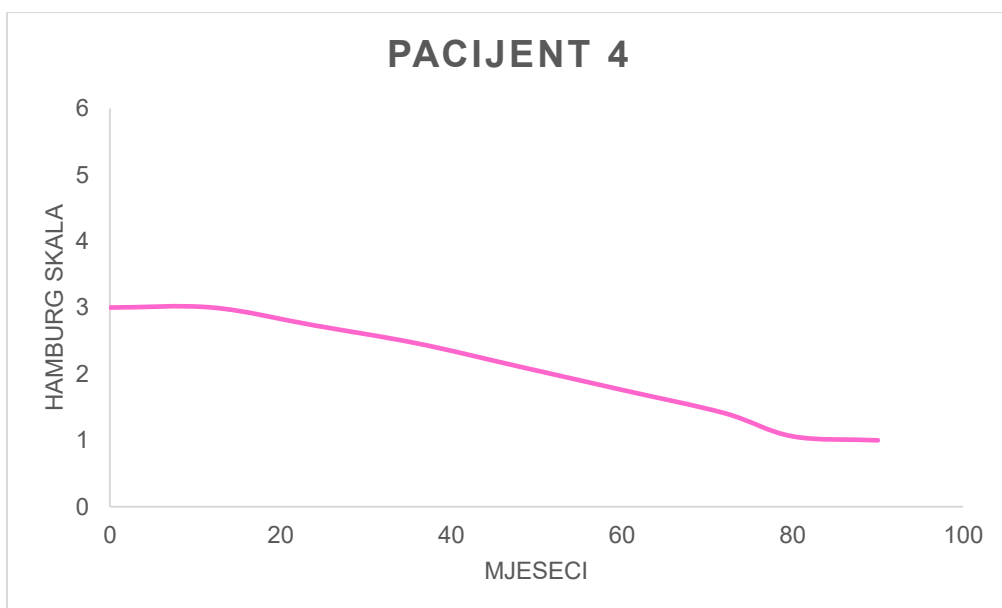
Slika 6. Vrijednosti Hamburg skale prije i nakon liječenja cerliponazom alfa.

Početna vrijednost po Hamburg skali za Pacijenta 1, u dobi od 3 godine i 2 mjeseca, iznosila je 6 (motorički 3, jezično 3), a nakon 1 godine i 6 mjeseci smanjila se na 4 (motorički 2, jezično 2). Unatoč blagom općem zaostajanju u razvoju, pacijent trenutno pokazuje blaži tijek bolesti.



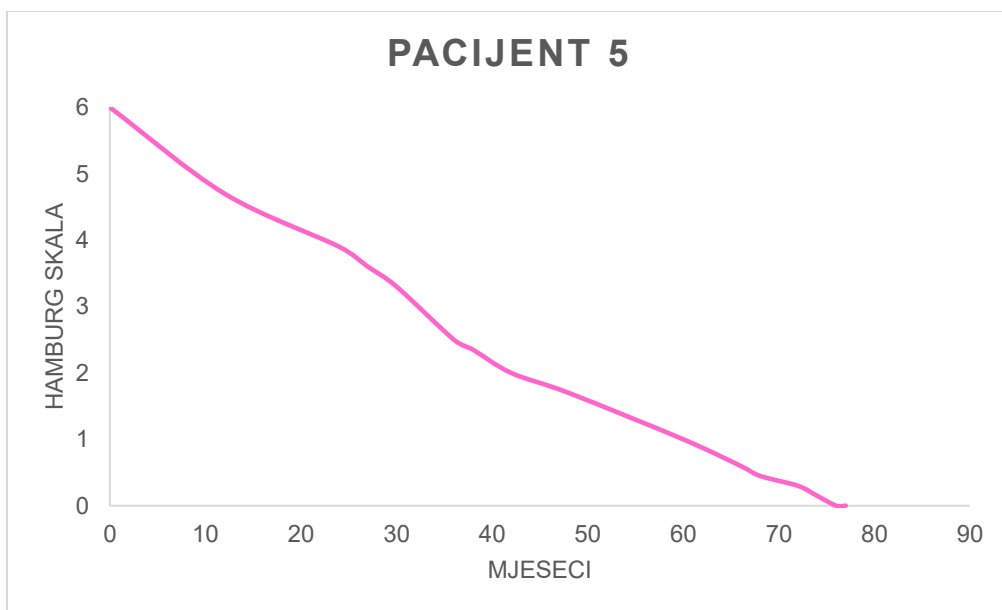
Slika 7. Vrijednosti Hamburg skale za Pacijenta 1 prije i nakon liječenja cerliponazom alfa.

Za Pacijenta 4, početak terapije u dobi od 5 godina rezultirao je vrijednošću skale od 3 (motorički 2, jezično 1), koja se smanjila na 1 (motorički 1, jezično 0) nakon 7 godina i 6 mjeseci terapije. Iako je trenutno stanje stabilno, došlo je do značajne regresije u govoru i motoričkim vještinama, što je dovelo do sljepoće.



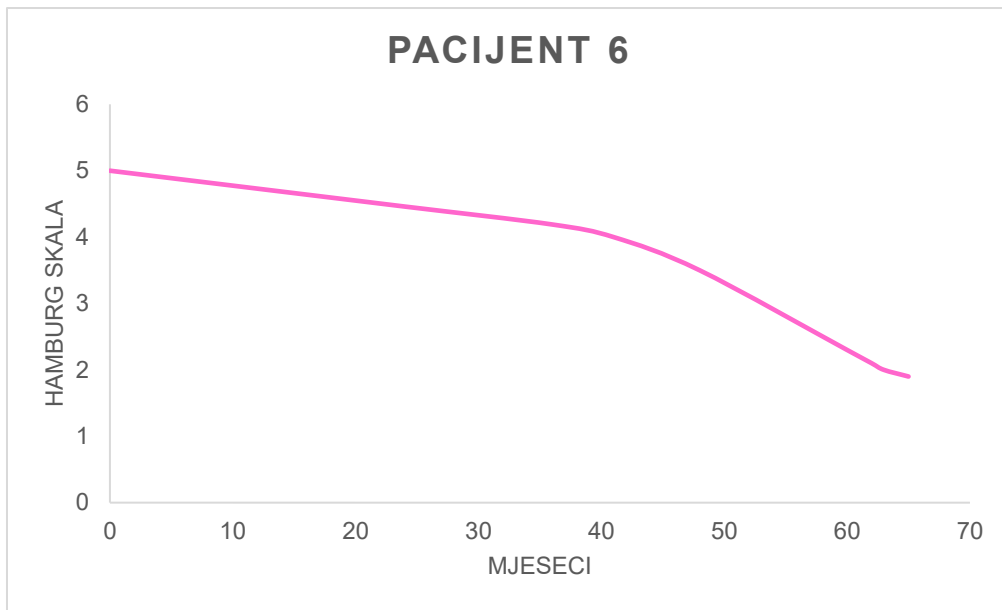
Slika 8. Vrijednosti Hamburg skale za Pacijenta 4 prije i nakon liječenja cerliponazom alfa.

Vrijednost skale za Pacijenta 5 na početku terapije u dobi od 3 godine i 8 mjeseci bila je 6 (motorički 3, jezično 3), koja se smanjila na 0 (motorički 0, jezično 0) nakon 6 godina i 4 mjeseca. Stanje je stabilno, ali terapija se više ne provodi jer nema indikacija - pacijentica više ne govori i ne hoda samostalno. Sukladno Kriterijima za prekid liječenja lijekom cerliponaza alfa, terapija se prekida zbog gubitka više od 1 boda u odnosu na procjenu u prethodnih 12 mjeseci.



Slika 9. Vrijednosti Hamburg skale za Pacijenta 5 prije i nakon liječenja cerliponazom alfa.

Vrijednost skale za Pacijenta 6 na početku terapije u dobi od 3 godine i 10 mjeseci bila je 5 (motorički 2, jezično 3), koja se smanjila na 2 (motorički 1, jezično 1) nakon 5 godina i 2 mjeseca. Trenutno stanje je stabilno, s izraženim motoričkim i govornim deficitima.



Slika 10. Vrijednosti Hamburg skale za Pacijenta 6 prije i nakon liječenja cerliponazom alfa.

Kliničko pogoršanje prema skali dogodilo se kod liječenih pacijenata u dobi od 5 godina i 9 mjeseci (raspon: 1 godina i 6 mjeseci do 7 godina i 6 mjeseci). Kod neliječenih pacijenata kliničko pogoršanje primijećeno je u dobi od 1 godine i 5 mjeseci. Tijekom praćenja nije prijavljeno nikakvih komplikacija povezanih s terapijom. Svi su pacijenti pokazali pozitivne ishode, uključujući stabilizaciju ili značajno usporavanje tijeka bolesti u usporedbi s prirodnim tijekom bolesti. Nije uočena razlika na EEG-u i MR-u mozga prije i nakon liječenja.

5. RASPRAVA

Ovo je prvo istraživanje u Hrvatskoj koje pruža uvid u kliničku prezentaciju, dijagnostiku i terapijski odgovor kod djece s neuronskom ceroidnom lipofuscinozom tip 2 (CLN2), rijetkom neurodegenerativnom bolesti koja je najčešći uzrok demencije u dječjoj dobi. Provedeno je u KBC-u Rijeka, jedinom Referentnom centru u Hrvatskoj za liječenje ove bolesti cerliponazom alfa, koja je ovdje odobrena 2020. godine. Cilj je ukazati na važnost prepoznavanja CLN2 u ranoj fazi bolesti kako bi se što prije moglo započeti s terapijom.

Od 2019. do 2024. godine, dijagnosticirano je šestero pacijenata s CLN2, od kojih je pet djevojčica (83 %) i jedan dječak (17 %). Medijan dobi pri pojavi prvih simptoma bio je 3 godine. Usporedba s rezultatima iz DEM-CHILD baze i Weill Cornell Medical College (WCMC) pokazuje sličan medijan dobi pojavljivanja prvog simptoma (36 mjeseci naspram 35 mjeseci) te kraće vrijeme do postavljanja dijagnoze (12 mjeseci naspram 22,7 mjeseci) s medijanom dobi postavljanja dijagnoze od 46 mjeseci (naspram 54 mjeseca) (26). To ukazuje na poboljšanu dostupnost dijagnostičkih metoda poput genetskog testiranja i ispitivanja enzimske aktivnosti, što olakšava brzu identifikaciju bolesti i početak terapije.

Najčešći početni simptomi uključivali su različite vrste epileptičkih napadaja i jezičnu regresiju, što je tipično za CLN2 bolest. Epileptički napadaji i jezična regresija ključni su rani znakovi koji upućuju na potrebu za daljnjom dijagnostikom. U DEM-CHILD bazi, najčešći prvi simptomi bolesti također su bili napadaji (70 %), jezična regresija (57 %), motorička regresija (41 %), abnormalnosti u ponašanju (16 %) i demencija (9 %) (26).

Svi pacijenti bili su složeni heterozigoti za mutacije u CLN2 genu, pri čemu je najčešća mutacija bila c.509-1G>C, što je u skladu s prethodnim istraživanjima (24). Genetsko testiranje bilo je od presudne važnosti za potvrdu dijagnoze kod svakog pacijenta, uz

istovremeno ispitivanje enzimske aktivnosti TPP1, što je potvrdilo značajno smanjenje aktivnosti enzima kod svih ispitanika. Ovo je ključno za potvrdu dijagnoze i diferencijaciju od drugih oblika neuronskih ceroidnih lipofuscinoza.

EEG snimka sa standardnim frekvencijama intermitentne fotostimulacije (IFS) obično ne pokazuje fotoparoksizmalni odgovor (FPO). Međutim, primjena EEG-a s niskofrekventnim IFS-om od 1 Hz do 3 Hz u djece s CLN2 bolesti često rezultira FPO-om, što se manifestira pojavom šiljaka i šiljak-val kompleksa generalizirano i/ili u zatiljnim odvodima (17). Analiza EEG nalaza naših pacijenata s CLN2 bolesti otkrila je različite obrasce epileptičke aktivnosti koji se poklapaju s ranijim istraživanjima. Podaci pokazuju da su generalizirani nepravilni šiljak-val kompleksi i sporadični šiljak-val kompleksi tijekom intermitentne fotostimulacije (IFS) česti u ovoj populaciji, što je usporedivo s nalazima istraživanja Specchija i sur. te Alberta i sur., koji su zabilježili fotoparoksizmalne odgovore (FPO) kod 93 % i 78 % djece s CLN2 bolesti pri niskofrekventnom IFS-u (17,34). Ovi rezultati naglašavaju važnost ovog pristupa u ranoj dijagnostici i ukazuju na potrebu za uključivanjem niskofrekventnog IFS-a u standardni EEG protokol kod djece s CLN2 bolesti (17,30,34).

Postoje ograničeni literaturni podaci o MR karakteristikama povezanim s ranom fazom CLN2 bolesti. Međutim, progresivna atrofija cerebralnih i cerebelarnih struktura te promjene u bijeloj tvari periventrikularno identificirane su kao indikativne za ovu bolest. Ključni nalazi na MR-u mogu se pojaviti već pri prvom napadaju, ali ti znakovi mogu biti nejasni i često se pogrešno tumače kao "fiziološki" (31).

MR mozga provedena kod svih ispitanika pokazala je malformacije stražnje lubanjske jame, hipoplaziju vermisa te promjene u bijeloj tvari koje su bile vidljive i prije pojave prvih kliničkih simptoma. Prema literaturi, atrofija malog mozga pronađena je u sve djece s CLN2 bolesti, dok su promjene u bijeloj tvari prisutne kod 79 % ispitanika (17).

CLN2 bolest zahtijeva multidisciplinarnu simptomatsku i palijativnu skrb radi održavanja kvalitete života i sprječavanje komplikacija.

Godine 2017., prvi ENT za NCL odobren je u SAD-u i Europskoj uniji. Cerliponaza alfa (rekombinantni humani TPP1) odobrena je za liječenje CLN2 bolesti, za modificiranje prirodnog tijeka bolesti, nakon što su klinička istraživanja pokazala da intracerebroventrikularne infuzije svaka dva tjedna smanjuju brzinu propadanja motoričke i jezične funkcije (31).

Procijenjena prosječna godišnja stopa opadanja motoričke i jezične funkcije iznosila je 1,81 jedinica po godini u DEM-CHILD bazi podataka. Kada je došlo do značajnog gubitka motoričke i jezične funkcije (tj. gubitaka jedne bodovne jedinice u motoričkom ili jezičnom području), procijenjena godišnja stopa opadanja povećala se na 2,43 jedinice po godini, pri čemu je stopa propadanja gotovo linearna. Ovi nalazi ističu važnost rane dijagnoze i početka liječenja jer bolest najbrže napreduje odmah nakon pojave prvih simptoma (26).

Specifični kriteriji za početak, nastavak i prekid terapije u KBC-u Rijeka osiguravaju da pacijenti dobiju odgovarajuću i učinkovitu terapiju te pomažu u odabiru kandidata za terapiju, optimizaciji ishoda liječenja i smanjenju potencijalnih rizika.

U otvorenom, multicentričnom istraživanju ispitivan je učinak intraventricularne primjene cerliponaze alfa svaka 2 tjedna kod djece s CLN2 bolešću u dobi od 3 do 16 godina. Rezultat je bio sporije propadanje motoričko – jezične funkcije u usporedbi s povijesnom kontrolnom skupinom. Primarni ishod istraživanja bio je vrijeme do smanjenja bodova za dva boda na motoričkom i jezičnom dijelu CLN2 kliničke skale, koje je bilo značajno manje u usporedbi s povijesnim kontrolama.

Prosječna stopa propadanja motoričko - jezične funkcije u periodu od 48 tjedana bila je $0,27 \pm 0,35$ bodova kod liječenih pacijenata i $2,12 \pm 0,98$ bodova kod povijesne kontrole ($M = 1,85$; $P < 0,001$) (35).

Četvero od šest pacijenata u ovom istraživanju primilo je enzimsku nadomjesnu terapiju cerliponazom alfa. Medijan perioda smanjenja za 2 boda do sada je iznosio 5 godina i 9 mjeseci (raspon: od 1 godine i 6 mjeseci do 7 godina i 6 mjeseci). Kod dva neliječena pacijenta došlo je do kliničkog pogoršanja, odnosno smanjenja više od 2 boda, nakon 1 godine i 5 mjeseci. Smrtni je ishod kod Pacijenta 2 bio u dobi od 7 godina i 10 mjeseci, 2 godine i 10 mjeseci nakon postavljanja dijagnoze, a kod Pacijenta 3 roditelji su odbili liječenje. Kod Pacijenta 5, terapija cerliponazom alfa bila je učinkovita u usporavanju napredovanja bolesti, ali je prekinuta u dobi od 10 godina, nakon 6 godina i 4 mjeseca terapije, prema Kriterijima za prekid liječenja. Terapijske intervencije sada su usmjerene na smanjenje učestalosti i težine neuroloških simptoma, odgađanje komplikacija i poboljšanje kvalitete života, imajući u vidu progresivnu prirodu bolesti.

Rano započinjanje terapije kod pacijenata s CLN2 bolesti rezultira značajnim usporavanjem napredovanja bolesti, posebno u motoričkim i jezičnim funkcijama. Klinički ishodi liječenih pacijenata pokazuju stabilizaciju ili poboljšanje u Hamburg skali, što potvrđuje učinkovitost cerliponaze alfa u modifikaciji prirodnog tijeka bolesti i pružanju bolje kvalitete života pogođenoj djeci i njihovim obiteljima, pod uvjetom da se bolest što ranije prepozna, dijagnosticira i započne terapija.

6. ZAKLJUČAK

U ovom retrospektivnom istraživanju analizirani su klinička prezentacija, dijagnostička obrada te terapijski odgovor kod djece s CLN2 u KBC-u Rijeka. Inicijalni simptomi obuhvaćali su različite vrste epileptičkih napadaja i usporen razvoj govora.

Rani korak prema dijagnozi uključuje mjerenje aktivnosti TPP1 enzima u suhoj kapi krvi kod djece koja imaju prvi neprovocirani epileptički napadaj u dobi od druge do četvrte godine praćen usporenim razvojem govora ili motoričkim smetnjama. Genska analiza potvrđuje dijagnozu identifikacijom patogenih mutacija u CLN2 genu. Uvođenje Kriterija za početak i prekid liječenja, kao što je provedeno u KBC-u Rijeka, ključno je za osiguravanje optimalne skrbi i poboljšanje ishoda liječenja. Praćenje progresije bolesti kroz Hamburg skalu motoričke i jezične domene omogućuje usporedbu s početnim stanjem prije terapije.

Rezultati ovog istraživanja naglašavaju da rano prepoznavanje i terapija značajno usporavaju tijek CLN2 bolesti u usporedbi s prirodnim tijekom. To je ključno za poboljšanje kvalitete života djece oboljele od CLN2 bolesti i njihovih obitelji. Enzimska nadomjesna terapija cerliponazom alfa ne liječi bolest, ali značajno usporava njezin napredak.

7. SAŽETAK

Uvod: Neuronska ceroidna lipofuscinoza tip 2 (CLN2) predstavlja rijedak autosomno recesivan, neurodegenerativni poremećaj uzrokovan mutacijom u CLN2 genu, što rezultira nedostatkom aktivnosti TPP1 enzima. Prvi simptomi obično se javljaju između druge i četvrte godine života te uključuju epileptičke napadaje, usporen razvoj govora i motoričke poremećaje. Ovaj rad naglašava važnost ranog otkrivanja i prepoznavanja bolesti kako bi se što prije započela terapija i poboljšala kvaliteta života pacijenata.

Ispitanici i metode: U istraživanje je bilo uključeno šestero pacijenata (pet djevojčica i jedan dječak) s medijanom dobi pojave prvih simptoma od 3 godine. Analizirane su klinička slika, aktivnost TPP1 enzima, genetske mutacije u CLN2 genu te EEG i MR snimke mozga. Četvero djece primalo je enzimsku nadomjesnu terapiju cerliponazom alfa.

Rezultati: Svi pacijenti pokazali su smanjenu aktivnost TPP1 enzima i različite složene heterozigotne mutacije u CLN2 genu, pri čemu je najčešća bila mutacija c.509-1G>C. EEG snimke s niskofrekventnim IFS-om rezultirale su pojavom FPO-a, što se manifestira kao registracija šiljaka i šiljka-val kompleksa generalizirano i/ili u okcipitalnim odvodima. MR snimke mozga otkrile su različite strukturne abnormalnosti poput malformacija stražnje lubanjske jame, hipoplazije vermisa te promjena u bijeloj tvari. Pacijenti koji su primali terapiju imali su sporiji gubitak funkcija prema adaptiranoj Hamburg skali u usporedbi s neliječenim pacijentima.

Zaključak: Rano započinjanje terapije cerliponazom alfa kod pacijenata s CLN2 bolesti, iako ne liječi bolest, značajno usporava njezinu progresiju, posebice u motoričkim i jezičnim funkcijama.

Ovi rezultati naglašavaju važnost rane dijagnoze i primjene terapije radi poboljšanja kvalitete života djece oboljele od CLN2 bolesti i njihovih obitelji.

Ključne riječi: cerliponaza alfa; epilepsija; intraventrikularna infuzija; neuronska ceroidna lipofuscinoza; tripeptidil peptidaza 1

8. SUMMARY

Introduction: Neuronal ceroid lipofuscinosis type 2 (CLN2) is a rare autosomal recessive neurodegenerative disorder caused by mutations in the CLN2 gene, resulting in reduced TPP1 enzyme activity. Initial symptoms typically appear between 2 and 4 years of age, including epileptic seizures, language delay, and motor regression. This study highlights the importance of early diagnosis and treatment initiation to improve the patients' quality of life.

Participants and Methods: This study included six patients (five girls and one boy) with a median age of symptom onset at three years. Clinical features, TPP1 enzyme activity, genetic mutations in the CLN2 gene, as well as EEG and MRI brain scans, were analyzed. Four children received enzyme replacement therapy with cerliponase alfa.

Results: All patients exhibited reduced TPP1 enzyme activity and various complex heterozygous mutations in the CLN2 gene, with the most common mutation being c.509-1G>C. EEG findings, obtained through low-frequency photostimulation, showed the photoparoxysmal response characterized by spike and slow-wave complexes in occipital leads and/or generalized patterns. MRI scans revealed structural brain abnormalities, including posterior fossa malformations, hypoplastic vermis,

and white matter changes. Patients receiving therapy showed slower functional decline on the adapted Hamburg Scale compared to untreated patients.

Conclusion: Early initiation of cerliponase alfa therapy in CLN2 patients, while not curative, significantly delays disease progression, particularly in motor and language functions. These findings underscore the importance of early diagnosis and therapeutic intervention in improving the quality of life in children affected by CLN2 disease and their families.

Keywords: cerliponase alfa; epilepsy; infusions, intraventricular; neuronal ceroid-lipofuscinosis; tripeptidyl-peptidase 1

9. LITERATURA

1. Wong V. Neurodegenerative diseases in children. *Hong Kong Med J.* 1997 Mar;3(1):89-95.
2. Mishra, A.P., Mishra, S., Approach to Neurodegenerative Disease in Children: A Short Review (2018.), Department of Neurology, S C B Medical College, India.
3. Karimzadeh P. Approach to neurometabolic diseases from a pediatric neurological point of view. *Iran J Child Neurol.* 2015 Winter;9(1):1-16.
4. Patay Z, Blaser SI, Poretti A, Huisman TA. Neurometabolic diseases of childhood. *Pediatr Radiol.* 2015 Sep;45 Suppl 3:S473-84.
5. Fumić K. Uloga laboratorijske dijagnostike u dijagnostičkoj obradi djece pri sumnji na rijetke neurometaboličke bolesti. *Paediatrica Croatica [Internet].* 2020;64(4):269-275.
6. Nowosad A, Besson A. Lysosomes at the Crossroads of Cell Metabolism, Cell Cycle, and Stemness. *Int J Mol Sci.* 2022 Feb 18;23(4):2290.
7. Alberts B, Heald R, Johnson A, Morgan D, Raff M, Roberts K at al. *Molecular biology of the cell.* 7th ed. New York: W. W. Norton & Company; 2022.
8. Petković Ramadža D, Žigman T, Barić I. Suvremeni pogled na lizosomske bolesti nakupljanja. *Liječnički vjesnik [Internet].* 2024;146(Supp 1):152-161.
9. Sun A. Lysosomal storage disease overview. *Ann Transl Med.* 2018 Dec;6(24):476.

10. Geraets RD, Koh Sy, Hastings ML, Kielian T, Pearce DA, Weimer JM. Moving towards effective therapeutic strategies for Neuronal Ceroid Lipofuscinosis. *Orphanet J Rare Dis.* 2016 Apr 16;11:40.
11. Donida B, Jacques CED, Mescka CP, Rodrigues DGB, Marchetti DP, Ribas G et al. Oxidative damage and redox in Lysosomal Storage Disorders: Biochemical markers. *Clin Chim Acta.* 2017 Mar;466:46-53.
12. Fumić K, Barić I, Mrsić M, Maradin M. Lizosomske bolesti nakupljanja – suvremena dijagnostika i nove mogućnosti liječenja. *Paediatr Croat,* 2004; 48: 160-168.
13. Kravljanić R. Neuronska ceroidna lipofuscinoza – najčešća neurodegenerativna bolest u djetinjstvu. *Paediatrica Croatica [Internet].* 2020;64(4):213-220.
14. Kollmann K, Uusi-Rauva K, Scifo E, Tyynelä J, Jalanko A, Braulke T. Cell biology and function of neuronal ceroid lipofuscinosis-related proteins. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Nov;1832(11):1866-81.
15. Simonati A, Williams RE. Neuronal Ceroid Lipofuscinosis: The Multifaceted Approach to the Clinical Issues, an Overview. *Front Neurol.* 2022 Mar 11;13:811686.
16. Mink JW, Augustine EF, Adams HR, Marshall FJ, Kwon JM. Classification and natural history of the neuronal ceroid lipofuscinoses. *J Child Neurol.* 2013 Sep;28(9):1101-5.
17. Prpić I. Rana dijagnoza neuronske* ceroidne lipofuscinoze tip 2 - mit ili stvarnost?. *Paediatrica Croatica [Internet].* 2020;64(4):223-228.

18. Schulz A, Kohlschütter A, Mink J, Simonati A, Williams R. NCL diseases - clinical perspectives. *Biochim Biophys Acta*. 2013 Nov;1832(11):1801-6.
19. Jalanko A, Braulke T. Neuronal ceroid lipofuscinoses. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Apr;1793(4):697-709.
20. Arsov T, Smith KR, Damiano J, Franceschetti S, Canafoglia L, Bromhead CJ et al. Kufs disease, the major adult form of neuronal ceroid lipofuscinosis, caused by mutations in CLN6. *Am J Hum Genet*. 2011 May 13;88(5):566-73.
21. Nickel M, Schulz A. Natural History Studies in NCL and Their Expanding Role in Drug Development: Experiences From CLN2 Disease and Relevance for Clinical Trials. *Front Neurol*. 2022 Feb 8;13:785841.
22. Verity C, Winstone AM, Stellitano L, Will R, Nicoll A. The epidemiology of progressive intellectual and neurological deterioration in childhood. *Arch Dis Child*. 2010 May;95(5):361-4.
23. Nunn K, Williams K, Ouvrier R. The Australian Childhood Dementia Study. *Eur Child Adolesc Psychiatry*. 2002 Apr;11(2):63-70.
24. Fietz M, AlSayed M, Burke D, Cohen-Pfeffer J, Cooper JD, Dvořáková L et al. Diagnosis of neuronal ceroid lipofuscinosis type 2 (CLN2 disease): Expert recommendations for early detection and laboratory diagnosis. *Mol Genet Metab*. 2016 Sep;119(1-2):160-7.
25. Dyke JP, Sondhi D, Voss HU, Yohay K, Hollmann C, Mancenido D et al. Brain Region-Specific Degeneration with Disease Progression in Late Infantile Neuronal Ceroid Lipofuscinosis (CLN2 Disease). *AJNR Am J Neuroradiol*. 2016 Jun;37(6):1160-9.

26. Nickel M, Simonati A, Jacoby D, Lezius S, Kilian D, Van de Graaf B, et al. Disease characteristics and progression in patients with late-infantile neuronal ceroid lipofuscinosis type 2 (CLN2) disease: an observational cohort study. *Lancet Child Adolesc Health*. 2018 Aug;2(8):582-590.
27. Rodrigues D, de Castro MJ, Crujeiras P, Duat-Rodriguez A, Marco AV, Del Toro M et al. The LINCE Project: A Pathway for Diagnosing NCL2 Disease. *Front Pediatr*. 2022 Mar 29;10:876688.
28. Mole SE, Williams RE, Goebel HH. The neuronal ceroid lipofuscinoses (Batten disease) 2. Oxford: Oxford University Press; 2011.
29. Sampaio LPB, Manreza MLG, Pessoa A, Gurgel-Giannetti J, Coan AC, Júnior HVL et al. Clinical management and diagnosis of CLN2 disease: consensus of the Brazilian experts group. *Arq Neuropsiquiatr*. 2023 Mar;81(3):284-295.
30. Aydın K, Havalı C, Kartal A, Serdaroğlu A, Haspolat Ş. MRI in CLN2 disease patients: Subtle features that support an early diagnosis. *Eur J Paediatr Neurol*. 2020 Sep;28:228-236.
31. Mazurkiewicz-Beldzińska M, Del Toro M, Haliloğlu G, Huidekoper HH, Kravljanac R, Mühlhausen C et al. Managing CLN2 disease: a treatable neurodegenerative condition among other treatable early childhood epilepsies. *Expert Rev Neurother*. 2021 Nov;21(11):1275-1282.
32. Nickel M, Gissen P, Greenaway R, Cappelletti S, Hamborg C, Ragni B et al. Language Delay in Patients with CLN2 Disease: Could It Support Earlier Diagnosis? *Neuropediatrics*. 2023 Dec;54(6):402-406.

33. Odluka o izmjenama i dopunama Odluke o utvrđivanju Osnovne liste lijekova Hrvatskog zavoda za zdravstveno osiguranje. Narodne novine br. 122/19. (pristupljeno 15.06.2024.). Dostupno na: https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/full/2019_12_122_2419.html .
34. Johnson AM, Mandelstam S, Andrews I, Boysen K, Yapfite-Lee J, Fietz M et al. Neuronal ceroid lipofuscinosis type 2: an Australian case series. J Paediatr Child Health. 2020 Aug;56(8):1210-1218.
35. Schulz A, Ajayi T, Specchio N, de Los Reyes E, Gissen P, Ballon D et al. Study of Intraventricular Cerliponase Alfa for CLN2 Disease. N Engl J Med. 2018 May 17;378(20):1898-1907.

10. ŽIVOTOPIS

Marija Kostanjski rođena je 16. veljače 1999. u Zagrebu. Završila je Osnovnu školu Jakovlje pa Gimnaziju Lucijana Vranjanina - opći smjer te paralelno Glazbenu školu Bonar - smjer klavir i solo pjevanje. Godine 2018. upisuje Medicinski fakultet u Rijeci, koji završava 2024. godine. Od treće godine studija demonstratorica je na Zavodu za histologiju i embriologiju. Zadnje dvije godine sudjelovala je na raznim kongresima u Hrvatskoj i inozemstvu, uključujući *MedRi 2023 Konferenciju*, *Brainhack Zagreb*, *HitRi 2024*, *NeuRi 2024*, *7th Emergency Medicine Congress with International Participation*, *CROSS 19*, *ESPCR 2023*, *GušteRAK* i druge. Bila je dio organizacijskog odbora *International Student Symposium on Future Doctors Educating the World* u sklopu *MedRi 2023 Konferencije* te dio organizacijskog odbora *FS4S Škole*. Jedna je od predstavnica Studentske sekcije *Medicina Fluminensis*, suosnivačica Studentske sekcije (SS) za maksilofacijalnu kirurgiju te članica SS za pedijatriju i SS za hitnu medicinu. Također, jedna je od autorica *Science Sunday* knjige objavljene povodom proslave 60 godina časopisa *Medicina Fluminensis*. Za vrijeme studiranja radila je preko student servisa na ZZJZ PGŽ na sortiranju uputnica i u knjižnici Medicinskog fakulteta. Završila je Opću planinarsku školu PD Kamenjak i trenutno pohađa *Become an EMT Specialization* u sklopu *Coursera* programa. U slobodno vrijeme bavi se rekreativnim trčanjem, planinarenjem i pjevanjem na vjenčanjima. Aktivno se služi engleskim i pasivno njemačkim jezikom.