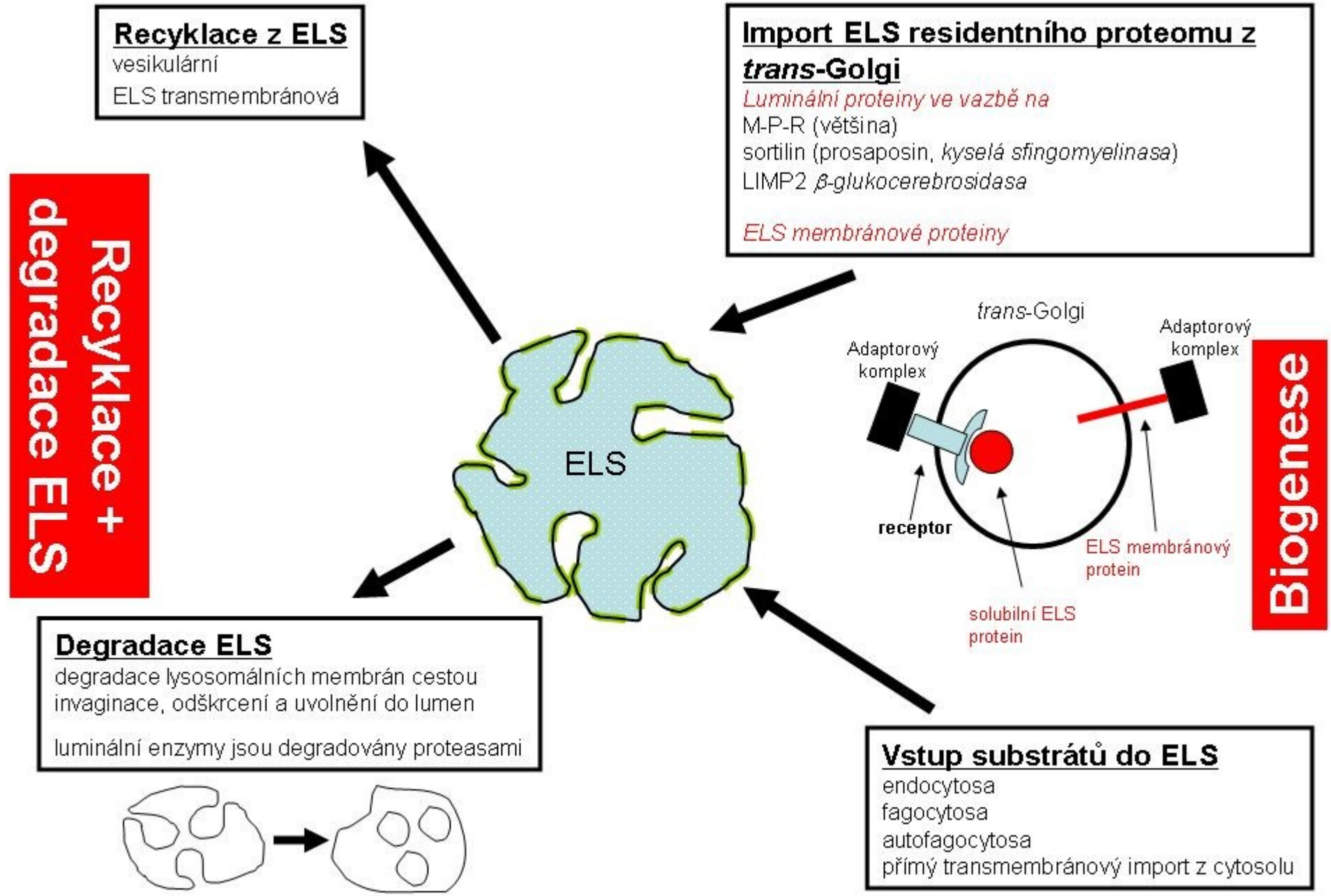


Schéma 1: biogenese, recyklace a degradace ELS

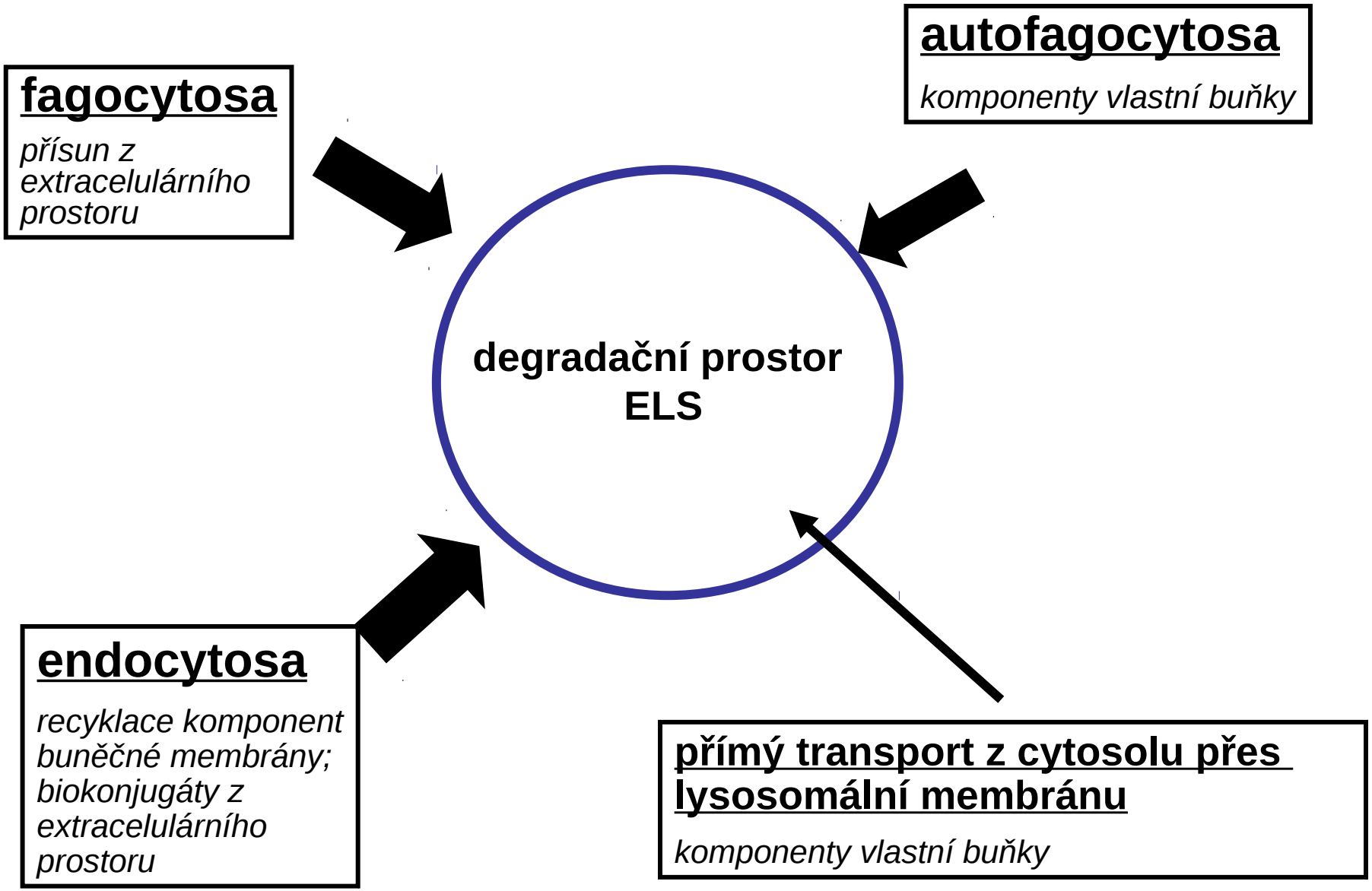
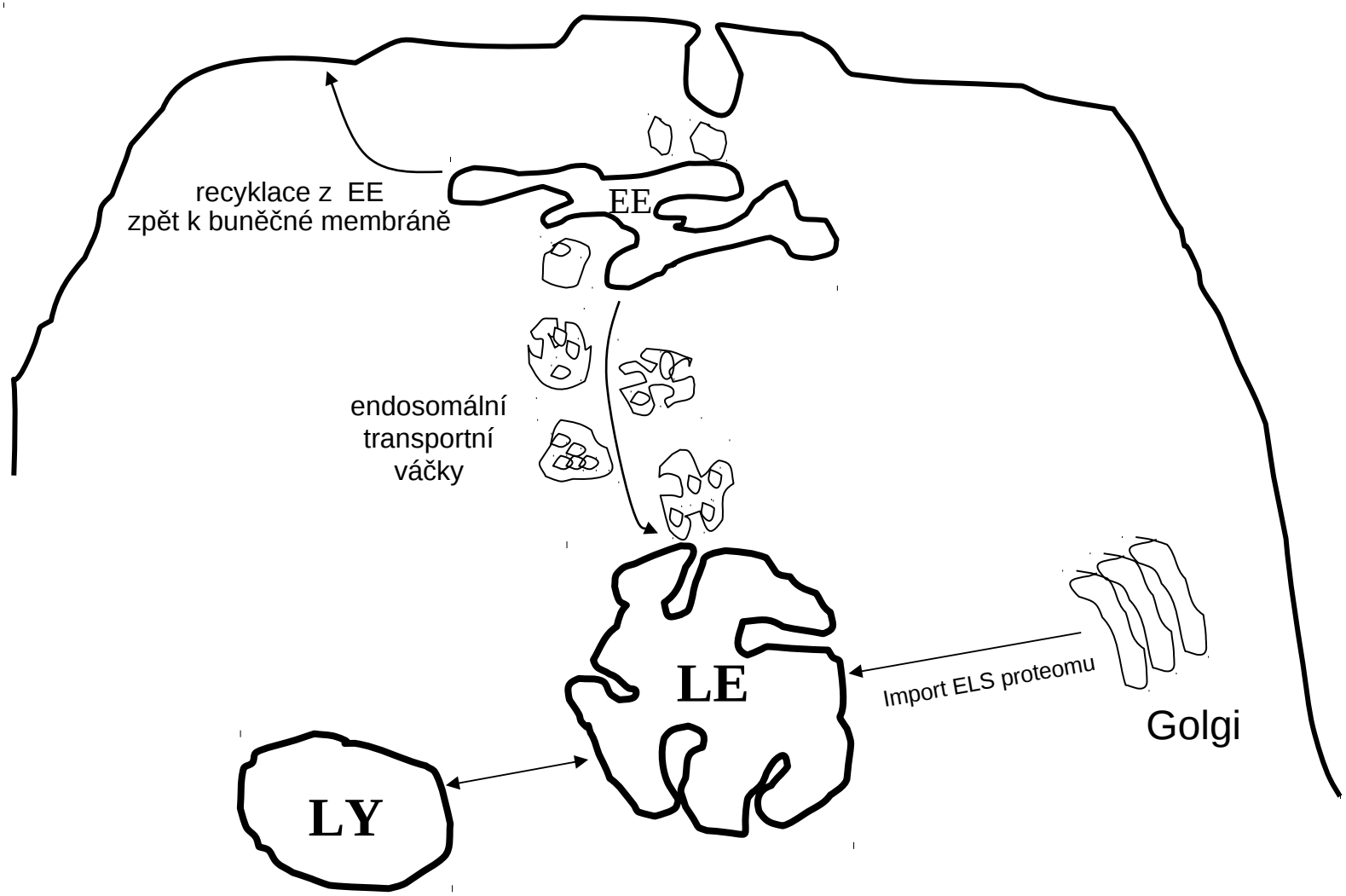


Schéma 2: Intralysosomální degradace biokonjugátů
(hlavní cesty vstupu substrátů do ELS)



EE early endosom (časný endosom)
LE late endosome (pozdní endosom)
LY lysosom

Schéma 3: Základní etáže endocytosy a ELS

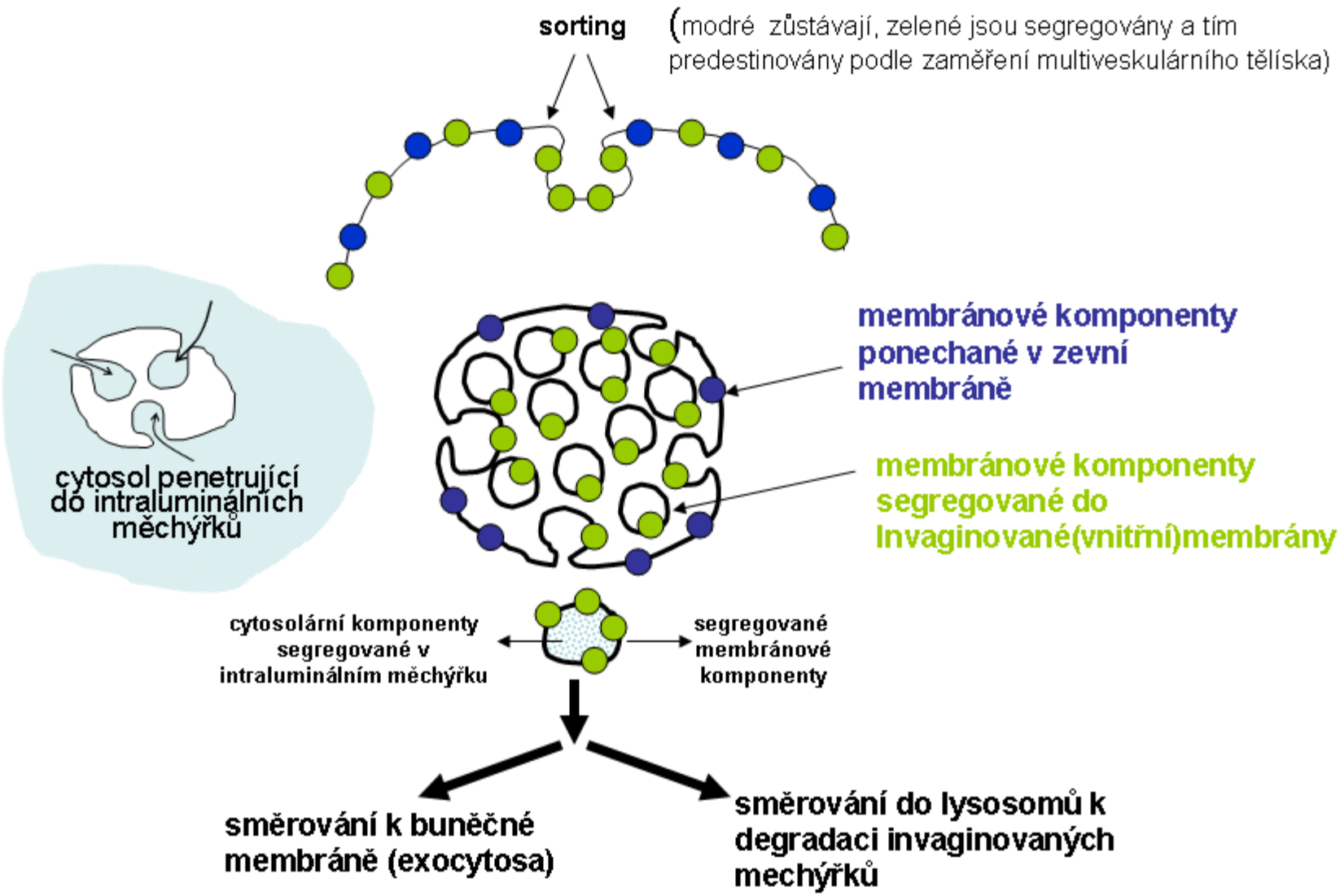


Schéma 4: Segregace specifických membránových komponent do intraluminálních invaginací

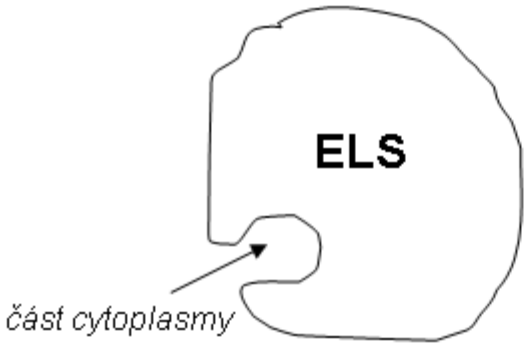
makroautofagocytosa

proces degradace rozsáhlejších okrsků cytoplasmy

dvojitá limitující autofagosomální membrána

mikroautofagocytosa

přímá Invaginace lysosomální membrány a intralysosomální degradace



chaperony zprostředkovaná autofagocytosa

přímý import specifických konformačně nestabilních cytosolických proteinů do ELS

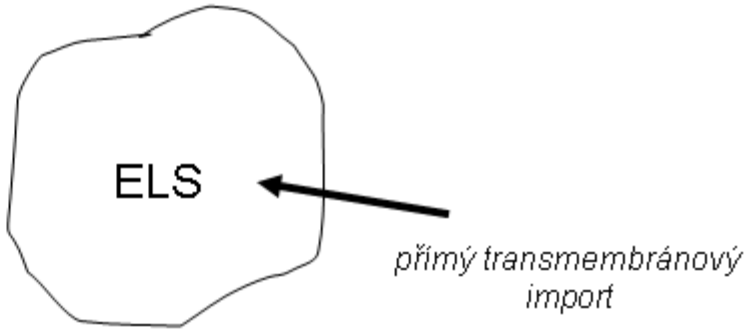


Schéma 5: Autofagocytosa - typy

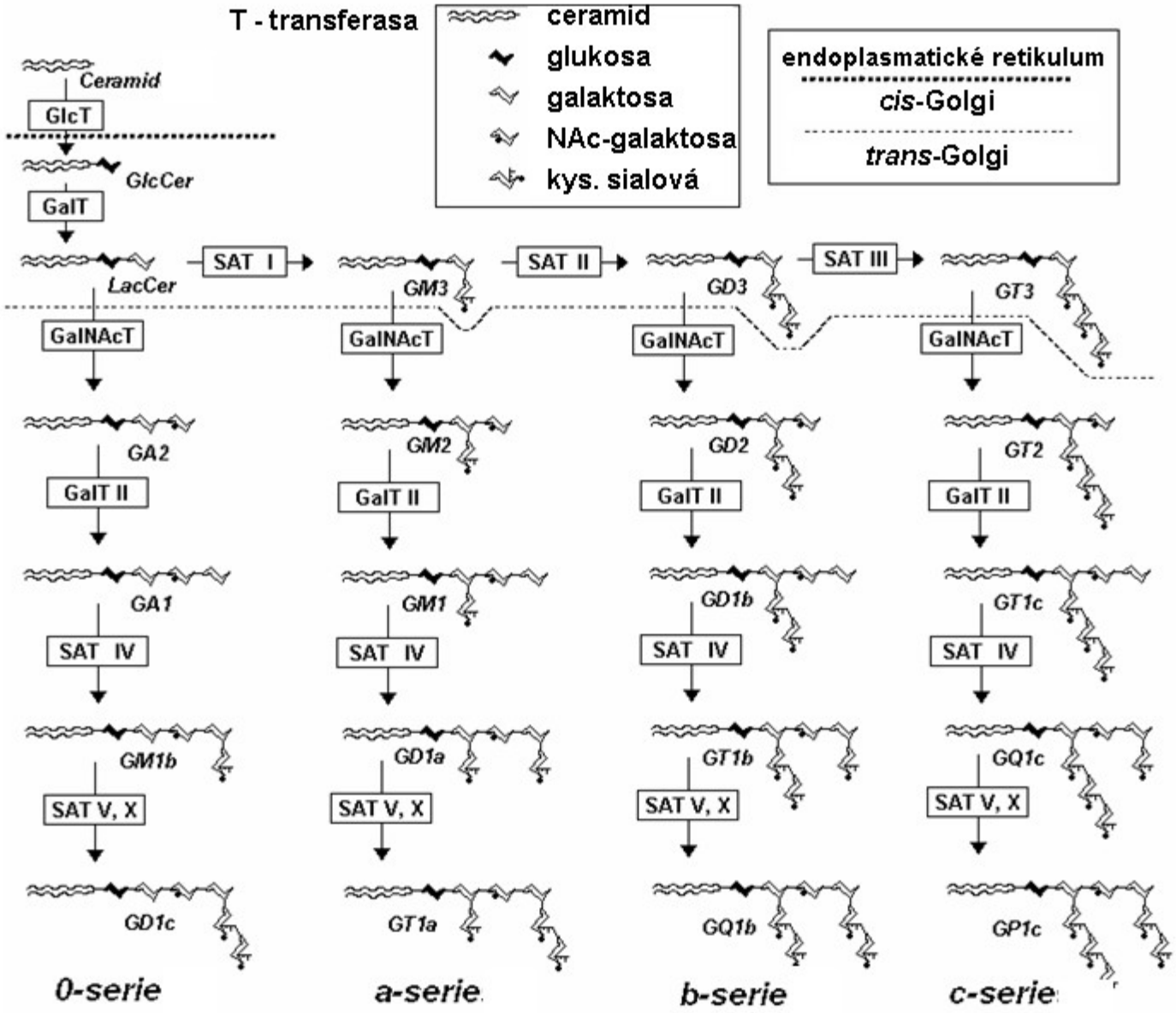


Schéma 6: Syntesa gangliosidů (*publikováno s laskavým svolením autora - Ing. Filip Majer, Ph.D.*)

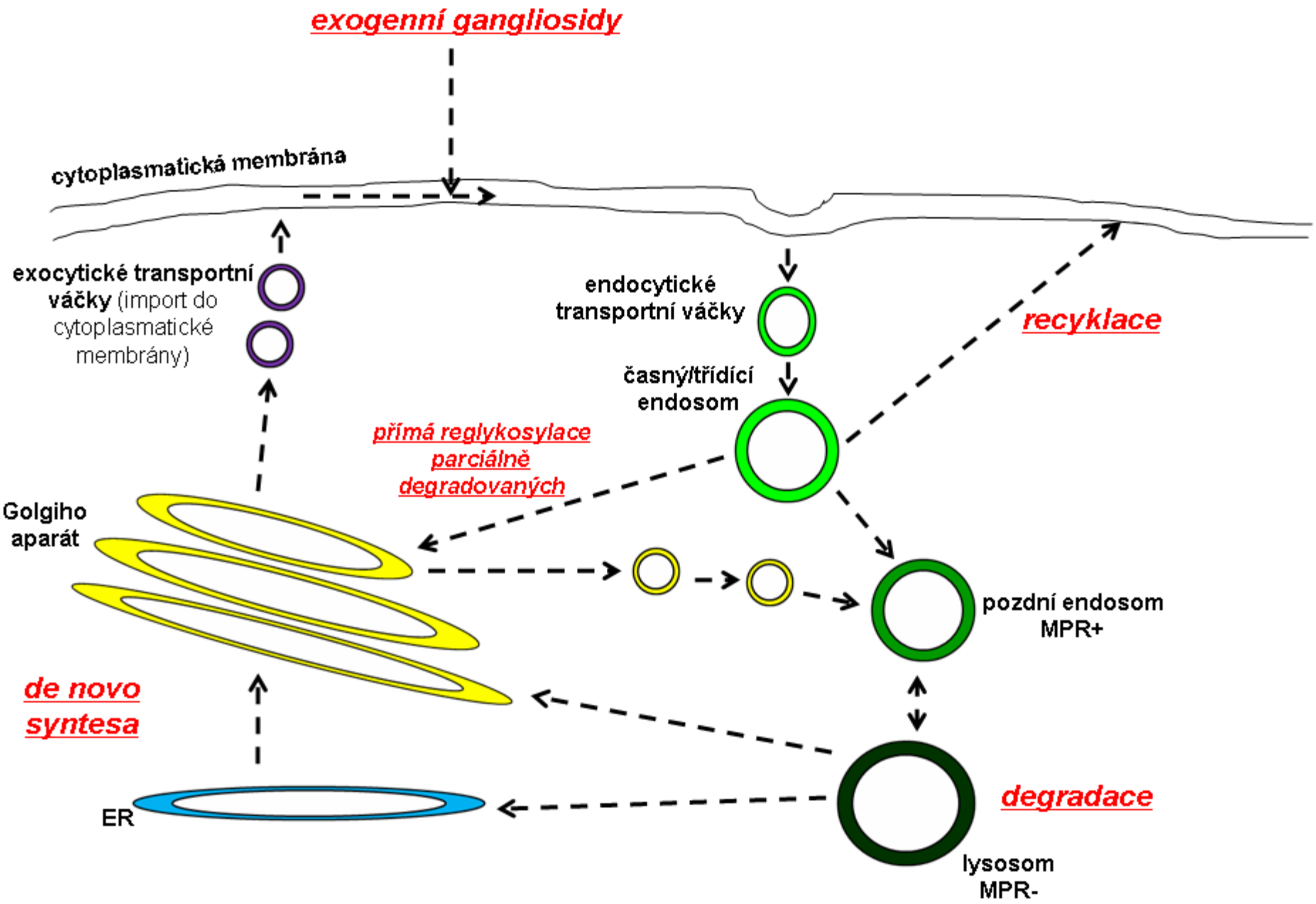
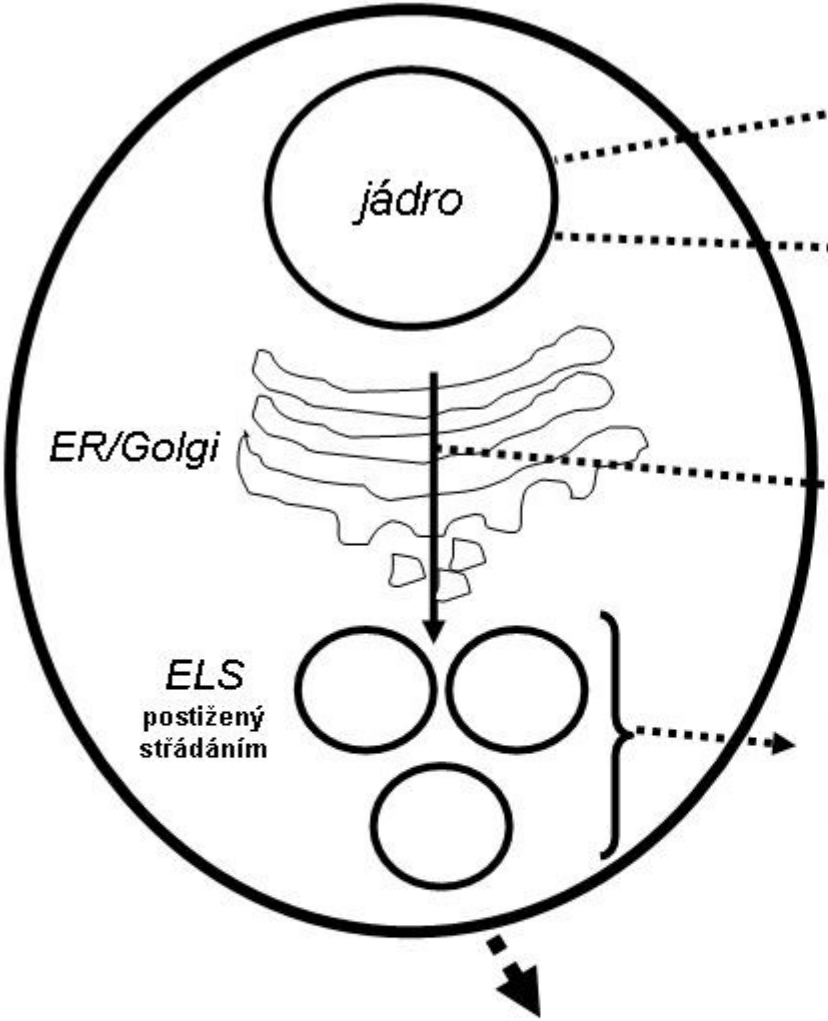


Schéma 7: Model intracelulárního třídění gangliosidů (*modifikováno dle Tettamanti et al. 2003*)



genetický přenos mutace
(AR; AD; X-vázaný, mutace *de novo*)
molekulární a klinická genetika

mutace a její důsledky vedoucí
k molekulárně patologickému,
ale i klinickému fenotypu

transport mutovaného enzymu/proteinu
a jeho osud v ER/Golgi;
molekulární biologie

určení akumulované látky - **analytická biochemie**
určení deficitní aktivity enzymu nebo jiného
odpovědného mechanismu - **enzymová biochemie**

rozvoj změn na úrovni buňky a orgánu > funkční změny
ELS a jejich důsledky pro buňku, orgány a organismus
subcelulární, buněčná a orgánová patologie

Schéma 8: lysosomální genetické poruchy– obory a úrovně v biomedicíně

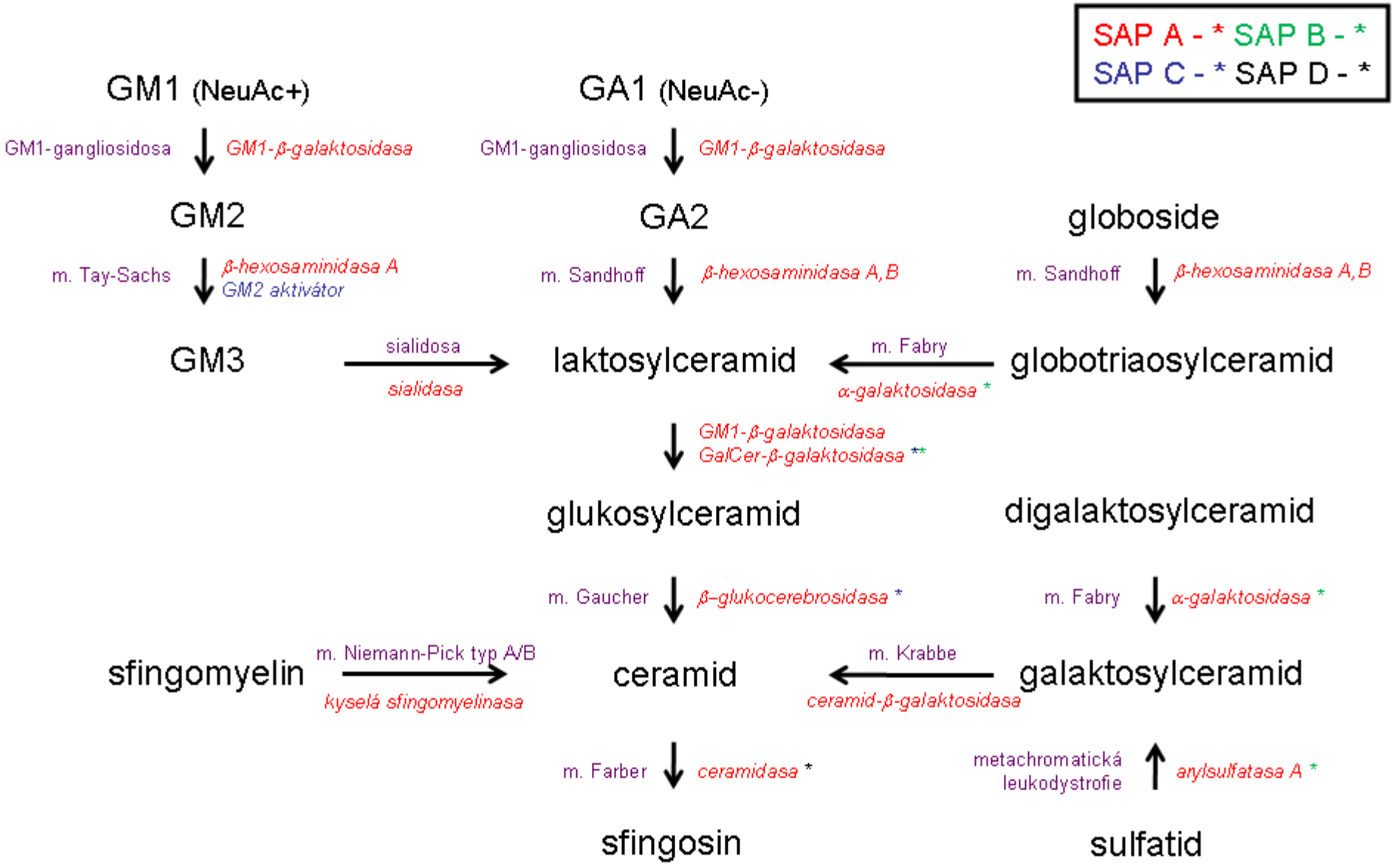


Schéma 9 – lipidosy

lysosomální enzymopatie – celkem 39 jednotek

30 enzymopatií *(mutace lysosomálních enzymů)*
1 deficit enzymatického stabilisátoru *(katepsinu A)*
5 deficitů aktivátorů *(ze 6ti možných)*
2 poruchy posttranslační modifikace lysosomálních enzymů

diagnosa je biochemická
(nutno charakterizovat mechanismus poruchy
*enzymopatie vs. deficity stabilisátoru, aktivátoru, modifikací****)***

Schéma 10: přehled lysosomálních enzymopatií

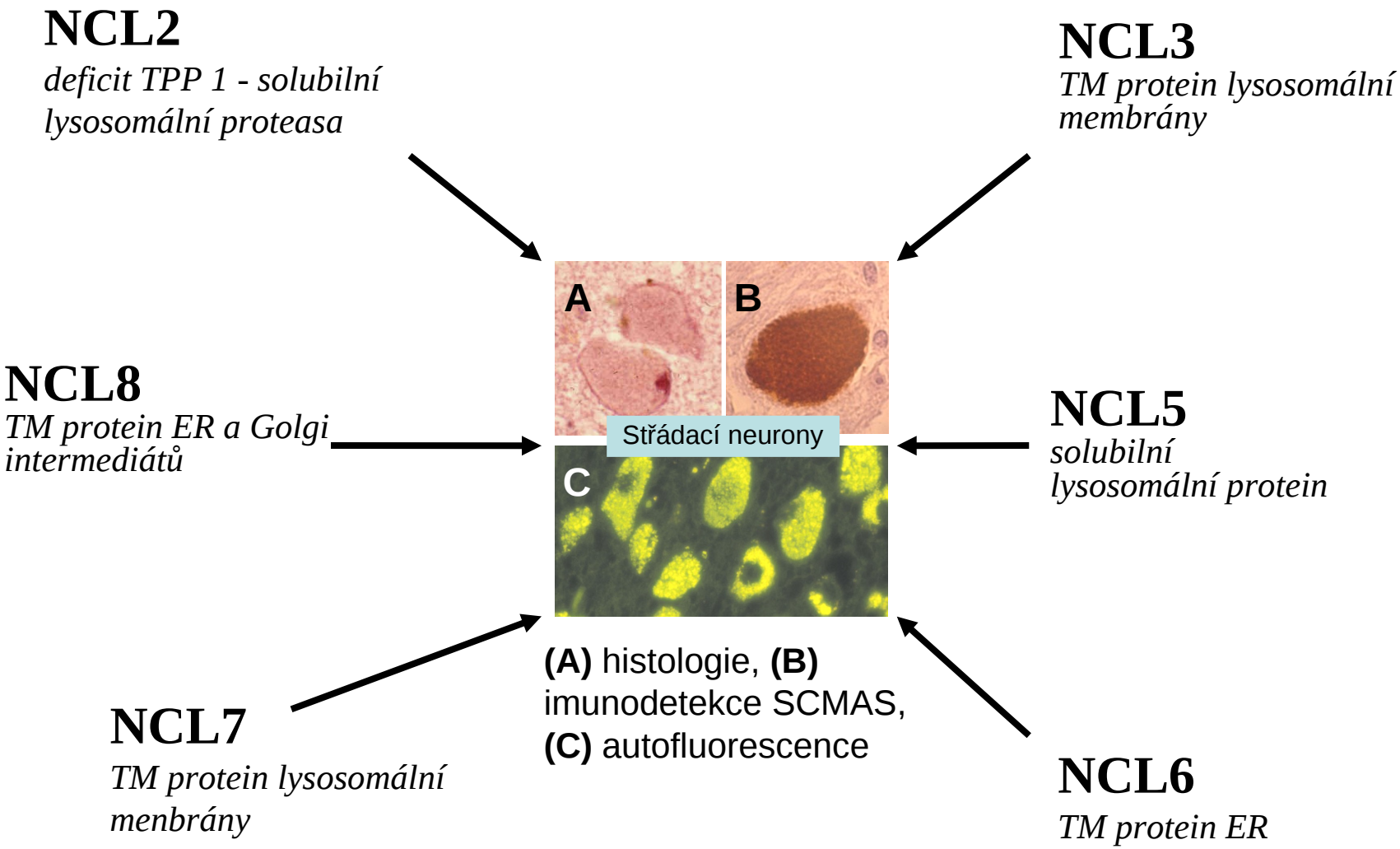


Schéma 11: Neuronální ceroidlipofuscinosy (NCL), u kterých dochází k lysosomální akumulaci podjednotky c mitochondriální ATP syntasy (SCMAS)

lysosomální střádací onemocnění na podkladě neenzymatického deficitu - celkem 13 jednotek

poruchy transportu *(transportérů)* ***přes lysosomální membránu***
cystinosa
střádání sialové kyseliny

defekty jiných lysosomálních membránových proteinů
LAMP2, LIMP2
NCL3, NCL5, NCL6, NCL7, NCL 8,
mukolipinu (ML IV),
NPC1, NPC2
CLC7/Ostm1

diagnosa je stanovena na úrovni DNA

enzymové aktivity lysosomálních enzymů jsou v normálních mezích nebo zvýšené

Schéma 12: přehled neenzymatických lysosomálních stř. onemocnění

lysosomální degradace myelinu začíná v pokročilejším stadiu myelinisace

↓

smrt oligodendroglie přichází hned v počátku nemoci (na rozdíl od metachromatické leukodystrofie**) předpokládá se účinek lysoderivátu galaktosylsfingosinu** (vzniká zřejmě synteticky nikoliv v lysosomech)

↓

mikroglie fagocytuje nekrotickou oligogendroglii (i s myelinem)

↓

v lysosomech makrofágů je vše degradováno až na galaktocerebrosid *(chybí ceramid-β-galaktosidasa)* **– lysosomální střádání v makrofázích - Krabbeho buňky**

↓

důsledkem je demyelinisace

střádací makrofágy postupně přechází do cév a z mozku mizí; ve výjimečných případech resultuje zbývá astrogliosa CNS (jiné buňky v CNS nestřádají)

Pozn. - mírný stupeň střádání (např. Schwannovy buňky) nemusí vést k buněčné degeneraci

Schéma 13: Krabbeho nemoc - sled změn vedoucích k leukodystrofií

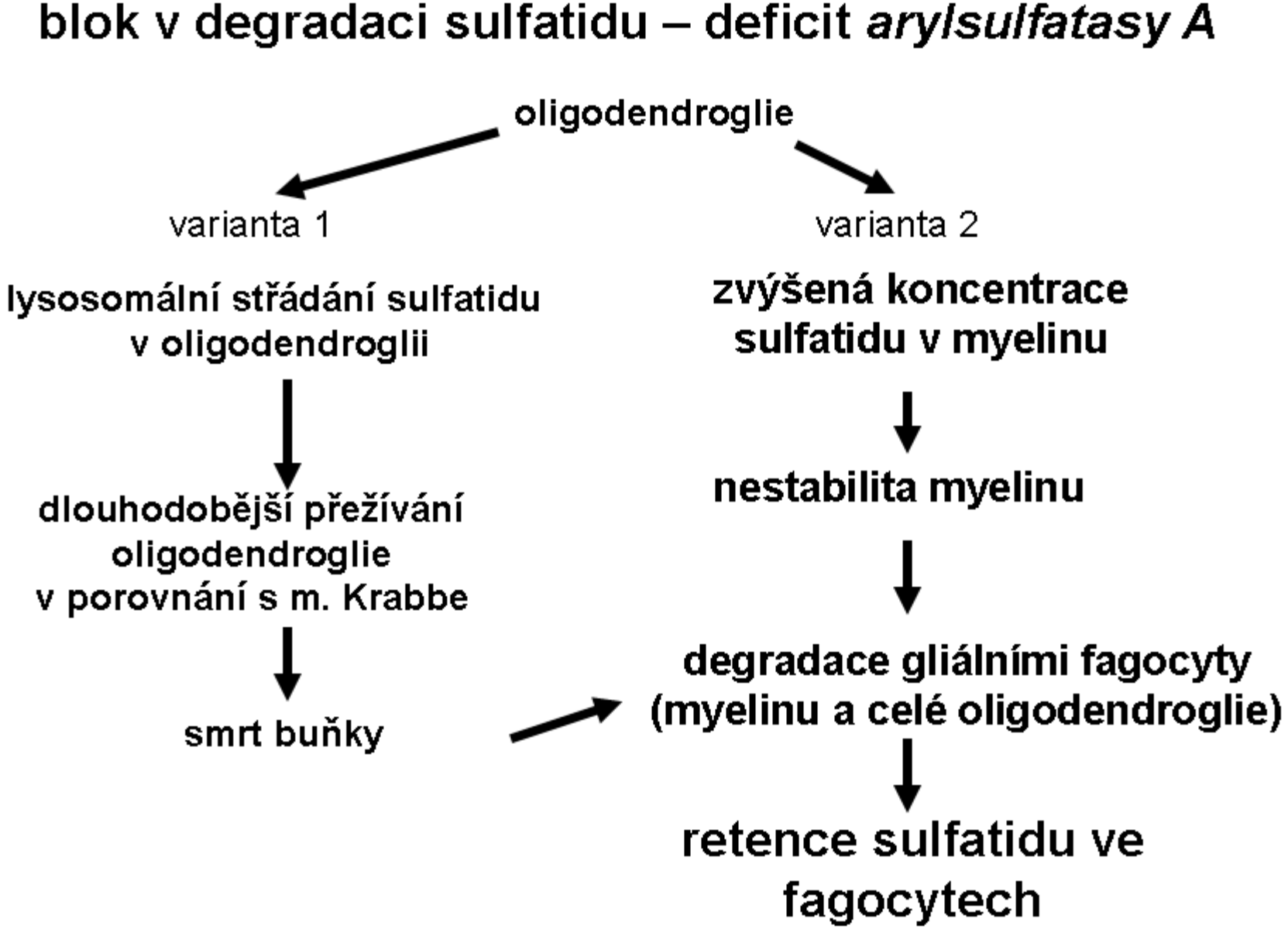


Schéma 14: změny vedoucí k demyelinisaci u metachromatické leukodystrofie

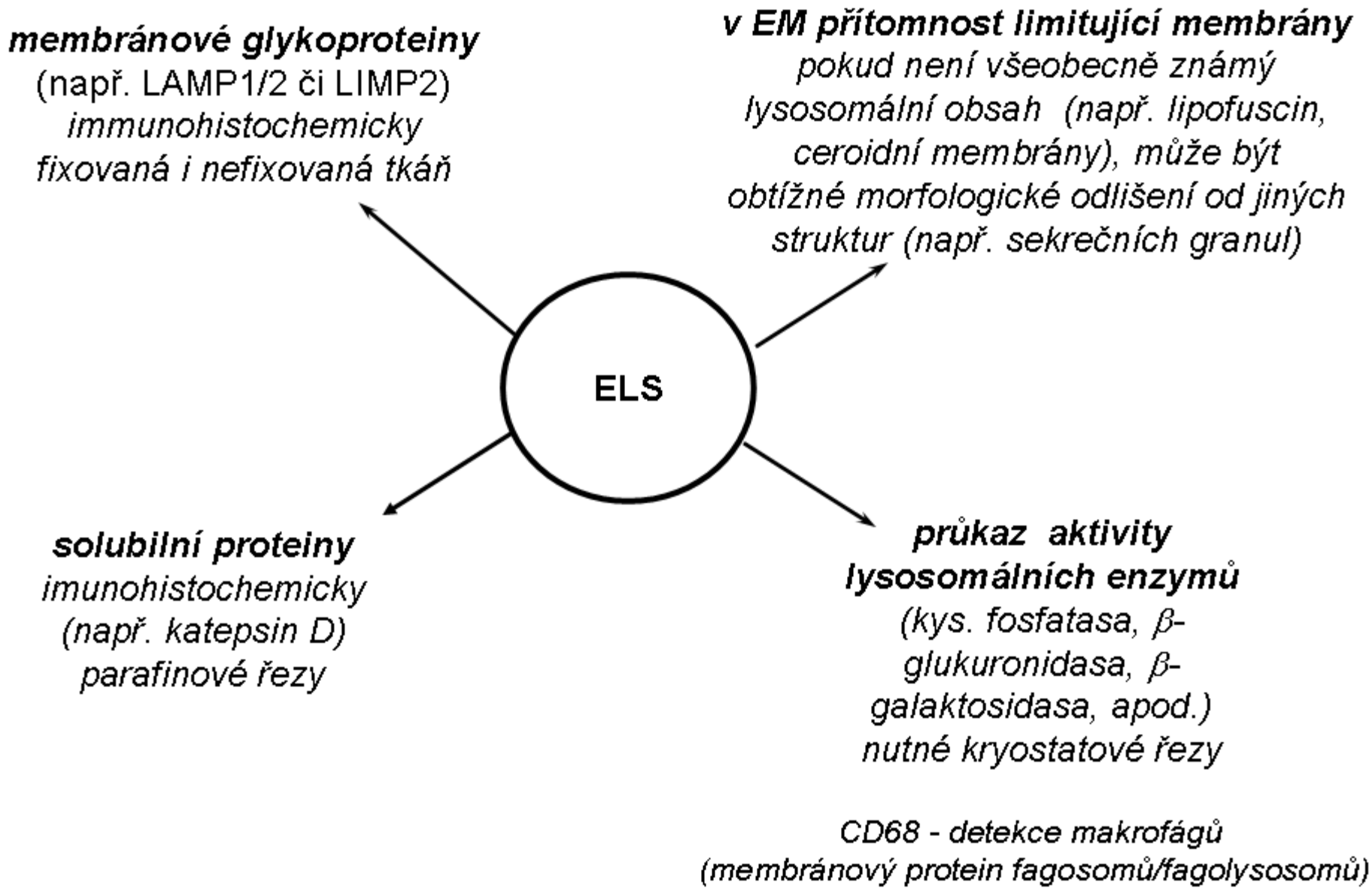


Schéma 15: možnosti detekce ELS v buňkách a tkáních (i diagnosticky)

oftalmologie - gangliosidosy, m. Niemann-Pick typ A, mukopolysacharisosy, glykoproteinosy, mukolipidosa IV, neuronální ceroidlipofuscinosy

neurologie - gangliosidosy, m. Krabbe, sulfatidosa, m. Gaucher typ II, neuronální ceroidlipofuscinosy, mukopolysacharisosy, glykoproteinosy, m. Niemann-Pick typ A a C)

psychiatrie - adultní neurolopidosy, typicky sulfatidosa, m. Niemann-Pick typ C)

pneumologie - m. Gaucher, m. Niemann-Pick typ A a B, m. Niemann-Pick C1, typicky však C2

kardiologie - m. Fabry, mukopolysacharidosy, m. Danon

angiologie - m. Fabry, CESD (akcelerace aterosklerosy), mukopolycacharidosy

hepatologie – m. Wolman, CESD, m. Niemann-Pick A, B a typ C – infantilní forma

nefrologie - m. Fabry, metachromatická leukodystrofie, LIMP2 deficit

dermatologie - m. Fabry, fucosidosa, b -manosidosa, polysulfatasový deficit, m. Farber

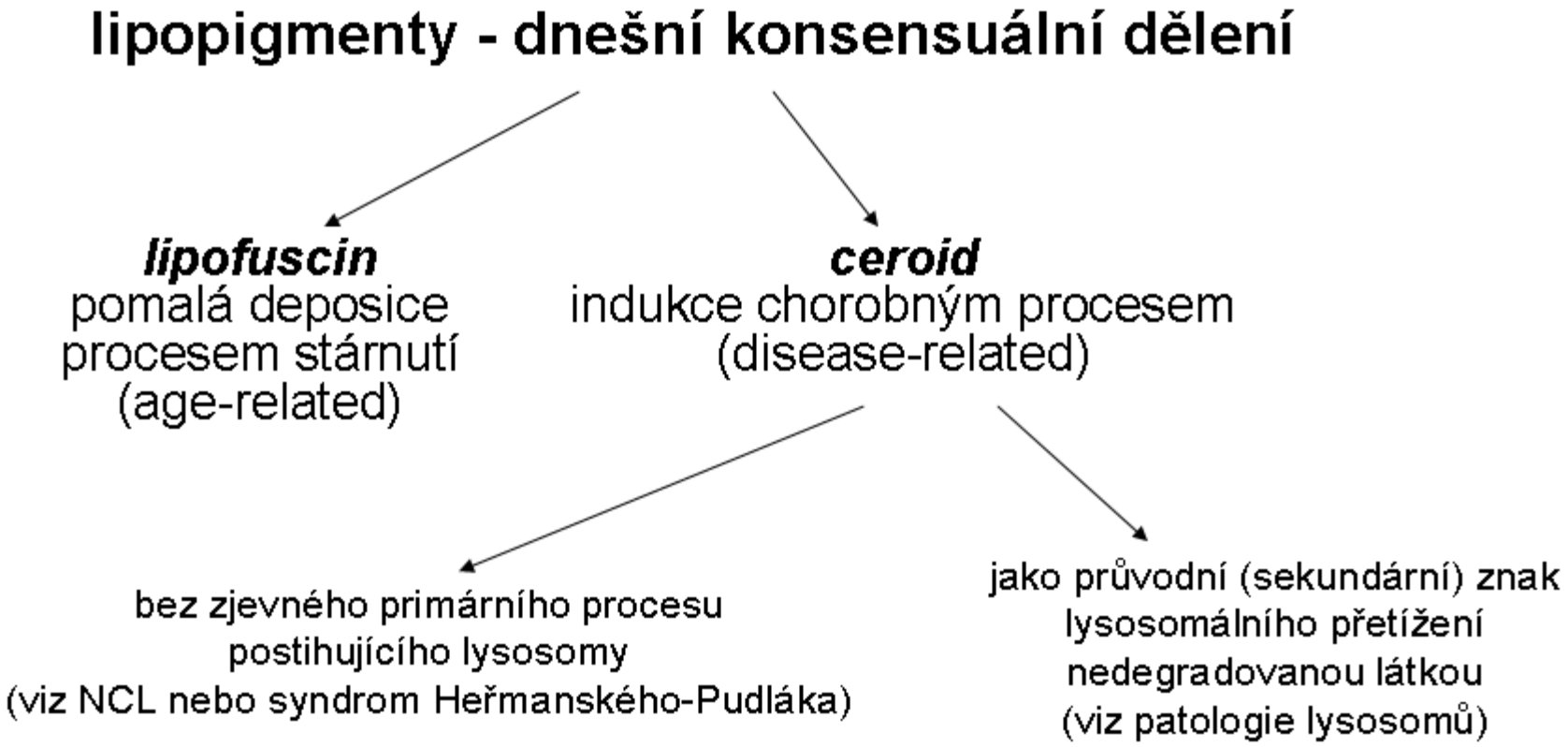
hematologie - m.Gaucher, m. Niemann-Pick typ A a B, m. Niemann-Pick C

ortopedie/osteologie - mukopolysacharisosy, glykoproteinosy, mukolipidosa III (alelická varianta MLII)

stomatologie - mukopolysacharisosy, glykoproteinosy

ORL – m. Fabry, mukopolysacharisosy

Schéma 16: Klinicky dominantní symptomatologie lysosomálních střádacích onemocnění ve vztahu k vybraným medicínským oborům



termín *ceroidlipofuscin* přežívá z období pre-biochemického výzkumu neuronálních ceroidlipofuscinos; spojuje formálně silnou autofluorescenci (jako u lipofuscinu) s výraznou sudanofilií (jako u ceroidu)

Schéma 17 lipopigmenty – základní dělení

Lipopigmenty - tinkční charakteristiky

hlavní:

- **autofluorescence** (detekovatelná i v parafinových řezech)
- **hydrofobicita** (barvení sudanovými barvivy)
- **lysosomální lokalizace** (EM; markery lysosomů)

vedlejší:

- acidoresistence
- positivní v barvení - PAS, PAF, Schmorl
- resistence k odbarvení H_2O_2 (permanganátem, zvláště okyseleným je odbarven)
- Masson-Fontana může být pozitivní (ale neredukuje $AgNO_3$)

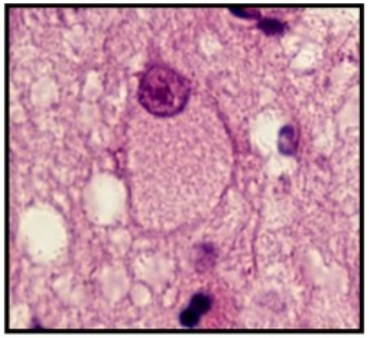
PAF= permanganát aldehydfuchsin

Schéma 18: lipopigmenty – charakteristiky při histologické detekci

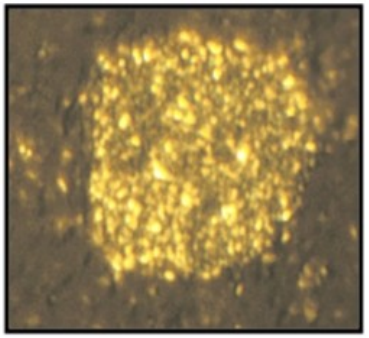
GM2 gangliosidosa

infantilní forma

pěnitý vzhled stří-dajících neuronů



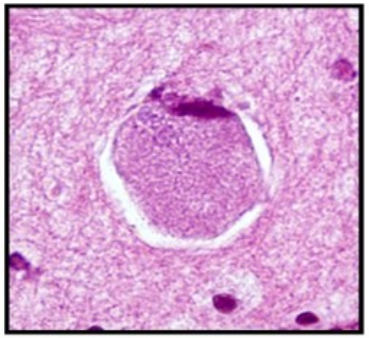
lipid odstraněný odvoděním a a zalitím do parafinu ceroid nepřítomen



tekuté krystalky GM2 v neodvodněných řezech (absence ceroidu)

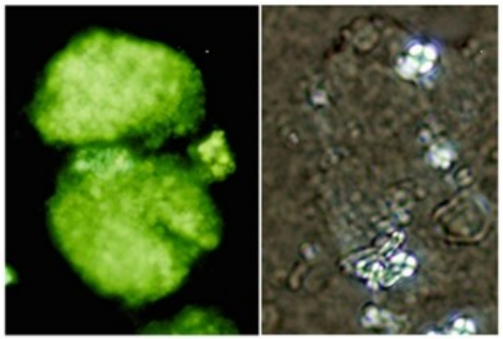
protrahovaná forma

granulární vzhled střádajících neuronů



lipid odstraněný odvoděním a a zalitím do parafinu ceroid přítomen

sekundární akumulace ceroidu
typická pro protrahované juvenil-ní a adultní formy



výrazná autofluorescence ceroidu (vlevo) minimální dvojlom lipidu (vpravo)

Schéma 19: GM2 gangliosidosa - rozvoj lysosomálního střádání - akumulace ceroidu u protrahovaných forem

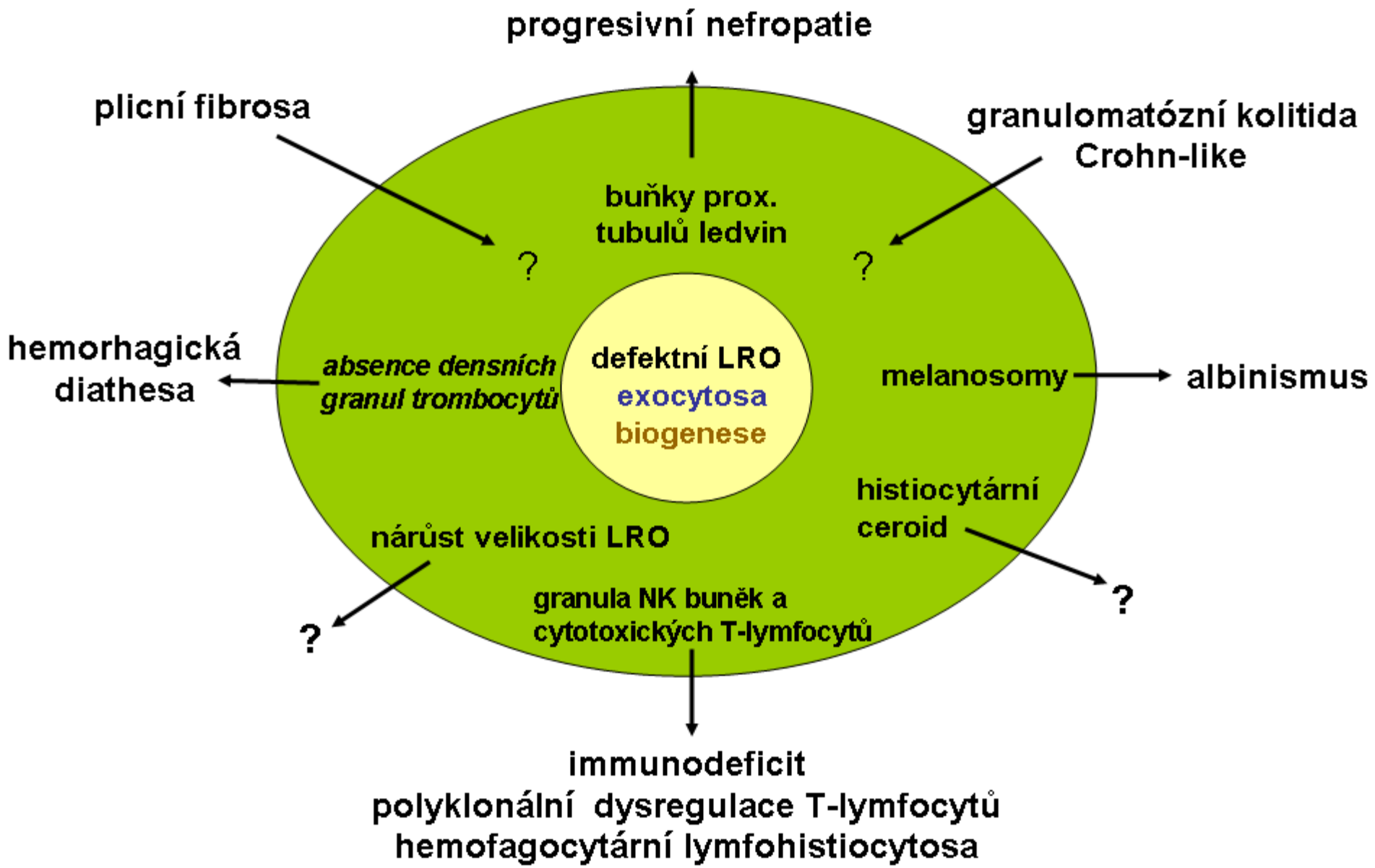


Schéma 20: přehled patologie a patofysiologie LRO