

Lek. Patryk Lipiński

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

„Charakterystyka wybranych chorób metabolicznych z dominującą ekspresją w wątrobie”

Promotor: Prof. dr hab. n. med. Anna Tyłki-Szymańska

Streszczenie

Choroby metaboliczne stanowią grupę chorób monogenowych, w których defekty białek biorących udział w procesach biochemicznych, obecne są w każdej komórce organizmu. Mimo to, w wielu przypadkach choroby te klinicznie manifestują się w wybranych narządach, na przykład w wątrobie, z uwagi na największą lub wyłączną ekspresję niektórych białek. Wynika to z braku równowagi między ilością substratu, czyli jego napływem, a możliwością jego metabolizowania z powodu niedostatecznej aktywności enzymu w danym typie komórek i tkanek. Naruszona zostaje homeostaza komórki prowadząca do jej dysfunkcji, a następnie śmierci.

Celem mojej rozprawy na stopień doktora nauk medycznych była charakterystyka wybranych chorób metabolicznych z dominującą ekspresją w wątrobie: postaci przewlekłej narządowej deficytu kwaśnej sfingomielinazy – choroby Niemann-Picka typu B, deficytu lizosomalnej lipazy o późnym początku – choroby spichrzania estrów cholesterolu, deficytu transaldolazy oraz wrodzonej postaci choroby Niemann-Picka typu C. Przeprowadzona została analiza retrospektywna przebiegu tych chorób oraz aktualna obserwacja pacjentów pod kątem charakterystyki obrazu klinicznego, biochemicznego oraz molekularnego, a także korelacji między genotypem i fenotypem klinicznym i biochemicznym. Dla niektórych chorób została przedstawiona własna propozycja algorytmu diagnostycznego.

Deficyt kwaśnej sfingomielinazy przejawia się klinicznie jednym z następujących fenotypów: o wczesnym początku, nerwowo-narządowy, zwany chorobą Niemann-Picka typu A, przewlekły nerwowo-narządowy – choroba Niemann-Picka typu A/B oraz przewlekły narządowy – choroba Niemann-Picka typu B.

W grupie 16 pacjentów z chorobą Niemann-Picka typu B pozostających pod opieką IP-CZD, powiększenie śledziony było stwierdzone u wszystkich. Powiększenie wątroby stwierdzono u większości pacjentów, natomiast podwyższenie aktywności aminotransferaz w surowicy krwi odnotowano jedynie u 1/3 pacjentów. U połowy pacjentów stwierdzano zaburzenia gospodarki lipidowej, najczęściej obserwowano podwyższone stężenie

triglicerydów oraz obniżone stężenie cholesterolu frakcji HDL. U niektórych pacjentów powiększenie wątroby i śledziony było jedynymi objawami choroby, nieistotnymi klinicznie, stwierdzanymi na wiele lat przed ostatecznym rozpoznaniem choroby. Wiśniowa plamka na dnie oczu, której obecność jest najbardziej charakterystyczna dla neuronopatycznych postaci choroby, została również odnotowana wśród naszych pacjentów z postacią przewlekłą narządową. Wszyscy pacjenci, oprócz jednego z rodzinną niskorosłością, mieli prawidłową wysokość ciała, w odróżnieniu od danych z literatury. Na podstawie dokonanych obserwacji, można stwierdzić, że postać przewlekła narządowa deficytu kwaśnej sfingomielinazy może mieć łagodny przebieg i dawać względnie długie przeżycie.

Rozpoznanie deficytu kwaśnej sfingomielinazy wymaga wykazania deficytu aktywności enzymu w leukocytach krwi obwodowej lub hodowanych fibroblastach skóry. W niektórych przypadkach, szczególnie o bardzo łagodnym przebiegu choroby, istnieje konieczność zastosowania specyficznych biomarkerów jako przesiewowego narzędzia diagnostycznego. Wykonano analizę stężeń deacetylowanej sfingomieliny – lizosfingomieliny (lyso-SM) oraz jej analogu – lizosfingomieliny-509 (lysoSM-509) w celu określenia intensywności nagromadzenia substratu, a pośrednio wpływu tego na postęp choroby i korelacji genotyp-fenotyp. Stężenie lyso-SM w osoczu było podwyższone u wszystkich pacjentów, z wyjątkiem jednego – homozygoty dla mutacji p.V36A o bardzo łagodnym fenotypie, u którego stwierdzono jedynie podwyższone stężenie lysoSM-509, bardziej czułego biomarkera w osoczu przy prawidłowej aktywności chitotriozydazy w surowicy krwi. Jednoczesna analiza lyso-SM i lysoSM-509 stanowić może w niektórych przypadkach niezbędną metodę diagnostyczną i rokowniczą w deficycie kwaśnej sfingomielinazy.

Przeprowadzona analiza pozwoliła na wykazanie dotychczas niepublikowanych aspektów w przebiegu postaci przewlekłej narządowej deficytu kwaśnej sfingomielinazy:

- obecności wiśniowej plamki na dnie oczu u pacjentów z postacią narządową,
- brak niedoboru wysokości ciała,
- rolę biomarkerów: lyso-SM oraz lysoSM-509 w diagnostyce oraz analizie przebiegu choroby.

Deficyt lizosomalnej kwaśnej lipazy należy do rzadkich dziedziczonych autosomalnie recesywnie lizosomalnych chorób spichrzeniowych i przejawia się w postaci dwóch

fenotypów: choroby Wolmana – ciężkiej postaci, z głębokim niedoborem aktywności enzymu i choroby spichrzania estrów cholesterolu – postaci łagodniejszej, z zachowaną resztkową aktywnością enzymu. Do tej pory opublikowano jedynie pojedyncze opisy przypadków i serie przypadków, mimo to naturalna historia choroby spichrzania estrów cholesterolu nie została dobrze udokumentowana. W pracy przedstawiona została historia naturalna przebiegu klinicznego choroby spichrzania estrów cholesterolu w grupie 19 polskich pacjentów.

Powiększenie wątroby i dyslipidemia, definiowana jako podwyższone stężenie cholesterolu całkowitego w surowicy, cholesterolu frakcji LDL i triglicerydów oraz prawidłowe/obniżone stężenie cholesterolu frakcji HDL, były stałymi cechami choroby. U ok. 1/3 pacjentów obserwowano łagodne lub umiarkowane podwyższenie stężenia aminotransferaz w surowicy.

Biorąc pod uwagę nasze wyniki i przegląd piśmiennictwa zaproponowany został algorytm diagnostyczny dla choroby spichrzania estrów cholesterolu. W przypadku współistnienia powiększenia wątroby czy powiększenia wątroby i śledziony oraz podwyższonej aktywności aminotransferaz w surowicy i dyslipidemii, wskazana jest diagnostyka w kierunku deficytu kwaśnej lipazy. Diagnostyka deficytu kwaśnej lipazy jest łatwa, dzięki dostępnej obecnie metodzie badania aktywności enzymu w suchej kropli krwi. Biorąc pod uwagę, że ponad połowa badanych pacjentów nie zgłaszała żadnych dolegliwości, analiza molekularna była niezbędna do analizy korelacji genotyp-fenotyp. Wszyscy badani pacjenci byli nosicielami mutacji c.894G>A w układzie homo- lub heterozygotycznym. Wykazano, że obecność mutacji c.894G> A na co najmniej jednym allelu genu *LIPA*, łagodzi fenotyp kliniczny choroby spichrzania estrów cholesterolu.

Przeprowadzona analiza pozwoliła na wykazanie dotychczas niepublikowanych aspektów w chorobie spichrzania estrów cholesterolu:

- dyslipidemii jako stałej cechy choroby,
- łagodzącego wpływu mutacji c.894G>A na fenotyp kliniczny,
- propozycji diagnostyki w kierunku deficytu kwaśnej lipazy w przypadku współistnienia powiększenia wątroby czy powiększenia wątroby i śledziony oraz podwyższonej aktywności aminotransferaz i dyslipidemii.

Deficyt transaldolazy (TALDO) stanowi rzadkie zaburzenie metabolizmu na szlaku przemiany pentoz, które dotychczas opisano u 32 pacjentów, w tym u czterech z Polski. W pracy przedstawiona została historia naturalna przebiegu choroby wśród wspomnianych

czterech pacjentów, u których wcześniej rozpoznano TALDO, pozostających pod długotrwałą opieką IP-CZD; okres obserwacji wynosił 4-13 lat.

Cechą charakterystyczną obecną u połowy z nich było wewnątrzmaciczne opóźnienie wzrastania oraz znaczny przyrost masy ciała przez matki w czasie ciąży. W okresie noworodkowo-niemowlęcym stwierdzano powiększenie wątroby i śledziony, niedokrwistość, małopłytkowość, zaburzenia krzepnięcia. W przebiegu TALDO, stwierdzano w wątrobie charakterystyczne drobnoguzkowe włóknienie, ostatecznie marskość wątroby. Nasilająca się koagulopatia była czułym wskaźnikiem dysfunkcji wątroby. Z czasem u chorych z dłuższym okresem przeżycia wystąpiły objawy tubulopatii – zwykle pierwszymi objawami były hiperkalciuria i białkomocz cewkowy i kłębuszkowo-cewkowy.

Przesiewowa metoda diagnostyczna, stosowana w IP-CZD, opiera się określeniu stosunku D-/L- arabinitolu w moczu lub surowicy. Długoletnia nasza obserwacja wskazuje, że gromadzenie polioli wydaje się zmniejszać z wiekiem.

Wszyscy pacjenci byli leczeni objawowo. Mimo początkowo złego rokowania, wkroczyli w drugą dekadę życia (3 z 4 pacjentów) z objawami skompensowanej marskości wątroby i kontrolowanej tubulopatii.

Na podstawie naszych obserwacji oraz innych doniesień z literatury można wnioskować o znacznej heterogenności objawów klinicznych u pacjentów z TALDO, a także braku wyraźnej korelacji między genotypem i fenotypem biochemicznym i klinicznym. Nasza długoletnia obserwacja pacjentów z TALDO jest najdłuższą, do tej pory opisaną w literaturze światowej.

Przeprowadzona analiza pozwoliła na wykazanie dotychczas niepublikowanych aspektów w deficycie transaldolazy:

- obecności charakterystycznego drobnoguzkowego włóknienia wątroby,
- możliwości względnie dobrego rokowania i dłuższego przeżycia pacjentów,
- zmniejszania gromadzenia się polioli z wiekiem.

Na podstawie obserwacji oraz przeglądu literatury przedstawiona została własna propozycja algorytmu diagnostyki TALDO. U pacjentów z niewyjaśnionym postępującym uszkodzeniem wątroby, a następnie i nerek wskazane jest wykonanie badania stężenia polioli. Potwierdzenia lub wykluczenia deficytu transaldolazy wymaga również każdy przypadek noworodka czy

niemowlęcia z hepatosplenomegalią, niedokrwistością, małopłytkowością i zaburzeniami krzepnięcia, zwłaszcza urodzonego z niską masą urodzeniową oraz dużym przyrostem masy ciała matki w czasie ciąży. Włóknienie czy marskość wątroby o nieustalonej etiologii jest wskazaniem do badania stężenia polioli.

Choroba Niemann-Picka typu C (NPC) jest lizosomalną spichrzeniową chorobą neurodegeneracyjną, charakteryzującą się kumulacją niezestryfikowanego cholesterolu i wtórnie innych lipidów na szlaku przemian w lizosomach i późnych endosomach. Spowodowana jest mutacjami w genach *NPC1* lub *NPC2*, kodujących białka zaangażowane w wewnątrzkomórkowy transport cholesterolu. Szerokie spektrum kliniczne i różny wiek wystąpienia objawów, począwszy od postaci wrodzonych do objawiających się dopiero dorosłości, utrudniają szybkie rozpoznanie. Liczba opisów wrodzonej postaci NPC w literaturze jest niewielka, co wynikać może z ciężkiego i postępującego przebiegu szybko prowadzącego do zgonu.

U opisywanego pacjenta obserwowano powiększenie wątroby i śledziony od urodzenia, co sugeruje manifestację choroby już prenatalnie, przejawiającą się po urodzeniu uszkodzeniem wątroby w postaci ciężkiej skazy krwotocznej z towarzyszącą małopłytkowością i leukopenią. W tej postaci NPC objawy neurologiczne mogą pojawić się później, ale główną cechą kliniczną jest zajęcie wątroby związane z uszkodzeniem hepatocytów, w przeciwieństwie do innych postaci neurologicznych NPC, w których zajęcie wątroby przebiega łagodnie głównie z zajęciem makrofagów.

Diagnostyka postaci wrodzonej NPC jest trudna ze względu na możliwość fałszywie ujemnych wyników biopsji wątroby i szpiku jak w prezentowanym przypadku i niespecyficznych analiz laboratoryjnych, w tym testu z filipiną i aktywności chitotriozydazy w surowicy. W opisywanym przypadku narastający poziom aktywności chitotriozydazy w surowicy sugerował nasilenie procesu aktywacji makrofagów spichrzaniem, a zatem były pomocne w diagnostyce NPC. Ostateczna diagnoza została ustalona na podstawie analizy molekularnej, wykazującej że pacjent jest złożoną heterozygotą dla dwóch znanych patogennych mutacji w genie *NPC1*.

Przeprowadzona analiza pozwoliła na wykazanie dotychczas niepublikowanych aspektów w postaci wrodzonej choroby Niemann-Picka typu C:

- charakterystycznego zajęcia wątroby z uszkodzeniem hepatocytów przy braku objawów neurologicznych lub wyprzedzającego objawy neurologiczne.

Podsumowanie

W odniesieniu do przedstawionych chorób metabolicznych z dominującą ekspresją w wątrobie, pierwszym klinicznym objawem zajęcia wątroby jest izolowane powiększenie wątroby lub powiększenie wątroby i śledziony. W niektórych przypadkach powiększenie wątroby i śledziony może stanowić nieistotne objawy kliniczne utrzymujące się przez wiele lat przed ostatecznym rozpoznaniem choroby. Przeciwnie, niektóre choroby metaboliczne z dominującą ekspresją w wątrobie mogą mieć przebieg bardziej progresywny, jak deficyt transaldolazy czy wrodzona postać choroby Niemann-Picka typu C.

Podwyższenie aktywności aminotransferaz w surowicy krwi – poziomy sięgające do wartości kilkukrotnie powyżej górnej granicy wartości referencyjnych – stwierdzano w większości omawianych metabolicznych chorób z dominującą ekspresją w wątrobie. Koagulopatię w postaci wydłużonego wskaźnika INR można było zaobserwować w deficycie transaldolazy oraz wrodzonej postaci choroby Niemann-Picka typu C jako wykładnik upośledzenia czynności syntetycznej wątroby oraz bardziej progresywnego przebiegu choroby.

Rozpoznanie wszystkich omawianych chorób, z wyjątkiem choroby Niemann-Picka typu C, zawsze było potwierdzone przez wykazanie deficytu aktywności enzymu lub obecności patogennych mutacji w odpowiadającym genie. Obecnie, dzięki metodzie chromatografii ze spektrometrią mas, istnieje możliwość analizy swoistych biomarkerów w surowicy krwi lub moczu (lyso-SM i lysoSM-509, arabinitol) czy chitotriozydazy jako metod pozwalających na ostateczne potwierdzenie rozpoznania choroby, a zwłaszcza w ocenie postępu choroby. Wskazane jest też wykonanie analizy molekularnej jako pomocnej w niektórych przypadkach w ocenie korelacji genotyp-fenotyp i prognozowaniu przebiegu choroby.

Abstract

Metabolic diseases constitute a group of monogenic diseases in which the defect in the biochemical pathway is expressed in every cell in the body. Besides, the clinical phenotype is predominantly manifested in selected organs, including the liver, due to exclusive or extensive expression of encoded proteins. It depends on the imbalance between the amount of substrate (substrate inflow) and its capacity of being metabolized (removed) in a specific type of cells (tissues). The homeostasis of the cell is disturbed which leads to its dysfunction and then to death.

The aim of my PhD thesis was to present the characteristics of selected metabolic diseases with predominant liver phenotype including: chronic visceral acid sphingomyelinase deficiency (ASMD), late-onset lysosomal acid lipase deficiency (cholesteryl ester storage disease, CESD), transaldolase deficiency (TALDO) and congenital Niemann-Pick disease type C (NPC). Patients with the above-mentioned diseases, have remained under the care of Children's Memorial Health Institute (CMHI) for over 20 years. The retrospective analysis and current follow-up of those patients were performed. Clinical, biochemical and molecular characteristics of the diseases were presented and the genotype/phenotype correlation was analyzed. Based on the long-term observation and presented data, diagnostic algorithms for some of those diseases were developed.

Chronic visceral acid sphingomyelinase deficiency (ASMD), due to mutations in the sphingomyelin phosphodiesterase 1 (*SMPD1*) gene, is divided into infantile neurovisceral ASMD – Niemann-Pick type A, chronic neurovisceral ASMD – intermediate form, Niemann-Pick type A/B and chronic visceral ASMD - Niemann-Pick type B.

Splenomegaly was always present in a group of 16 patients with chronic visceral ASMD who were diagnosed and followed-up at the CMHI. Hepatomegaly was observed in the majority of patients and moderately elevated serum transaminases were noted in one third of patients. The finding of dyslipidemia was reported in half of the patients, while the most common features included elevated triglycerides levels and decreased HDL cholesterol levels. In some of the patients, liver and spleen enlargement had constituted the sole signs presenting for many years before ASMD diagnosis. Macular cherry-red spots, which are the most characteristic for neuronopathic forms of ASMD, were also noted in chronic visceral ASM deficient patients from our cohort. All the patients, apart from one with familial short stature, presented with

normal stature, contrary to other reports in the literature. Based on the presented data we concluded that chronic visceral ASMD could have a mild course with a relatively long lifespan.

The diagnosis of ASMD is usually confirmed by the demonstration of ASM activity deficit in peripheral blood leukocytes or cultured skin fibroblasts. In some cases, especially with a very mild phenotype (as presented in our group), there is a need to use novel serum biomarkers as a screening tool in the diagnostic process. The deacylated form of sphingomyelin – lysosphingomyelin (SPC) and SPC analog – lysosphingomyelin-509 (SPC-509) were used to better characterize the disease progress and genotype-phenotype correlation. Plasmatic lysosphingomyelin (SPC) was elevated in all the patients except one with p.V36A homozygosity and a very mild phenotype, also presenting with elevated plasmatic SPC-509 but normal chitotriosidase activity. Therefore, the combined measurement of lysosphingomyelin (SPC) and lysosphingomyelin-509 (SPC-509) is an essential method for the final diagnosis and assessment of ASMD course.

Previously unpublished results regarding the course of chronic acid sphingomyelinase deficiency were demonstrated in the present study:

- presence of cherry red spots,
- normal stature,
- usefulness of SPC and SPC-509 measurements in diagnosis and assessment of the disease course.

Lysosomal acid lipase deficiency (LAL-D) is a rare autosomal recessive lysosomal lipid storage disorder that results in an early-onset, severe and lethal phenotype, known as Wolman disease, or a late-onset, attenuated phenotype, cholesteryl ester storage disease (CESD). So far single case reports and case series have been published on this topic, but the natural history of those cases have not been well documented. In our study we described the clinical presentation of 19 Polish CESD patients, some of whom remained under the care of CMHI for over 30 years.

Hepatomegaly and dyslipidemia defined as elevated serum total and LDL cholesterol, elevated triglycerides and normal to low HDL cholesterol, comprised the permanent findings at CESD diagnosis. About one third of the patients presented with mildly to moderately elevated serum transaminases. The age at CESD diagnosis was about 4 years of age

emphasizing the importance of pediatric gastroenterologists to consider this diagnosis in young children.

Taking our results and the review of the literature into consideration we proposed an algorithm of CESD diagnosis. In general, in case of coexisting hepatomegaly or hepatosplenomegaly and dyslipidemia defined as elevated serum total and LDL cholesterol, elevated triglycerides and normal to low HDL cholesterol, a possible CESD diagnosis should be considered. In a patient presenting with hepatomegaly or hepatosplenomegaly, lipid serum profile and serum transaminase activity should always be performed. The siblings should also be screened.

Testing for LAL-D is easily available and affordable via a dried blood spot. However, more than half of our study group patients reported no complaints, so the molecular analysis was essential to assume the genotype-phenotype correlation. All our screened patients were the carriers of c.894G>A mutation. We concluded that the presence of c.894G>A mutation on at least one allele of the *LIPA* gene alleviates the clinical phenotype.

Previously unpublished results regarding the course of cholesteryl ester storage disease were demonstrated in the present study:

- dyslipidemia as a permanent finding at diagnosis,
- c.894G>A mutation alleviates the clinical phenotype,
- proposition of the disease diagnosis in a case of coexisting hepatomegaly or hepatosplenomegaly with elevated liver transaminases and dyslipidemia.

Transaldolase deficiency (TALDO) is a rare inborn autosomal recessive error of the pentose phosphate pathway, that has been diagnosed in 33 patients to date, including 4 from Poland.

In our study we presented a long-term follow-up of four patients who were diagnosed and followed-up at the CMHI. TALDO manifested in them as an early onset disorder associated with intrauterine growth retardation observed prenatally and an excessive weight gain in the mothers of affected patients during pregnancy. The dominant feature was early liver injury. During the neonatal period, hepatosplenomegaly with coagulopathy, hypoalbuminemia, elevated serum transaminases, anemia and thrombocytopenia were noted. Nodular fibrosis of

the liver developed over the natural course of the disease. Progressive coagulopathy was a sensitive parameter indicating liver dysfunction.

The kidneys were affected in TALDO in the form of renal tubular dysfunction. The earliest laboratory findings of kidney disease in our patients were hypercalciuria and proteinuria.

Renal involvement was most commonly manifested later than liver dysfunction, although in two of our patients, and other patients in the literature, renal abnormalities were also manifested in early infancy.

All our patients were treated symptomatically. Despite the severe phenotype, the patients remained in a relatively good clinical condition during the long-term follow-up.

Urinary arabinol levels and D-/L-arabinol ratio was performed to confirm the diagnosis and during the follow-up. Our data showed that polyol concentrations seem to decrease with age.

Based on our study and other reports from the literature we described a strong heterogeneity of TALDO clinical manifestations and lack of distinct genotype-phenotype correlation. However, to the best of our knowledge, this is the first report of such a long-term systematic clinical and biochemical monitoring of the disease progress in patients affected with TALDO.

Previously unpublished results regarding the course of transaldolase deficiency were demonstrated in the present study:

- presence of nodular fibrosis of the liver,
- relatively good long-term outcome,
- decrease of polyol concentrations with age.

Based on own observations and the review of literature there was proposed a diagnostic algorithm of TALDO. In patients with unexplained progressive liver and kidneys damage, polyol accumulation measurement should be performed. Any newborn/infant presenting with hepatosplenomegaly, anemia, thrombocytopenia and coagulopathy, especially those born with low birth weight and high maternal weight gain during pregnancy also require the diagnostics of TALDO. Liver fibrosis or cirrhosis of unknown etiology always requires the measurement of polyol accumulation.

Niemann–Pick disease type C (NPC) is a neurodegenerative, lysosomal lipid storage disorder characterized by the accumulation of unesterified cholesterol and secondary lipids

trafficking in lysosomes and late endosomes caused by mutations in either, *NPC1* or *NPC2* genes, encoding proteins involved in the intracellular cholesterol transport. The broad clinical heterogeneity and a variable age of onset ranging from perinatal forms to adulthood make the diagnosis challenging. Data regarding the prenatal onset of NPC are limited, but this phenotype of the disease is often correlated with a severe and rapidly progressing form. In the presented patient, hepatosplenomegaly had been observed since birth, suggesting that it had developed in utero, resulting postnatally in liver injury presenting with thrombocytopenia, leukopenia, and severe bleeding diathesis within the first week of life. In this form of NPC, neurological symptoms could develop later but the main clinical feature is the liver phenotype associated with the damage of hepatocytes contrary to other later/milder neurological forms of NPC.

The diagnostic process of NPC is challenging due to the possibility of false-negative results of liver and bone marrow biopsies (as in the presented case), and nonspecific laboratory analyses including the filipin staining test and serum chitotriosidase activity. Increasing results of double measurement of serum chitotriosidase activity were suggestive of macrophage arousal by storage process. Therefore, we found them supportive in diagnosing NPC. The final diagnosis was established based on molecular analysis revealing the patient to be a compound heterozygote for two known pathogenic mutations.

Previously unpublished results regarding the course of congenital Niemann-Pick disease type C were demonstrated in the present study:

- predominant liver phenotype with the damage of hepatocytes and the absence of/pre-emptive neurological symptoms.

Conclusions

Regarding all presented metabolic diseases with predominant expression in the liver, the first clinical sign of liver involvement is isolated hepatomegaly or hepatosplenomegaly. In some of them, liver and spleen enlargement could constitute the sole signs (clinically insignificant) presenting for many years before the diagnosis. Contrary, some metabolic liver diseases could have a more progressive course, like TALDO or congenital NPC.

Mildly to moderately elevated (up to several-fold above the upper limit of normal values) serum transaminases are noted in the majority of reported metabolic liver diseases. Coagulopathy in the form of prolonged INR could be observed in TALDO or congenital NPC as an indicator of liver synthetic function impairment and a more progressive disease course.

Apart from predominant expression in the liver, it is necessary to be aware of the presence of signs and symptoms from other organs and systems, sometimes less clinically significant, but always present.

The diagnosis of all reported diseases, except NPC, was always confirmed with the demonstration of enzyme deficiency. Nowadays, it is possible to analyze serum or urine biomarkers (lysosphingomyelin and lysosphingomyelin-509, chitotriosidase, arabitol) as screening tools in the diagnosis and also assessment of disease progress. The molecular analysis should always be performed to analyze the genotype/phenotype correlation and delineate the disease course.