

# Urođene bolesti metabolizma ugljikohidrata, aminokiselina i masnih kiselina

---

Horvat, Monika

Undergraduate thesis / Završni rad

2021

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, University of Split, Faculty of science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:166:545454>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-12-24**

*Repository / Repozitorij:*

[Repository of Faculty of Science](#)



Sveučilište u Splitu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Odjel za biologiju

Monika Horvat

**UROĐENE BOLESTI METABOLIZMA  
UGLJIKOHIDRATA, AMINOKISELINA I  
MASNIH KISELINA**

Završni rad

Split, 2021.

Ovaj rad, izrađen u Splitu, pod vodstvom prof.dr.sc. Jasne Puizine, predan je na ocjenjivanje Odjelu za biologiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnice nutricionizma (univ. bacc. nutr.).

## **IZJAVA**

kojom izjavljujem s punom materijalnom i moralnom odgovornošću da sam završni rad s naslovom „Urođene bolesti metabolizma ugljikohidrata, aminokiselina i masnih kiselina“ izradila samostalno pod voditeljstvom prof.dr.sc. Jasne Puizine. U radu sam primijenila metodologiju znanstveno istraživačkog rada i koristila literaturu koja je navedena na kraju završnog rada. Tuđe spoznaje, stavove, zaključke, teorije i zakonitosti koje sam izravno ili parafrazirajući navela u završnom radu na uobičajen, standardan način citirala sam i povezala s korištenim bibliografskim jedinicama. Rad je pisan u duhu hrvatskog jezika.

## **Temeljna dokumentacijska kartica**

Sveučilište u Splitu

Završni rad

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za biologiju

Ruđera Boškovića 33, 21 000 Split, Hrvatska

### **UROĐENE BOLESTI METABOLIZMA UGLJIKOHIDRATA, AMINOKISELINA I MASNIH KISELINA**

Monika Horvat

Urođene metaboličke bolesti velika su skupina genetičkih i biokemijskih poremećaja metabolizma koje se najčešće nasljeđuju prema Mendelovim zakonima nasljeđivanja, a uzrokovane su mutacijama gena koji kodiraju određene enzime ili transportere, što je izraženo u bolestima u metabolizmu ugljikohidrata, aminokiselina i masnih kiselina. Prva i najstarija opisana bolest pripada skupini poremećaja metabolizma aminokiselina, a to je alkaptonurija. S obzirom na patofiziologiju postoje tri skupine poremećaja, a to su poremećaji koji uzrokuju intoksikacije, poput galaktozemije, tirozinemije, homocistinurije i urina s mirisom javorovog sirupa. Zatim poremećaji koji uključuju metabolizam energije, kao što su poremećaji oksidacije masnih kiselina (nedostatak izrazito dugolančane i srednjolančane acil-CoA dehidrogenaze), transporta karnitina, von Gierkeova bolest (metabolizam glikogena) i nedostatak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (put pentozna fosfata). Treća skupina su poremećaji složenih molekula u koje spadaju poremećaji staničnih organela. Navedene bolesti unutar prve i druge skupine nasljeđuju se autosomalno recesivno, osim nedostatka glukoza-6-fosfat dehidrogenaze koji se nasljeđuje X-vezano recesivno. Za dijagnosticiranje urođenih bolesti metabolizma, kao što je to kod poremećaja u metabolizmu makronutrijenata, koriste se različiti biomarkeri, a to su najčešće metaboliti koji se nakupljaju zbog blokade određenog metaboličkog puta uslijed nedostatka enzima ili transportera. Ovisno o dijagnozi, kliničkim znakovima i obliku bolesti osigurava se adekvatna nutritivna potpora.

**Ključne riječi:** urođene metaboličke bolesti, Mendelovi zakoni nasljeđivanja, autosomalno recesivno nasljeđivanje, X-vezano recesivno nasljeđivanje, poremećaji koji uzrokuju intoksikaciju, poremećaji metabolizma energije, biomarkeri, nutritivna potpora.

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu.

**Rad sadrži:** 43 stranice, 7 grafičkih prikaza, 4 tablice i 65 literaturnih navoda.

Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** dr. sc. Jasna Puizina, redoviti profesor u trajnom zvanju na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, Sveučilišta u Splitu

**Ocjenjivači:**

dr. sc. Jasna Puizina, redoviti profesor u trajnom zvanju na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu, Sveučilišta u Splitu

dr. sc. Ivana Bočina, redoviti profesor Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

dr. sc. Željana Fredotović, docent Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

Rad prihvaćen: 15. srpnja 2021.

## **Basic documentation card**

University of Split

B. Sc. Thesis

Faculty of Science

Department of Biology

Ruđera Boškovića 33, 21 000 Split, Croatia

### **INBORN ERRORS IN METABOLISM OF CARBOHYDRATES, AMINO ACIDS AND FATTY ACIDS**

Monika Horvat

Inborn errors of metabolism are a large group of genetic and biochemical metabolic disorders that are frequently inherited according to Mendel's laws of inheritance, and are caused by mutations in genes encoding certain enzymes or transporters, what is expressed in diseases in the metabolism of carbohydrates, amino acids and fatty acids. The first and the oldest described disease belongs to the group of disorders of amino acid metabolism, and that is alcaptonuria. Considering pathophysiology, there are three groups of disorders, and these are disorders that cause intoxications, such as galactosemia, tyrosinemia, homocystinuria and maple syrup urine disease. Then there are disorders that include energy metabolism, such as disorders of fatty acid oxidation (very-long-chain and medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency), carnitine transport, von Gierke disease (glycogen metabolism) and glucose-6-phosphate deficiency (pentose phosphate pathway). The third group are disorders of complex molecules, which include disorders of cellular organelles. Diseases mentioned within the first and the second group are autosomal recessive according to inheritance, except the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency which is X-linked recessive. To diagnose inborn errors of metabolism, such as disorders in macronutrient metabolism, various biomarkers are used, and these are most commonly metabolites that accumulate due to blockade of a particular metabolic pathway because of deficiency of enzymes or transporters. Depending on the diagnosis, clinical signs and form of the disease, adequate nutritional support is provided.

**Keywords:** inborn errors of metabolism, Mendel's laws of inheritance, autosomal recessive inheritance, X-linked recessive inheritance, intoxication-causing disorders, energy metabolism disorders, biomarkers, nutritional support.

Thesis deposited in the library of Faculty of Science, University of Split.

**Thesis consists of:** 43 pages, 7 figures, 4 tables and 65 references.

**Original language:** Croatian

**Mentor:** Jasna Puizina, Ph.D. Full Professor of Faculty of Science, University of Split

**Reviewers:**

Jasna Puizina, Ph.D. Full Professor of Faculty of Science, University of Split

Ivana Bočina, Ph.D. Full Professor of Faculty of Science, University of Split

Željana Fredotović, Ph.D. Assistant Professor of Faculty of Science, University of Split

Thesis accepted: July 15<sup>th</sup> 2021.



## SADRŽAJ

1. UVOD .....	10
2. RAZRADA TEME.....	4
2.1. POREMEĆAJI METABOLIZMA UGLJIKOHIDRATA .....	4
2.1.1. Galaktozemija .....	4
2.1.1.1. Klinički značaj.....	6
2.1.1.2. Dijagnostički biomarkeri.....	7
2.1.1.3. Nutritivni pristup .....	8
2.1.2. Nedostatak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD) .....	10
2.1.2.1. Klinički značaj.....	11
2.1.2.2. Dijagnostički biomarkeri.....	12
2.1.2.3. Nutritivni pristup .....	12
2.1.3. Bolesti skladištenja glikogena (glikogenoze) – von Gierkeova bolest (tip I).....	13
2.1.3.1. Klinički značaj.....	15
2.1.3.2. Dijagnostički biomarkeri.....	16
2.1.3.3. Nutritivni pristup .....	16
2.2. POREMEĆAJI METABOLIZMA AMINOKISELINA .....	19
2.2.1. Tirozinemija.....	19
2.2.1.1. Klinički značaj.....	21
2.2.1.2. Dijagnostički biomarkeri.....	22
2.2.1.3. Nutritivni pristup .....	22
2.2.2. Homocistinurija.....	23
2.2.2.1. Klinički značaj.....	24
2.2.2.2. Dijagnostički biomarkeri.....	25
2.2.2.3. Nutritivni pristup .....	25
2.2.3. Bolest s mirisom urina na javorov sirup .....	26
2.2.3.1. Klinički značaj.....	28
2.2.3.2. Dijagnostički biomarkeri.....	28
2.2.3.3. Nutritivni pristup .....	29
2.3. POREMEĆAJI MITOHONDRIJSKE BETA OKSIDACIJE MASNIH KISELINA ...	31
2.3.1. Poremećaji transporta karnitina .....	31
2.3.1.1. Klinički značaj.....	33

2.3.1.2. Dijagnostički biomarkeri.....	33
2.3.1.3. Nutritivni pristup.....	34
2.3.2. Poremećaji oksidacije masnih kiselina .....	34
2.3.2.1. Nedostatak izrazito dugolančane i srednjolančane acil-CoA dehidrogenaze...	35
2.3.2.2. Klinički značaj.....	35
2.3.2.3. Dijagnostički biomarkeri.....	36
2.3.2.4. Nutritivni pristup.....	36
3. ZAKLJUČAK .....	37
4. LITERATURA.....	38

## 1. UVOD

Urođene metaboličke bolesti su genetički i biokemijski poremećaji metabolizma koji se očituju u nedostatku pojedinih enzima, transportera kroz staničnu membranu ili nedostatkom drugih funkcionalnih proteina uslijed pogreške ili oštećenja jednog gena koji kodira za određeni enzim, transporter ili drugi protein. Ukoliko nedostaje pojedini enzim, ne mogu se u potpunosti odvijati metaboličke reakcije pretvorbe pojedinih supstrata u produkte, stoga može doći do nakupljanja supstrata i metabolita koji mogu imati štetno djelovanje na organizam ili pak do nedostatka određenih esencijalnih produkata (koji su neophodni za normalno funkcioniranje organizma) [1]. Tako primjerice, kod dviju već dobro opisanih i poznatih urođenih metaboličkih bolesti, alkaptonurije, prvog, ujedno i najstarijeg genetskog poremećaja u metabolizmu aminokiseline tirozina, te fenilketonurije, poremećaja u metabolizmu aminokiseline fenilalanina, zbog nedostatka pojedinih enzima dolazi do nakupljanja metabolita, čije pretjerano nakupljanje može biti štetno [2] [6]. Urođene bolesti metabolizma mogu biti određene genima u mitohondrijskoj DNA ili jezgri DNA. Geni iz mitohondrijske DNA nasljeđuju se od majke, dok se geni iz jezgri DNA nasljeđuju od oba roditelja, oca i majke i mogu se nasljeđivati prema Mendelovim zakonima ili drugim modelima nasljeđivanja. Mendelovi zakoni nasljeđivanja odnose se na monogenska svojstva, što bi značilo da je za nastanak određene bolesti odgovoran isključivo jedan gen. Takve bolesti mogu se nasljeđivati autosomalno recesivno, autosomalno dominantno ili X-vezano recesivno [3-8].

Patofiziološki gledano, urođene metaboličke bolesti mogu se podijeliti u tri dijagnostičke skupine poremećaja, a to su poremećaji koji dovode do akutne ili progresivne intoksikacije zbog nakupljanja malih molekula u blizini metaboličkog bloka. U ovu skupinu ubrajaju se poremećaji razgradnje aminokiselina (fenilketonurija, urin s mirisom javorovog sirupa, homocistinurija, tirozinemija, itd.), većina poremećaja organskih acidurija (metilmalonska, propionska, izovalerična, itd.), urođeni poremećaji ciklusa ureje, intolerancije šećera (galaktozemija, nasljedna netolerancija fruktoze), intoksikacije metalima (Wilsonova bolest, Menkesova, hemokromatoza) i porfirije (poremećaji u sintezi hema). Druga skupina obuhvaća poremećaje koji uključuju metabolizam energije, a zahvaćaju mitohondrije i citoplazmu u kojima dolazi do poremećaja u stvaranju energije. U mitohondrijske poremećaje spadaju urođene laktičke acidemije (nedostatak transportera piruvata, piruvat karboksilaze, piruvat

dehidrogenaze i poremećaji ciklusa limunske kiseline), poremećaji dišnog lanca u mitohondrijima (ometanje samog respiracijskog lanca, mitohondrijskih transportera ili ometanje sinteze koenzima Q10), poremećaji oksidacije masnih kiselina i ketonskih tijela. U citoplazmatske poremećaje svrstavaju se poremećaji glikolize, glukoneogeneze, metabolizma glikogena, hiperinzulinizam koji su izlječivi; poremećaji metabolizma karnitina (djelomično izlječivi) i puta pentoza fosfata (neizlječivi). Mitohondrijski poremećaji su najozbiljniji i generalno neizlječivi, osim poremećaja koenzima Q, oksidacije masnih kiselina i ketonskih tijela koji su djelomično izlječivi. Treća skupina poremećaja obuhvaća poremećaje koji uključuju složene molekule i u njih se ubrajaju poremećaji staničnih organela (lizosoma, peroksisoma, endoplazmatskog retikuluma, Golgijevog aparata i mitohondrija) te podrazumijevaju bolesti koje ometaju sintezu, remodeliranje, recikliranje, katabolizam i promet složenih molekula. Poremećaji u toj skupini usmjereni su na poremećaje spremišta lizosoma, poremećaje peroksisoma, poremećaje unutarstaničnog prometa i prerade molekula, urođene poremećaje glikozilacije te noviju skupinu urođenih metaboličkih poremećaja koji uključuju preoblikovanje sinteze i recikliranje složenih lipida i masnih kiselina [9].

Klinički znakovi urođenih metaboličkih bolesti mogu biti promijenjivi. Znakovi kod kojih primjenom uobičajenih metoda liječenja ne dolazi do poboljšanja, poput akutne bolesti slične sepsi, lošeg hranjenja, letargije (umora), oslabljenog rasta, mogli bi upućivati na urođene metaboličke bolesti u novorođenčadi. Dok u starije djece simptomi mogu biti drugačiji, poput povraćanja, metaboličke acidoze, ataksije ili kome [1]. Kako bi se potvrdilo o kojoj je urođenoj metaboličkoj bolesti riječ, potrebno je provesti određene dijagnostičke testove i primijeniti određene biomarkere pojedine bolesti. Također značajan broj bolesti moguće je dijagnosticirati već u novorođenačkoj dobi, tzv. novorođenačkim probirom [1]. Primjerice jedan od prvih i poznatijih testova razvio je Robert Guthrie zajedno s Adom Susi, koji se naziva Guthrie test, a koristi se za dijagnosticiranje fenilketonurije u novorođenčadi. Visoka razina fenilalanina u krvi ili urinu potiče rast bakterije *Bacillus subtilis* kada se kapljica krvi ili urina nanese na hranjivu površinu agara, na kojem je prethodno rast te bakterije bio inhibiran dodatkom specifičnog inhibitora, 2-tienilalanina. Guthrieova metoda danas je uglavnom napuštena i koristi se suvremena metoda, tandemska masena spektrometrija (MS/MS) koja služi za određivanje mnogih analita koji su važni biomarkeri za otkrivanje poremećaja metabolizma aminokiselina, organskih kiselina, oksidacije masnih kiselina. Ta metoda omogućuje dijagnosticiranje višestrukih poremećaja pomoću samo jednog testa koji može ispitivati više analita odjednom [10] [11]. Rana dijagnoza poremećaja izrazito je

značajna jer može pomoći u bržem pristupu i provođenju terapije, gdje važnu ulogu, bez obzira na bolest, ima prehrana [12]. Stoga je cilj ovog rada proučiti uzroke, kliničke znakove, dijagnostičke biomarkere i nutritivnu terapiju u oboljelih.

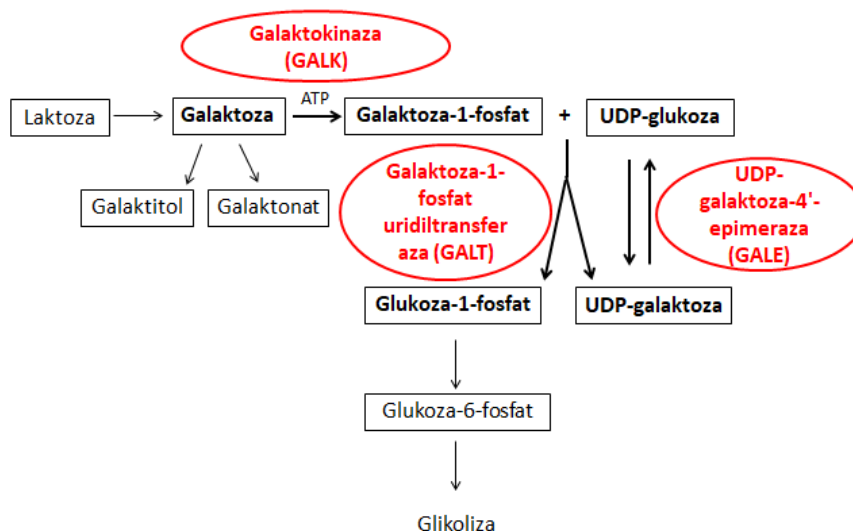
## 2. RAZRADA TEME

### 2.1. POREMEĆAJI METABOLIZMA UGLJIKOHIDRATA

Ugljikohidrati predstavljaju glavni izvor energije. Osiguravanje energije jedna je od njihovih važnih uloga. Također imaju i strukturnu ulogu u stanicama jer se nalaze u sastavu glikoproteina i nukleinskih kiselina. Naime, glukoza predstavlja glavni ugljikohidratni izvor energije u stanicama te jedini izvor energije za mozak kada nema stanja gladovanja i za eritrocite. U slučajevima kada se glukoza ne koristi za dobivanje energije ona se pohranjuje u obliku glikogena u jetri i mišićima. Kada su ispražnjene zalihe glukoze iz glikogena, glukoza se može dobivati iz neugljikohidratnih preteča (laktat, glicerol, aminokiseline) procesom glukoneogeneze. Metabolički procesi kojima se glukoza pretvara u energiju obuhvaćaju glikolizu, ciklus limunske kiseline i oksidacijsku fosforilaciju. Glikoliza se odvija bez prisutnosti kisika (anaerobno) u tri faze te podrazumijeva razgradnju jedne molekule glukoze u dvije molekule piruvata uz proizvodnju dvije molekule ATP-a (adenozin-trifosfat). Ciklus limunske kiseline (Krebsov ciklus) i oksidacijska fosforilacija odvijaju se u prisutnosti kisika (aerobno). Daljnje metaboliziranje piruvata ovisi o prisutnosti kisika, što znači da se u anaerobnim uvjetima fermentira u etanol ili laktat, a u aerobnim se pretvara u acetil-CoA, koji se u ciklusu limunske kiseline oksidira do ugljičnog dioksida uz nastanak NADH i FADH<sub>2</sub> koji u oksidativnoj fosforilaciji doprinose stvaranju ATP-a prijenosom elektrona na kisik u respiracijskom lancu. Postoje još neki ugljikohidrati koji su isto važni za dobivanje energije, a to su galaktoza i fruktoza koji, da bi se mogli koristiti kao izvori energije, trebaju najprije biti prevedeni u međuprodukte glikolize, galaktoza u glukoza-6-fosfat, a fruktoza u gliceraldehid-3-fosfat (jetra) ili fruktoza-6-fosfat (u drugim tkivima, pr. masno tkivo) [13] [14] [15].

#### 2.1.1. Galaktozemija

Galaktozemija je autosomalno recesivni poremećaj koji se očituje pogreškama u metabolizmu šećera galaktoze. Galaktoza pripada skupini monosaharida i nalazi se u sastavu laktoze te ona također kao i ostali šećeri poput fruktoze ima svoj metabolički put koji se naziva Leloir metabolički put, točnije galaktoza mora proći pretvorbene reakcije kako bi se mogla pretvoriti u međuprodukte glikolize za nastavak metaboličkog puta dobivanja energije metabolizmom ugljikohidrata (slika 1) [13] [15].



**Slika 1.** Prikaz metabolizma galaktoze (Leloir metabolički put) [13] [15] [16].

Postoje tri oblika galaktozemije, a to su klasična galaktozemija, galaktozemija s nedostatkom galaktokinaze te galaktozemija s nedostatkom epimeraze, ovisno o tome koji je od navedenih enzima u Leloir metaboličkom putu nefunkcionalan zbog mutacije gena koji kodira ključni enzim.

- 1) Klasična galaktozemija je najčešći oblik poremećaja u metabolizmu galaktoze, koja je uzrokovana mutacijama ili polimorfizmima u genu *GALT* na 9. kromosomu koji kodira istoimeni enzim galaktoza-1-fosfat uridiltransferazu koji pretvara galaktoza-1-fosfat i UDP-glukoza u glukoza-1-fosfat i UDP-galaktozu. Nedostatkom ili nefunkcionalnošću tog enzima može doći do nakupljanja metabolita galaktoze, galaktoza-1-fosfata, galaktitola i galaktonata u organizmu (krv, tkiva). Prevalencija galaktozemije u svijetu je 1:16.000-60.000 [17]. Međutim u tom obliku poremećaja ne mora nužno izostati enzimsko aktivnost galaktoza-1-fosfat uridiltransferaze jer postoje mnogi aleli gena *GALT* koji su povezani sa značajnim ostacima aktivnosti enzima, poput alela Duarte – D2 (N314D). Pojedinci koji naslijede alel Duarte u trans obliku zajedno s klasičnom mutacijom enzima *GALT* (mutacija Q188R) razviju tzv. Duarte varijantu galaktozemije koja se smatra benignim stanjem s približno 25 %-tnom aktivnošću enzima *GALT*. Prevalencija varijante galaktozemije Duarte prilikom novorođenačke dijagnoze je deset puta veća od prevalencije klasične galaktozemije. Naime, alel Duarte i alel za klasičnu galaktozemiju dva su najčešća

alela za galaktozemiju uočena među zdravom populacijom u Republici Hrvatskoj [18].

- 2) Nedostatak galaktokinaze (GALK) je mnogo rjeđi oblik galaktozemije, a taj enzim odgovoran je za fosforilaciju galaktoze u galaktoza-1-fosfat. Uslijed nefunkcionalnosti enzima zbog mutacije u genu *GALK1* [19] na 17. kromosomu dolazi do nakupljanja galaktoze i galaktitola u krvi i tkivima.
- 3) Enzim epimeraza, točnije UDP-galaktoza-4'-epimeraza (GALE) potreban je za regeneraciju UDP-glukoze iz UDP-galaktoze (reverzibilna reakcija). Nedostatak enzima nastaje zbog mutacije u genu *GALE* na 1. kromosomu zbog čega može doći do povećanja razine UDP-galaktoze te nakupljanja galaktoze, galaktitola i galaktoza-1-fosfata u eritrocitima i leukocitima jer je za te krvne stanice specifičan nedostatak tog enzima [15] [16] [20].

### 2.1.1.1. Klinički značaj

Ovisno o obliku galaktozemije, odnosno nedostatku ključnog enzima u određenom metaboličkom koraku mogu se uočiti sličnosti, ali i razlike u nastalim simptomima. Važno je naglasiti da simptomi kod sva tri oblika galaktozemije nastaju nakon konzumacije mlijeka uslijed nemogućnosti pravilnog metaboliziranja laktoze, odnosno galaktoze. Tako je kod oboljelih od klasične galaktozemije novorođenčad u početku bez simptoma sve dok ne počne konzumirati mlijeko, nakon čega unutar nekoliko dana dolazi do pojave komplikacija opasnih po život. Početni znakovi bolesti mogu uključivati poteškoće prilikom hranjenja, povraćanje, dijareju, pretjeran gubitak tjelesne mase, letargiju, žuticu. Također može doći do pojave modrica ili krvarenja, hipotonije, nuklearne katarakte (siva mrena oka), povećanja jetre (hepatomegalije) i slezene (splenomegalija), poremećaja bubrežne tubularne funkcije, sepse izazvane *Escherichia coli* koja može završiti smrtnim ishodom. Rjeđe dolazi do pojave hipoglikemije i krvarenja u staklasto tijelo oka. Dugoročne komplikacije bolesti mogu se odraziti na smanjenje koštane mase, oslabiti kognitivne i govorne sposobnosti te dovesti do hipergonadotropnog hipogonadizma u većine žena. Povremeno se kod djece može javiti kronična bolest s nemogućnosti napredovanja i odgođenim razvojem. Naime, pojedinci s 25 %-tnom ili većom aktivnošću enzima GALT su općenito asimptomatski ili imaju blaže simptome, međutim to nije uvijek slučaj. Pri nedostatku enzima galaktokinaze (GALK) u oboljelih može se pojaviti također katarakta uslijed nakupljanja visokih koncentracija



galaktoze i galaktitola u leći oka, a rjeđa su oboljenja središnjeg živčanog sustava, poput pseudotumora mozga i mentalne retardacije, koja se ne susreću kod klasične galaktozemije. Kod nedostatka enzima GALE pojavljuju se slični simptomi kao i kod klasične galaktozemije poput povraćanja, hipoglikemije, juvenilne katarakte, oslabljenog razvoja [15] [16] [20].

### 2.1.1.2. Dijagnostički biomarkeri

S obzirom na to o kojem se nefunkcionalnom enzimu radi i do nakupljanja kojih metabolita dovodi njegova smanjena aktivnost, razlikuju se i načini dijagnosticiranja, odnosno biomarkeri određivanja poremećaja. Primarni način dijagnosticiranja klasične galaktozemije je određivanje aktivnosti enzima GALT unutar 48 sati od rođenja djeteta, pomoću osušene mrlje krvi, tzv. Beutlerovim semikvantitativnim fluorescentnim testom. Test se temelji na mjerenju fluorescencije NADPH kao konačnog produkta koji nastaje prilikom redukcije NADP<sup>+</sup> djelovanjem nekoliko enzima (fosfoglukomutaza-1 – PGM1, glukoza-6-fosfat dehidrogenaza – G6PD, 6-fosfoglukonat dehidrogenaza – 6PGD) među kojima je i GALT, korištenjem supstrata galaktoza-1-fosfata i uridin-difosfat glukoze koje enzim GALT pretvara u glukoza-1-fosfat koji se dalje djelovanjem ostala tri enzima metabolizira u ribulozu-5-fosfat uz redukciju NADP<sup>+</sup>. Sekundarni analit, odnosno biomarker za dijagnosticiranje klasične galaktozemije je koncentracija galaktoze u uzorku krvi te također mogu biti i galaktoza-1-fosfat ili galaktitol u urinu. Dijagnosticiranje Duarte galaktozemije ili drugih tipova djelomičnog nedostatka enzima GALT uključuje kvantifikaciju galaktitola u urinu i/ili galaktoza-1-fosfata u eritrocitima. Nedostatak enzima GALK i GALE može se primarno uočiti određivanjem ukupne koncentracije galaktoze u krvi, zatim galaktoza-1-fosfata (samo kod nedostatka GALE povišena koncentracija galaktoza-1-fosfata dok su niske koncentracije kod nedostatka GALK), a u dijagnosticiranju može poslužiti i analiza galaktitola u urinu (povećane koncentracije) [11] [15] [16] [20].

### 2.1.1.3. Nutritivni pristup

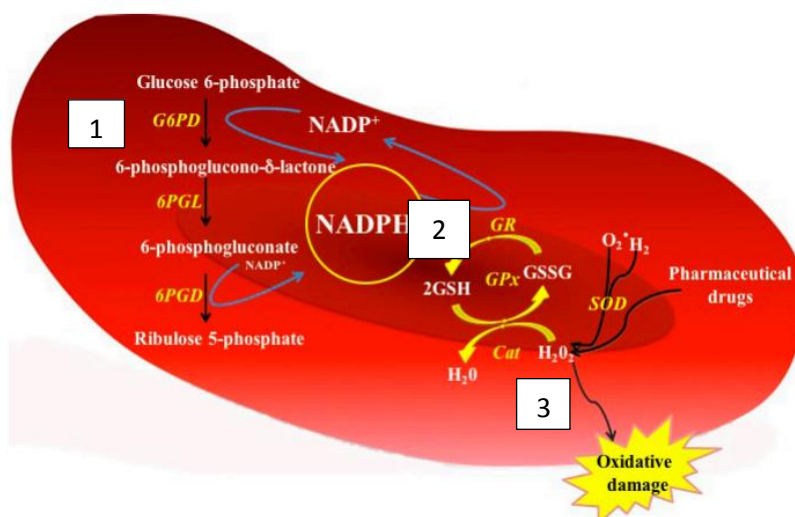
Budući da konzumacijom laktoze, odnosno galaktoze novorođenčad unutar nekoliko dana može razviti komplikacije opasne po život uslijed nakupljanja toksičnih metabolita (galaktoze, galaktoza-1-fosfata i galaktitola) poput nemogućnosti napredovanja, oštećenja jetre, sepse uzrokovane *E. coli*, izrazito je važno nakon utvrđene dijagnoze pristupiti liječenju koje može smanjiti smrtni ishod u novorođenčadi, a ono se u sva tri oblika galaktozemije provodi uklanjanjem laktoze i galaktoze iz prehrane. Unatoč smanjenju galaktoze i njezinih metabolita restrikcijom galaktoze iz prehrane, oni i dalje ostaju povišeni jer postoji i endogena sinteza galaktoze (sinteza u organizmu) koja je veća u djece (41 mg/kg tjelesne mase (TM)) nego u odraslih (13 mg/kg TM) te prehrambeni izvori koji sadrže manje količine prisutne galaktoze (voće, povrće). Ukupna količina nastale endogene galaktoze u odraslih koji boluju od galaktozemije je oko deset puta veća od količine unesene hranom. Međutim, iako prehrambeno liječenje ne može u potpunosti ukloniti dugoročne komplikacije galaktozemije koje su posljedica endogene sinteze galaktoze (oslabljen rast, problemi s učenjem, govorom), ono ih ipak može ublažiti. Poznato je da su glavni izvor galaktoze mlijeko i mliječni proizvodi koji sadrže galaktozu u obliku disaharida laktoze koja se u tankom crijevu hidrolizira na galaktozu i glukozu djelovanjem laktaze. Primjerice udio galaktoze u kravljem mlijeku iznosi 2.4 mg/100 mL. Novorođenčad s klasičnom galaktozemijom ima jednake nutritivne potrebe za rast i razvoj kao i zdrava novorođenčad, ali zbog visokog sadržaja laktoze u majčinom mlijeku ili dojenačkim formulama na bazi mlijeka, moraju ih zamijeniti formulama koje sadrže manje galaktoze, poput formula na bazi soje (u prahu i tekuće) ili elementarnih formula bez galaktoze. Galaktoza se u namirnicama nalazi u vezanom i slobodnom obliku, pri čemu se vezana galaktoza ne može probaviti u ljudskom organizmu zbog nedostatka enzima  $\alpha$ -galaktozidaze, stoga ne doprinosi ukupnoj količini slobodne galaktoze u organizmu. Prilikom provođenja restriktivne prehrane s obzirom na sadržaj galaktoze, potrebno je pratiti razinu galaktoza-1-fosfata u krvi i galaktitola u urinu te mineralnu gustoću kostiju pomoću dvoenergetske apsorpciometrije X zrakama (DXA) kako bi se utvrdio rizik od osteoporoze zbog smanjenog unosa kalcija i vitamina D, stoga je ove mikronutrijente potrebno unositi u obliku dodataka prehrani jer je ograničen unos mliječnih proizvoda, također korisno bi bilo unositi i vitamin K1 koji je isto važan za očuvanje kostiju. Hrana koja je poželjna za konzumaciju i ona koju bi trebalo izbjegavati navedena je uz objašnjenja (tablica 1) [16] [21].

Tablica 1. Popis dopuštenih namirnica i onih koje je potrebno izbjegavati ukoliko osoba boluje od klasične galaktozemije [16] [21].

DOPUŠTENA HRANA	HRANA KOJU JE POTREBNO IZBJEGAVATI	OBJAŠNENJE
Dojenačke <b>formule na bazi soje</b> (sadrže sojine proteinske izolate) ili dojenačke <b>elementarne formule na bazi L-aminokiselina</b> .	Majčino mlijeko ili dojenačke formule na bazi mlijeka (laktoza).	Formule na bazi soje sadrže male količine galaktoze (količina slobodne galaktoze ekvivalentna je u praškastim i tekućim soja formulama), a elementarne uopće ne sadrže galaktozu te pomažu u smanjivanju ukupne koncentracije galaktoza-1-fosfata u krvi. Mlijeko i mliječni proizvodi obiluju slobodnom galaktozom koja je dobivena iz laktoze.
Sve <b>voće, povrće</b> (čak i ukiseljeno) te voćni i povrtni sokovi.	Sva hrana i pića na bazi mlijeka, osim kazeinata i tvrdih dozrelih sireva.	Vezana galaktoza se nalazi u staničnim stijenkama mnogih biljaka (voća, povrća, mahunarki, sjemenki i orašastih plodova) i nije probavljiva u ljudskom organizmu zbog odsutnosti $\alpha$ -galaktozidaze. Kazeinat se koristi za dobivanje sira te sadrži manje laktoze (veći udio laktoze prisutan je u frakciji proteina sirutke zbog topljivosti u vodi).
Sve <b>mahunarke</b> (grah, grašak, leća, soja).	Sastojci mlijeka - hidrolizirani proteini sirutke, hidrolizirani kazein, laktoza, mlačenica, laktalbumin, sirutka, suhi proteini mlijeka.	Manji sadržaj slobodne galaktoze. Izbjegavanje malih količina galaktoze iz biljnih izvora nije preporučljivo dulje vrijeme.
<b>Nefermentirani proizvodi od soje</b> (sojino mlijeko, tofu, koncentrat sojinih proteina, hidrolizirani proteini povrća, analozi mesa, nefermentirani sojin umak – načinjen iz hidrolizata sojinih proteina).	Fermentirani proizvodi od soje (soja umak, miso, tempeh, natto, sufu – fermentirani sir od soje).	Fermentirani proizvodi od soje sadrže više slobodne galaktoze koja je oslobođena iz prethodno vezane galaktoze. Iako se koriste u malim količinama treba biti na oprezu. Također zbog enzima $\alpha$ -galaktozidaze (iz dodataka prehrani) može doći do oslobađanja i povećavanja količine slobodne galaktoze.
Zreli sirevi: Jarlsberg, Emmentaler, Švicarac, Tilsiter, Gruyere, parmezan star > 10 mjeseci, ribani 100% Parmezan, oštar sir Cheddar ; kalcijev i natrijev kazeinat.	Meso i mesni proizvodi, ostali sirevi i njihovi proizvodi.	Zrenje sira može smanjiti sadržaj laktoze pa tako i galaktoze u konačnom produktu zbog djelovanja fermentirajućih bakterija. Kalcijev i natrijev kazeinat sadrže neznatne količine galaktoze. Meso i mesni proizvodi sadrže slobodnu galaktozu.
Svi proizvodi od kaka; dodatni sastojci: prirodne i umjetne arome, sve gume (zgušnjivači, stabilizatori), uključujući karagenan.	Ne mliječna čokolada.	Galaktoza iz karagenana nije probavljiva u ljudskom organizmu.

### 2.1.2. Nedostatak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze (G6PD)

Glukoza-6-fosfat dehidrogenaza ključni je enzim u putu pentoza fosfata (PPP) koji katalizira prvu reakciju oksidacijske faze koja započinje pretvorbom intermedijera glikolize, glukoza-6-fosfata u 6-fosfoglukono- $\delta$ -lakton pri čemu nastaje jedna molekula NADPH (nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat-vodik), reduktivna supstanca koja je potrebna u mnogim biosintetskim reakcijama te za uklanjanje reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) (slika 2) [22] [23]. Taj enzim prisutan je u svim stanicama organizma (mozgu, jetri, gušterači, miokardu, plućima, bubrezima, suprarenalnoj žlijezdi, krvnim stanicama, mišićima, masnom tkivu, dojka u vrijeme laktacije pa čak i malignom tkivu), međutim u različitim tkivima količina i aktivnost G6PD je različita. Izrazita aktivnost uočena je u biosintetski aktivnim tkivima u kojima se odvija PPP (jetra, testisi, jajnici) i lipogeneza (mliječna žlijezda u vrijeme laktacije, kora nadbubrežne žlijezde, masno tkivo), a posebno je značajna za eritrocite kojima je PPP jedini izvor NADPH s obzirom da ne sadrže mitohondrije pomoću kojih bi se glukoza mogla metabolizirati aerobno [22] [24]. Glukoza-6-fosfat dehidrogenaza zahvaljujući proizvodnji reduktivnog oblika NADPH štiti eritrocite od oksidativnog stresa i oštećenja izazvanih reaktivnim kisikovim vrstama tako što pomoću NADPH obnavlja (reducira) oksidirani oblik glutaciona (GSSG) pri čemu nastaje reducirani oblik glutaciona (GSH) koji zajedno s glutation peroksidazom predstavlja obrambeni antioksidativni sustav od oštećenja peroksidima održavajući normalnu strukturu membrane eritrocita te hemoglobin (Hb) u fero obliku (željezo +2). Stoga uslijed smanjene aktivnosti ili nefunkcionalnosti enzima glukoza-6-fosfat dehidrogenaze dolazi do smanjenja koncentracije NADPH, samim time i koncentracije reduciranog glutaciona (GSH), stvara se sulfhemoglobin zbog nemogućnosti održavanja sulfhidrilnih skupina Hb u reduciranom stanju, molekule Hb se denaturiraju i vežu jedna na drugu tvoreći agregate (nakupine), tzv. Heinzelova tjelešca na staničnoj membrani eritrocita. Ukoliko se takvi eritrociti dodatno oštećuju reaktivnim kisikovim vrstama čija se koncentracija može povećati djelovanjem nekih lijekova, infekcija ili konzumacijom boba, dolazi do razaranja eritrocita (hemolize) [22] [23] [25] [26]. Nastanak glukoza-6-fosfat dehidrogenaze kodira istoimeni gen *G6PD* koji je smješten na X spolnom kromosomu pa se mutacija u genu *G6PD* nasljeđuje X-vezano recesivno, prilikom čega najviše pogađa muškarce jer oni imaju samo jedan X kromosom dok su žene nositelji tog genetskog deficita te rjeđe obolijevaju (90% oboljelih su muškarci). Najčešće pogođene populacije su podrijetlom s Mediterana, Afrike, Azije i Srednjeg istoka, a najzastupljenije varijante nedostatka su Mediteranski tip G6PD i tip G6PD A- [23] [26].



**Slika 2.** Prikaz funkcije i djelovanja enzima G6PD u PPP u crvenim krvnim stanicama. 1) Ključni korak u PPP koji katalizira G6PD u kojem nastaje 1 molekula NADPH. 2) Nastali NADPH sudjeluje u regeneraciji GSSG (oksidiranog glutationa) do GSH doniranjem protona uz djelovanje enzima GR (glutation reduktaze). 3) Regenerirani GSH služi kao supstrat za GPx (glutation peroksidaza) koja uklanja peroksidne radikale u eritrocitima koji su nastali djelovanjem različitih čimbenika (pr. lijekova) kako ne bi došlo do oksidativnog oštećenja membrane eritrocita. Enzim katalaza (Cat) uklanja vodikov peroksid [25].

### 2.1.2.1. Klinički značaj

U većini slučajeva klinički znakovi nedostatka glukoza-6-fosfat dehidrogenaze su asimptomatski, sve dok osobe ne postanu izložene tvarima koje mogu uzrokovati razaranje eritrocita [23]. Najčešći klinički oblik nedostatka G6PD je hemolitička anemija koja može nastupiti ukoliko su eritrociti izloženi oksidativnom stresu koji je uzrokovan specifičnim tvarima iz hrane ili lijekova (pr. antibioticima, lijekovima protiv malarije, analgeticima), bakterijskim ili virusnim infekcijama ili stresom, a znakovi bolesti mogu uključivati pojavu umora, blijede kože, ubrzanog rada srca, povećanja slezene, žuticu, tamnu boju urina i kratkoću daha [23] [27]. Konzumacija boba predstavlja najčešći okidač za hemolizu zbog sastojaka divicina i izouramila (jaki oksidansi) pri čemu nastaje teži oblik nedostatka G6PD, tzv. favizam koji se značajno pojavljuje u mediteranskoj regiji gdje je bob zastupljena namirnica te je izražen varijantom enzima G6PD Mediteran čija je aktivnost manja od 10%. Nakon unosa boba, simptomi se mogu pojaviti unutar 5 do 24 h, a učestalost oboljenja je češća od prve do pete godine, iako se može pojaviti i u odrasloj dobi. Drugi česti oblici nedostatka G6PD su kronična urođena hemolitička anemija (nesferocitna) i novorođenačka hiperbilirubinemija [23] [24]. Istraživanjem provedenim u Dalmaciji jedine uočene kliničke manifestacije nedostatka G6PD su favizam i novorođenačka hiperbilirubinemija [28]. Dijagnosticirani udio nedostatka enzima iznosi 0.44 % (0.75 % muškaraca i 0.14 % žena) [24], te je u Komiži na otoku Visu uočena značajna učestalost nedostatne aktivnosti

G6PD [28]. Na razini populacije procijenjeno je da oko 400 milijuna ljudi ima nedostatak G6PD s oko 140 varijanti mutacija gena za G6PD [24]. Iako nedostatak tog enzima uzrokuje štetne posljedice, on može u nekim slučajevima predstavljati prednost jer štiti od jednog oblika malarije, tzv. *falciparum malarije* zato što uzročnici te bolesti za svoj rast trebaju produkte puta pentoza fosfata i reducirani glutacion (GSH) kojih uslijed neaktivnosti G6PD nema [22].

### 2.1.2.2. Dijagnostički biomarkeri

Slično kao i kod određivanja aktivnosti enzima GALT kod klasične galaktozemije, za dijagnosticiranje aktivnosti, odnosno nedostatka G6PD može se primijeniti također Beutlerov test koji se temelji na fluorescenciji nastalog NADPH, samo su potrebne određene modifikacije. Promjene u izvođenju testa sastoje se u odabiru supstrata, koji je u ovom slučaju glukoza-6-fosfat (inače glavni supstrat za G6PD). Ukoliko je velika aktivnost enzima G6PD, on oksidira glukoza-6-fosfat korištenjem NADP<sup>+</sup> u 6-fosfoglukono- $\delta$ -lakton pri čemu se NADP<sup>+</sup> reducira u NADPH koji fluorescira na određenoj valnoj duljini. Ako je aktivnost enzima mala, slabije je stvaranje NADPH i manja fluorescencija [11] [20].

### 2.1.2.3. Nutritivni pristup

Osnova liječenja nedostatka G6PD je izbjegavanje oksidativnih tvari, a folna kiselina i željezo također mogu biti korisni pri pojavi hemolize [29]. Hrana i derivati hrane koje je potrebno izbjegavati su bob ( *Vicia faba var major* ) i grahorice ( *Vicia sativa* ) zato što sadrže slične količine pirimidinskih glikozida vicina i konvicina čiji aglikonski derivati divicin i izouramil imaju snažno oksidativno djelovanje. Na pojavu hemolize, favizma ne utječe samo količina unesenog boba ili koncentracija pirimidinskih glikozida već i način pripreme mahunarke (sirove, svježe, kuhane, sušene) jer se pokazalo da u sušenom bobu ima 50 % manje pirimidinskih glikozida nego li u svježem, stoga je i manji rizik za pojavu favizma. Također dokazano je da konzumacija mesa s roštilja koje je sadržavalo bojilo Orange RN može potaknuti hemolizu (pojedinci afričkog podrijetla). Hrana i derivati koje oboljeli mogu

sigurno konzumirati u određenim dozama su vitamin C (odrasli <2g/dan; djeca 1-3 godine <400 mg/dan; 4-18 godina 1800 mg/dan) jer dugoročni unosi iznad najveće dnevne dopuštene količine (UL= 2 g/dan) mogu imati štetne posljedice dok unutar te vrijednosti nije uočena pojava hemolize. Zatim azo bojila (poput amarantha i tartrazina) koja se koriste kao aditivi te prehrambeni suplementi koji sadrže biljke *Rhizoma coptidis* ili *Acalypha indica*. Nedovoljno je dokaza još uvijek za pojedinu hranu i derivate poput bundeve, sjemenki piskavice, ekstrakte čajeva, nedozrele breskve, Ginko biloba ekstrakt kao i pića koja sadrže kinin (jedino je u bolesne dojenčadi čije su majke konzumirale takva pića ili su bile liječene kininskim derivatima protiv malarije uočena pojava hemolize). Iako se za neke od spomenutih tvari pokazalo da je došlo do hemolize prilikom konzumacije, često je bilo prisutno više faktora, točnije nekih drugih tvari koje su primarno bile odgovorne za hemolizu, primjerice bundeva je bila kontaminirana bobom što je ustanovljeno analizom DNA boba koja je uočena u bundevi [23].

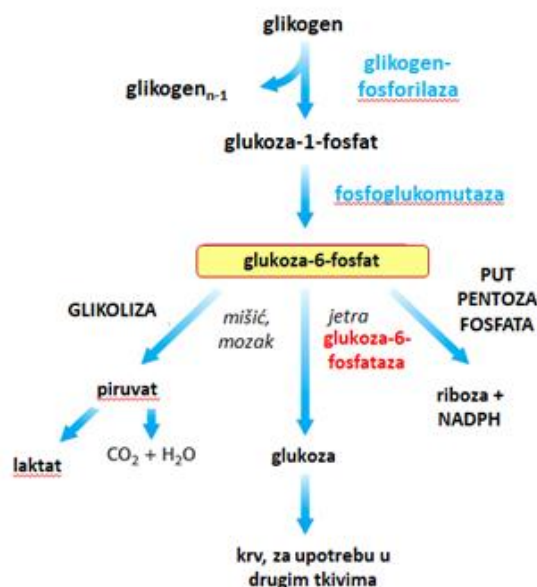
### **2.1.3. Bolesti skladištenja glikogena (glikogenoze) – von Gierkeova bolest (tip I)**

Naziv glikogenoze zajednički je naziv za poremećaje koji pogađaju metabolizam glikogena (sintezu, razgradnju ili glikolizu), a očituju se u nedostatku određenih enzima uslijed mutacija u genima koji kodiraju te enzime [15] [30]. Glikogen je razgranati polimer glukoze u kojem su molekule glukoze povezane  $\alpha$ -1,4-glikozidnim vezama u dugačke lance te  $\alpha$ -1,6-glikozidnim vezama prilikom grananja bočnih ogranaka koji dolaze na svakih 10 glukoznih ostataka. Glikogen služi kao skladišni oblik glukoze koji se pohranjuje najvećim dijelom u jetri (10 %) i mišićima (2%), no ukupno više glikogena nalazi se ipak u mišićima zbog veće mišićne mase u tijelu [31]. Također manje koncentracije prisutne su u bubrezima, glija stanicama i leukocitima [32]. Uloga glikogena pohranjenog u jetri i mišićima se razlikuje, što znači da glikogen iz jetre služi za održavanje normalne razine glukoze u krvi te u uvjetima nedostatka glukoze glikogen pohranjen u jetri postaje lako dostupan oblik glukoze kojeg onda mozak i druga tkiva mogu koristiti kao izvor energije dok u uvjetima obilja glukoze u stanici dolazi do skladištenja glikogena. A glikogen uskladišten u mišićima koristi se isključivo za dobivanje energije uslijed povećanih tjelesnih napora kada je smanjena dostupnost kisika prilikom čega dominantni izvor dobivanja energije (glukoze) iz glikogena postaje anaerobna glikoliza. S obzirom na glavne organe koji služe kao spremišta glikogena i vrstu nefunkcionalnih enzima, postoje i glikogenoze koje zahvaćaju jetru ili mišiće. Glikogenoze

koje su karakteristične za jetru su tip 0, tip 1 (von Gierkeova bolest), tip 3 (Corijeva bolest), tip 4 (Andersenova bolest), tip 6 (Hersova bolest) i tip 9, a za mišiće tip 2 (Pompeova bolest) i tip 5 (McArdleova bolest) [30] [31] [32].

Von Gierkeova bolest (GSD I) nasljeđuje se autosomalno recesivno i prva je opisana glikogenoza (Edgar von Gierke, 1929. g.), a može nastati u dva oblika, GSD Ia oblik očituje se u nedostatnoj aktivnosti enzima glukoza-6-fosfataze uslijed mutacije u genu *G6PC* dok GSD Ib oblik karakterizira mutacija u genu *SLC37A4* koji kodira transporter G6P za prijenos krajnjeg produkta razgradnje glikogena, glukoza-6-fosfata iz citoplazme u endoplazmatski retikulum. Taj transporter važan je jer se glukoza-6-fosfataza nalazi na unutarnjoj strani membrane glatkog endoplazmatskog retikuluma, stoga ako glukoza-6-fosfat ne može proći kroz membranu endoplazmatskog retikuluma, glukoza-6-fosfataza ga ne može prevesti u glukozu, a fosforilirana glukoza ne može napustiti jetru (ne može prijeći plazmatsku membranu) pa jetra ne može otpustiti glukozu u krv za potrebe mozga, mišića i drugih tkiva, primjerice što se odvija između obroka ili tijekom tjelesne aktivnosti kada je razina glukoze u krvi niska, a povećane su metaboličke potrebe. Za razliku od jetre, većina tkiva ne sadrži glukoza-6-fosfatazu pa ne može oslobađati glukozu već ju koristi za dobivanje ATP-a, zato je i jetra glavni regulator ravnoteže glukoze u krvi (iako u manjoj mjeri mogu i bubrezi regulirati homeostazu glukoze u krvi jer posjeduju glukoza-6-fosfatazu [33]). Važno je naglasiti da će se i nedostatak enzima i nedostatak transportera glukoza-6-fosfata odraziti na nedostatnu aktivnost glukoza-6-fosfataze pri čemu će doći do nemogućnosti oslobađanja glukoze razgradnjom glikogena te nemogućnosti dobivanja glukoze glukoneogenezom u kojoj je glukoza-6-fosfat krajnji međuprodukt, a glukoza-6-fosfataza enzim koji katalizira njegovu pretvorbu u glukozu, stoga se u oboljelih povećava oslanjanje na metabolizam masti [15] [30] [31]. Glukoza-6-fosfat dobiven iz glikogena može sudjelovati u različitim metaboličkim putevima (slika 3).





**Slika 3.** Prikaz metaboličkih puteva u kojima sudjeluje glukoza-6-fosfat [31].

### 2.1.3.1. Klinički značaj

Nakon rođenja novorođenčad može izgledati normalno, premda može biti prisutno povećanje jetre i hipoglikemija koja je inače uobičajeni znak bolesti s obzirom da se glukoza iz glikogena ne može iskorištavati, odnosno ne može se postići njezina ravnotežna koncentracija u krvi te dolazi do inhibicije razgradnje glikogena uslijed nedostatne aktivnosti enzima ili nefunkcionalnosti G6P transporterata [32]. U male djece hipoglikemija se pojavljuje unutar 3-4 sata nakon konzumacije hrane jer je glukoza-6-fosfat zarobljen u jetri pa jetra ne može oslobađati glukozu kada uoči da razina glukoze u krvi pada, stoga se glukoza-6-fosfat metabolizira glikolizom pri čemu dolazi do nakupljanja piruvata i laktata, tj. laktičke acidoze te posljedično nastanka acetil-CoA koji služi kao polazni metabolit za sintezu triglicerida i kolesterola zbog čega se javlja hipertrigliceridemija i hiperkolesterolemija. Budući da se ni galaktoza ni fruktoza ne mogu metabolizirati do glukoze, one mogu također dovesti do nakupljanja fosforiliranog oblika glukoze jer se ATP pretvara u ADP i AMP što dovodi do povećanog stvaranja mokraćne kiseline, točnije hiperuricemije. Osim hepatomegalije, povećana količina glikogena može dovesti i do steatoze jetre. Također se povećava veličina bubrega, a veličina slezene ostaje normalna. Ukoliko se bolest ne liječi, djeca mogu razviti

oblik lica poput lutke ili mogu biti niskog rasta. Navedeni znakovi bolesti karakteristični su za oba oblika von Gierkeove bolesti (GSD Ia i GSD Ib), jedino su još kod tipa GSD Ib česte pojave upalnih reakcija koje mogu uzrokovati različite bakterije (primjerice *Staphylococci*) zbog smanjenog broja neutrofila (neutropenija) i njihove funkcionalnosti u borbi protiv bakterija, također slabije je zacjeljivanje rana te su oboljeli skloni pojavi upalnih bolesti crijeva koje dovode do dijareje i malnutricije [15] [30]. Dugotrajne komplikacije mogu uključivati nastanak gastrointestinalnih bolesti, osteoporoze, anemije, tumora jetre i bolesti bubrega [32].

### **2.1.3.2. Dijagnostički biomarkeri**

Prilikom testiranja glikogenoza laboratorijski testovi uključuju testiranje jetrene funkcije, krvne pretrage, odnosno određivanje glukoze, kolesterola, triglicerida, laktata, mokraćne kiseline, elektrolita natašte [15]. Prije se funkcionalnost glukoza-6-fosfataze ili G6P transportera određivala biopsijom jetre, međutim danas se prelazi na manje invazivne dijagnostičke metode, a to su sekvenciranje gena *G6PC* i *SLC37A4* kako bi se utvrdile prisutne mutacije [15] [30].

### **2.1.3.3. Nutritivni pristup**

Osnovni cilj nutritivnog pristupa je održavanje stalne koncentracije glukoze u krvi ( $\geq 70$  mg/dL ili  $>4$  mmol/L), odnosno sprječavanje hipoglikemije u dojenčadi te u razdoblju nakon dojenačke dobi pravilna raspodjela izvora ugljikohidrata tijekom dana radi sprječavanja niskih koncentracija glukoze u krvi. Također cilj je osigurati potrebnu prehranu kako bi se podržao rast i razvoj te spriječilo nakupljanje metabolita poput kolesterola, triglicerida, mliječne i mokraćne kiseline. Temeljna načela prehrane obuhvaćaju izbjegavanje unosa fruktoze i saharoze (fruktoza + glukoza), galaktoze i laktoze, umjereno ograničavanje unosa masti te upotrebu ugljikohidratnih dodataka poput nekuhanog kukuruznog škroba ili alternativnog modificiranog škroba (Glycosade). Ovaj složenougljikohidratni dodatak koristan je jer se kukuruzni škrob sporije probavlja od bilo kojeg drugog izvora hrane, stoga dulje i održava

ravnotežnu koncentraciju glukoze u krvi. Ne preporučuje se uvoditi ga u prehranu dojenčadi prije navršenih 6-9 mjeseci, odnosno povoljno je između 6. i 12. mjeseca života zbog nedovoljne zrelosti funkcije gušterače, samim time i nedovoljne aktivnosti gušteračne amilaze koja ima ulogu u probavi škroba, a također i zbog moguće pojave gastrointestinalnih problema. Preporučene doze kukuruznog škroba ovise o razini glukoze u krvi, tjelesnoj masi i dobi pacijenta, a dopuštenim početnim količinama smatraju se 0.4 g/kg TM u razdoblju svakih 4 sata uz praćenje gastrointestinalnog podnošenja i razine glukoze u krvi. Pretjerane doze mogu dovesti do povećanja tjelesne mase, neosjetljivosti na inzulin, pojačanog skladištenja glikogena i povećanja koncentracije laktata. Kukuruzni škrob mora biti u sirovom obliku i ne smije se miješati s kiselim napitcima jer toplina i kiselina dovode do razgradnje škroba i smanjenja njegovog učinka pa se preporučuje dodavati ga u dojenačke formule ili za potrebe odraslih osoba, miješati s vodom ili drugim prehrambenim napitcima. Važno je da se unosi nakon obroka kako bi se produžio vremenski interval održavanja razine glukoze u krvi iznad 70 mg/dL te smanjio negativan učinak na apetit. Dojenčad bi trebala biti hranjena svaka 2-3 h, djeca svakih 4-6 h, a odrasli svakih 8 h ili ranije radi izbjegavanja niske razine glukoze u krvi, što znači da bi trebalo osigurati i noćno hranjenje (bolusno ili kontinuirano pomoću gastrostome). Dojenačke formule, obrok ili kukuruzni škrob potrebno je dodati 30 minuta prije završetka noćnog hranjenja ili odmah po završetku hranjenja kako bi se spriječila nagla hipoglikemija. Pokazalo se da je konzumacija kukuruznog škroba u isprekidanim razmacima tijekom noći bolja u regulaciji glikemije od kontinuiranog hranjenja glukozom. Naime, neke namirnice iz određenih skupina namirnica poželjno je konzumirati dok je neke manje poželjno te je važno slijediti preporučene energetske udjele makronutrijenata (tablica 2) [34].

Tablica 2. Prikaz dozvoljene hrane i one koju je potrebno izbjegavati kod GSD I te energetske udjeli makronutrijenata [34].

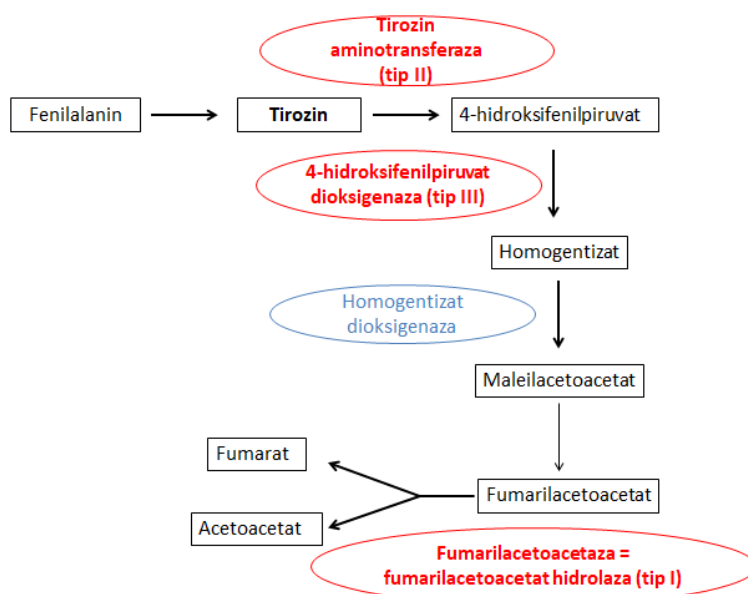
SKUPINA NAMIRNICA	DOZVOLJENA HRANA	HRANA KOJU JE POTREBNO IZBJEGAVATI
Mlijeko i mliječni proizvodi	Ograničiti na jedno serviranje dnevno: 1 šalica niskomasnog mlijeka, 1 šalica niskomasnog mlijeka (bez šećera), 1.5 oz (unca) tvrdog sira	Sladoled Zaslađeni jogurt Zaslađeno mlijeko
Žitarice i proizvodi od žitarica	Suhe i kuhane žitarice bez dodanog šećera	Žitarice s dodatkom voća ili šećera
Kruh	Bijeli kruh od pšenice ili raži Krekeri, lepinja Rolade za večeru, dvopek Kruh pita	Kruh od groždica, mafini, slatke kiflice, pite, kolači, slatki kruh Vafli i palačinke napravljene od šećera
Škrobne namirnice	Smeđa i bijela riža Tjestenina, kokice Tortilje, bijeli krumpir	Škrobovi s dodanim šećerom, mlijekom, sirom, slatki krumpir
Povrće	Sve neškrobno povrće, uključujući šparoge, kupus, špinat, tikvice, luk, zeleni grah, repu, zeleno povrće	Kukuruz, grašak i mrkva (sadrže više šećera nego ostalo povrće); povrće s dodanim mlijekom, šećerom, sirom
Voće	Limuni i limete Avokado	Sve ostalo svježe, konzervirano i suho voće Rajčice
Meso	Nemasna perad, govedina, svinjetina, riba	Meso od organa, masno i prerađeno meso
Mahunarke / orašasti plodovi / Soja	Sve vrste graha i orašasti plodovi Mlijeko na bazi soje i orašasti plodovi bez dodanog šećera Tofu i ostali proizvodi od soje bez dodanog šećera	Grah, orašasti plodovi ili proizvodi od soje s dodanim šećerom
Juhe	Juhe napravljene od dopuštenog mesa, škroba i povrća	Krem juhe
Masti	Kanola i maslinovo ulje Začini od kukuruza, šafrana, repice i soje na bazi ulja Začini sa smanjenom masnoćom	Trans masne kiseline Zasićene masti
Slatkiši	Zamjene za šećer, sukraloza, dekstroza (glukoza) 100%-tni kukuruzni sirup, rižin sirup, žele i puding bez šećera Bomboni napravljeni od glukoze	Svi ostali šećeri, slatkiši, sirupi, visoko-fruktozni kukuruzni sirup, med, melasa, sorbitol i šećerna trska, sok i sirupi
Udjeli makronutrijenata u ukupnom dnevnom energetske unosu	Ugljikohidrati – <b>60-70 %</b> → složeni ugljikohidrati ( <b>škrob</b> ) Proteini – <b>15-20 %</b> → proteini <b>visoke</b> biološke vrijednosti Masti - <b>&lt;30 %</b> → <b>mono- i polinezasićene te esencijalne masne kiseline</b> , ograničiti unos zasićenih masnih kiselina	

## 2.2. POREMEĆAJI METABOLIZMA AMINOKISELINA

Prilikom urođenih pogrešaka u metabolizmu aminokiselina može doći do odstupanja u normalnoj razgradnji aminokiselina, što se odnosi i na apsorpciju u crijevima, sintezu funkcionalnih proteina, izlučivanje i reapsorpciju putem bubrega zbog čega dolazi do nakupljanja aminokiselina i međuprodukata njihove razgradnje u krvi i tkivima koji postaju štetni [35]. Primarna uloga aminokiselina je gradivna jer služe kao osnovne gradivne komponente za biosintezu proteina i peptida te kao izvor dušika u drugim biosintetskim reakcijama kao što su sinteza drugih aminokiselina ili spojeva s dušikom poput nukleotidnih baza. Budući da se višak aminokiselina iznad potreba za sintezu proteina, ne može pohranjivati ni izlučivati, njihova sekundarna uloga je dobivanje energije, točnije služe kao metaboličko gorivo. Kako bi se aminokiseline, bilo dobivene iz proteina iz hrane ili staničnih proteina, mogle koristiti za dobivanje energije treba najprije doći do uklanjanja amino skupine reakcijom transaminacije koja se najvećim dijelom odvija u jetri pri čemu se amino skupina mnogih aminokiselina prenosi na  $\alpha$ -ketoglutarat uz nastanak glutamata koji se oksidacijski deaminira obnavljajući  $\alpha$ -ketoglutarat i dajući amonijeve ione čiji se višak iz organizma uklanja prevođenjem u ureju (ciklus ureje - jetra) ili se koriste za sintezu molekula sastavljenih od dušika. U sljedećem koraku dolazi do razgradnje ugljičnog dijela glukogenih, odnosno ketogenih aminokiselina koji se može razgraditi do međuprodukata koji se mogu prevesti u glukozu (piruvat, oksaloacetat,  $\alpha$ -ketoglutarat, sukcinil-CoA, fumarat), odnosno u masne kiseline ili ketonska tijela (acetil-CoA i acetoacetil-CoA) te koristiti za dobivanje energije ili za stvaranje glukoze, masnih kiselina ili ketonskih tijela [36].

### 2.2.1. Tirozinemija

Tirozin (Tyr) nije esencijalna aminokiselina, međutim postaje esencijalna u stanjima poput fenilketonurije ili ako postoje greške u metabolizmu biopterina prilikom čega je hidroksilacija aromatskog prstena fenilalanina oštećena. Tirozin je glukogena, ketogena, ujedno i anaplerotska aminokiselina što znači da može nadomjestiti metabolite ciklusa limunske kiseline poput oksaloacetata. Preteča je brojnih važnih bioloških molekula poput tiroksina, melanina, adrenalina i dopamina [35] [37].



**Slika 4.** Prikaz razgradnje tirozina (katabolički put) koja se odvija pretežno u citosolu jetre [38].

Postoje tri tipa tirozinemija s obzirom na nedostatak ili oslabljenu funkciju ključnih enzima u pretvorbi tirozina, a nasljeđuju se autosomalno recesivno (slika 4).

- 1) Tip I bolest poznata je i kao jetreno-bubrežna bolest, a očituje se u mutaciji gena *FAH* koji je smješten na 15. kromosomu te kodira nastanak istoimenog enzima fumarilacetoacetat hidrolaze (FAH) koji je uglavnom izražen u jetri i bubrezima. Rijetka je bolest, a procjena pojavnosti je 1: 100 000 ljudi. Uslijed nedostatka enzima koji je potreban za pretvorbu fumarilacetoacetata u fumarat i acetoacetat dolazi do nakupljanja maleilacetoacetata (MAA), fumarilacetoacetata (FAA) i njihovih derivata sukcinilacetoacetata (SAA) i sukcinilacetona (SA) koji mogu doprinijeti napretku bolesti.
- 2) Tip II bolest poznata je još pod nazivom okulokutana tirozinemija ili Richner-Hanhartov sindrom koja nastaje mutacijom gena *TAT* smještenog na 16. kromosomu koji kodira istoimeni enzim tirozin aminotransferazu (TAT). Još je rjeđa bolest od tirozinemije tip I, procijenjena pojavnost je 1:250 000 ljudi. Nedostatkom ili nefunkcionalnošću enzimske aktivnosti tirozin, koji može nastati i razgradnjom fenilalanina, ne može se prevesti do 4-hidroksifenilpiruvata zbog čega se počinje nakupljati tirozin u serumu i cerebrospinalnoj tekućini te dolazi do porasta 4-

hidroksifenil- piruvata, laktata i acetata (kao direktna posljedica deaminacije tirozina u bubrezima ili razgradnje tirozina djelovanjem mitohondrijske aminotransferaze).

- 3) Tip III bolest iznimno je rijetka, zabilježeno je samo 13 pojavljenih slučajeva. Uzrokovana je mutacijama u genu *HPD* koji se nalazi na 12. kromosomu te kodira nastanak enzima 4-hidroksifenilpiruvat dioksigenaze (4-HPPD ili HPD), također se uglavnom nalazi u bubrezima i jetri. Nedostatkom ovog enzima nemoguća je pretvorba 4-hidroksifenilpiruvata u homogentizat, stoga dolazi do nakupljanja tirozina u plazmi i pojačanog izlučivanja 4-hidroksifenil- piruvata, laktata i acetata urinom [35] [38].

### 2.2.1.1. Klinički značaj

Tirozinemija tip I pojavljuje se u dojenačkom razdoblju, nakon kraćeg perioda bez simptoma. Budući da uglavnom pogađa jetru i bubrege, primarni simptomi uključuju akutno zatajenje jetre i bubrega, a popratne posljedice mogu biti neurološke krize slične porfirijama, encefalopatija, koagulopatija dok dugoročne posljedice mogu biti ozbiljnije te dovesti do hipofosfatemičnog rahitisa (koštane bolesti) zbog nefunkcionalnosti bubrežnih tubula, ciroze jetre i potom karcinoma jetre. Također u dojenčadi mogu biti prisutni i teži oblici bolesti koje prati dijareja, krvarenje, povraćanje, hipoglikemija, edem, ascites, hepatomegalija te blaži oblik žutice, a može doći i do sepse. Poznato je i da nakupljanje metabolita sukcinilacetona (SA) ometa sintezu hema, funkciju imunskog sustava i tubularnu bubrežnu funkciju. Ukoliko se ne liječi, djeca umiru oko prve godine života. Tirozinemija tip II može se pojaviti u bilo kojoj dobi, no uglavnom se javlja rano u djetinjstvu, između druge i četvrte godine s prisutnom osjetljivošću na svjetlo, gubitkom vida, zaostajanjem u tjelesnom razvoju, bolnim i bubuljičastim oštećenjima na dlanovima, tabanima, znamenkama, uz moguću pojavu neuroloških oštećenja. Tirozinemija tip III također se javlja u ranom djetinjstvu, a može biti popraćena blažim ili složenijim simptomima poput napadaja i zaostajanja u razvoju pri čemu funkcija jetre ostaje normalna. Mogu biti prisutni i drugi neurološki simptomi poput intelektualnog oštećenja koje je jedna od najčešćih, ujedno i dugoročnih komplikacija bolesti, može doći do drhtanja, ataksije, pojačanih refleksa tetiva, manjeg opsega glave (mikrocefalija) [35] [38].

### **2.2.1.2. Dijagnostički biomarkeri**

U sva tri tipa tirozinemija prati se koncentracija tirozina u plazmi, koji se smatra primarnim biomarkerom bolesti te od ostalih markera važno je promatrati jesu li povišene koncentracije metabolita tirozina (4-hidroksifenil- piruvat, acetat i laktat) u urinu. Kod tirozinemije tip I visoko osjetljivi, specifični, također i primarni pokazatelj bolesti je sukcinilaceton koji se određuje iz uzorka osušene mrlje krvi pomoću tandemske masene spektrometrije (noviji način), a može se pratiti i njegova prisutnost u plazmi i urinu. Dijagnosticiranje je moguće temeljiti i na inhibicijskom djelovanju sukcinilacetona na dehidratazu 5-aminolevulinske kiseline (5-ALA) koja katalizira pretvorbu 5-aminolevulinske kiseline u porfobilinogen. Ostali metabolički markeri čija koncentracija u plazmi može biti povišena su metionin, fenilalanin, te povišena razina 5-aminolevulinske kiseline u urinu zbog smanjene aktivnosti dehidrataze 5-aminolevulinske kiseline u eritrocitima i jetri [11] [35] [38].

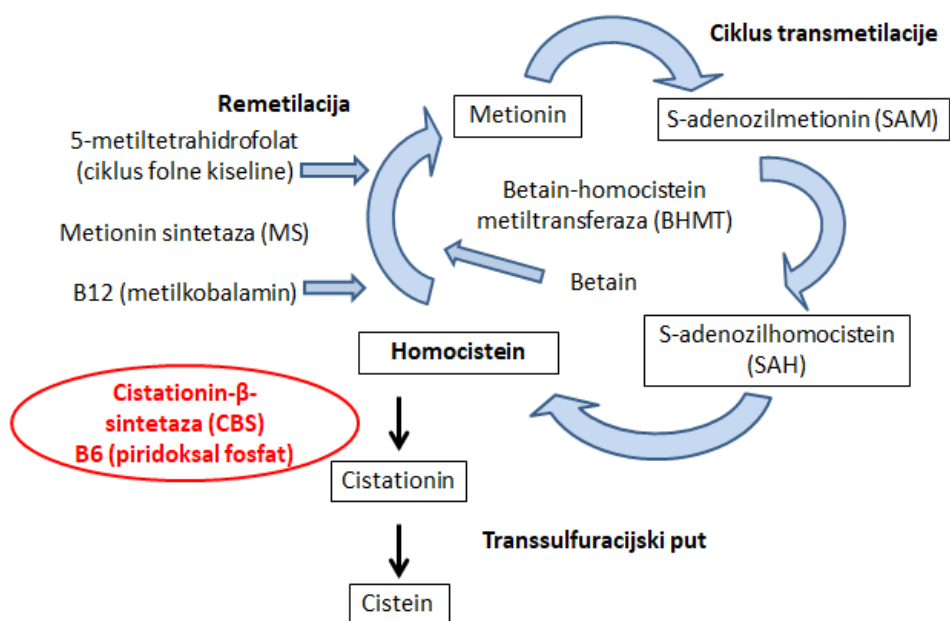
### **2.2.1.3. Nutritivni pristup**

Prehrambeni pristup kod sva tri oblika tirozinemije temelji se na prehrani s niskim sadržajem tirozina i njegovog preteče fenilalanina, odnosno ograničavanju unosa proteina uz dodatak mješavine ostalih aminokiselina bez tirozina i fenilalanina s ciljem održavanja koncentracije tirozina između 200 i 400  $\mu\text{mol/L}$  i fenilalanina  $> 30 \mu\text{mol/L}$  kod tipa I, odnosno održavanje koncentracije tirozina između 200 i 500  $\mu\text{mol/L}$  kod tipa II i III kako bi se spriječilo nakupljanje tirozina u tkivima te jer niske koncentracije fenilalanina mogu uzrokovati oštećenja. U liječenju tirozinemije tip I primjenjuje se kombinacija nitizinona i prehrabene terapije. Nitizinon, poznat kao i NTBC (2-[2-nitro-4-(trifluorometil)benzoil]cikloheksan-1,3-dion) je kompeticijski inhibitor, koji sprječava aktivnost 4-hidroksifenilpiruvat dioksidaze kako ne bi došlo do nakupljanja štetnih metabolita poput sukcinilacetona, fumarilacetoacetata, maleilacetoacetata te razvoja bubrežnih i jetrenih komplikacija. Uobičajena i preporučena količina nitizinona je 1 mg/kg TM dnevno, a veća je kod zatajenja jetre i iznosi 2 mg/kg TM dnevno. Budući da je prehrana slična kao i kod fenilketonurije, namirnice koje bi bilo poželjno konzumirati su niskoproteinske poput voća i povrća, umjereno proteinske kao škrobno povrće te proizvode od žitarica sa smanjenim udjelom proteina. Također potreban je dodatak vitamina D radi liječenja rahitisa [35] [38-41].



## 2.2.2. Homocistinurija

Homocistein (Hcy) je međuprodukt dobiven metabolizmom esencijalne sumporne aminokiseline metionina (Met) u ciklusu transmetilacije, stoga homocistinurija spada u metaboličke poremećaje sumpora. Nastali homocistein može se pretvarati u metionin remetilacijom u prisutnosti betaina djelovanjem betain-homocistein metiltransferaze, 5-metiltetrahydrofolata (dobiven iz folne kiseline) i prisutnosti vitamina B12 (dio koenzima metilkobalamina) djelovanjem metionin sintetaze te se može također metabolizirati transulfuracijskim putem do cisteina u prisutnosti vitamina B6. S obzirom na to, procesi remetilacije i transulfuracije su važan dio biokemijskih puteva koji obuhvaćaju homocistinuriju. Navedeni procesi remetilacije, transmetilacije i transulfuracije odvijaju se uglavnom u jetri (slika 5) [11] [35] [42] [43].



**Slika 5.** Prikaz remetilacije, transmetilacije i transulfuracije kod homocistinurije [35] [42] [43].

Homocistinurija je rijetka bolest, jedna od najčešćih urođenih poremećaja metabolizma aminokiselina i sumpora koja se nasljeđuje autosomalno recesivno, a uzrokovana je mutacijom u genu *CBS* koji se nalazi na 21. kromosomu te kodira enzim cistationin-β-sintetazu za čiju aktivnost je važan koenzim piridoksal fosfat, derivat vitamina B6. Navedeni enzim pretežno je zastupljen u mozgu, jetri, gušterači i bubrezima, a ključan je za pretvorbu homocisteina u cistationin u transulfuracijskom putu kojim se uklanjaju sumporne

aminokiseline. Uslijed nedostatka enzima počinje se nakupljati homocistein, S-adenozilhomocistein i metionin, a smanjuje se koncentracija cistationina i cisteina koji je važan u sintezi taurina, proteina i glutaciona. Nedostatak metilentetrahidrofolat reduktaze zbog mutacije u genu *MTHFR* može također dovesti do homocistinurije jer je taj enzim važan u remetilaciji za nastanak 5-metiltetrahidrofolata koji je donor metilne skupine homocisteinu prilikom nastanka metionina. Budući da je vitamin B6 dio koenzima cistationin- $\alpha$ -sintetaze, postoje dva oblika homocistinurije, onaj kod kojeg su oboljeli osjetljivi na liječenje vitaminom B6 i onaj kod kojeg nisu, točnije osjetljiva i neosjetljiva homocistinurija na vitamin B6. Razlika između ta dva oblika je u aktivnosti enzima koji uvijek ima donekle očuvanu aktivnost kod pacijenata osjetljivih na vitamin B6. Važno je spomenuti da homocistinurija može nastati i neovisno o genetskim uzrocima, primjerice uzroci mogu biti uporaba nekih lijekova, prehrambeni nedostatci ili završni stadij bubrežne bolesti [11] [35] [42] [43] [44].

### 2.2.2.1. Klinički značaj

Homocistinurija se javlja oko desete ili dvadesete godine života [11] te pogađa četiri značajna organa, odnosno organska sustava, a to su oči, koštani, središnji živčani i žilni sustav. Po rođenju i u ranom djetinjstvu kao i kod jednog dijela odraslih nema simptoma bolesti dok dio oboljelih u odrasloj dobi razvija tešku multisustavnu bolest. Prvi znak bolesti u nedijagnosticiranih pacijenata često predstavlja ektopija, točnije pomak leće prema dolje, koja se javlja u razdoblju od 2. do 12. godine što se može nastaviti dalje u druge oblike oboljenja poput kratkovidnosti, očne mrežnice, optičke atrofije, odvajanja mrežnice, podrhtavanja šarenice pri očnim pokretima te razvoja glaukoma. Osobe su visokog rasta osobito povećanog rasta u doba puberteta, dugih udova, dugih nožnih prstiju kao i prstiju na rukama. Moguća je pojava osteoporoze što može dovesti do prijeloma i skolioze, ograničene pokretljivosti zglobova. Također mogu nastati izobličenja koljena (genu valgum), udubljenje prsne kosti (pectus excavatum), izbočenje prsne kosti (pectus carinatum), visoki luk stopala (pes cavus) [44] [45]. Poremećaji u radu centralnog živčanog sustava obično se javljaju u ranom ili srednjem djetinjstvu, a obuhvaćaju zaostajanje u razvoju, mentalnu retardaciju, poteškoće u učenju, napadaje, psihijatrijske bolesti i simptome poput depresije, poremećaja osobnosti, shizofrenije. Visoke razine homocisteina mogu uzrokovati i vaskularne bolesti, ranu aterosklerozu i tromboemboliju (može nastati u arterijama i venama, odnosno krvnim

žilama svih veličina) koja se češće pojavljuje u kasnijoj životnoj dobi u obliku duboke venske tromboze te može dovesti do plućne embolije. U odraslih je također povećan rizik za trombozu bubrežne arterije i karotide te za koronarnu bolest srca. Rjeđe se može pojaviti upala gušterače, pneumotoraks, blaže gastrointestinalno krvarenje, nedostatak pigmenta u koži i kosi [42] [44].

### 2.2.2.2. Dijagnostički biomarkeri

Primarni pokazatelj koji se koristi u novorođenačkom dijagnosticiranju homocistinurije je metionin, odnosno njegova povećana koncentracija u plazmi i urinu. Sljedeći važan biomarker je povišena koncentracija homocisteina te smanjene razine cistationina i cisteina u plazmi i urinu. Temeljni test za određivanje nedostatka cistationin- $\square$ -sintetaze je određivanje ukupne koncentracije homocisteina u plazmi iz uzoraka osušenih mrlja krvi [35] [44].

### 2.2.2.3. Nutritivni pristup

Cilj nutritivnog pristupa kod homocistinurije je uspostaviti normalnu (u većini slučajeva teško) ili smanjiti razinu homocisteina u plazmi uz održavanje normalnog rasta i normalne koncentracije metionina. Iako liječenje zahtijeva individualni pristup prema pacijentu s obzirom na ozbiljnost bolesti, ono se temelji na niskoproteinskoj hrani s ograničenim unosom metionina, korištenju dodataka vitamina B6, B12, folata i betaina koji sudjeluju u metaboličkim putevima remetilacije, transmetilacije i transulfuracije te dodatku cistina koji služi za dobivanje cisteina jer su njegove koncentracije u plazmi smanjene. Pacijenti koji su osjetljivi ili djelomično osjetljivi na vitamin B6 (50 %) mogu biti liječeni vitaminom B6, vitaminom B12 i folatom, većina pokazuje povoljne ishode pri liječenju prehranom sa smanjenim udjelom metionina i dodatkom ostalih aminokiselina bez metionina. Ipak uobičajeni pristup te izrazito važan kod pacijenata neosjetljivih na vitamin B6 jer je njihovo stanje teže liječiti, je istovremena kombinacija suplemenata vitamina B12 i betaina, koji mogu pomoći u remetilaciji homocisteina, zajedno s folatom i vitaminom B6. Za takve se pacijente, odnosno pri težim oblicima nedostatka enzima CBS strogo ograničava unos metionina jer oni teže podnose veće koncentracije metionina koje mogu uzrokovati edem mozga u odnosu na

pacijente s donekle očuvanom enzimskom aktivnosti. Također moguća je primjena mješavine aminokiselina bez metionina jer su prirodne potrebe za metioninom ostvarene prehranom u odraslih ili dojenačkim formulama u dojenčadi. Betain se pokazao korisnim, bilo sam ili u kombinaciji s drugim terapijama, u poboljšanju kliničkih simptoma, točnije smanjenju koncentracije homocisteina. Preporučeni su unosi pojedinih vitamina u okviru DRI vrijednosti te betaina, cistina, metionina i vode za oboljele koji su neosjetljivi na vitamin B6 (tablica 3). Razina homocisteina se također može regulirati (smanjiti) cjelokupnom prehranom u kojoj je najvećim dijelom zastupljeno povrće i voće [47] [48]. Važno je osigurati prikladnu hidraciju tijekom bolesti ili operacije, izbjegavati dugo sjedenje i poticati tjelesnu aktivnost radi smanjivanja rizika od nastanka tromba te unositi dovoljno vitamina C kako bi se poboljšala funkcionalnost epitela [35] [42] [44] [46].

Tablica 3. Nutritivni pristup u pacijenata koji su neosjetljivi na vitamin B6 [42].

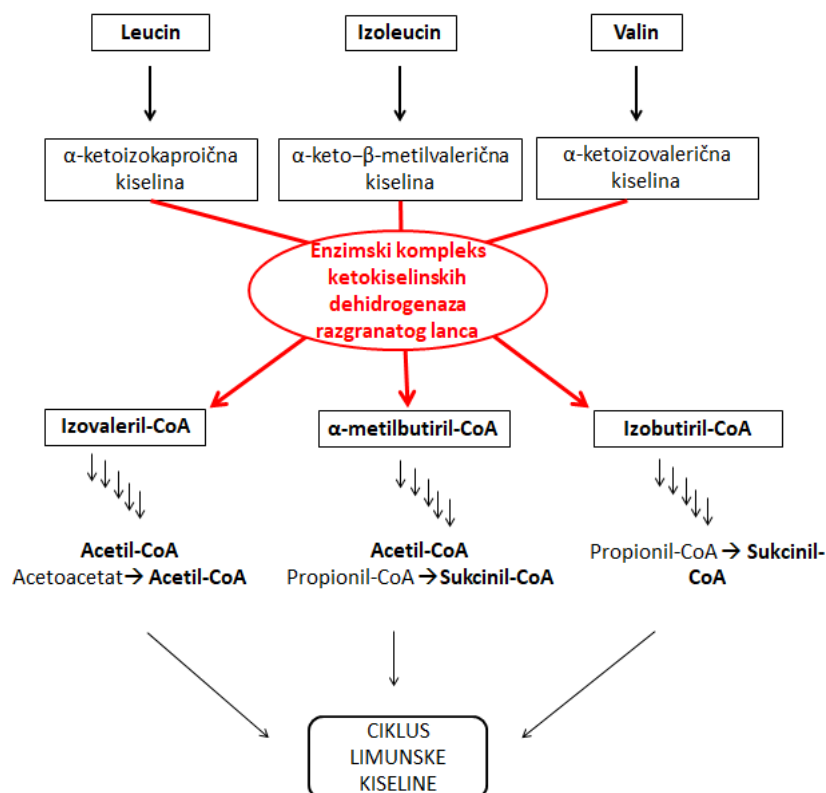
DOB	Metionin (mg/kg/dan)	Cistin (mg/kg/dan)
0–6 mjeseci	15-60	85-150
6-12 mjeseci	12-43	85-150
1-4 godine	9-28	60-100
>4 godine-odrasli	5-22	20-80
DRI vrijednosti za vitamine	*Betain (mg/kg/dan)	Voda
Folna kiselina (5–10 mg/dan) Folnična kiselina (1–5 mg/dan) Vitamin B6 (50–100 mg/dan) Vitamin B12 (varira) Vitamin C (1 g/dan)	150-250 (podijeljeno u 3 doze) 6-9 g/dan za odrasle	116.7 mL/100 cal/dan [49]

\*Za utvrđivanje količine i vremena dopunjavanja betaina u obzir se uzima kliničko stanje i dob pacijenta.

### 2.2.3. Bolest s mirisom urina na javorov sirup

Urin s mirisom na javorov sirup urođena je bolest metabolizma razgranatih esencijalnih aminokiselina leucina, izoleucina i valina koja se nasljeđuje autosomalno recesivno, a očituje u nedostatnoj aktivnosti enzimskog kompleksa ketokiselinskih dehidrogenaza razgranatog

lanca. Enzimski kompleks sastavljen je od tri komponente, E1 dehidrogenazne komponente (heterodimer sastavljen od podjedinica E1 $\alpha$  i E1 $\beta$ ), E2 transacilazne i komponente E3 koja sadrži kofaktore tiamin pirofosfat, nikotinamid adenin dinukleotid (NAD), flavin adenin dinukleotid (FAD) i koenzim A, stoga njegova funkcionalnost može biti narušena uslijed mutacija u bilo kojem od četiri gena koji kodiraju nastanak enzimskih komponenata [35] [50] [51]. Geni koji kodiraju nastanak E1 komponente su *BCKDHA* na 19. kromosomu koji kodira podjedinicu E1 $\alpha$  (tip Ia) i *BCKDHB* na 6. kromosomu koji kodira podjedinicu E1 $\beta$  (tip Ib), gen *DBT* koji kodira E2 komponentu nalazi se na 1. kromosomu (bolest tip II), a gen *DLD* E3 komponente smješten je na 7. kromosomu (bolest tip III) [50]. Enzimski kompleks potreban je za pretvorbu, točnije dekarboksilaciju  $\alpha$ -ketokiselina leucina, izoleucina i valina u izovaleril-CoA,  $\alpha$ -metilbutiril-CoA i izobutiril-CoA što se pretežno odvija u jetri (slika 6). Uslijed enzimske nefunkcionalnosti  $\alpha$ -ketokiseline razgranatih aminokiselina pretvaraju se u  $\alpha$ -hidroksikiseline koje se u krvi i urinu nakupljaju zajedno s leucinom, izoleucinom, valinom, aloizoleucinom i njihovim  $\alpha$ -ketokiselinama, od kojih posebno štetno djelovanje imaju  $\alpha$ -ketoizokaproična kiselina i leucin [35] [53].



**Slika 6.** Prikaz metabolizma razgranatih aminokiselina leucina, izoleucina i valina djelovanjem enzimskog kompleksa ketokiselinskih dehidrogenaza razgranatog lanca te prikaz konačnih produkata njihove razgradnje (acetil-CoA i sukcinil-CoA) koji se dalje mogu metabolizirati u ciklusu limunske kiseline [35] [52].

### **2.2.3.1. Klinički značaj**

Osnovne kliničke značajke bolesti su slatkasti, karamelasti miris urina ili cerumena koji podsjeća na javorov sirup zbog visokih koncentracija razgranatih aminokiselina i njihovih metabolita, zatim problemi s hranjenjem, tjelesna i mentalna zaostalost, akutna nefunkcionalnost mozga jer su leucin i  $\alpha$ -ketoizokaproična kiselina izrazito neurotoksični, a također moguća je pojava akutnog edema mozga i encefalopatije u novorođenčadi [35] [52] [53]. Kratko nakon rođenja uočljivi su simptomi poput gubitka tjelesne mase, slabe reakcije na dojenje, razdražljivosti, povraćanja, umora, promjene mišićnog tonusa, plakanja zbog intoksikacije metabolitima, a neliječeni oblik bolesti može dovesti do metaboličke acidoze, napadaja, kome pa i smrti [53]. S obzirom na ozbiljnost simptoma, biokemijski profil, aktivnost enzimskog kompleksa i dob, postoji pet kliničkih manifestacija. Najčešća je klasična bolest s mirisom urina na javorov sirup, koja se pojavljuje u 75 % slučajeva, unutar 4-7 dana nakon rođenja. Uz već spomenute simptome, za taj oblik karakteristična je ketonurija i hipoglikemija te prilikom ranog liječenja s nastavkom u odrasloj dobi mogu se pojaviti simptomi poput anksioznosti, depresije, poremećaja hiperaktivnosti s nedostatkom pažnje. Srednji oblik bolesti rezultira napadajima, mentalnom retardacijom, zaostajanjem u razvoju i napredovanju. Kod intermitentnog tipa bolesti u oboljelih nema naznaka poremećaja sve dok ne dođe do povećanog unosa proteina ili akutne bolesti, pri čemu nastupaju napadaji, zatajivanje metabolizma, ataksija i koma. Četvrti oblik bolesti ima sličnosti s navedena prethodna dva oblika, a podrazumijeva osjetljivost pacijenata na tiamin te se može uspješno liječiti visokim dozama tiamina kako bi se postigla normalna razina razgranatih aminokiselina. Posljednji oblik bolesti je nedostatak E3 komponente koji se uočava nakon djetinjstva sa izraženim zaostajanjem u razvoju, metaboličkom acidozom, hipotonijom, poremećajem kretanja i neurološkim propadanjem [35] [50].

### **2.2.3.2. Dijagnostički biomarkeri**

Značajno visoka razina razgranatih aminokiselina, osobito leucina u krvi analizom aminokiselinskog profila ukazuje na bolest s mirisom urina na javorov sirup. Primarni pokazatelji oboljenja su leucin i izoleucin koji se analiziraju tandemskom masenom spektrometrijom, sekundarni je valin, a od ostalih biomarkera važan je aloizoleucin. Analizom

urina mogu se otkriti visoke razine razgranatih keto- i hidroksi- kiselina. Povišene mogu biti i koncentracije piruvata, laktata i alanina u plazmi te  $\alpha$ -ketoglutarata u urinu uslijed nefunkcionalnosti E3 enzimske komponente, stoga i one mogu ukazivati na bolest [11] [35].

### 2.2.3.3. Nutritivni pristup

Temeljni cilj prehrane terapije podrazumijeva smanjivanje ili normalizaciju koncentracije razgranatih aminokiselina i njihovih štetnih metabolita u organizmu, osobito leucina. Za dojenčad i djecu mlađu od pet godina terapijom bi se trebalo postići održavanje koncentracije leucina u krvi u rasponu 100-200  $\mu\text{mol/L}$ , odnosno 100-300  $\mu\text{mol/L}$  za djecu stariju od pet godina. Pacijentima koji su asimptomatski prilikom dijagnoze ili imaju simptome bolesti u novorođenačkom razdoblju potrebna je prehrana s ograničenim unosom leucina kako bi se spriječila razgradnja, a potaknula izgradnja novih proteina uz dnevni unos energije, masti, proteina i razgranatih aminokiselina u skladu s preporukama (tablica 4). Nakon uspostave prehrane, važno je prilagođavati unos razgranatih aminokiselina s obzirom na njihovu koncentraciju u plazmi, a ne samo postići preporučeni unos izražen u mg/kg tjelesne mase jer se sa sazrijevanjem djeteta preporučena količina aminokiselina po kilogramu tjelesne mase smanjuje. Ako su koncentracije izoleucina i valina u plazmi niže od potrebne razine, potrebno ih je dodavati u dojenačke formule, a preporučena koncentracija iznosi 10 mg/mL jer ukoliko se oni ne dodaju, koncentracija leucina u plazmi neće se smanjivati. Prilikom uvođenja krute hrane u prehranu dojenčadi, smanjuje se konzumacija (volumen) majčinog mlijeka ili dojenačkih formula pa i unos leucina iz izvora krute hrane zamjenjuje leucin iz formula ili majčinog mlijeka. Visokoproteinska hrana sadrži velike količine leucina, stoga se može konzumirati samo u blažim oblicima bolesti, ali nije preporučljiva u ostalim stanjima bolesti, premda se količina leucina u hrani može procijeniti prema proteinskom sastavu hrane (60 mg leucina/g proteina). Kao doživotna potreba, u prehranu dojenčadi i male djece uključuje se medicinska hrana koja sadrži sve potrebne aminokiseline, osim leucina, izoleucina i valina, a osigurava 80-90 % proteinskih potreba te još sadrži ugljikohidrate (glukoza), masti i mikronutrijente. Budući da se tiamin nalazi u sastavu enzimskog kompleksa, pacijentima s donekle zaostalom enzimskom aktivnošću može biti učinkovita suplementacija tiaminom (proba 100-1000 mg tijekom 1-4 tjedna), međutim u pacijenata s klasičnom bolesti neće koristiti. Akutni pristup u simptomatske novorođenačadi zahtijeva hitnu nutritivnu potporu radi

zaokreta razgradnje razgranatih aminokiselina, stoga se uz nazogastrično hranjenje enteralnim pripravcima medicinske hrane, mogu primjenjivati i parenteralne otopine aminokiselina bez razgranatih aminokiselina ukoliko gastrointestinalni sustav ne podnosi enteralne pripravke. U slučaju da je prisutna još neka bolest uz već postojeću bolest s mirisom urina na javorov sirup, dolazi do rizika za metaboličku dekompenzaciju, koja može biti izazvana i ozljedama ili operacijama koje također potiču katabolizam, pri čemu može nastati edem mozga. Zbog toga se oboljelima prilikom pojave prvog znaka bolesti preporučuje „dijeta za dane bolesti“ („sick-day diet“) koja osigurava dovoljno energije u skladu s individualnim potrebama, povećava unos proteina povećavajući unos medicinske hrane za 120 % od uobičajenog unosa što također potiče veći unos energije iz masti i ugljikohidrata. Unos leucina smanjuje se za 50 % ili u potpunosti, ovisno o stupnju bolesti i savjetovanju s medicinskim timom, dok je unos izoleucina i valina jednak kao i kod uobičajene prehrane ili se može povećati kako bi se spriječile njihove smanjene koncentracije u plazmi. Potrebno je osigurati učestalo hranjenje manjim obrocima tijekom 24 h uz praćenje koncentracije razgranatih aminokiselina u plazmi što je moguće i kod kuće upotrebom otopine dinitrofenilhidrazina (DNPH) koji reagira s nastalim  $\alpha$ -ketokiselinama u oboljelih [35] [53].

Tablica 4. Preporučeni dnevni unos nutrijenata za djecu s akutnom ili asimptomatskom klasičnom bolešću s mirisom urina na javorov sirup [53].

	Akutno stanje	Asimptomatsko stanje
Energija (kcal/kg)	120–140	100–120
Lipidi (% energetskeg unosa)	40–50 %	*DRI [54]
Proteini (g/kg)	3–4	2–3.5
Leucin (mg/kg)	0	40–100
Izoleucin (mg/kg)	80–120	30–95
Valin (mg/kg)	80–120	30–95

\*31 g (0-6 mjeseci); 30 g (7-12 mjeseci); djeca: AMDR = prihvatljiv raspon unosa makronutrijenata 30-40 % (1-3 godine); 25-35 % (4-8 godina) [54].



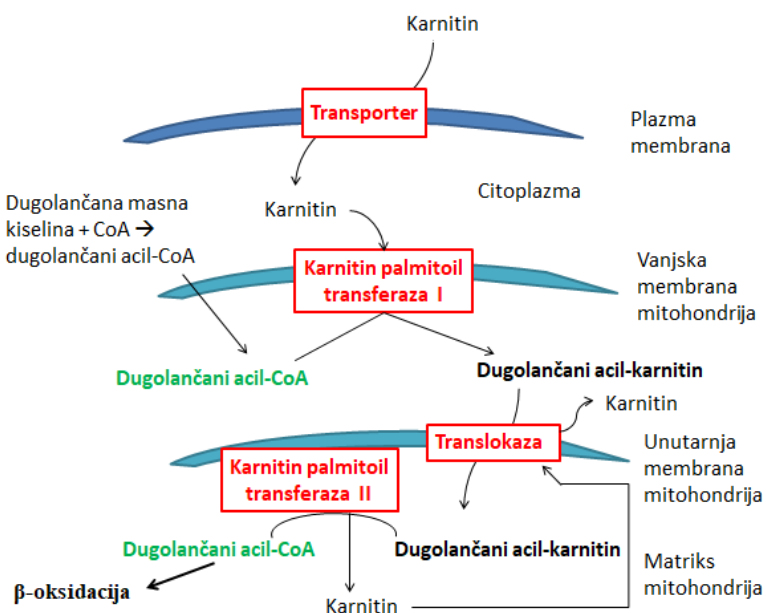
## **2.3. POREMEĆAJI MITOHONDRIJSKE BETA OKSIDACIJE MASNIH KISELINA**

Masne kiseline sastavljene su od dugačkog ugljikovodičnog lanca i krajnje karboksilatne skupine te imaju nekoliko važnih fizioloških uloga. Služe kao izvor energije (uskladištene u obliku triacilglicerola), za sintezu hormona i unutarstaničnih glasnika, zatim modifikaciju proteina i izgradnju gradivnih komponenata staničnih membrana, točnije glikolipida i fosfolipida. Kako bi se masne kiseline mogle koristiti za dobivanje energije, bilo u obliku triglicerida iz hrane ili iz masnog tkiva, najprije se trigliceridi moraju razgraditi pomoću lipaza na masne kiseline i glicerol, zatim se prehrambeni lipidi prenose hilomikronima u masno tkivo gdje se skladište ili u mišiće gdje se koriste za dobivanje energije procesom oksidacije. Nakon razgradnje triglicerida na masne kiseline, dolazi do njihove aktivacije na vanjskoj membrani mitohondrija (acil-CoA-sintetaza) i prijenosa u matriks mitohondrija pomoću karnitina što omogućava razgradnju, točnije  $\beta$ -oksidaciju masnih kiselina koja osigurava reducirajuće molekule NADH i FADH<sub>2</sub> koje se u procesu oksidativne fosforilacije koriste za dobivanje ATP-a te acetil-CoA koji ulazi u ciklus limunske kiseline ili služi za nastanak ketonskih tijela (acetoacetata i 3-hidroksibutirata) u jetri koja su izvor energije za mozak (tijekom gladovanja i dijabetesa) i druga tkiva koja ne mogu oksidirati masne kiseline. Oksidacija masnih kiselina važan je izvor energije i kada glukoza nije dostupna ili su njezine koncentracije u organizmu niske te kada su povećane energetske potrebe [55] [56].

### **2.3.1. Poremećaji transporta karnitina**

Karnitin je dipolarni (zwitterionski) alkohol koji služi za unos dugolančanih, aktiviranih masnih kiselina prvenstveno sa 16 i 18 ugljikovih atoma, točnije dugolančanog acil-CoA u matriks mitohondrija. U tom prijenosu sudjeluju karnitinski transporter pomoću kojeg karnitin preko plazmatske membrane dopijeva u citoplazmu kako bi karnitin palmitoil transferaza I, smještena na vanjskoj membrani mitohondrija, mogla katalizirati prijenos aktivirane acilne skupine koenzima A na karnitin, pri čemu nastali dugolančani acil-karnitin djelovanjem acilkarnitin/karnitin translokaze i karnitin palmitoil transferaze II, smještenih na unutarnjoj membrani mitohondrija, najprije prolazi u matriks mitohondrija te se potom ponovno prevodi

u dugolančani acil-CoA pomoću transferaze II koji se dalje oksidira radi dobivanja energije dok se karnitin natrag vraća u međumembranski prostor mitohondrija djelovanjem translokaze gdje služi za ponovni prijenos aktiviranih dugolančanih acil-CoA u matriks mitohondrija (slika 7). Važno je spomenuti da karnitin nije potreban za prijenos kratkolančanih i srednjolančanih masnih kiselina u matriks mitohondrija [55] [56].



Slika 7. Prikaz karnitinskog transportnog sustava [56].

Svi oblici mutacija u karnitinskom transportnom sustavu nasljeđuju se autosomalno recesivno. Za nedostatak proteinskog transportera karnitina odgovoran je gen *SLC22A5* smješten na kromosomu broj 5, [57] zbog čega dolazi do smanjenja koncentracije karnitina u plazmi i tkivima te povećanog izlučivanja putem bubrega, stoga nije moguć prijenos dugolančanih masnih kiselina u matriks. Karnitin palmitoil transferaza I postoji u tri različita izooblika, CPT1A (bubrezi, jetra), CPT1B (srce i mišići), CPT1C (mozak), međutim samo je nedostatak enzimskog oblika CPT1A klinički definiran, a nastaje mutacijom u genu *CPT1A* smještenom na 11. kromosomu [58] prilikom čega se smanjuje količina dugolančanog acil-karnitina, a raste razina slobodnog karnitina. Mutacija u genima *SLC25A20* ili *CACT* na 3. kromosomu [59] uzrokuje nedostatak translokaze zbog čega dugolančane masne kiseline ne mogu ući u matriks mitohondrija da bi se oksidirale. Proteinski transporter *CACT* zastupljen je u svim tkivima, ali njegov nedostatak klasično je prisutan u tkivima poput srca i mišića koji većim dijelom ovise o oksidaciji masnih kiselina. Za nedostatak karnitin palmitoil transferaze II odgovorna je mutacija u genu *CPT2* na 1. kromosomu [60].

### 2.3.1.1. Klinički značaj

Nedostatak komponenata karnitinskog sustava primarno pogađa srce, bubrege i mišiće, a simptomi koji se mogu pojaviti su blagi grčevi u mišićima, slabost pa čak i smrt [55]. Hipoglikemija (hipoketotička) i akutna disfunkcija jetre mogu biti prisutni kod nedostatka bilo koje od četiri komponente u transportu karnitina. U svim slučajevima, osim kod nedostatka karnitin palmitoil transferaze I, uočena je pojava kronične slabosti i kardiomiopatije dok je kod nedostatka karnitin palmitoil transferaze II moguća pojava rabdomiolize tijekom produljenog vježbanja. Od ostalih znakova bolesti kod nefunkcionalnosti transferaza I i II može doći do renalne tubularne acidoze, odnosno malformacija. Navedene značajke bolesti ovise o izloženosti stresu u okolišu i zaostalosti aktivnosti enzima [61].

### 2.3.1.2. Dijagnostički biomarkeri

Svaki od četiri navedena poremećaja u transportnom sustavu karnitina može biti uočen prilikom novorođenačkog testiranja. Niske koncentracije slobodnog karnitina i ukupnog karnitina upućuju na nefunkcionalnost karnitinskog transportera dok su koncentracije slobodnog karnitina kod nedostataka karnitin palmitoil transferaze I visoke uz povećan omjer slobodnog karnitina i dugolančanih acil-karnitina (C16 i C18), a niske razine C16 i C18 acil-karnitina. Nefunkcionalnost ili smanjenu aktivnost translokaze i karnitin palmitoil transferaze II teže je razlikovati zato što su u oba slučaja povišene koncentracije dugolančanih acil-karnitina (C16, C18, C18:1, C18:2), stoga su potrebne dodatne metode poput sekvenciranja oba gena *CACT* i *CPT2* koji kodiraju navedene enzime. Od ostalih biomarkera smanjene koncentracije glukoze i ketona natašte ili tijekom gladovanja ukazuju na nefunkcionalnost transportera karnitina, karnitin palmitoil transferaze I i translokaze dok povišene razine mioglobina u urinu mogu ukazivati na nedostatak karnitin palmitoil transferaze II jer zbog rabdomiolize dolazi do oslobađanja mioglobina iz mišića koji se onda bubrezima izlučuje u krv [56].

### 2.3.1.3. Nutritivni pristup

Liječenje se razlikuje ovisno o poremećaju u transportnom sustavu karnitina. Primjerice kod nedostatka transportera karnitina pokazalo se da je jedina korisna terapija suplementacija karnitinom koja u ostalim poremećajima oksidacije masnih kiselina nije pokazala učinkovitost [56]. Preporučena ukupna dnevna doza karnitina, koju bi trebalo koristiti, iznosi 100 mg/kg, ali potrebno ju je podijeliti u 3-4 doze tijekom dana [61]. Prehrambeni izvori koji su bogati karnitinom su mliječni proizvodi, crveno meso i riba te ukoliko osoba konzumira takve namirnice, 75 % karnitina osigurano je prehranom dok se 25 % sintetizira u organizmu, a kod vegetarijanaca manje se karnitina unosi prehranom pa je njegov glavni izvor endogena sinteza [62]. Uslijed nefunkcionalnosti karnitin palmitoil transferaze I i translokaze cilj je spriječiti protok metabolita u oksidacijskom putu masnih kiselina, osobito u stanju gladovanja te stanjima s povišenom tjelesnom temperaturom ili gastrointestinalnim gubitkom kalorija, stoga se radi sprječavanja gladovanja ili stresa u organizmu zbog nemogućnosti dobivanja energije iz dugolančanih masnih kiselina koristi ugljikohidratna nutritivna potpora. Prehrambeni pristup kod nedostatka karnitin palmitoil transferaze II zbog povećanih energetske potreba temelji se na izbjegavanju metaboličke dekompenzacije te ovisi o obliku poremećaja. Kod kasnije pojave simptoma, korisna je primjena intravenoznih (IV) otopina koje su bogate ugljikohidratima ili srednjolančanih triglicerida koji mogu osigurati energiju jer oni ulaze u matriks mitohondrija bez prisutnosti karnitina, a također se preporuča izbjegavanje pretjeranog vježbanja koje osobito u ovih pacijenata može dovesti do miopatije i rabdomiolize [56].

### 2.3.2. Poremećaji oksidacije masnih kiselina

Tijekom razgradnje masnih kiselina najprije dolazi do skraćivanja zasićenih dugolančanih masnih kiselina, odgradnjom dva ugljikova atoma u svakom ciklusu skraćivanja pri čemu se oksidira  $\alpha$ -ugljikov atom, odakle potječe i naziv  $\alpha$ -oksidacija. Svaki ciklus sastoji se od četiri reakcije, a to su oksidacija u kojoj je FAD oksidans, hidratacija, ponovna oksidacija uz NAD kao oksidans te tioliza pri čemu nastaju FADH<sub>2</sub>, NADH i acetil-CoA. Prvu reakciju oksidacije acil-CoA katalizira acil-CoA dehidrogenaza (može biti specifična za dugolančane, srednjolančane i kratkolančane masne kiseline) koja djeluje na stvaranje dvostruke veze

između drugog i trećeg ugljikovog atoma uklanjanjem dva atoma vodika uz nastanak enoil-CoA (s trans konfiguracijom dvostruke veze). Zatim slijedi hidratacija nastale dvostruke veze u kojoj sudjeluje enoil-CoA hidrataza uz stvaranje L-3 hidroksiacyl-CoA. Sljedeću reakciju oksidacije katalizira L-3 hidroksiacyl-CoA dehidrogenaza koja uklanja dodane vodikove atome na 3. ugljikovom atomu L-3 hidroksiacyl-CoA pri čemu nastaje keto skupina, točnije 3-ketoacyl-CoA kojeg 3-ketoacyl-CoA tiolaza pretvara u acil-CoA (skraćen za dva C-atoma), koji se u sljedećem ciklusu oksidacije ponovno razgrađuje, i acetyl-CoA koji može ući u Krebsov ciklus radi dobivanja energije [55] [56].

### **2.3.2.1. Nedostatak izrazito dugolančane i srednjolančane acil-CoA dehidrogenaze**

Budući da su navedena dva enzima ključna u prvoj reakciji oksidacije masnih kiselina, uslijed njihove nefunkcionalnosti masne se kiseline ne mogu oksidirati za dobivanje energije, što je posebice važno za srce i mišiće kojima su masne kiseline važan izvor energije. Oba enzima nasljeđuju se autosomalno recesivno. Izrazito dugolančana acil-CoA dehidrogenaza odgovorna je za oksidaciju dugolančanih masnih kiselina koje sadrže od 14 do 18 ugljikovih atoma, a njezina nefunkcionalnost uzrokovana je mutacijom u genu *ACADVL* koji je smješten na 17. kromosomu [63] zbog čega dolazi do nakupljanja potencijalno štetnih dugolančanih metaboličkih međuprodukata (acyl-karnitina i estera CoA). Srednjolančana acil-CoA dehidrogenaza potrebna je za oksidaciju srednjolančanih masnih kiselina sa 8-12 ugljikovih atoma, a njezin nedostatak najčešći je poremećaj oksidacije masnih kiselina. Nefunkcionalnost tog enzima nastaje mutacijom u genu *ACADM* koji se nalazi na 1. kromosomu [64], uslijed čega se mogu nakupljati slobodne masne kiseline [56] [61].

### **2.3.2.2. Klinički značaj**

Osnovne kliničke manifestacije poremećaja mitohondrijske oksidacije masnih kiselina su kao i kod poremećaja transporta karnitina, akutna hipoketotička hipoglikemija, zatajenje jetre, hepatomegalija, encefalopatija koji postaju izraženiji prilikom infekcija, povraćanja ili gladovanja. Zatim može biti prisutna kardiomiopatija i aritmija te miopatija, slabost ili akutna

rabdomioliza, koja može biti pojačana infekcijom ili vježbom. Ovisno o dobi oboljele osobe, izloženosti stresu ili o zaostaloj enzimskoj aktivnosti može biti prisutno manje ili više navedenih kliničkih problema. Primjerice kod nedostatka izrazito dugolančane acil-CoA dehidrogenaze u djetinjstvu prisutna je hipoglikemija dok se rabdomioliza potaknuta vježbanjem ili bolešću te kronična slabost mogu javiti u odraslijoj dobi [61].

### **2.3.2.3. Dijagnostički biomarkeri**

Poremećaje oksidacije masnih kiselina moguće je uočiti prilikom novorođenačkog testiranja zbog postojanja različitih biomarkera korištenjem tandemske masene spektrometrije. Važni pokazatelji nedostatka izrazito dugolančane acil-CoA dehidrogenaze su povišene koncentracije C14:1- i C14:2-karnitina, zatim karnitina C14, C16, C18:1 i C18:2. Od ostalih biomarkera značajni su ketoni i glukoza čije su koncentracije snižene tijekom gladovanja te povišena razina mioglobina u urinu. Kod nefunkcionalnosti srednjolančane acil-CoA dehidrogenaze markeri su C6-, C8-, C10-, C10:1-karnitini čije su koncentracije povišene [56].

### **2.3.2.4. Nutritivni pristup**

Glavni cilj pristupa kod oksidacije dugolančanih i srednjolančanih masnih kiselina uslijed nedostatka enzima je sprječavanje produljenog gladovanja. U slučaju nefunkcionalnosti izrazito dugolančane acil-CoA dehidrogenaze da bi se smanjila ili normalizirala razina acil-karnitina u plazmi, potrebno je ograničiti unos dugolančanih masnih kiselina (8-25% energije, ovisno o težini bolesti), a kao alternativne izvore energije uvrstiti ugljikohidrate u obliku intravenozne glukoze, medicinske hrane ili općenito hrane i srednjolančane trigliceride (10-30%) pri čemu je triheptanoin (masne kiseline sa 7C-atoma) dobar izvor energije. Za dojenčad staru 6-12 mjeseci preporučuje se uvesti nekuhani kukuruzni škrob (1 g/kg dnevno) prije spavanja radi osiguravanja izvora energije tijekom noći i sprječavanja hipoglikemije. Preporuča se dnevna suplementacija DHA (dokozaheksaenske masne kiseline) u iznosu 50-100 mg, esencijalnih masnih kiselina i vitamina topljivih u mastima (A, D, E). Za pacijente s nedostatkom srednjolančanog enzima savjetuje se izbjegavanje srednjolančanih triglicerida te suplementacija karnitina po potrebi (pr. u stanjima bolesti) [65].

## 3. ZAKLJUČAK

Iako se urođene metaboličke bolesti rijetko pojavljuju, mogu predstavljati ozbiljne probleme za daljnji rast i razvoj, napredak, funkcioniranje oboljelih pa čak mogu dovesti i do smrtnog ishoda ukoliko se ne primjenjuje adekvatna terapija, kako medicinska tako i nutritivna, ovisno o obliku bolesti i metaboličkom nedostatku. U današnje je vrijeme izrazito značajno što postoji sve veći broj mnogih dijagnostičkih testova i biomarkera koji mogu pomoći u ranom otkrivanju bolesti, točnije u novorođenačkom razdoblju te doprinijeti sprječavanju neželjenih kliničkih simptoma. Ako postoji rizik za određeni metabolički nedostatak (prisutnost mutacija u obitelji), moguće je i prije rođenja provesti dijagnostičke testove. Budući da su navedene bolesti, odnosno nedostaci pojedinih enzima ili transportera u metaboličkom putu odgovorni za nemogućnost potpunog iskorištavanja energije bilo iz ugljikohidrata, aminokiselina ili masnih kiselina, potrebno je primijeniti alternativne izvore energije i dodatke prehrani, primjerice vitamine, koji će odgovarati individualnim nutritivnim potrebama, što je osobito važno osigurati kod dojenčadi i male djece kako ne bi došlo do narušavanja rasta i razvoja. Stoga je uz pravilnu nutritivnu i medicinsku potporu te praćenje razine pojedinih metabolita u krvi i urinu, moguće kvalitetno upravljanje nastalim poremećajima.

## 4. LITERATURA

1. Garg U., Smith L.D. (2017) Introduction to laboratory diagnosis and biomarkers in inborn error of metabolism. U: Garg U., Smith L.D. (ur) *Biomarkers in Inborn Errors of Metabolism: Clinical Aspects and Laboratory Determination*. 1st ed., Amsterdam, Elsevier, Mica Haley, str. 1.
2. Shakya A.K. (2017) Inborn Errors of Metabolism. U: Shrestha R. (ur) *Advances in Biochemistry and Applications in Medicine*. Open Access eBooks, str. 1-32.
3. Ferreira C.R., Rahman S., Keller M., Zschocke J. (2021) An international classification of inherited metabolic disorders (ICIMD). *Journal of Inherited Metabolic Disease* 44(1):164-177.
4. Pavlica M. (2012) Citoplazmatsko nasljeđivanje. U: Pavlica M. (ur) *Mrežni udžbenik iz genetike*. Zagreb, Prirodoslovno-matematički fakultet Sveučilišta u Zagrebu, elektroničko izdanje.
5. Turnpenny P.D., Ellard S. (2011) Patterns of Inheritance. U: Turnpenny P.D., Ellard S. (ur) *Emery's Elements of Medical Genetics*. 14th ed., Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone, str.109-127.
6. Turnpenny P.D., Ellard S. (2011) Biochemical Genetics. U: Turnpenny P.D., Ellard S. (ur) *Emery's Elements of Medical Genetics*. 14th ed., Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone, str.167-171.
7. Wertheim-Tysarowska K., Gos M., Sykut-Cegielska J., Bal J. (2015) Genetic analysis in inherited metabolic disorders--from diagnosis to treatment. Own experience, current state of knowledge and perspectives. *Developmental Period Medicine* 19(4):413-31.
8. Mitochondrial DNA. On-Line URL: <https://www.genome.gov/genetics-glossary/Mitochondrial-DNA> National Human Genome Research Institute. Pristupljeno 7.7.2021.
9. Saudubray J-M., Garcia Cazorla A. (2016) Clinical Approach to Inborn Errors of Metabolism in Pediatrics. U: Saudubray J-M., Baumgartner M.R., Walter J. (ur) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. 6th ed., Berlin, Heidelberg, Springer, str. 3-5.
10. Zhu M. (2017) The Guthrie Test for Early Diagnosis of Phenylketonuria. The Embryo Project Encyclopedia, str. 1-4.
11. Sutton V.R., Graham B.H. (2015) Newborn Screening for Inborn Errors of Metabolism Introduction and Approaches for Confirmation. U: Lee B., Scaglia F. (ur) *Inborn Errors of*



- Metabolism: From Neonatal Screening to Metabolic Pathways*. 1st ed., Oxford, Oxford University Press, str. 3-37.
12. Schiff M., Mochel F., Dionisi-Vici C. (2016) Emergency Treatments. U: Saudubray J-M., Baumgartner M.R., Walter J. (ur) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. 6th ed., Berlin, Heidelberg, Springer, str.110.
  13. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) Glycolysis and Gluconeogenesis. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed., W. H. Freeman, str. 643-644, 655-667.
  14. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) The Citric Acid Cycle. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed., W. H. Freeman, str. 697-698.
  15. Ferguson A.M. (2017) Carbohydrate disorders. U: Garg U., Smith L. D. (ur) *Biomarkers in Inborn Errors of Metabolism: Clinical Aspects and Laboratory Determination*. 1st ed., Amsterdam, Elsevier, Mica Haley, str. 160-166.
  16. Berry G.T.,Walter J., Fridovich-Keil J.L. (2016) Disorders of Galactose Metabolism. U: Saudubray J-M., Baumgartner M.R., Walter J. (ur) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. 6th ed., Berlin, Heidelberg, Springer, str. 139-146.
  17. Coelho A.I., Rubio-Gozalbo M.E., Vicente J.B., Rivera I. (2017) Sweet and sour: an update on classic galactosemia. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 40(3):325-342.
  18. Barišić K., Rumora L., Grdić M., Juretić D. (2008) Frequency of Galactose-1-phosphate Uridyl Transferase Gene Mutations in Healthy Population of Croatia. *Croatica chemica acta* 81 (1) 125-130.
  19. Galactosemia II. On-Line URL:  
<https://www.omim.org/entry/230200?search=classic%20galactosemia&highlight=%28galactosemia%7Cgalactosemia%29%20classic> OMIM. Pristupljeno 12.6.2021.
  20. Stuhrman G., Perez Juanazo S.J., Crivelly K., Smith J., Andersson H., Morava E. (2017) False-Positive Newborn Screen Using the Beutler Spot Assay for Galactosemia in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease Reports* 36:1-5.
  21. Bernstein L. E., van Calcar S. (2015) The Diet for Galactosemia. U: Bernstein L.E., Rohr F., Helm J.R. (ur) *Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases: Lessons from Metabolic University*. 1st ed., Springer International Publishing, str. 285-293.
  22. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) The Calvin Cycle and the Pentose Phosphate Pathwaythe: Pentose Phosphate Pathway Generates NADPH and Synthesizes Five-Carbon Sugars. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed., W. H. Freeman, str. 843-863.

23. La Vieille S., Lefebvre D.E., Khalid A.F., Decan M.R., Godefroy S. (2018) Dietary restrictions for people with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Nutrition Reviews* 77(2):96–106.
24. Dražić M., Stojkić N., Krželj V. (2016) Nedostatna aktivnost glukoza-6-fosfat dehidrogenaze kao uzrok novorođenačke žutice. *Zbornik radova za medicinske sestre*, str. 69-74.
25. Gómez-Manzo S., Marcial-Quino J., Vanoye-Carlo A., Serrano-Posada H., Ortega-Cuellar D., González-Valdez A., Castillo-Rodríguez R.A., Hernández-Ochoa B., Sierra-Palacios E., Rodríguez-Bustamante E., Arreguin-Espinosa R. (2016) Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Update and Analysis of New Mutations around the World. *International Journal of Molecular Sciences* 17(12):2069.
26. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. On-Line URL: <https://medlineplus.gov/genetics/condition/glucose-6-phosphate-dehydrogenase-deficiency/#resources> MedlinePlus. Pristupljeno 13.6.2021.
27. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. On-Line URL: <https://medlineplus.gov/g6pddeficiency.html> MedlinePlus. Pristupljeno 13.6.2021.
28. Krželj V., Papazovska Cherepnalkovski A., Čulo Čagalj I., Markić J., Skelin Glavaš A., Majstorović T., Terzić J., Lozić B. (2018) Kliničke manifestacije nedostatne aktivnosti enzima glukoza-6-fosfat dehidrogenaze u Dalmaciji. *Paediatrica Croatica* 176-176.
29. Noori-Dalooi M.R., Daneshpajoo M. (2008) Molecular basis of G6PD deficiency: Current status and its perspective. *Acta Medica Iranica* 46(3): 167-182.
30. Van Hove J.L.K. (2015) Glycogen Storage Diseases. U: Bernstein L.E., Rohr F., Helm J.R. (ur) *Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases: Lessons from Metabolic University*. 1st ed., Springer International Publishing, str. 295-304.
31. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) Glycogen Metabolism. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed., W. H. Freeman, str. 864-896.
32. Walter J., Labrune P., Laforêt P. (2016) The Glycogen Storage Diseases and Related Disorders. U: Saudubray J-M., Baumgartner M.R., Walter J. (ur) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. 6th ed., Berlin, Heidelberg, Springer, str. 123-135.
33. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) Glycolysis and Gluconeogenesis: The Generation of Free Glucose Is an Important Control Point. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed. W. H. Freeman, str. 678.
34. van Calcar S. (2015) Nutrition Management of Glycogen Storage Disease Type 1. U: Bernstein L.E., Rohr F., Helm J.R. (ur) *Nutrition Management of Inherited Metabolic*

- Diseases: Lessons from Metabolic University*. 1st ed., Springer International Publishing, str. 307-317.
35. DeArmond P.D., Dietzen D.J., Pyle-Eilola A.L. (2017) Amino acids disorders. U: Garg U., Smith L. D. (ur) *Biomarkers in Inborn Errors of Metabolism: Clinical Aspects and Laboratory Determination*. 1st ed., Amsterdam, Elsevier, Mica Haley, str. 34-73.
36. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) Protein Turnover and Amino Acid Catabolism. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed., W. H. Freeman, str. 942-985.
37. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) The Citric Acid Cycle: The Citric Acid Cycle Must Be Capable of Being Rapidly Replenished. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed., W. H. Freeman, str. 720.
38. Chakrapani A., Gissen P., McKiernan P. (2016) Disorders of Tyrosine Metabolism. U: Saudubray J-M., Baumgartner M.R., Walter J. (ur) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. 6th ed., Berlin, Heidelberg, Springer, str. 267-274.
39. van Calcar S. (2015) Phenylketonuria: The Diet Basics. U: Bernstein L.E., Rohr F., Helm J.R. (ur) *Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases: Lessons from Metabolic University*. 1st ed., Springer International Publishing, str. 102-115.
40. de Laet C., Dionisi-Vici C., Leonard J.V. et al. (2013) Recommendations for the management of tyrosinaemia type 1. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 8, 8.
41. van Vliet K., Rodenburg I.L., van Ginkel W.G., Lubout C.M.A., Wolffenbuttel B.H.R., van der Klauw M.M., Heiner-Fokkema M.R., van Spronsen F.J. (2019) Biomarkers of Micronutrients in Regular Follow-Up for Tyrosinemia Type 1 and Phenylketonuria Patients. *Nutrients*. 11(9):2011.
42. Thomas J.A. (2015) Homocystinuria: Diagnosis and Management. U: Bernstein L.E., Rohr F., Helm J.R. (ur) *Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases: Lessons from Metabolic University*. 1st ed., Springer International Publishing, str. 149-157.
43. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) The Biosynthesis of Amino Acids. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed., W. H. Freeman, str. 999-1000.
44. Kožich V., Morris A.A.M., Blom H.J. (2016) Disorders of Sulfur Amino Acid Metabolism. U: Saudubray J-M., Baumgartner M.R., Walter J. (ur) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. 6th ed., Berlin, Heidelberg, Springer, str. 314-317.
45. Associated Conditions. On-Line URL: <https://www.pectusclinic.com/conditions/associated-conditions/> Pectus Clinic. Pristupljeno 23.6.2021.
46. Craig S.A. (2004) Betaine in human nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* 80(3):539-49.

47. Broekmans W.M., Klöpping-Ketelaars I.A., Schuurman C.R., Verhagen H., van den Berg H., Kok F.J., van Poppel G. (2000) Fruits and vegetables increase plasma carotenoids and vitamins and decrease homocysteine in humans. *Journal of Nutrition* 130(6):1578-83.
48. Silaste M.L., Rantala M., Alfthan G., Aro A., Kesäniemi Y.A. (2003) Plasma homocysteine concentration is decreased by dietary intervention. *British Journal of Nutrition* 89(3):295-301.
49. Holliday M.A, Segar W.E. (1957) The maintenance need for water in parenteral fluid therapy. *Pediatrics* 19(5):823–32.
50. Maple syrup urine disease. On-Line URL: <https://www.omim.org/entry/248600> OMIM. Pristupljeno 26.6.2021.
51. Manoli I., Venditti C.P. (2015) Branched Chain Amino Acid Disorders. U: Lee B., Scaglia F. (ur) *Inborn Errors of Metabolism: From Neonatal Screening to Metabolic Pathways*. 1st ed., Oxford, Oxford University Press, str. 92-119.
52. Schiff M., Ogier de Baulny H., Dionisi-Vici C. (2016) Branched-chain Organic Acidurias /Acidaemias. U: Saudubray J-M., Baumgartner M.R., Walter J. (ur) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. 6th ed., Berlin, Heidelberg, Springer, str. 279-288.
53. van Calcar S. (2015) Nutrition Management of Maple Syrup Urine Disease. U: Bernstein L.E., Rohr F., Helm J.R. (ur) *Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases: Lessons from Metabolic University*. 1st ed., Springer International Publishing, str. 173-183.
54. Štalić Z. (2008) Energetske i nutritivne potrebe. *Medicus* 17 (1): 5-17.
55. Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (2002) Fatty Acid Metabolism. U: Stryer L., Berg J.M., Tymoczko J.L. (ur) *Biochemistry*. 5th ed., W. H. Freeman, str. 897-918.
56. Jones P.M., Bennett M.J. (2017) Disorders of mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation. U: Garg U., Smith L. D. (ur) *Biomarkers in Inborn Errors of Metabolism: Clinical Aspects and Laboratory Determination*. 1st ed., Amsterdam, Elsevier, Mica Haley, str. 95-109.
57. Solute Carrier Family 22. On-Line URL: <https://www.omim.org/entry/603377?search=carnitine%20transporter%20slc22a5&highlight=carnitine%20slc22a5%20transporter> OMIM. Pristupljeno 28.6.2021.
58. Carnitine palmitoyltransferase I deficiency. On-Line URL: <https://www.omim.org/entry/255120?search=carnitine%20palmitoyl%20transferase&highlight=carnitine%20palmitoyl%20transferase> OMIM. Pristupljeno 28.6.2021.
59. Solute Carrier Family 25. On-Line URL: <https://www.omim.org/entry/613698?search=carnitine/acylcarnitine%20translocasa&highlight=%22carnitine%20acylcarnitine%22%20carnitineacylcarnitine%20translocasa> OMIM. Pristupljeno 28.6.2021.

60. Carnitine palmitoyltransferase II deficiency. On-Line URL: <https://www.omim.org/entry/255110?search=carnitine%20palmitoyl%20transferase&highlight=carnitine%20palmitoyl%20transferase> OMIM. Pristupljeno 28.6.2021.
61. Morris A.A.M., Spiekerkoetter U. (2016) Disorders of Mitochondrial Fatty Acid Oxidation & Riboflavin Metabolism. U: Saudubray J-M., Baumgartner M.R., Walter J. (ur) *Inborn Metabolic Diseases: Diagnosis and Treatment*. 6th ed., Berlin, Heidelberg, Springer, str. 203-212.
62. Shinawi M.S., Abu-Elheiga L.A. (2015) Fatty Acid Metabolism and Defects: The Carnitine Cycle. U: Lee B., Scaglia F. (ur) *Inborn Errors of Metabolism: From Neonatal Screening to Metabolic Pathways*. 1st ed., Oxford, Oxford University Press, str. 155.
63. Acil-CoA dehydrogease very long chain deficiency. On-Line URL: <https://www.omim.org/entry/201475?search=VERY%20LONG-CHAIN%20ACYL-CoA%20DEHYDROGENASE%20DEFICIENCY&highlight=%22acyl%7Ccoa%22%20%221ong%7Cchain%22%20%28acylcoa%7C%20%28longchain%7C%20%29%20deficiency%20dehydrogenase%20very> OMIM. Pristupljeno 29.6.2021.
64. Acil-CoA dehydrogease medium chain deficiency. On-Line URL: <https://www.omim.org/entry/201450?search=medium%20chain%20acyl-coa%20dehydrogenase%20deficiency&highlight=%22acyl%7Ccoa%22%20%28acylcoa%7C%20%29%20chain%20deficiency%20dehydrogenase%20medium> OMIM. Pristupljeno 29.6.2021.
65. Rohr F. (2015) Nutrition Management of Fatty Acid Oxidation Disorders. U: Bernstein L.E., Rohr F., Helm J.R. (ur) *Nutrition Management of Inherited Metabolic Diseases: Lessons from Metabolic University*. 1st ed., Springer International Publishing, str. 271-282.