
Ivo Barić (urednik) / NASLJEDNE METABOLIČKE BOLESTI 2009

Glavna tema: Središnji živčani sustav

PRIRUČNIK

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU - MEDICINSKI FAKULTET

Medicinska naklada, Zagreb

Sva prava pridržana. Ova je knjiga zaštićena autorskim pravima i ne smije se ni djelomično reproducirati, pohraniti u sustavu za reproduciranje, fotokopirati niti prenositi u bilo kojem obliku i na bilo koji način bez dopuštenja autora i izdavača.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU – MEDICINSKI FAKULTET

Katedra za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu
i
Hrvatsko društvo za humanu genetiku

sastanak Sekcije za bolesti metabolizma Hrvatskog pedijatrijskog društva
i
poslijediplomski tečaj stalnog medicinskog usavršavanja I. kategorije

Priručnik

Nasljedne metaboličke bolesti 2009

Glavna tema:

Središnji živčani sustav



Voditelj tečaja i urednik priručnika
Prof.dr.sc. Ivo Barić, dr.med.

Zagreb, 16. listopada 2009.
Mjesto održavanja: Hrvatski liječnički zbor, Šubićeva 9, Zagreb

Popis predavača na tečaju "Nasljedne metaboličke bolesti 2009":

Prof.dr.sc. Ivo Barić, dr.med. specijalist pedijatar
Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb

Prof.dr.sc. Nina Barišić, dr.med., specijalist pedijatar
Klinika za dječje bolesti Zagreb

Doc. dr. Ljerka Cvitanović Šojat, dr.med., specijalist pedijatar
Klinika za pedijatriju, Klinička bolnica „Sestre milosrdnice“, Zagreb

Dr. sc. Melita Čačić Hribljan, dr. med, specijalist pedijatar
Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb

Prof.dr.sc.Ksenija Fumić, spec. medicinske biokemije
Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb

Sanda Huljev Frković, dr.med., specijalist pedijatar
Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb

Prof.dr.sc. Miloš Judaš, dr.med., Hrvatski institut za istraživanje mozga,
Medicinski fakultet u Zagrebu

Radenka Kuzmanić Šamija, dr.med. specijalist pedijatar
Klinika za pedijatriju, Klinička bolnica Split

Prof.dr.sc. Vlatka Mejaški Bošnjak, dr.med., specijalist pedijatar
Klinika za pedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb

Marija Meštrović, dr.med., specijalist pedijatar
Klinika za pedijatriju, Klinička bolnica Split

Prof.dr.sc. Mladen Perić, dr.med., specijalist anesteziolog
Klinika za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje, KBC Zagreb

Danijela Petković Ramadža, dr. med., specijalizant pedijatrije
Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb

Ratimir Petrović, dr.med., specijalist nuklearne medicine
Klinički zavod za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja, KBC Zagreb

Doc.dr.sc. Marko Radoš, dr.med., specijalist radiolog
Klinički zavod za dijagnostičku i intervencijsku radiologiju, KBC Zagreb

Tajana Zah, dr.med., specijalist anesteziolog
Klinika za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje, KBC Zagreb

Sadržaj priručnika:

Razvojni i patofiziološki temelji vulnerabilnosti mozga	7
Miloš Judaš	
Dosezi scintigrafskih metoda analize mozga	10
Ratimir Petrović	
Kako prepoznati nasljednu metaboličku bolest pretragom cerebrospinalnog likvora?	17
Ksenija Fumić, Karmen Bilić	
Akutne encefalopatije zbog nasljednih metaboličkih bolesti	24
Ivo Barić	
Epileptički napadi zbog nasljednih metaboličkih bolesti	30
Marija Meštrović	
Što je novo u nasljednim metaboličkim leukoencefalopatijama?	41
Vlatka Mejaški Bošnjak	
Nasljedni poremećaji energetskog metabolizma mozga	51
Ivo Barić	
Rizici anestezije i njihovo suzbijanje u nasljednim metaboličkim bolestima	55
Mladen Perić, Tatjana Zah	
Kongenitalni mijastenični sindrom	60
Nina Barišić, Ivan Lehman	
Nasljedni ekstrapiramidni poremećaji razvojne dobi	66
Ljerka Cvitanović-Šojat, Romana Gjergja Juraški, Tamara Žigman, Ivana Maloča	
Razvojne anomalije mozga zbog nasljednih metaboličkih bolesti	73
Sanda Huljev Frković	
Peroksisomske bolesti	81
Melita Čačić Hribljan	
Dvojbe i teškoće u provođenju enzimske nadomjesne terapije – primjer Pompeove bolesti	90
Danijela Petković, Radenka Kuzmanić Šamija, Ivo Barić	

Predgovor

Područje nasljednih metaboličkih bolesti zadnjih se godina razvija vrlo brzo. Otkrivaju se nove bolesti, nove dijagnostičke metode i nove mogućnosti liječenja. Budući da je samo čitajući tekstove u standardnim udžbenicima vrlo teško pratiti taj napredak željeli smo ovim priručnikom dijelom pokriti prazninu u edukaciji i informiranosti svih koji s bolesnima od nasljednih metaboličkih bolesti dolaze u dodir. S obzirom da nije bilo moguće osvrnuti se na čitavo ovo područje za ovu priliku odabrali smo kao glavnu temu metaboličke bolesti koje zahvaćaju središnji živčani sustav.

Ovaj priručnik nije zamišljen kao skup preporuka koje treba obavezno slijediti nego kao smjernice koje predstavljaju stavove autora pojedinih priloga i koje je korisno razmotriti u svakog bolesnika individualno, ovisno o dijagnozi, kliničkoj slici i rezultatima laboratorijskih pretraga. U tom smislu, nadam se da će priručnik biti koristan kako zdravstvenom osoblju tako i bolesnicima koji boluju od metaboličkih bolesti koje zahvaćaju središnji živčani sustav.

Urednik

Razvojni i patofiziološki temelji vulnerabilnosti mozga

Miloš Judaš

Odsjek za razvojnu neuroznanost, Zavod za neuroznanost, Hrvatski institut za istraživanje mozga, Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Stijenka embrionalnog i fetalnog telencefalona je posve drugačije građena u odnosu na stijenku telencefalona u odraslom mozgu, a sastoji se od niza koncentričnih arhitektonskih odjeljaka u kojima se odvijaju specifični histogenetski procesi. Ti odjeljci su tzv. fetalne zone stijenke telencefalona, a maksimalno su razvijene u srednjem fetalnom razdoblju (15. – 24. postkonceptijski tjedan, PKT). Gledano od površine fetalnih komora prema pijalnoj površini mozga, to su: ventrikularna zona (VZ), subventrikularna zona (SVZ), intermedijalna zona (IZ), subplate zona (SP), kortikalna ploča (CP) i marginalna zona (MZ). VZ i SVZ su zone proliferacije, tj. simetričnih mitotičkih dioba (kojima nastaju neuralne stanice-preteče) i asimetričnih mitotičkih dioba (kojima nastaje jedna stanica-preteča koja se dalje dijeli i jedan mladi postmitotički neuron koji se nikad više ne dijeli). Neurogeneza, tj. proces stvaranja postmitotičkih neurona asimetričnim diobama, u moždanoj kori traje od 7. do 22. ili 23. PKT. Pritom svi piramidni neuroni nastaju u VZ, dok interneuroni nastaju dijelom u SVZ a dijelom u ganglijskom brežuljku (u kojem inače nastaju neuroni bazalnih ganglija). Svi neuroni rođeni u VZ i SVZ potom radijalno migriraju duž posebnih glijalnih vodiča (radijalne glijalne stanice) prema površini, gdje oblikuju kortikalnu ploču iz koje nastaju budući kortikalni slojevi II. – VI. Međutim, na samom početku neurogeneze nastaju dvije posebne fetalne klase neurona: Cajal-Retziusove stanice u marginalnoj zoni te neuroni subplate zone. Ti prolazni fetalni neuroni sudjeluju u prvim neuronskim krugovima fetalne moždane kore i imaju vitalnu ulogu u normalnom oblikovanju zrele moždane kore.

Migracija se odvija kroz intermedijalnu zonu (IZ), a to je ujedno i zona kroz koju rastu svi aferentni i eferentni aksoni moždane kore. Stoga je IZ fetalna bijela tvar, dok SP, CP i MZ predstavljaju razvojnu osnovu moždane kore. Najvažniji odjeljak razvojne osnove moždane kore je SP, koja se postupno formira između 10. i 15. PKT, razvojni maksimum doseže od 15. do 24. PKT, a potom se postupno stanjuje i nestaje, različitim tempom u različitim kortikalnim područjima. Primjerice, SP u primarnim kortikalnim poljima nestaje već do rođenja, no u asocijacijskoj prefrontalnoj kori je prisutna sve do 6. mjeseca nakon rođenja. Čak i kad nestane SP kao prepoznatljiva arhitektonska zona, u prvih 2-3 mm bijele tvari ispod moždane kore ostaje za cijeli život veliko mnoštvo preživjelih SP neurona – to su tzv. intersticijske stanice bijele tvari odraslog mozga. Fetalna SP služi kao „čekaonica“ za sve rastuće aferentne aksone moždane kore, koji u SP uspostave privremene

sinapse i privremene neuronske krugove, zbog toga što u vrijeme kad ti aksoni pristignu u odgovarajuće kortikalno područje njihovi budući trajni sinaptički partneri (npr. neuroni sloja IV) ili još nisu rođeni u VZ i SVZ ili tek migriraju kroz IZ i SP prema svom konačnom odredištu u kortikalnoj ploči. Fetalna SP sadrži sve glavne tipove neurona kao i buduća moždana kora: interneurone (koji sintetiziraju GABA i neuropeptide) i projekcijske neurone (koji sintetiziraju glutamat ili aspartat), te duge ulazno-izlazne (input-output) aksonske projekcije kao i lokalne neuronske krugove interneurona. Stoga je njezino postojanje podloga za niz prolaznih elektrofizioloških (EEG) i bihevioralnih pojava i stanja karakterističnih za mozak ranog i kasnog prematurusa.

Svi aferentni aksoni moždane kore se nakupljaju u SP „čekaonici“ od 15. do 24. PKT, a potom se talamokortikalni i acetilkolinski aferentni aksoni postupno prebacuju iz SP u CP od 24. do 28. PKT. Kortikokortikalni aksoni, koji su najbrojniji i najdulje se razvijaju, postupno se prebacuju iz SP u CP tijekom zadnjeg trimestra trudnoće (stoga SP i postoji najdulje u asocijacijskim područjima moždane kore, koja imaju najraznovrsnije i najobilnije kortikokortikalne veze).

Sinaptogeneza u moždanoj kori je tijesno vezana uz urastanje aferentnih aksona. Kortikalna ploča (CP) nastaje tijekom 8. PKT i njezina pojava označava prijelaz iz embrionalnog u fetalno razdoblje. Rana sinaptogeneza je bilaminarna, što znači da se prve sinapse pojave u razvojnoj osnovi moždane kore već tijekom 8. postkonceptijskog tjedna (PKT), ali ne u CP, nego iznad nje (u MZ) i ispod nje, u području gdje se počinje formirati SP. Kako se aferentni aksoni akumuliraju u SP, subplate zona postaje glavno mjesto sinaptogeneze u ranom i srednjem fetalnom razdoblju. Kad se aksoni (oko 23. ili 24. PKT) iz SP počnu prebacivati u CP, sinaptogeneza započinje i unutar same CP, isprva u njezinoj dubini, a potom i u površnijem dijelu (dakle, sinaptogeneza prati urastanje aksona). U tom razdoblju započinje i intenzivna diferencijacija neurona unutar same CP, pa se stoga unutar CP počnu po prvi puta uočavati i različiti slojevi (fetalne preteče odraslih slojeva II. – VI.). Iako sinaptogeneza tijekom posljednjeg trimestra trudnoće napreduje geometrijskom progresijom, treba istaknuti da je to postnatalni proces par excellence. Vrhunac sinaptogeneze (u smislu postojanja prekobrojnog broja sinapsi u moždanoj kori) se dosegne tek tijekom 2. ili 3. godine života, a višak sinapsi (znak nezrelosti neuronskih krugova) postoji u asocijacijskim područjima moždane kore sve do treće dekade (broj sinapsi pada na normalnu odraslu vrijednost između 20. i 30. godine života, ovisno o kortikalnoj regiji).

Mijelinizacija kortikalnih aksona započinje tek pred kraj trudnoće (oko 30. PKT), to jest tek nakon dovršetka proliferacije, migracije, urastanja aksona u ciljna područja i uznapredovale sinaptogeneze.

Obzirom da je hipoksično-ishemično oštećenje mozga (uz posljedično intraventrikularno/periventrikularno krvarenje – IVH/PVH te leukomalaciju, PVL – ili danas mnogo češće prisutno difuzno ishemijsko oštećenje mozga – DEHSI) glavna patologija perinatalne dobi i prijevremeno rođene djece, bitno je uočiti da u tom razdoblju SP čini skoro cijelu vanjsku polovicu stijenke telencefalona, dok IZ predstavlja periventrikularnu fetalnu bijelu tvar. Stoga lezija (osobito DEHSI) često pogađa ne samo rastuće aksone (bijelu tvar, tj. IZ) nego i samu razvojnu osnovu moždane kore, tj. subplate zonu. Nadalje, u srednjem fetalnom razdoblju u fetalnoj periventrikularnoj bijeloj tvari

postoje strateška, vulnerabilna područja u kojima se križaju različiti kontingenti rastućih aksona. Stoga i mala lezija u takvom području (primjerice lateralno od prednjeg roga moždane komore) može izazvati složeni/kombinirani deficit – motoričke, osjetne i kognitivne ispade karakteristične za kasniju cerebralnu paralizu.

Literatura

Kostović I, Judaš M, Petanjek Z (2008) *Structural development of the human prefrontal cortex. In: Nelson CA, Luciana M (Eds) Handbook of Developmental Cognitive Neuroscience. Cambridge, MA: MIT Press, str. 213-235.*

Kostović I, Judaš M (2007) *Transient patterns of cortical lamination during prenatal life: do they have implications for treatment? Neuroscience & Biobehavioral Reviews 31:1157-1168.*

Kostović I, Judaš M (2002) *Correlation between the sequential ingrowth of afferents and transient patterns of cortical lamination in preterm infants. Anatomical Record 267(1):1-6.*

Kostović I, Judaš M, Radoš M, Hrabač P (2002) *Laminar organization of the human fetal cerebrum revealed by histochemical markers and magnetic resonance imaging. Cerebral Cortex 12(5):536-544.*

Judaš M, Radoš M, Jovanov-Milošević N, Hrabač P, Štern-Padovan R, Kostović I (2005) *Structural, immunocytochemical, and MR imaging properties of periventricular crossroads of growing cortical pathways in preterm infants. Am J Neuroradiol 26:2671-2684.*

Petanjek Z, Judaš M, Kostović I, Uylings HBM (2008) *Lifespan alterations of basal dendritic trees of pyramidal neurons in the human prefrontal cortex: a layer-specific pattern. Cerebral Cortex 18:915-929.*

Judaš M, Sedmak G, Radoš M, Sarnavka V, Fumić K, Willer T, Gross C, Hehr U, Strahl S, Ćuk M, Barić I (2009) *POMT1-associated Walker-Warburg syndrome: A disorder of dendritic development of neocortical neurons. Neuropediatrics 40:6-14.*

Fertuzinhos S, Krsnik Ž, Imamura Kawasawa Y, Rašin MR, Kwan KY, Chen JG, Judaš M, Hayashi M, Šestan N (2009) *Selective depletion of molecularly defined cortical interneurons in human holoprosencephaly with severe striatal hypoplasia. Cerebral Cortex 19:2196-2207.*

Dosezi scintigrafskih metoda analize mozga u pedijatriji

Ratimir Petrović

Klinički zavod za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta u Zagrebu, Kišpatićeva 12, Rebro, 10000 Zagreb

Nuklearna medicina je visokorazvijena multidisciplinarna medicinska specijalnost koja se koristi radiofarmacima i instrumentacijom u proučavanju fizioloških i patofizioloških procesa i neinvazivno dijagnosticira, prati i liječi bolesti.

Pedijatrijska nuklearna medicina uključuje uporabu dijagnostičkih, terapijskih i znanstvenih procedura nuklearne medicine kod pedijatrijskih pacijenata. Te procedure su osjetljive, minimalno invazivne te vrlo sigurne i maksimalno prilagođene evaluaciji pedijatrijskih pacijenata, a cilj im je dobivanje najtočnije i najbolje informacije upotrebljavajući najviše standarde, u najkraćem mogućem vremenu, izlažući pritom pacijenta najmanjem mogućem zračenju.

Značaj je nuklearne medicine u njoj jedinstvenoj sposobnosti vizualizacije i kvantifikacije fizioloških i biokemijskih procesa u organizmu korištenjem radioaktivnih tvari.

Često korišteni radiofarmaci u nuklearnoj medicini

Radiofarmak	Poluživot	Tip radijacije	Tehnika snimanja
C-11	20.33 min	pozitron	PET
N-13	9.97 min	pozitron	PET
O-15	2.04 min	pozitron	PET
F-18	109.75 min	pozitron	PET
Tc99m	6.02 sati	gama	SPECT
In-111	2.8 dana	gama	SPECT
I-123	13 sati	gama	SPECT
Tl-201	73,1 sati	gama	SPECT
Terapijska primjena			
I-131	8 dana		
Y-90	2,7 dana		

Radiofarmak je ili samostalni radionuklid ili radionuklid vezan na molekuli nosača/čestice (lijek, protein, peptid), koji se unosi u organizam injiciranjem, gutanjem ili inhalacijom. Detekcijom tako apliciranog radiofarmaka prati se njegova biodistribucija u ciljnom organu, a rezultat tih pretraga su kvantitativne i kvalitativne informacije o funkcioniranju organa, sistema, ali i patoloških procesa u organizmu ispitanika. Radiofarmaci su fiziološki bezopasni, bez toksičnih i alergijskih reakcija. Ne dovode do hemodinamskih ili osmotskih opterećenja.

Informacije o anatomiji i morfologiji kao i druge informacije dobivene raznim metodama medicinskog oslikavanja upotpunjuju se funkcijskim podacima nuklearno-medicinskih pretraga (perfuzijske, dinamičke i statičke scintigrafije, jednofotonske emisijske i pozitronske tomografije).

Uređaji koji se koriste u nuklearnoj medicini su jednofotonska scintilacijska kamera i pozitronska kamera (jednoglave, dvoglave, troglave). Postoje hibridne PET/SPECT kamere, a danas su u uporabi i kombinirani uređaji pa tako postoje SPEC/CT, PET/CT kamere.

Doze radiofarmaka računaju se individualno, prema težini i dobi pacijenta, poštujući pri tom tzv. ALARA princip (as low as reasonably achievable). Superiorne fizikalne karakteristike ^{99m}Tc -Tehne-cija (poluvrijeme raspada 6,02 sata, niska gama energija od 146 keV, jednostavan način proizvodnje) učinile su taj izotop idealnim za obilježavanje različitih supstanci, proizvodnju radiofarmaka i jednostavnu detekciju gama kamerama.

Za procjenu regionalnog cerebralnog protoka trenutačno se koriste dva radiofarmaka – ^{99m}Tc -HMPAO (Ceretec) i ^{99m}Tc - ^{99m}Tc -ECD (Neurolite). Ovaj potonji ima dvije važne prednosti u odnosu na ^{99m}Tc -HMPAO; ima brži klirens iz krvi i stabilan je do 6 sati nakon pripravljanja. Zbog takve dugotrajne uporabljivosti radiofarmak se može ranije pripremiti i aplicirati tek kod pojave nekog kliničkog simptoma koji se ispituje, a vremenski je nepredvidiv (npr. epileptički napad, pojava patološke moždane aktivnosti tijekom migrenoznih ataka ili tranzitornih ishemičkih epizoda). Zajednička osobitost oba radiofarmaka je njihova sposobnost retencije u moždanom tkivu koja je proporcionalna regionalnom cerebralnom protoku. Oba se liganda (^{99m}Tc -HMPAO i ^{99m}Tc -ECD) po ekstrakciji u moždano tkivo raspadaju a tehnecij ostaje «zarobljen» u stanici, satima vjerno odražavajući regionalni protok u mozgu u trenutku injiciranja radiofarmaka. Do danas nema podataka u literaturi o štetnim efektima nakon aplikacije tih radiofarmaka pedijatrijskim pacijentima.

Najveći napredak je postignut u razvoju cijelog niza kratkoživućih radiofarmaka koji su omogućili kratka vremena pretraga i vrlo nisko radijacijsko opterećenje (npr. Tc^{99m} MAG3, Tc^{99m} ECD, Tc^{99m} MIBI). Uvođenje supstanci poput I123 MIBG s visokim afinitetom vezanja na neuroendokrine tumore pokazalo je mogućnost razvoja cijelog niza za bolesti visokospecifičnih radiofarmaka. Pozitronski radiofarmaci sve su dostupniji i koriste se u dijagnostici i praćenju malignih bolesti, detekciji inflamacije i infekcije itd. Nove molekule se kontinuirano ispituju; npr. α -[11C]-methyl-l-tryptophan (AMT), farmak koji se u povećanoj koncentraciji nakuplja u epileptogenim zonama u mozgu. Drugi primjer je 18F-DOPA za detekciju inzulinoma. Jedan od radiofarmaka za dijagnostiku tumora mozga i procjenu viabilnosti tkiva tumora je Tl201 (talij). Signifikantno nakupljanje talija nađeno je u tumorima prije terapijskih zahvata, pa stoga može poslužiti kao

indikator rezidualnog tumorskog tkiva nakon operativnih zahvata. Taliju je po svojim mogućnostima nakupljanja u tumorskom tkivu donekle sličan kationski Tc99m kompleks Tc99m-MIBI (sestaMIBI, Cardiolite).

U novije vrijeme u sve su češćoj uporabi kratkoživući pozitronski radionuklidi, a njihovu radioaktivnu emisiju moguće je kvantificirati. Jedini su radiofarmaci koji omogućuju izučavanje metabolizma prirodnih tvari, npr. glukoze, kisika, inkorporaciju amino kiselina u proteine, analize sinaptičkih procesa, itd. Najpoznatija je ^{18}F -2-fluoro-2-deoksi-D-glukoza (^{18}F -FDG). U fiziološkim uvjetima ^{18}F -FDG odražava metaboličko stanje cerebralne aktivacije čije je mijenjanje uvjetovano različitim (vanjskim i unutrašnjim) podražajima. Hipometabolizam je najčešća patološka promjena u bolestima moždanog tkiva zbog gubitka ili neaktivnosti neurona. Moguć je i povećan utrošak glukoze (hipermetabolizam) u stanjima poput aktivnog epileptičkog žarišta ili nekih malignih tumora.

PET radiofarmaci za scintigrafije mozga	
C11-timidin	Sinteza DNA
F18-3-deoxy-3-fluorotimidin	Sinteza DNA
I124-jododeoksiuridine	Sinteza DNA
C11-metionin	Transport amino kiselina
F18-alpha metil tirozin	Transport amino kiselina
C60-ATSM	Hipoksija
F18-fluoromizonidazol	Hipoksija
O15 H ₂ O	Perfuzija
F18-DOPA	Transport dopamina
F18-FDG	Glikoliza

Kliničke aplikacije

SPECT i PET imaju važnu ulogu u detekciji poremećaja funkcije mozga pedijatrijskih pacijenata. Te metode detektiraju promjene regionalnog cerebralnog protoka i metabolizma glukoze, ali također omogućuju lokalizaciju, kvantifikaciju i druga mjerenja biokinetike specifičnih receptora.

Depozicija i biokinetika radiofarmaka različita je u djece i odraslih a najbolji je primjer za to razvoj mozga.

Regionalni cerebralni protok (RCP) i metabolički obrasci u mozgu mijenjaju se s razvojnoum dobi. U novorođenčeta su RCP i metabolizam najintenzivniji u senzomotornom korteksu, talamusu, moždanom deblu i vermisu, dok s vremenom perfuzija i metabolizam postaju sve intenzivniji u

parijetalnom, temporalnom i okcipitalnom korteksu, bazalnim ganglijima i cerebelarnom korteksu da bi se naposljetku aktivnost intenzivirala i u frontalnom korteksu.

Najvažnije indikacije za radionuklidno funkcijsko oslikavanje mozga uključuju pomoć u dijagnostici epileptogenih žarišta (prije svega u djece s medikamentozno refrakternim epilepsijama koja su kandidati za operativni zahvat), u dijagnostici tumora mozga (procjena perfuzije te metaboličke aktivnosti) te dijagnostici cerebralne smrti. Područja intenzivnog ispitivanja uključuju poremećaje razvoja mozga, neuroreceptorske i većinu metaboličkih studija, jednako kao i tzv. aktivacijske studije u poremećajima učenja i ponašanja.

Oko 20% pacijenta s epilepsijom ne reagira adekvatno na medikamentozu terapiju. Kod pacijenata s refrakternim epilepsijama često u obzir dolazi i kirurško liječenje. U tipove epilepsija koje se mogu uspješno liječiti spadaju epilepsije s jednostavnim parcijalnim napadima, s kompleksnim parcijalnim napadima i neki tipovi s generaliziranim napadima. Najveći broj kandidata za operaciju spadaju u grupu pacijenata s kompleksim parcijalnim napadima čije je ishodište u temporalnom režnju.

Preoperativna evaluacija može detektirati pacijente s displazijama, poremećajima migracije, tumorima, vaskularnim malformacijama, ali i pokazati je li epileptogeni fokus duboko (npr. amigdala ili hipokampus) ili na površini. Ako je detekcija točna, a fokus samo jedan, često je ishod takvih operacija potpuni nestanak epileptičkih napada. Adekvatno izvedeni, operativni su zahvati uspješni kod 60 do 80% pedijatrijskih pacijenata. Parcijalni napadi frontalnih regija također mogu biti kirurški tretirani ako funkcijske i morfološke studije pokažu da su epileptogeni fokusi u područjima koja se mogu kirurški tretirati. Perfuzijski SPECT mozga omogućuje lokalizaciju epileptogenih fokusa omogućujući detekciju vremenski ovisnih promjena regionalnog cerebralnog protoka. Precizna lokalizacija fokusa moguća je subtrakcijom iktalnih od interiktalnih tomograma koji se potom koregistriraju i superponiraju s tomogramima MR-a.

Generalno je mišljenje da je za detekciju epilepsija najbolji iktalni SPECT, potom interiktalni PET pa tek onda interiktalni SPECT. SPECT ima još jednu jedinstvenu prednost pred svim ostalim pretragama. Naime, Tc99m ligandi koji se koriste za snimanje mozga retiniraju se u mozgu tijekom prvog prolaza farmaka moždanom cirkulacijom, a potom ostaju nekoliko sati fiksirani u mozgu. To znači da je moguće aplicirati radiofarmak i kada je pacijent daleko od kamere, u ugodnijem i za dijete smirenijem okolišu. Injiciranje radiofarmaka pod kamerom ponekad izaziva i znatnu anksioznost koja i sama može promijeniti regionalno cerebralni protok. Sedacija također mijenja RCP pa ju treba primijeniti tek nakon injiciranja radiofarmaka. Iako iktalni SPECT može pokazati epileptogeni fokus, bitno je definirati „epileptogenu zonu” (npr. područje mikrodisgeneze) a to je najpreciznije moguće učiniti interiktalnim PET-om.

Meta analiza je pokazala senzitivnost od 97% i specifičnost od 98,5% perfuzijskog SPECTa u slučajevima nalaza fokalnih hiperperfuzija u epilepsija temporalnih režnjeva. PET studije interiktalnih perioda pokazale su u bolesnika s epilepsijom temporalnog režnja karakteristična smanjenja metabolizma u zonama epileptogenih fokusa te pojačanu aktivnost metabolizma u iktalnim studi-

jama. SPECT ukazuje na vremenski ovisne promjene regionalnog cerebralnog protoka. U SPECT studijama temporalnih epilepsija hiperperfuzija je uočena u području epileptogenog žarišta u tijeku napada, u najranijim postiktalnim periodima pojačana perfuzija zahvaća srednje dijelove temporalnog režnja koju slijedi hipoperfuzija lateralnog temporalnog korteksa dok na kraju dolazi do hipoperfuzije čitavog temporalnog korteksa. Hipoperfuzija može perzistirati tijekom čitavog interiktalnog perioda a može doći i do potpune normalizacije cerebralne perfuzije. SPECT mozga jasno može pokazati fokalnu perfuzijsku patologiju u pacijenata s medikamentozno refrakternim epilepsijama. Te funkcijske patološke promjene često se mogu naći u pacijenata s normalnim ili gotovo normalnim CT/MR nalazom. U ostalim slučajevima područja patološke perfuzije mogu biti znatno veće u odnosu na morfološke lezije moždanog tkiva.

PET je u djece s infantilnim spazmima pokazao fokalne regije kortikalnog hipometabolizma (koje korespondiraju s EEG nalazom) a SPECT područja hipoperfuzije. Takvi patološki nalazi mogu obuhvatiti čitav temporalni ili parijetalni režanj ali i čitav supratentorijalni korteks. Promjene mogu biti uni- i multifokalne, unilateralne i bilateralne.

Kod tuberoznih skleroza pokazalo se da je izvor epileptičkih napada obično samo jedan tuber pa je kirurška resekcija takvog područja dobra terapijska opcija. Za detekciju fokusa koristi se kombinacija iktalnog i interiktalnog SPECT-a. Studije s novim PET farmakom α -[11C]metil-L-triptofanom (ATA) pokazale su pojačano nakupljanje u epileptogenim tuberima a smanjeno u ostalim.

U pacijenata s Lennox-Gastautovim sindromom PET je omogućio klasifikaciju bolesnika prema obrascu metaboličke patologije. Nađena su četiri metabolička podtipa – unilateralni žarišni, unilateralni difuzni i bilateralni difuzni hipometabolizam te normalan obrazac metabolizma.

Pretraga PET-om u epileptičkih afazija (Landau-Klauffner sindrom) ukazuje na multifokalna područja patološkog hipometabolizma, napose u frontalnim i okcipitalnim režnjevima te temporalno unilateralno.

Maligni tumori moza su jedan od vodećih uzroka smrti u djece, a drugi su po tipu učestalosti pedijatrijskih malignih bolesti nakon leukemije. MR i CT visoke su osjetljivosti i specifičnosti u detekciji tumora, međutim, ne mogu razlikovati radijacijsko nekrotično tkivo od aktivnog tumora dok PET i SPECT to mogu. Pretrage nuklearne medicine mogu pomoći u dijagnostici tumora i preciznoj lokalizaciji, detekciji metastatskog širenja bolesti, asistirati u planiranju terapije te praćenju i procjeni ishoda liječenja. Fuzija CT, MR, SPECT i PET tomograma može omogućiti preciznu procjenu volumena tumora. Najčešće se koristi nekoliko radiofarmaka: Tl201, Tc99m-MIBI i C11-metionin nakupljaju se isključivo u tumorima, Tc99m-HMPAO i Tc99m-ECD u tumorima i normalnom tkivu, a F18-FDG u normalnom tkivu i pojedinim tumorima.

Analiza PET-om metabolizma glukoze u bolesnika s lisencefalijom pokazale su izrazitu homogenost metaboličke aktivnosti u svim kortikalnim regijama, dajući mozgu poseban, «zaglađen» izgled.

PET omogućuje detekciju područja mikrodizgeneze a perfuzijske analize SPECT-om jasno detektiraju hipoperfuziju u područjima malformacija.

Heterotopije se u PET studijama prezentiraju kao područja hipermetabolizma u odnosu na susjednu bijelu tvar a često metabolički intenzivnija i od nekih struktura od sive tvari.

U djece sa cerebralnom paralizom i spastičkom tetraparezom vide se mala područja smanjene metaboličke aktivnosti koja odgovaraju preostalom kortikalnom i subkortikalnom tkivu. U spastičkoj hemiplegiji područja hipometabolizma odgovaraju strukturalnoj patologiji, ali su opsegom često veća od morfološke lezije. U horeoatetozu je metabolizam cerebralnog korteksa često uredan, uz hipometabolizam u talamusima i lentikularnim jezgrama te djelomično smanjen metabolizam u kaudatusima.

Cerebrovaskularne bolesti u djetinjstvu - SPECT sa I123-IMP u bolesti Moyamoya pokazao je da su perfuzijski defekti veći od onih viđenih drugim pretragama. SPECT studije vazodilatacijske rezerve (korištenjem Diamoxa koji povećava RCP 50 do 100% tijekom 30 minuta) pomažu u identifikaciji opsega zahvaćenih područja prije operativnih zahvata. U cijelom nizu cerebrovaskularnih bolesti kod djece Ts99mHMPAO pokazao je područja hipoperfuzije koja su korelirala s kliničkim i EEG nalazima, a u nekim slučajevima prethodila nalazima morfoloških pretraga.

SPECT mozga s Tc99m-HMPAO se koristi u detekciji komplikacija ekstrakorporalne membranske oksigenacije, a perfuzijski defekti koji su detektirani nisu bili nađeni ostalim pretragama. U sindromu horeoatetozе (kao posljedice hipotermije i hipoksije) SPECT studije regionalnog cerebralnog protoka pokazale su opsežna područja hipoperfuzije kortikalnih (frontalnog, parijetalnog i temporalnog korteksa) i subkortikalnih struktura.

Perfuzijski SPECT u djece s autizmom pokazao je u par studija hipoperfuziju frontalnih i temporalnih režnjeva dok PET studije pokazuju uglavnom uredan metabolizam glukoze i velikog i malog mozga. U adolescenata sa shizofrenijom nađena je «hipofrontalnost» - relativna redukcija frontalnog metabolizma i perfuzije (koja se uglavnom povezuje s «negativnom» simptomatologijom).

Radionuklidna planarna cisternografija služi u praćenju dinamike cerebrospinalne tekućina, a korisna je u dijagnostici hidrocefalusa, likvoreje, detekciji porencefaličkih cista i cerebrospinalnih šantova. Radiofarmaci koji se koriste su indij-111-dietilaminpentaoktenu kiselina (DTPA) ili tehnecij-99m-DTPA a sterilni radiofarmak se obično aplicira u lumbalni subarahnoidalni prostor.

Cerebralna perfuzijska radionuklidna angiografija s Tc99m-pertehnetatom u kombinaciji s planarnim scintigramima velikog broja impulsa koristi se u detekciji moždane smrti. Karakterističan nalaz je potpuni izostanak vizualizacije moždanog protoka iznad Willis-ovog kruga te nepojavlivanje aktivnosti u sagitalnom sinusu uz tipičan «hot nose» znak. Često se koristi i Tc99m-HMPAO kojim se može bolje procijeniti moguća rezidualna perfuzijska aktivnost u stražnjoj lubanjskoj jami. "The Brain Imaging Council of the Society of Nuclear Medicine" dozvoljava uporabu

i specifičnih (Tc99m-HMPAO) i nespecifičnih (Tc99m-pertehnetat) radiofarmaka u utvrđivanju odsutnosti ili prisutnosti cerebralnog protoka.

Literatura

Wagner HN Jr., Szabo Z, Buchanan J. *Principles of nuclear medicine*. W.B. Saunders Company, 1995.

Murray IPC, Ell PJ. *Nuclear Medicine in Clinical Diagnosis and Treatment* 2nd edn. Churchill Livingstone, 1998.

Pediatrics I. The Quarterly Journal of Nuclear Medicine 1997; 41(4): 263-335

Pediatric II. The Quarterly Journal of Nuclear Medicine 1998; 42(2): 83-147

Mohan KK, Chugani DC, Chugani HT. *Positron emission tomography in pediatric neurology*. *Semin Pediatr Neurol* 1999; 6:111-119.

Won HJ, Chang KH, Cheon JE, Kim HD, Lee DS, Han MH, Kim IO, Lee SK, Chung CK. *Comparison of MR imaging with PET and ictal SPECT in 118 patients with intractable epilepsy*. *AJNR Am J Neuroradiol* 1999; 20:593-599.

Lee JJ, Kang WJ, Lee DS, Lee JS, Hwang H, Kim KJ, Hwang YS, Chung JK, Lee MC. *Diagnostic performance of 18F-FDG PET and ictal 99mTc-HMPAO SPET in pediatric temporal lobe epilepsy: quantitative analysis by statistical parametric mapping, statistical probabilistic anatomical map, and subtraction ictal SPET*. *Seizure* 2005 Apr;14(3):213-20.

Khatua S, Jalali R. *Recent advances in the treatment of childhood brain tumors*. *Pediatr Hematol Oncol*. 2005 Jul-Aug;22(5):361-71.

Broderick P, Rahni D, Kolodny E. *Bioimaging in neurodegeneration*. Humana Press Inc. 2005.

Charron M. *Practical Pediatric PET Imaging*. Springer, 2006.

Zhuang H, Alavi A. *Pediatric PET Imaging, An Issue of PET Clinics*. Saunders Company, 2009.

Kako prepoznati nasljednu metaboličku bolest pretragom cerebrospinalnog likvora?

Ksenija Fumić, Karmen Bilić

Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku Kliničkog bolničkog centra Zagreb i Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kišpatićeva 12, 10 000 Zagreb

Središnji živčani sustav je najsloženiji i najzaštićeniji dio u našem tijelu. Zaštićen je koštanim oklopom, vezivnim ovojnica, cerebrospinalnim likvorom te serijom anatomske i funkcionalne barijere. Cerebrospinalni likvor (u daljnjem tekstu likvor) pruža mehaničku zaštitu mekom moždanom tkivu i služi očuvanju njegove osjetljive homeostaze. Specijalizirane stanice koje čine sustav krvno-moždane i krvno-likvorske barijere odvajaju središnji živčani sustav od periferije i čuvaju ga od djelovanja štetnih čimbenika. Kao takav, središnji živčani sustav izuzetno je osjetljiv na različite vanjske i unutarnje poremećaje koji se mogu desiti u bilo kojoj životnoj dobi. Nasljedne metaboličke bolesti samo su jedan od niza čimbenika (upalne bolesti živčanog sustava, tumori, neurodegenerativne bolesti, cerebrovaskularne bolesti i dr.) koji mogu uzrokovati njegove poremećaje.

Iako nerijetko postoji klinička sumnja na nasljedne metaboličke bolesti središnjeg živčanog sustava, zbog često neophodne teže dostupne dijagnostičke obrade, jedan dio njih ostaje neprepoznat, što se odražava i na terapijski pristup..

Cerebrospinalni likvor od bolesnika do laboratorija

Uz uobičajene pretrage krvi i urina te neuroradiološku dijagnostiku, pretraga likvora je važan, ponekad ključan dio dijagnostičke obrade pri sumnji na nasljednu metaboličku bolest koja zahvaća središnji živčani sustav. Budući da između likvora i izvanstanične tekućine živčanog tkiva nema prave zapreke u izmjeni tvari, u njoj se uvelike odražava biokemijsko stanje neurona u tkivu središnjeg živčanog sustava.

Svi mehanizmi cirkulacije likvora još uvijek nisu u potpunosti poznati, no smatra se da se najveći dio stvara u bogato vaskuliziranim koroidnim spletovima sekrecije i filtracije. Ostatak potječe od ekstracelularne tekućine mozga koja difuzijom ulazi u likvorske prostore kroz ependim, pija-glijalnu membranu na površini mozga i kroz perivaskularne prostore. Kroz otvore četvrte moždane komore ventrikularni likvor dopijeva u bazalne cisterne i subarahnoidni prostor

oko kralješnične moždine i moždanih polutki. Na taj se način stvori od 60 do 100 ml likvora u djece do treće godine života, a od 100 do 160 ml u veće djece i odraslih. Brzina stvaranja likvora u odraslih je oko 0,35 ml/min, što znači da se svakih 5 do 7 sati izmijeni njegov kompletan volumen. Tek oko 20% stvorenog likvora odlazi prema subarahnoidnom prostoru oko kralješničke moždine.

Za osnovne biokemijske, imunološke, citološke i mikrobiološke laboratorijske pretrage likvor se dobiva najčešće lumbalnom punkcijom između kralježaka L4 i L5. Količina uzorka pri punkciji ovisi o bolesnikovoj životnoj dobi i kliničkoj slici. Općenita preporuka za ove pretrage je da se tijekom punkcije likvor sakuplja frakcionirano (najčešće u tri epruvete) i potom što hitnije (najkasnije unutar 1 sata nakon punkcije) dostavi u laboratorij. Od metaboličkih pretraga, ovaj način dobivanja uzorka prihvatljiv je za analizu aminokiselina. Za ostale metaboličke pretrage potrebno je na odgovarajući način pripremiti bolesnika, odnosno prilagoditi način sakupljanja i pohrane likvora. Kako je ovo osnovni preduvjet za pravilno tumačenje izmjerenih vrijednosti, postupak koji se preporučuje posebno će biti opisan u daljnjem tekstu.

Lumbalna punkcija nije za bolesnika ugodan, a ponekad niti bezazlen dijagnostički postupak i za nju bi trebalo imati čvrste kliničke indikacije te provoditi preporuke o načinu uzimanja uzorka i dostave do laboratorija. Osim toga, nerijetko za ispravno tumačenje rezultata pretraga u likvoru treba istovremeno izmjeriti i njihovu koncentraciju u serumu (npr. glukoza, aminokiseline, imunoglobulini, albumin).

Likvor u zdrave osobe je bistra, bezbojna i acelularna tekućina, čiji se izgled i sastav mijenja ovisno i o životnoj dobi. Po kemijskom sastavu sličan je serumu, ali se koncentracije većine tvari razlikuju. Najveća razlika je u koncentracijama većih molekula kao što su proteini, lipidi i enzimi. Raspodjela tvari u likvorskim prostorima ovisna je o tome jesu li molekule moždanog ili krvnog podrijetla, kao i o brzini protoka likvora. Stoga se i njegov sastav mijenja ovisno o mjestu punkcije i uzetom volumenu za analizu. To je od posebnog značaja za analizu neurotransmitera, čija koncentracija raste povećanjem uzete količine likvora, jer se na taj način povlači i likvor uz kralješničnu moždinu gdje je i najveća koncentracija tih tvari.

Osnovne metaboličke pretrage likvora

Pod osnovnim metaboličkim pretragama likvora podrazumijeva se mjerenje koncentracije laktata (u slučaju da je on povišen i piruvata), aminokiselina, glukoze, proteina te u iznimnim slučajevima organskih kiselina. Preporuka je poštovati dijagnostički slijed, koji u najvećem broju slučajeva ovu laboratorijsku obradu predviđa (paralelno ili) nakon razmotrenih nalaza osnovnih i specifičnih metaboličkih pretraga u uzorcima krvi i urina, te nalaza slikovnih pretraga mozga. Ako je pak klinička slika takva da upućuje na određen metabolički poremećaj, treba što prije izmjeriti metabolite koji mogu dovesti do dijagnoze (npr. aminokiseline u likvoru i plazmi kod sumnje na neketotičnu hiperglicinemiju).

Laktat

Koncentracija laktata je pokazatelj anaerobne glikolize u moždanom tkivu i zato pripada osnovnim biokemijskim analizama likvora. Međutim, u svrhu traganja za mogućim nasljednim metaboličkim bolestima mjerenje laktata trebalo bi napraviti u odgovarajuće uzetom uzorku: 1 ml likvora odmah za vrijeme lumbalne punkcije treba kapati na 1 ml leđeno hladne perklorne kiseline, energično protresti i na hladnom dopremiti u laboratorij. Tek ovako izmjerena povišena koncentracija laktata ($> 2,1$ mmol/L) upućuje na moguće **mitohondrijske poremećaje stvaranja energije ili druge metaboličke bolesti koje su praćene trajnom ili duljom laktacidemijom**. Važno je naglasiti da normalna koncentracija laktata te poremećaje često ne isključuje. Koji put kod mitohondrijskih poremećaja stvaranja energije laktat bude povišen samo u likvoru, dok je u krvi normalan. Ako se uz povišenu koncentraciju laktata izmjeri i vrijednost piruvata, te izračuna njihov omjer, dobivene vrijednosti mogu bliže uputiti na razinu poremećaja u mitohondriju.

Aminokiseline

Kvantitativna pretraga aminokiselina u likvoru (za koju se u većini metaboličkih laboratorija koriste aminoanalizatori) neophodna je u bolesnika u kojih se poremećaji manifestiraju kao **nejasne encefalopatije i nekontrolirane epilepsije**. To je dovoljno osjetljiva metoda kojom se osim povišenih, mogu izmjeriti i snižene koncentracije pojedinih aminokiselina u odnosu na poznate referentne raspone prema dobi. Vrijedi naglasiti da su u likvoru koncentracije aminokiselina, osim glutamina, značajno niže nego u krvi. Za analizu je potrebno minimalno 0,5 ml likvora, koji treba u što kraćem vremenu nakon lumbalne punkcije dostaviti u laboratorij. Dulje stajanje (više od 1 sat) na sobnoj temperaturi uzrokuje pregradnju pojedinih aminokiselina. Uz likvor, preporučljivo je istovremeno analizirati i plazmu bolesnika. Ovakvo usporedno mjerenje aminokiselina ima poseban dijagnostički značaj pri sumnji na **neketotičnu hiperglicinemiju**. Uzrok bolesti je nedovoljna aktivnost kompleksa koji cijepa glicin, zbog čega se on nakuplja u plazmi, likvoru i urinu. U nekim slučajevima neketotične hiperglicinemije izmjerene su samo blago povišene koncentracije glicina u plazmi i urinu. Dijagnostički je pouzdan isključivo izračunat omjer glicina likvor/plazma (normalno $< 0,04$). Omjer veći od 0,06 s velikom vjerojatnošću upućuje na neketotičnu hiperglicinemiju.

Izmjerena snižena koncentracija serina u likvoru uz normalnu, ili blago sniženu koncentraciju u plazmi, upućuje na **manjak 3-fosfoglicerat dehidrogenaze**. Povišene koncentracije alanina i treonina u likvoru dobar su pokazatelj mogućeg mitohondrijskog poremećaja stvaranja energije. Osim glicina i glutamina, kao neurotransmitter djeluje i aminokiselina γ -amino maslačna kiselina (GABA, *engl. γ -aminobutiric acid*). Povišene koncentracije aminokiselina slobodne GABA, homokarnozina i β -alanina izmjerene su u likvoru bolesnika rijetke nasljedne metaboličke bolesti razgradnje GABA, **manjku GABA transaminaze**. Terapija antiepilepticima, prvenstveno vigabatrinom, također uzrokuje povišenu koncentraciju GABA u likvoru. Zbog toga je ovo nužno naznačiti u popratnom obrascu slanja uzorka u laboratorij. Blago povišena koncentracija GABA u likvoru nalazi se i kod **manjka sukcinilne semialdehid dehidrogenaze**. Specifičan biljeg ove bolesti je povišena koncentracija 4-hidroksimaslačne kiseline u urinu i likvoru te se ona

prvenstveno dijagnosticira analizom organskih kiselina u urinu. Snižena koncentracija slobodne GABA nalazi se ponekad kod **epilepsija ovisnih o vitaminu B₆**. Vitamin B₆ neophodan je kofaktor u metabolizmu aminokiselina i neurotransmitera. Biološki je aktivan jedino kofaktor piridoksal-5'-fosfat koji se stvara iz piridoksamina i piridoksina uz piridoksin 5'-fosfat oksidazu. **Manjak piridoksin 5'-fosfat oksidaze** dovodi do promjena biogenih amina te povećanih koncentracija glicina, taurina i histidina uz sniženi arginin. Druga epilepsija ovisna o vitaminu B₆ je **manjak α-aminoadipinske semialdehid dehidrogenaze**. Ova piridoksin ovisna epilepsija povezuje se s promjenama u genu za antikvitin, a njen pouzdan biokemijski biljeg je izmjerena povišena koncentracija pikepolične kiseline u likvoru i plazmi. Zbog mogućnosti liječenja piridoksinom, odnosno piridoksal fosfatom, na ove epilepsije bi trebalo posumnjati u što ranijoj dobi.

Glukoza

Glukoza u likvoru (referentni raspon 2,5-3,3 mmol/L) potječe iz krvi i normalan omjer likvor/serum je oko 0,6. Ovaj se omjer može donekle smanjiti pri velikim koncentracijama glukoze u krvi. Značajno smanjenje omjera (< 0,35) upućuje na nasljedni **manjak prijenosnika glukoze kroz krvno-moždanu barijeru** (GLUT-1, *engl. glucose transporter type 1 deficiency*). Posljedica ovoga je niska koncentracija glukoze u likvoru uz istovremeno normalnu koncentraciju u serumu. Zato u većini slučajeva djeca imaju epileptičke napade, hipotona su i imaju druge neurološke ispade, često razviju mikrocefaliju, te zaostaju u psihomotornom razvoju. No, od ove najčešće kliničke slike opisana su odstupanja. Ako postoji klinička sumnja na manjak GLUT-1, preporuka je da bolesnik gladije (ako je to moguće 4-6 sati) kako bi se uspostavila ravnoteža glukoze između krvi i likvora. Nakon toga treba izvaditi krv za mjerenje glukoze u serumu i tek tada uzeti likvor u kome se očekuje glukoza manja od 2,0 mmol/L. Na dijagnozu dodatno može uputiti izmjerena granična i/ili snižena vrijednost laktata u likvoru. Ketogena dijeta, kojom se mozgu osigurava energija iz drugih izvora, pokazala se uspješnom u sprečavanju epileptičkih napada.

Glukoza u likvoru snižena je i kod brojnih drugih stanja koji nisu uzrokovana nasljednom metaboličkom bolesti (gnojnih meningitisa, tuberkuloznog meningitisa, krvarenja, metastaza u moždanim ovojnicama, meningealne sarkoidoze, meningealne cisticerkoze, trihineloze i sl.).

Proteini

Koncentracija ukupnih proteina u likvoru je vrlo niska (200 do 300 puta manja od koncentracije u serumu). Od toga je oko 80% proteina u normalnom likvoru krvnog podrijetla npr. albumin, imunoglobulini), a ostatak proteina se uglavnom dodatno stvara unutar središnjeg živčanog sustava (npr. asijalotransferin, transtiretin, S-100 protein, neuron specifična enolaza). Kako su endotelne stanice krvno-moždane barijere gotovo nepropusne za proteine iz krvi, većina proteina krvnog podrijetla ulazi u likvor kroz krvno-likvorsku barijeru u području koroidnih spletova. Povišene koncentracije ukupnih proteina u likvoru (> 0,4 g/L) nalaze se u raznim bolestima središnjeg živčanog sustava (upale, ishemija, traume, tumori i dr.). No, takav nalaz može upućivati i na nasljedne metaboličke leukodistrofije: **leukodistrofiju Krabbe**, odnosno **metakromatsku leukodistrofiju**.

Organske kiseline

Za dijagnostiku organskih acidurija koje karakteriziraju neurološke promjene tzv. cerebralne organske acidurije, analiza organskih kiselina uobičajeno se provodi iz uzoraka urina, jer je u njemu njihova koncentracija najveća. No u iznimnim, rijetkim slučajevima, analiza organskih kiselina informativnija je iz likvora (za analizu je potrebno minimalno 1 ml). To su bolesnici u kojih postoji osnovana klinička sumnja na organsku aciduriju praćena odgovarajućim slikovnim pretragama mozga, a ponavljanim analizama organskih kiselina iz urina ne nalaze se očekivani promijenjeni metaboliti. Jedna od iznimaka je i sumnja na **manjak biotinidaze** koja dovodi do manjka vitamina biotina, neophodnog kofaktora u važnim metaboličkim reakcijama karboksilacije. U ovakvom slučaju je izmjerena povišena koncentracija laktata i 3-hidroksiizovalerijanske kiseline u likvoru pouzdanija od nalaza organskih kiselina u urinu. Bolest se obično očituje neurološkim simptomima kao što su hipotonija, ataksija i konvulzije, dok se promjene na koži javljaju tek u kasnijoj fazi bolesti. Važno ju je na vrijeme prepoznati, kako bi se liječenjem biotinom izbjegle ireverzibilne promjene središnjeg živčanog sustava.

Specifične metaboličke pretrage likvora

Prije navedene analize likvora dostupne su uglavnom u metaboličkim laboratorijima koji imaju opremu namijenjenu za provođenje osnovnog spektra metaboličkih pretraga (aminoanalizator, plinski kromatograf spektrometar masa, biokemijski analizator). Nažalost, u jednog dijela bolesnika ovo nije dovoljno za postavljanje dijagnoze, te se laboratorijska obrada likvora ponekad treba proširiti specifičnim metaboličkim pretragama kao što su biogeni amini, pterini i folati. Na ovoj razini dijagnostike izuzetno je važno pravilno uzeti, pohraniti i poslati uzorke likvora u za to specijalizirane metaboličke centre. Preporuka je da ako je to moguće, bolesnik prije lumbalne punkcije bude natašte, te barem 8 sati bez lijekova. Nadalje, pri sakupljanju frakcija likvora moraju se poštovati propisani protokoli pojedinih laboratorija iz sljedećih razloga: gradijent biogenih amina i pterina uvjetuje da je u svakoj frakciji likvora, pod istim okolnostima, određen i referentni raspon ovih metabolita; tetrahidrobiopterin (BH4) je u likvoru izrazito nestabilan i zato se frakcija predviđena za mjerenje pterina mora odmah nakon uzimanja (uz krevet bolesnika) zamrznuti u tekući dušik ili sakupiti u epruvetu u kojoj se nalaze antioksidansi; ako su u likvoru vidljive primjese krvi, potrebno ga je odmah centrifugirati i bistri likvor premjestiti u drugu epruvetu prije zamrzavanja (primjese krvi u likvoru uzrokuju brzu pregradnju biogenih amina). Odgovarajuće sakupljene i obilježene frakcije likvora čuvaju se zamrznute na -80°C , te se u suhom ledu šalju u inozemni laboratorij. Upravo iz spomenutih razloga, uputno je prije lumbalne punkcije od laboratorija u koji se uzorci namjeravaju slati dobiti i detaljne upute.

Biogeni amini i pterini

Neurotransmiteri su male molekule u koje se osim već prije spominjanih aminokiselina GABA, glicina i glutamina, ubrajaju acetilholin, te biogeni amini kateholamini i serotonin. Do sada je poznato deset enzima čija nedovoljna aktivnost uzrokuje nasljedne metaboličke bolesti u biosintezi i katabolizmu biogenih amina: kateholamina (dopamin, norepinefrin, epinefrin) te serotoninina (Ta-

Tablica 1 Nasljedne metaboličke bolesti metabolizma biogenih amina

	Manjak neurotransmitera u likvoru
POREMEĆAJI BIOSINTEZE	
Sinteza BH4	
GTP ciklohidrolaza	Dopamin, norepinefrin, epinefrin, serotonin
6-piruvoil-tetrahidrobiopterin sintaza	Dopamin, norepinefrin, epinefrin, serotonin
Sepiapterin reduktaza	Dopamin, norepinefrin, epinefrin, serotonin
Regeneracija BH4	
Pterin-4α-karbinolamin dehidrataza	nema
Dihidropteridin reduktaza	Dopamin, norepinefrin, epinefrin, serotonin
Tirozin hidroksilaza	Dopamin, norepinefrin, epinefrin
Dekarboksilaza aromatskih aminokiselina	Dopamin, norepinefrin, epinefrin, serotonin
Dopamin β-hidroksilaza	norepinefrin, epinefrin, (povišen dopamin)
POREMEĆAJI KATABOLIZMA	
Monoamino oksidaza	(povišen norepinefrin, povišen serotonin)
Monoamino oksidaza A i monoamino oksidaza B	(povišen norepinefrin, povišen serotonin)

blica 1). Svaka od ovih bolesti dovodi do karakterističnih promjena u koncentracijama biogenih amina i njihovih metabolita koji se mogu izmjeriti u likvoru. Kateholamini nastaju razgradnjom tirozina, a serotonin nastaje razgradnjom triptofana. Kako su u prvom koraku razgradnje ovih aminokiselina enzimi tirozin i triptofan hidroksilaza ovisni o kofaktoru BH4, bolesti sinteze i regeneracije BH4 pridružene su bolestima metabolizma biogenih amina.

Poremećaji metabolizma biogenih amina i pterina u likvoru vidljivi su i u bolesti **Segawa**, distoniji koja se uspješno liječi L-dopom.

Folati

Manjak folata u središnjem živčanom sustavu karakterizira snižena koncentracija 5-metiltetrahidrofolata u likvoru uz normalnu koncentraciju folata u plazmi i eritrocitima. Posljedica ovoga su brojni neurološki simptomi i epilepsija u djece. Jedna od pretpostavki je da je niska koncentracija 5-metiltetrahidrofolata u likvoru posljedica poremećaja receptora neophodnih za njihov prijenos kroz krvno-moždanu barijeru. Pravovremenim liječenjem foliničnom kiselinom može se uspješno nadoknaditi manjak 5-metiltetrahidrofolata u likvoru i tako spriječiti epileptične napade te značajno doprinijeti poboljšanju kliničke slike. Uzorak likvora za analizu folata potrebno je zaštititi od svjetla zamatanjem u aluminijsku foliju i zamrznuti na -80° C do slanja (u suhom ledu) u specijalizirani centar.

Unatoč provedenoj opsežnoj kliničkoj, neuroradiološkoj i metaboličkoj dijagnostici, jedan dio bolesnika ostaje i dalje bez dijagnoze. Oni su kandidati za protonsku spektroskopiju uzoraka

likvora, plazme i urina. To je za sada skupa tehnologija i dijagnostika je moguća u samo nekoliko inozemnih centara, nakon razmatranja svih nalaza. U tu svrhu je neophodno pohraniti (na -80°C) minimalno po 1 ml likvora, plazme i urina. Na isti način treba pohraniti i uzorke u moribundnih kod kojih postoji osnovana sumnja na nasljednu metaboličku bolest.

Novije tehnologije koje polako ulaze i u rutinsku primjenu u laboratorijima, kao što je proteomika likvora, otvaraju mogućnosti za jednostavniju dijagnostiku poznatih, kao i za otkrivanje novih nasljednih metaboličkih bolesti iz cerebrospinalnog likvora.

Literatura

Hoffmann GF, Surtees RAH, Wevers RA. *Cerebrospinal Fluid investigations for Neurometabolic Disorders. Neuropediatrics* 1998;29:59-71.

Hyland K, Surtees RA, Heales SJ, Bowron A, Howells DW, Smith I. *Cerebrospinal fluid concentrations of pterins and metabolites of serotonin and dopamine in a pediatric reference population. Pediatr Res* 1993;34:10-4.

Klepper J. *GLUT1 deficiency syndrome-2007 update. Developmental Medicine and Child Neurology* 2007; 49:707-716.

Akutne encefalopatije zbog nasljednih metaboličkih bolesti

Ivo Barić

Klinika za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta u Zagrebu,

Kišpatićeva 12, Rebro, 10000 Zagreb

Etiologija akutnih encefalopatija uzrokovanih nasljednim metaboličkim bolestima

Nekoliko skupina nasljednih metaboličkih bolesti mogu izazvati akutno pogoršanje neurološkog statusa praćeno poremećajem svijesti. Još se nazivaju i akutne metaboličke encefalopatije. Među njima su poremećaji ciklusa ureje, organske acidurije, leucinoza, mitohondrijski poremećaji stvaranje energije, metaboličke bolesti koje se očituju hipoglikemijom i sve koje mogu izazvati dovoljno teške epileptičke napade da oni ugrožavaju bolesnika. O zadnjoj skupini ovdje neće biti riječi jer je ona podrobnije opisana u tekstu kolegice Meštrović. Sve spomenute bolesti povezane su s visokim mortalitetom i često kroničnim invaliditetom u bolesnika koji su preživjeli akutnu metaboličku encefalopatiju. Cilj je ovog rada dati smjernice za pravilno postupanje u susretu s ovakvim bolesnicima kako bi ishod njihove bolesti u budućnosti bio bolji.

Klinička slika i laboratorijske osobitosti

Gledajući izdvojeno kliničke simptome i znakove, akutne metaboličke encefalopatije često nije lako razlikovati od encefalopatija drugih uzroka. Zato je važno kliničku sliku stavljati u kontekst anamnestičkih podataka i laboratorijskih nalaza. Osobitosti anamneze koje upućuju na postojanje nasljedne metaboličke bolesti su srodstvo roditelja, nepostojanje drugih razloga za akutnu encefalopatiju, slični slučajevi ili neobjašnjene smrti u obitelji i ponavljane epizode encefalopatije. U bolestima kod kojih postoji poremećaj razgradnje aminokiselina (poremećaji ciklusa ureje, organske acidurije, leucinoza) i nakupljanje toksičnih spojeva provocirajući čimbenik mogu biti pretjerani unos proteina ili kataboličko stanje uzrokovano gladovanjem ili nekom drugom stresnom situacijom povezanom s povećanim energetske potrebama, npr. interkurentnom infekcijom ili operacijom. Takve se situacije mogu zbiti već i u prvim danima života pa dobar dio bolesnika nakon kratkog asimptomatskog razdoblja doživljava naizgled nejasno pogoršanje koje brzo progredira. Spočetka su znakovi bolesti nespecifični- odbijanje hrane, povraćanje, slabost, hipotonija. Ukoliko se ne intervenira na njih se ubrzo nadovezuju pomicenje svijesti s različitim neurološkim poremećajima nakon čega slijede znakovi ugroženosti i drugih vitalnih funkcija i nerijetko smrt. U

bolesnika sa značajnijom rezidualnom aktivnošću zahvaćenog enzima metaboličke krize javljaju se često tek kasnije kad ih provociraju infekcije, febrilna stanja, cijepljenje, nedovoljan kalorijski unos ili neki drugi faktor koji ne mora uvijek biti prepoznat. Osim navedenih znakova, klinički se još mogu uočiti, ovisno o kojoj se bolesti radi- znakovi hipoglikemije u onih bolesti koje ona prati, hiperventilacija u bolesti s acidozom ili hiperamonijemijom (amonijak stimulira centar za disanje), povećanje jetre (npr. u bolesnika s Reyeovom sindromu sličnim stanjem), miris na karamel u leucinozi, znakovi srčane i/ili mišićne slabosti (npr. u nekim poremećajima beta-oksidacije masnih kiselina, karnitinskog ciklusa ili mitohondrijskog stvaranja energije).

Klasični osnovni laboratorijski pokazatelji koji se povezuju s akutnim metaboličkim krizama, pa tako i s akutnim metaboličkim encefalopatijama, i koje treba sustavno tražiti u svakog ugroženog bolesnika čija bolest nije razjašnjena su hipoglikemija, hiperamonijemija, hiperlaktatemija, acidoza i ketoza. Mogu biti prisutne pojedinačno ili u kombinacijama.

Dijagnostički pristup

Temelj povoljnog ishoda djeteta s akutnom metaboličkom encefalopatijom je pravodobno odnosno trenutno pomišljanje na nasljednu metaboličku bolest kao mogući uzrok bolesti u svakog bolesnika s etiološki nejasnom akutnom encefalopatijom. Ta pomisao mora biti popraćena istovremenim početkom dijagnostičke obrade u svrhu dokazivanja odnosno isključivanja nasljedne metaboličke bolesti. Svako kašnjenje može imati kobne posljedice po bolesnika. Ta obrada obuhvaća nekoliko skupina pretraga za koje je uzimanje svih uzoraka potrebno učiniti odmah, s izuzetkom Pete skupine koja se vrši u bolesnika u kojih je izgledan letalan ishod. Skupine neophodnih pretraga mogu se svrstati u sljedeće:

1. **Temeljne laboratorijske pretrage**, koje ionako treba učiniti u svih ugroženih bolesnika: CRP, potpuna krvna slika, elektroliti (K, Na, Cl, Ca), aminotransferaze, kreatin kinaza, urea, kreatinin, po mogućnosti i urat

2. **Temeljne**, zovimo ih, **metaboličke pretrage** jer omogućuju dobru orijentaciju o kojoj se skupini nasljednih metaboličkih bolesti radi: acidobazni status, glukoza u krvi, laktat, amonijak, ketonska tijela (bar u urinu). Jasno je da te pretrage ne odražavaju samo metaboličke procese. Diferencijalna dijagnoza na temelju odstupanja u rezultatima ovih pretraga nalazi se u tablici 1. Ta je tablica samo orijentacijska i ne znači da u svakoj od navedenih bolesti uz nju navedeni biokemijski poremećaj mora u svakog bolesnika postojati i biti jednako izražen. Razmatranja o izraženosti pojedinih biokemijskih poremećaja u navedenim nasljednim metaboličkim bolestima, kao i o međusobnoj povezanosti pojedinih abnormalnosti prelaze okvir ovog teksta. U tu svrhu se preporučuje literatura na kraju teksta i u svim nejasnim slučajevima što hitnija konzultacija s liječnicima i/ili biokemičarima u specijaliziranom centru.

3. Odabrane **specifične metaboličke pretrage**: orijentacijski testovi s urinom, aminokiseline u plazmi, po potrebi i likvoru, organske kiseline u urinu, karnitin (ukupni, slobodni, profil acil-karnitina)

Tablica 1 Osnovna diferencijalna dijagnoza odstupanja u rezultatima temeljnih metaboličkih pretraga zbog nasljednih metaboličkih pogrešaka (preuzeto iz reference 2 i neznatno modificirano)

Biokemijski nalaz	Diferencijalna dijagnoza
Hiperamonijemija	Poremećaji ciklusa ureje, organske acidurije, poremećaji beta-oksidacije masnih kiselina, transporta karnitina i karnitinskog ciklusa, lizinurična intolerancija proteina, sindrom hiperamonijemija i hiperinzulinizam, sindrom hiperamonijemija-hiperornitinemija-homocitrulinurija, neonatalni oblik manjka piruvat karboksilaze
Hipoglikemija	Glikogenoze, poremećaji glukoneogeneze, poremećaji beta-oksidacije masnih kiselina, transporta karnitina i karnitinskog ciklusa, hiperinzulinizam, intolerancija fruktoze, poremećaji enzima respiratornog lanca, u manjoj mjeri organske acidurije
Ketoza	Organske acidurije, poremećaji ketolize, glikogenoze, poremećaji glukoneogeneze, manjak enzima respiratornog lanca
Hiperlaktatemija	Poremećaji respiratornog lanca, Krebsovog ciklusa, manjak piruvat dehidrogenaze, poremećaji glukoneogeneze
Metabolička acidoza	Organske acidurije, poremećaji ketolize, glikogenoze, poremećaji glukoneogeneze, manjak enzima respiratornog lanca i drugi poremećaji mitohondrijskog stvaranja energije, leucinoza, poremećaji beta oksidacije, renalne tubularne acidoze

4. Za **naknadne pretrage** (npr. homocistein, hormone, slobodne masne kiseline, toksikološke pretrage i dr) treba pohraniti uzorke koji se koriste ovisno o informacijama dobivenim iz dodatne anamneze, kliničkog tijeka i rezultata pretraga u navedenim skupinama 1 do 3. To su uzorci urina i plazme.

5. **Od bolesnika koje ne možemo spasiti** također treba uzeti uzorke plazme i urina, pohraniti krv

s EDTA, učiniti biopsiju kože, po potrebi i drugih tkiva, sve s ciljem da se makar i postmortalno dođe do dijagnoze koja može biti od koristi drugim članovima obitelji.

Svaka bi stacionarna zdravstvena ustanova u koju mogu prispijeti bolesnici s akutnom metaboličkom encefalopatijom trebala imati napisani protokol ovog postupanja s uputama o uzimanju uzoraka. Službu treba organizirati već unaprijed tako da je rezultate pretraga iz skupina 1 i 2 moguće dobiti unutar 30 do 60 minuta, a rezultate pretraga iz treće skupine po potrebi unutar 1 do najkasnije 2 dana. To uključuje i organizaciju slanja uzoraka u najbliži metabolički laboratorij (u Hrvatskoj se jedini nalazi u Kliničkom bolničkom centru u Zagrebu) i hitno alarmiranje osoblja takvog laboratorija. Hitnoću i redosljed pretraga koje se od tog laboratorija traže najbolje da dogovore što prije liječnik koji vodi bolesnika, biokemičar u spomenutom laboratoriju i liječnik specijaliziran za metaboličke bolesti. To je ujedno i način da se uzorci uzmu kako treba i nalazi pravilno interpretiraju.

Liječenje

Opis specifičnog liječenja svake od nasljednih metaboličkih bolesti koja može uzrokovati kliničku sliku akutne encefalopatije nije moguće obuhvatiti tekstem ovog tipa pa se čitatelja upućuje na literaturu na kraju teksta. Međutim, početno liječenje u trenucima dok točan uzrok bolesti još nije sasvim jasan trebalo bi postati dobro uohodana rutina. Od presudne je važnosti da se te mjere liječenja počnu poduzimati zajedno s dijagnostičkom obradom, dakle od onog trenutka kad pred sobom imamo bolesnika s akutnom encefalopatijom nejasne etiologije. Mnogo je lakše liječiti bolesnika u početku metaboličke krize nego u uznapredovaloj fazi. Spomenute mjere uključuju:

1. **Prekid unosa u tijelo potencijalno toksičnih supstanci** (u akutnih encefalopatija bez drugih simptoma su to prvenstveno proteini).
2. **Opskrbu dovoljnom količinom energije** koja će prekinuti katabolizam (u bolestima u kojima razgradnja vlastitih proteina dovodi do stvaranja aminokiselina koje se ne mogu potpuno razgraditi- poremećaji ciklusa ureje, organske acidurije, leucinoza), osigurati dovoljne količine energije potrebne tijelu i spriječiti ponovnu pojavu hipoglikemije ako je ona dio kliničke slike bolesti. To se, u pravilu, postiže infuzijama glukoze koje trebaju, ovisno o dobi bolesnika osigurati oko 60 do 100 kcal/kg tjelesne mase na dan. Zapravo treba gledati da se unese približno ona količina koje bi bila potrebna bolesniku da je zdrav. To je samo infuzijama glukoze teško postići. Zato je, ako je moguće, dobro ostvariti i nekakav peroralni unos. Ako to nije slučaj, treba započeti liječenje s izdašnom infuzijom 10%-13%-tne glukoze. Ako se procijeni da masti u tog bolesnika nisu potencijalni patogenetski činitelj može se dodati i 1-3 g/kg tjelesne mase lipida na dan. Ako se tako ne može unijeti dovoljno kalorija potrebno je osigurati središnji venski pristup. Bolesnicima koji loše toleriraju odnosno iskorištavaju glukozu pa razviju hiperglikemiju treba dati inzulin, obično u početku 0,1 U/kg/sat. U nekih bolesnika te su potrebe veće. Pogrešno je zbog hiperglikemije umjesto davanja inzulina smanjiti unos glukoze u mjeri da opskrba energijom ne bude zadovoljavajuća. U dehidriranih bolesnika u kojih početak liječenja

uključuje davanje većih količina tekućine, npr. u bolusu, umjesto 10%-tne glukoze može se spočetka davati i 5%-tna glukoza. Unos glukoze uvijek mora pratiti i odgovarajući unos elektrolita. U želji da se unese dovoljno energije ponekad je unos tekućine veći nego što je potrebno pa nekim bolesnicima treba po potrebi davati i diuretike, posebno onima, npr. s hiperamonijemijom, kod kojih postoji edem mozga ili opasnost da on nastane. U bolestima u kojima je samo potrebno održavati euglikemiju, npr. glikogenezama, dovoljan unos glukoze je oko 7-10 mg/kg/min za novorođenče, a za stariju djecu ovisno o dobi manji. U bolesnika s hiperinzulinizmom te potrebe mogu biti i značajno veće. Ovakav pristup s davanjem puno glukoze u rijetkih bolesnika može biti štetan, npr. u nekih s mitohondrijskim poremećajima stvaranja energije. No, ipak je opravdan dok je stanje etiološki nejasno jer pomaže golemoj većini bolesnika. Ako postoji laktacidoza, bez hipoglikemije, poremećene oksigenacije i slabosti cirkulacije u bolesnika u kojih dominiraju cerebralni simptomi i mišićna slabost, pa time i temeljita sumnja na mitohondrijski poremećaj stvaranja energije prihvatljivo je ograničiti unos glukoze na 3-4 mg/kg/min i dati lipide 2 do 4g/kg/dan. Sve ove okvirne preporuke vrijede uglavnom za dojenačku i mlađu dječju dob, a dodatno ih treba prilagoditi u svakog bolesnika ovisno o brojnim okolnostima (stanje mozga, febrilitet, stres, aktivnost, temperatura okoline, dob, itd).

3. **Specifične detoksikacijske i druge mjere.** Ove mjere uključuju u poremećajima ciklusa ureje davanje natrijevog benzoata i natrijevog fenilacetata/fenilbutirata, arginina ili citrulina, u organskim acidurijama davanje L-karnitina u dozi od 100-200 mg/kg (ako je moguće u venu), metronidazola, Na-benzoata/fenilbutirata ako postoji značajnija hiperamonijemija, u izovalerijanskoj aciduriji glicina. Ekstrakorporalnu detoksikaciju treba ozbiljno razmotriti ako je amonijak viši od 400 $\mu\text{mol/L}$ ili ako ne pada na primjenu drugih mjera. Metoda izbora ovisi o lokalnim činiteljima. Hemodijaliza, hemofiltracija i hemodijafiltracija su efikasnije od peritonealne dijalize i eksangvinotransfuzije. U bolesnika s leucinozom ove mjere treba poduzeti ako je leucin viši od 1500 $\mu\text{mol/L}$, a opravdane su i u svih drugih bolesnika u metaboličkoj krizi u kojih druge mjere ne pomažu.
4. **Vitamine i ostale lijekove.** U životno ugroženih bolesnika u kojih se sumnja na nasljednu metaboličku bolest u infuzijske otopine od samog početka liječenja treba dodati L-karnitin u dozi od 100 mg/kg/dan u 3-4 doze, tiamin 3x50 mg dnevno, riboflavin 3x50 mg dnevno, kobalamin 1-2 mg dnevno u jednoj do dvije doze. Biotin treba dati peroralno 10-15 mg dnevno u jednoj dozi. U djece u koje se zbog tvrdokorne hipoglikemije sumnja na hiperinzulinizam treba razmotriti davanje diazoksida, glukagona i oktreotida. U novorođenčadi i male dojanečadi s konvulzijama rezistentnim na terapiju treba uz ostalo iskušati i piridoksin u jednokratnoj dozi od 100 mg intravenski, piridoksal-fosfat u dozi 3x10 mg/kg na dan i kalcijev folinat u jednokratnoj dozi od 3 mg/kg/dan.

Uz sve navedene mjere od odlučujuće je važnosti i dobra suportivna terapija. Posebno se to odnosi na mjere za suzbijanje edema mozga, koji je u uznapredovalim fazama ovih bolesti čest, češće fokalan, a ponekad difuzan. U ovakvim situacijama velika je opasnost trajnih oštećenja mozga pa je umijeće djelovanja na moždanu cirkulaciju i intrakranijalni tlak od izuzetne važnosti. Također,

u vođenju ovakvih bolesnika također treba stalno evaluirati učinak liječenja, procjenjivati tijek bolesti i rezultate pretraga koji stižu i prema tome, ako je potrebno i više puta tijekom dana, podešavati liječenje. Kao i u odabiru dijagnostičkih postupaka, tako i za liječenje preporučljivo je konzultirati se sa specijaliziranim centrima. Ne treba zaboraviti da je u akutnim metaboličkim encefalopatijama, kao i u mnogim drugim situacijama u medicinskoj praksi, neophodan individualan pristup pa ovaj tekst predstavlja prihvaćene smjernice, ali ne i pravila kojih se u svakoj situaciji treba slijepo pridržavati.

Literatura

1. Barić I. *Nasljedne metaboličke bolesti*. U: Mardešić D, i sur. *Pedijatrija*. Zagreb: Školska knjiga, 2003. Str. 129-92.
2. Barić I. *Akutno ugroženi bolesnici - kako prepoznati i suzbiti nasljedni metabolički poremećaj?* *Paediatr Croat* 2009;53 (supl 1):133-7.
3. Blau N, Duran M, Blaskovics M, Gibson M, ur. *Physician's guide to the laboratory diagnosis of metabolic diseases*. 2. izd. Berlin: Springer Verlag, 2003.
4. Blau N, Hoffmann GF, Leonard J, Clarke JTR, ur. *Physician's guide to the treatment and follow-up of metabolic diseases*. Berlin: Springer Verlag, 2006.
5. Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe G, Walter J, ur. *Inborn metabolic diseases. Diagnosis and treatment*. 4 izd. Berlin: Springer, 2006.
6. Hoffmann GF, Nyhan WL, Zschocke J, Kahler SG, Mayatepek E. *Inherited metabolic diseases*. Philadelphia: Lippincot Williams & Wilkins, 2002.
7. Lyon G, Kolodny EH, Pastores GM. *Neurology of hereditary metabolic diseases of children*. 3. izd. New York: McGraw-Hill, 2006.
8. Prietsch V, Lindner M, Zschocke J, Nyhan WL, Hoffmann GF. *Emergency management of inherited metabolic diseases*. *J Inher Metab Dis* 2002;25:531-46.
9. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D. *The metabolic and molecular basis of inherited diseases*. 8. izd. New York: McGraw-Hill, 2001.
10. Valayannopoulos V, Romano S, Mention K, et al. *What's new in metabolic and genetic hypoglycaemias: diagnosis and management*. *Eur J Pediatr* 2008;167:257-65.
11. Zschocke J, Hoffmann GF. *Vademecum metabolicum*. Stuttgart: Milupa & Schattauer, 2004.

Epileptički napadaji zbog nasljednih metaboličkih bolesti

Marija Meštrović

Klinika za pedijatriju, Klinička bolnica Split

Iako su konvulzije i epileptički napadaji relativno čest simptom metaboličkih bolesti, prirođene bolesti metabolizma rijetko uzrokuju epilepsiju. Epilepsija u sklopu prirođene metaboličke bolesti može biti dobro kontrolirana specifičnim liječenjem same metaboličke bolesti, npr. dijetom. Konvulzije ili epileptički napadaji mogu biti prvi i u početku bolesti jedini simptom metaboličke bolesti. Neovisno o uzroku, djecu s epilepsijom liječimo konvencionalnim antiepileptičkim lijekovima osim u rijetkim slučajevima kad je npr. hipoglikemija razlog epileptičkog napadaja. Ako dijete ima epilepsiju, liječenje antiepileptičkim lijekovima je neophodno i prije postavljene dijagnoze metaboličke bolesti. Antiepileptičke lijekove je često potrebno davati i u kasnijem tijeku bolesti, jer nekontrolirani epileptički napadaji doprinose dodatnoj psihomotornoj retardaciji i dodatnom cerebralnom propadanju. Epileptolog sebi svakodnevno postavlja pitanje kojem bolesniku s epilepsijom treba metabolička obrada i za koju metaboličku bolest. Odgovor sigurno nije lak. Na metaboličku bolest treba posumnjati u djece koja imaju epileptičke napadaje unatoč primijenjenoj terapiji, zatim druge prateće simptome, poput mentalne retardacije ili poremećaja pokreta, kao i patološki nalaz dobiven magnetskom rezonancijom (MR) mozga suspektan na neke nasljedne metaboličke bolesti. Tip napadaja je rijetko specifičan za pojedinu metaboličku bolest, kao što ni elektroencefalogram (EEG) nije tipičan za pojedinu metaboličku bolest. Dakle, drugi su klinički simptomi i drugi laboratorijski nalazi koji služe dijagnosticiranju metaboličke bolesti i upućuju na specifično liječenje.

Patogeneza epilepsija u prirođenim metaboličkim bolestima je različita u odnosu na samu metaboličku bolest (Tablica 1).

Bolesti zbog manjka energije

Poremećaji mitohondrijskog stvaranja energije. Djeca s prirođenim metaboličkim bolestima zbog poremećaja mitohondrijskog stvaranja energije ponekad već u dojenačkoj dobi imaju epilepsiju, koju najčešće prati rana progresivna psihomotorna retardacija. Klinički se mogu vidjeti sve vrste epileptičkih napadaja. Nedovoljno stvaranje ATP-a, smanjena sinteza mnogih spojeva poput ekscitacijskog neurotransmitera glutamata, teškoće održavanja jonskih pumpi i poremećaj unutarstaničnog transporta, uzrokuju nestabilnost stanične membrane neurona, koja je odgovorna

Tablica 1 Patogenetski uzroci epileptičkih napadaja i metaboličke bolesti koje se mogu očitovati epilepsijom

Manjak energije	Hipoglikemija, manjak GLUT-1, manjak kreatina, poremećaji respiratornog lanca
Toksični učinak	Aminoacidopatije, organske acidurije, poremećaji ciklusa ureje
Funkcionalno oštećenje neurona	Bolesti nakupljanja
Oštećenje neurotransmiterskog susutava	Neketotična hiperglicinemija, nedostatak GABA transaminaze, nedostatak sukcinil semialdehid dehidrogenaze
Pridružene malformacijama mozga	Peroksisomske bolesti (Zellweger), Walker-Warburg sindrom
Ovisne o vitaminima ili kofaktorima	Manjak biotinidaze, bolesti ovisne o piridoksinu i piridoksalfosfatu, bolesti ovisne o foliničnoj kiselini
Nasljedne bolesti membranskog transporta	Kanalopatije (bolesti jonskih kanala)

za epileptogenu aktivnost.

Mutacije mitohondrijske DNA koje uzrokuju **mioklonu epilepsiju s „iskidanim mišićnim vlaknima„** (engl. myoclonus epilepsy and ragged red fibres - **MERRF**), odgovorne su za neravnotežu mitohondrijskog kalcija i na taj način doprinose prepođražljivosti stanične membrane za napadaje. Bolest obično počinje u drugom desetljeću života ili kasnije, progresivnom mioklonom epilepsijom s tipičnim EEG nalazom, patološkim nalazom somatosenzornih potencijala i fotosenzitivnošću. Klinički se bolest očituje najčešće kortikalnim mioklonusom ali su moguće i druge vrste napadaja.

Poremećaj metabolizma mitohondrijskog glutamata uzrokuje jedan oblik **rane mioklone encefalopatije** (engl. early myoclonic epileptic encephalopathy - **EMEE**). Glutamat je ekscitacijski neurotransmiter i različite kliničke manifestacije bolesti posljedica su različitih poremećaja metabolizma glutamata.

Bolest uzrokovana mutacijama mitohondrijske DNA, **mitohondrijska encefalopatija s laktičkom acidozom i epizodama sličnim moždanom udaru (sindrom MELAS)** često je udružena s epileptičkim napadajima. U akutnoj fazi prevladavaju parcijalni motorni napadaji s povremeno mogućim žarišnim epileptičkim statusom. Epileptička aktivnost uzorkovana je sporadičnim le-

zijama nastalim u pojedinačnim akutnim epizodama. Epileptički napadaji dobro se kontroliraju karbamazepinom, okskarbamazepinom ili topiramatom.

Dojenčad i mala djeca s **mioklonim encefalopatijama** imaju učestale mioklone napadaje, klinički ponekad vrlo diskretne, uz tešku progresivnu mentalnu retradaciju. EEG nalazi mogu zabilježiti „burst-supresion“ ili iregularna poli-šiljak val paroksizmalna izbijanja za vrijeme mioklonusa. Mogu se vidjeti i drugi tipovi napadaja: tonički, toničko-klonički, parcijalni hipo- ili hiperomotorni napadaji, te infantilni spazmi. Sve ove bolesti treba liječiti antiepileptičkim lijekovima, uzевši u obzir semiologiju napadaja i nalaz EEG-a. Sve mioklone epilepsije preporuča se započeti liječiti valproatom, na kojeg dobro reaguju djeca koja boluju od idiopatskih mioklonih epilepsija. Za simptomatske mioklone epilepsije uzrokovane mitohondrijskim bolestima treba izbjegavati valproat. Valproat se metabolizira u jetri hidroksilacijom, mitohondrijskom beta oksidacijom i manjim dijelom konjugacijom glukuronida. Nemetabolizirani valproat ima toksični učinak koji se očituje tremorom, povećanjem jetrenih transaminaza, hiperamonijemijom i na kraju nekrozom jetre koju treba pokušati liječiti i L-karnitinom.

Poremećaji metabolizma kreatina. Bolesti metabolizma kreatina uzrokovane su trima različitim nedostacima

1. X-vezani poremećaj transporta kreatina preko krvno-moždane barijere
2. Poremećaj sinteze kreatina zbog manjka gvanidinoacetat metiltransferaze (GAMT)
3. Poremećaj sinteze kreatina zbog manjka arginin glicin aminotransferaze (AGAT)

Samo **manjak GAMT** obavezno je udružen s epilepsijom, najčešće otpornom na konvencionalne antiepileptičke lijekove. Nadoknada kreatina najčešće dovodi do poboljšanja. Rano, presimptomatsko liječenje sprječava neurološke simptome. Epileptički napadaji mogu biti različiti. U dojenčadi bolest najčešće započinje Westovim sindromom. Početna terapija za sve vrste Westovog sindroma je kortikotropni hormon ACTH, a preporučeni antiepileptici su felbamat, lamotrigin, tiagabin, topiramat i zonisamid, a najučinkovitiji je vigabatrin. Atipični apsansi, astatsko miokloni i generalizirani toničko-klonički napadaji obično se javljaju u kasnijoj dobi. Slikovne pretrage su bez osobitosti, rijetko je u neke djece moguće vidjeti patološki signal u bazalnim ganglijima. Na dijagnozu nedostatka GAMT-a možemo posumnjati ako je pozitivan biokemijski test gvanidinske komponente u urinu ili ako je u serumu ili urinu snižen karnitin. Potonje je dostupna i korisna, ali nažalost za ovu bolest i nedovoljno pouzdana orijentacijska dijagnostička pretraga. Sve bolesti s nedostatkom kreatina izazivaju uočljiv nedostatak kreatina i kreatin-fosfata u nalazu protonske magnetske rezonancije sa spektroskopijom (IH-MRS) u mozgu i cerebrospinalnom likvoru.

Manjak prijenosnika glukoze preko krvnomoždane barijere (GLUT 1). Manjak GLUT -1 uzrokuje poremećaj transporta glukoze kroz krvno moždanu barijeru, a uzrokovan je dominantnom mutacijom gena za GLUT 1. Klinički se očituje farmakorezistentnom epilepsijom, koja počinje u prvoj godini života, a praćena je psihomotornom retardacijom i mikrocefalijom. Ataksija

je čest prateći simptom, uz bolesti pokreta, poput diskineze. Nalaz EEG-a pokazuje epileptogena generalizirana ili žarišna izbijanja, osobito nakon jela. Nalazi slikovnih pretraga, poput ultrazvuka mozga, kompjutorizirane tomografije i MR mozga ne pokazuju patološke promjene. Na dijagnozu se posumnja ako je omjer glukoze u likvoru i krvi snižen (manji od $\sim 0,46$ mmol/L). Dijagnoza se potvrđuje dokazivanjem smanjenog GLUT-a na eritrocitnoj membrani, ili analizom mutiranog gena. Bolest se liječi ketogenom dijetom. Ketonska tijela su alterantivni energijski supstrat za mozak. Uobičajeni antikonvulzijski lijekovi koji se upotrebljavaju za prekidanje epileptičkog statusa, poput fenobarbitala, kloralhidrata ili diazepama, nisu učinkoviti u ovoj bolesti.

Hipoglikemija. Hipoglikemija nije bolest, ali je obilježje mnogih nasljednih metaboličkih bolesti i zato čest uzrok metabolički uzrokovanih konvulzija. Dugotrajni epileptički napadaji uzrokovani hipoglikemijom mogu uzrokovati hipokampalnu sklerozu i temporalnu epilepsiju (engl.: *temporal lobe epilepsies*, TLE), a u novorođenčeta češće okcipitalnu epilepsiju (engl. *occipital lobe epilepsies*, OLE). Budući da je hipoglikemija česta u djece s metaboličkim bolestima, specifična, temeljita metabolička obrada se mora učiniti u sve djece s dokazanom hipoglikemijom. Najvjero-dostojniji su nalazi iz uzoraka uzetih u vrijeme hipoglikemije. Neovisno o trenutku uzimanja treba ih vrlo pažljivo interpretirati.

Bolesti nakupljanja

Mnoge bolesti nakupljanja udružene su s epilepsijom koju je teško kontrolirati. Epilepsija je redovita pojava u **Tay – Sachs-ovoj bolesti**, s mioklonusom, atipičnim apsansom i motornim parcijalnim napadajima. **Sijalidoza tipa 1** počinje progresivnom mioklonom epilepsijom, a praćena je promjenama retine izgleda pjege poput višnje (engl. „*cherry red spot*“).

U različitim oblicima **neuralne ceroidne lipofuscinoze (NCL)** epilepsija je važan znak. U infantilnom obliku (**NCL 1**) napadaji počinju na kraju prve godine života, mioklonusom, atoničkim, i toničko-kloničkim napadajima. Nakon epilepsije razvija se brza demencija uz poremećaje pokreta. MR mozga u NCL1 pokazuje kortikalnu, cerebelarnu atrofiju i atrofiju bijele tvari i sekundarni patološki signal bijele tvari. Elektroretinogram je promijenjen, kao i evocirani vidni potencijali u ranoj fazi bolesti. Kliničke manifestacije kasne infantilne neuralne ceroidne lipofuscinoze (**NCL2**) obično počinju u drugoj godini života. Dijete ima prolazne govorne razvojne poteškoće, a epileptički napadaji se javljaju kasnije. Napadaji mogu biti generalizirani toničko-klonički, atonički, i astatski miokloni. Mnoga djeca mogu imati kliničku sliku mioklono-astatske epilepsije. EEG nalaz pokazuje šiljak val kompleksa uz provokaciju spore fotostimulacije od 1 Hz, koji su najizraženiji u okcipitalnoj regiji. Početni lijek izbora je valproat, ali su napadaji često rezistentni na terapiju. Dijagnoza NCL 1 i NCL 2 postavlja se temeljem analize enzimске aktivnosti palmitoilproteintioesteraze (NCL1) i tripeptidilpeptidaze 1 (NCL2) u krvnim stanicama, najčešće leukocitima ili analizom mutiranog gena (CLN 1, CLN 2, i u kasnim infantilnim formama CLN 5, CLN 6 i CLN 8) Juvenilna forma (**NCL 3**) također uzrokuje epilepsiju

Bolesti s toksičnim učinkom na središnji živčani sustav

Toksični učinak na središnji živčani sustav imaju mnoge prirodene bolesti metabolizma. Epileptičke napadaje mogu rijetko imati djeca s **bolestima defekta ciklusa ureje**. Epileptički napadaji su ponekad vide u nekoj od faza **hiperamonijemije**, ali oni općenito nisu karakteristično obilježje velike većine bolesti s hiperamonijemijom.

Prirodene bolesti **metabolizma aminokiselina** mogu uzrokovati epileptičke napadaje. U neliječene djece s **fenilketonurijom** velik broj neliječenih ima epilepsiju. Westov sindrom s hipsaritmiom i infantilnim spazmima je najčešći epileptički sindrom u dojenčadi s fenilketonurijom. Ako se bolest otkrije skriningom i na vrijeme započne dijeta, djeca nemaju napadaja. Epileptički napadaji mogu pratiti **bolest javorova sirupa** (od engl. *maple syrup urine disease*, MSUD) u novorođenačkoj dobi, iako to nije prevladavajući simptom. EEG nalaz pokazuje „ritam poput češlja“, uz najčešće brzi pozadinski ritam u središnjim područjima. Dijetom se kontrolira i epilepsija. Nekoliko **organskih acidurija** mogu imati epileptičke napadaje u vrijeme akutnog pogoršanja. Najvažnije među njima su **su neke tzv. cerebralne organkse acidurije u kojima nema klasične metaboličke krize**. U **glutaričkoj aciduriji tipa 1** napadaji mogu biti u akutnoj fazi, ali su rijetki nakon početka liječenja i nisu značajna karakteristika bolesti. Epilepsija je relativno česta u djece s manjkom **2-metil-3-hidroksimaslačne – Co A dehidrogenaze**. Također je česta pojava u djece s bolestima metabolizma **purina i pirimidina**. U **nedostatku liaze adenilosukcinata** epilepsija je česta, a započinje najčešće poslije prve godine života ili rano u novorođenačkom periodu. Bolnici imaju tešku psihomotornu retradaciju i kliničku sliku sličnu autizmu.

Bolesti s oštećenjem neurotransmiterskog sustava

Među prirođenim metaboličkim bolestima koje oštećuju neurotransmiterski sustav najčešće epilepsiju imaju djeca s **neketotičnom hiperglicinemijom**. Obično se očituje u neonatalnom razdoblju poremećajima svijesti, hipotonijom, oftalmoplegijom, znakovima poremećaja autonomnog živčanog sustava, apnejama i respiratornom insuficijencijom već u prvim danima života. Česti su i miokloni napadaji, obično nalik štucanju. U onih koji prežive prije trećeg mjeseca života se razvija teška refrakтерна epilepsija s mioklonusom. U početku su napadaji klinički uočljiviji i duljeg su trajanja. Mogući su i infantilni spazmi ili parcijalni motorni napadaji. Teška mentalna retardacija i tetraplegija prateći su simptomi. U prvim danima ili tjednima EEG pokazuje normalnu pozadinsku aktivnost, uz epileptiformna izbijanja šiljak-val kompleksa, a kasnije obrazac „burst-supression“ s pratećom visoko voltažnom sporom aktivnošću. Moguć je nalaz hipsaritmijske iza trećeg mjeseca života. Na dijagnozu se posumnja ako je koncentracija glicina u tjelesnim tekućinama povišena, a gotovo je sigurna ako je odnos glicina u cerberospinalnom likvoru i u plazmi je veći od 0,06 (normalno je manji od 0,04). Nalaz MR mozga je često normalan, ali može pokazivati agenezu korpusa kalozuma ili druge malformacije. Glicin djeluje ekscitacijski na mozak, a inhibitorno na leđnu moždinu. Glicin je koagonist ekscitatornog glutamata NMDA (N-metil D-aspartat), receptora za glutamat. Glicin pojačava djelovanje ekscitatornih neurotransmitera, čime uzrokuje postsinaptičku toksičnost. Ekscitacijska aktivnost uzrokuje epilepsiju i djelomično mentalnu retardaciju i tetraplegiju. Specifično liječenje benzoatom i deksmetorfanom obično ne daje značajan

rezultat. Epilepsija se liječi antiepileptičkim lijekovima koji se vežu na glutamatske receptore i inhibiraju T-kalcijeve kanale u talamusu (etosukcimid, lamotrigin, topiramat). Valproat se ne preporučava davati, jer podiže koncentraciju glicina.

Bolesti udružene s malformacijama mozga

Prirodne metaboličke bolesti udružene s malformacijama mozga imaju često epileptičke napadaje. Najčešće su to mitohondriopatije, prirodni poremećaji glikozilacije, poremećaji sinteze kolesterola i peroksisomske bolesti. **Zellwegerov sindrom** obilježavaju malformacije kore mozga. Polimikrogirija frontalno ili pahigirija drugih regija su česte, kao i germinolitičke ciste u kaudotalamičkom dijelu mozga. Epileptički napadaji su tipični parcijalni motorni napadaji, koji se teško mogu kontrolirati antiepileptičkim lijekovima (karbamazepin, oksikarbamazepin, topiramat, levetiracetam). Djeca s kongenitalnim mišićnim distrofijama (**Walker-Warburg sindrom** ili **bolest mišić-oko-mozak**) imaju često epilepsiju zbog malformacije mozga. **Mišićna distrofija Fukujama** je često udružena s lizencefalijom. Bolesnici često imaju mioklone napadaje. EEG nalaz pokazuje brzu pozadinsku aktivnost u beta frekvenciji.

Bolesti ovisne o vitaminima ili kofaktorima

Epilepsije u prirođenim metaboličkim bolestima ovisne o vitaminima najčešće su **epilepsija ovisna o piridoksinu i manjak piridoksamin fosfat oksigenaze**. Epilepsija ovisna o piridoksinu započinje tipično kao rana epilepsija u prvim danima života, a atipična kasnije, najčešće do treće godine života. U ranoj epilepsiji već prenatalno postoje epileptički napadaji, s početkom u dvadesetom tjednu gestacije. Česte su neonatalne encefalopatije s prepokretljivošću, prepodražljivošću i preosjetljivošću na sve senzitivne podražaje, popraćene često poteškoćama disanja, distenzijom trbuha, povraćanjem i metaboličkom acidozom. Klinički raznoliki i učestali napadaji počinju u prvim danima života, a otporni su na konvencionalnu antiepileptičku terapiju. Napadaji se prekidaju piridoksinom, 10mg/kg intravenski. Mnogi savjetuju jednokratnu dozu od 100 mg intravenski kao najsigurniji dijagnostički putokaz. Ukoliko nema odgovora ista doza se može ponavljati svakih 10 minuta do ukupno 500 mg. U kasnom obliku epilepsije ovisne o piridoksinu nema encefalopatije i nema strukturalne abnormalnosti. Epileptički napadaji mogu početi bilo u koje vrijeme do kraja treće godine života. Najčešći su u tijeku vrućice, a očituju se dugotrajnim napadajima konvulzija, često epileptičkim statusom. Obično u početku prestaju na uobičajene antiepileptičke lijekove, ali ubrzo se napadaji ponavljaju i teško se kontroliraju. Davanjem piridoksina u dnevnoj dozi od 100 mg oralno postiže se dobra kontrola napadaja, uz gubitak epileptičke aktivnosti u EEG nalazu za 1-2 dana. Sigurna dijagnoza postavlja se ukidanjem piridoksina, kad se napadaji ponavljaju i opet prestaju nakon ponovnog uvođenja piridoksina u terapiju. Liječenje se nastavlja cijeli život a uobičajna doza je 15 mg/kg/dan (do 500 mg/dan). Poteškoće učenja i govorno-jezične poteškoće mogu biti komplikacija u ranoj epilepsiji ovisnoj o piridoksinu. Svako novorođenče s epileptičkim napadajima, kao i svako dijete do treće godine života, treba pokušati liječiti oralnim ili intravenskim davanjem piridoksina.

Piridoksamin fosfat oksidaza (PNPO) katalizira konverziju piridoksin fosfata u aktivni kofaktor piridoksal fosfat. Nedostatak PNPO je uzrok ranih neonatalnih konvulzija, koje se ne zaustavljaju nakon davanja piridoksina, nego piridoksal fosfata u dozi od 30 mg/kg/dan. Piridoksal fosfat je kofaktor za različite enzime u sintezi neurotransmitera.

Poznati su i opisani epileptički napadaji **ovisni o foliničnoj kiselini**, iako molekulska osnova nije posve jasna. U likvoru također nema posebnog patološkog nalaza. Međutim, sve novorođenačke konvulzije otporne na uobičajnu terapiju treba pokušati liječiti i foliničnom kiselinom.

Manjak biotinidaze često je povezan s epilepsijom refrakternom na konvencionalne antiepileptičke lijekove. Biotin je kofaktor za različite karboksilaze, a zbog manjka biotinidaze nema endogenog ponovnog iskorištavanja biotina. Epilepsija obično počinje nakon prva 3-4 mjeseca života, a očituje se najčešće infantilnim spazmima. Osim toga djeca često imaju atrofiju optikusa i gubitak sluha. Dijagnozi pomažu simptomi alopecije i dermatitisa, koji nisu prisutni u svih bolesnika. Refrakterni epileptički napadaji brzo prestaju nakon davanja biotina, obično 5-20 mg/dan.

Manjak sintetaze holokarboksilaze se očituje u novorođenačkoj dobi u 25-50% djece čestim napadajima konvulzija, a metabolički poremećaj se očituje nakupljanjem laktata i nekih organskih kiselina. Dijagnoza se potvrđuje smanjenom aktivnošću karboksilaze uz normalnu aktivnost biotinidaze, te dobar terapijski učinak biotina. Biotinom se bolest dobro kontrolira već u malim dozama.

Ostale nasljedne metaboličke bolesti s epilepsijom

Menkesova bolest je X-vezana recesivna bolest i djeca uvijek imaju epilepsiju. Često počinje infantilnim spazmima rezistentnim na uobičajenu terapiju. Karakteristično izlomljena kose upućuje na dijagnozu, ali ne u najranijoj dobi. Na uzrok upućuju niski bakar i ceruloplazmin u serumu. Napadaji se teško mogu zaustaviti. Samo u blažih oblika na njih i inače teže zaostali psihomotorni razvoj može dobro djelovati rano davanje bakrenog histidinata subkutano.

Poremećaj biosinteze serina može biti posljedica nedostatka dvaju enzima: 3- fosfoglicerat dehidrogenaze i 3- fosfoserin fosfataze. Obje bolesti su rijetke. Bolesna djeca se rađaju s mikrocefalijom, a epileptički napadaji se javljaju obično u prvoj godini života, najčešće u obliku Westovog sindroma. Napadaji se mogu kontrolirati oralnim davanjem serina, ali za uspjeh u psihomotornom razvoju je potrebno rano, već intrauterino davanje. Dijagnoza se potvrđuje nalazom sniženog serina u likvoru. MR pokazuje atrofiju bijele tvari i hipomijelinizaciju.

U **prirođenim bolestima poremećaja glikozilacije glikoproteina (CDG)** epilepsija je važan simptom u skupine bolesnika s CDG tipa I a (manjak fosfomanomutaze). U akutnoj fazi vidljivi su napadaji slični moždanom udaru. Epilepsija je važan simptom u skupini CDG tipa I c, a opisana je i u drugim subtipovima CDG tipa I. Semiologija napadaja se razlikuje među skupinama. Liječe se konvencionalnim antiepilepticima, ovisno o semiologiji napadaja i nalazu EEG-a. Dijagnoza je moguća temeljem izoelektrofokusanja sijalotransferina, kojeg treba napraviti u sve djece s

nejasnim neurološkim simptomima, posebno ako su povezani i sa zahvaćenošću drugih organa.

Zaključak

Prirodne metaboličke bolesti su relativno rijetke, ali mnoge među njima u kliničkoj slici imaju i epilepsiju. Epileptički napadaji se javljaju podjednako u svim dobnim skupinama (tablica 2.), s različitim vrstom napadaja za pojedinu dobnu skupinu i pojedinu metaboličku bolest (tablica 3.). Patogeneza epilepsija u prirođenim metaboličkim bolestima je različita za pojedinu metaboličku bolest, poput nedostatka energije u stanicama, učinka nagomilanih štetnih proizvoda u središnjem živčanom sustavu, neravnoteže neurotransmiterskog sustava, ili poremećaja membranskog transporta. S obzirom na liječenje epilepsije u prirođenim bolestima metabolizma važno je naglasiti da pravilno specifično liječenje nasljednog metaboličkog poremećaja u mnogim slučajevima omogućuje suzbijanje epilepsije. Neki primjeri dani su u tablici 4. Osim njih ostaje skupina djece s još nedijagnosticiranom prirođenim poremećajem metabolizma i epilepsijom. Te su bolesti klasificirane prema epileptičkim sindromima, a liječe se konvencionalnim antiepileptičkim lijekovima, vodeći računa o dobi djeteta, semiologiji napadaja i elektroencefalogramu. Mnogoj djeci ne nađemo patološki nalaz u metaboličkoj obradi, a njihovi epileptički napadaji se ponavljaju unatoč liječenju antiepilepticima. Možemo pretpostaviti da ova djeca boluju od neke prirodne metaboličke bolesti, ali do sada dostupnim mogućnostima ne možemo ih dijagnosticirati ni liječiti. Ipak, svakom je djetetu važno suzbijati ponavljanje napadaja.

Tablica 2 Klasifikacija epilepsija u metaboličkim bolestima s obzirom na dob

Novorođenačka dob	Hipoglikemije, bolesti ovisne o piridoksinu, bolesti ovisne o PNPO, neketotična hiperglicinemija, organske acidurije, poremećaji ciklusa ureje, novorođenačka adrenoleukodistrofija, Zellwegerov sindrom, nedostatak sinteze holokarboksilaze, nedostatak kofaktora molibdena, nedostatak sulfit oksidaze.
Dojenačka dob	Hipoglikemija, nedostatak GLUT-1, nedostatak kreatina, nedostatak biotinidaze, aminoacidopatije, organske acidurije, kongenitalni poremećaji glikozilacije, bolesti ovisne o piridoksinu, infantilni oblik neuronalne ceroidne lipofuscinoze (NCL 1), mitohondriopatije
Preškolska dob	Kasna infantilna forma neuronalne ceroidne lipofuscinoze (NCL 2), mitohondrijske bolesti uključujući Alpersovu bolest, lizosomske bolesti nakupljanja.
Školska dob	Mitohondrijske bolesti, juvenilni oblik neuronalne ceroidne lipofuscinoze (NCL 3), progresivna mioklonalna epilepsija dječje dobi

Tablica 3 Klasifikacija epilepsija u metaboličkim bolestima s obzirom na najčešći tip napadaja ili vrstu epilepsijskog sindroma

Infantilni spazmi	Manjak biotinidaze, Menkesova bolest, mitohondrijske bolesti, organske acidurije, aminoacidopatije
Epilepsije s mioklonim napadajima	Neketotična hiperglicinemija, mitohondrijske bolesti, manjak GLUT-1, bolesti nakupljanja
Progresivna mioklona epilepsija	Bolest Lafora, MERRF, MELAS, Unverricht- Lundborgova bolest, sijalidoze
Epilepsije s generaliziranim toničko-kloničkim napadajima	Manjak GLUT-1, NCL2, NCL 3, ostale bolesti nakupljanja, mitohondrijske bolesti
Epilepsije s mioklono-astatskim napadajima	Manjak GLUT-1, NCL2
Epilepsije s parcijalnim napadajima	Manjak GLUT-1 , NCL 3
Epilepsia partialis continua	Alpersova bolest, ponekad i druge mitohondrijske bolesti

Tablica 4 Neke mogućnosti liječenja epilepsije u nasljednim metaboličkim bolestima

Manjak GLUT-1	Ketogena dijeta
Epilepsije ovisne o kofaktorima	Piridoksin, piridoksal fosfat, folinična kiselina, biotin.
Manjak GAMT	Davanje kreatina, ograničenje arginina, davanje ornitina
Fenilketonurija	Dijeta s ograničenim unosom fenilalanina
Poremećaj biosinteze serina	Davanje serina

Naime, zbog plastičnosti mozga u dječjoj dobi, koja je često korisna (npr. nakon ozljeda glave), česti i dugotrajni epileptički napadaji dovode do oštećenja hipokampusa a prekomjerna neuronska aktivnost dovodi do razvoja neodgovarajućih sinaptičkih puteva, pa se napadaji mogu nastaviti ponavljati i neovisno o osnovnoj bolesti.

Literatura

Baxter P, Griffiths P, Kelly T, Gardner-Medwin D. Pyridoxine-dependent seizures: demographic, clinical, MRI and psychometric features, and effect of dose on intelligence quotient. *Dev Med Child Neurol* 1996;38:998-1006.

Berkovic SF, Heron SE, Giordano L, Marini C, Guerrini R, Kaplan RE, et al. Benign familial neonatal-infantile seizures: characterization of a new sodium channelopathy. *Ann Neurol* 2004;55:550-7.

Brockmann K, Wang D, Korenke CG, von Moers A, Ho YY, Pascual JM, et al. Autosomal dominant glut-1 deficiency syndrome and familial epilepsy. *Ann Neurol* 2001;50:476-85.

Claes L, Ceulemans B, Audenaert D, Smets K, Lofgren A, Del-Favero J. De novo SCN1A mutations are a major cause of severe myoclonic epilepsy of infancy. *Hum Mutat* 2003;21:615-21.

Cooper JD. Progress towards understanding the neurobiology of Batten disease or neuronal ceroid lipofuscinosis. *Curr Opin Neurol* 2003;16:121-8.

Cormier-Daire V, Dagoneau N, Nabbout R, Burglen L, Penet C, Soufflet, et al. A gene for pyridoxine-dependent epilepsy maps to chromosome 5q31. *Am J Hum Genet* 2000;67:991-3.

Darin N, Oldfors A, Moslemi AR, Holme E, Tulinius M. The incidence of mitochondrial encephalomyopathies in childhood: clinical features and morphological, biochemical, and DNA abnormalities. *Ann Neurol* 2001;26:377-83.

Goutiers F, Aicardi J. Atypical presentations of pyridoxine-dependent seizures: a treatable cause of intractable epilepsy in infants. *Ann Neurol* 1985;17:117-20.

Grunewald S, Imbach T, Hujiben K, Rubio-Gozalbo ME, Verrips A, de Klerk JBC. Clinical and biochemical characteristics of congenital disorder of glycosylation type Ic, the first recognized endoplasmic reticulum defect in N-glycan synthesis. *Ann Neurol* 2000;47:776-81.

Haug K, Warnstedt M, Alekov AK, Sander T, Ramirez A, Poser B. Mutations in CLCN2 encoding a voltage-gated chloride channel are associated with idiopathic generalized epilepsies. *Nat Genet* 2003;33:527-32.

Kunz WS. The role of mitochondria in epileptogenesis. *Curr Opin Neurol* 2002;15:179-84.

Mikati MA, Lepejin GA, Holmes GL. Medical treatment of patients with infantile spasms. *Clin Neuropharmacol* 2002;25:61-70.

Panayiotopoulos CP. A clinical guide to epileptic syndromes and treatment. 2nd ed. Oxfordshire: Blandon Medical Publishing, 2002.

So NK. Epileptics auras. In: Wyllie E, editors. The treatment of epilepsy principles and practice. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2001. p. 299-308.

Scheffer IE, Wallace R, Muley JC, Berkovic SF. Clinical and molecular genetics of myoclonic-astatic epilepsy and severe myoclonic epilepsy in infancy (Dravet syndrome). Brain Dev 2001;2:732-735.

Wolf NI, Bast T, Surtees R. Epilepsy in inborn errors of metabolism, Epileptic Disorders 2005;7:67-81.

Wolf NI, Smeitink JA , Mitochondrial disorders: a proposal for consensus diagnostic criteria in infants and children. Neurology 2002;59:1402-5.

Wyllie E. The treatment of epilepsy: principles and practice. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001.

Zupanc ML, Legros B. Progressive myoclonic epilepsy. Cerebellum 2004;3:156-71.

Što je novo u nasljednim metaboličkim leukoencefalopatijama?

Vlatka Mejaški Bošnjak

Klinika za pedijatriju, Klinika za dječje bolesti Zagreb, Klaićeva 16, 10 000 Zagreb

Leukoencefalopatije obuhvaćaju veliki broj kliničkih entiteta čije je glavno obilježje poremećaj u građi bijele tvari mozga, uzroci kojih su najčešće nasljedne metaboličke encefalopatije (NME), infektivne odnosno upalne bolesti CNS-a, cerebrovaskularne bolesti, deficijencija merozina, zatim posljedice zračenja, kemoterapije te toksičnih spojeva (1,2). Prema patohistološkoj klasifikaciji dijele se na dismijelinizacijske, hipomijelinizacijske i spongiformne (Tablica 1) (1). U ukupnom broju leukoencefalopatija gotovo polovicu čine one neklasificirane odnosno nepoznate etiologije (1-6).

Leukodistrofije pak predstavljaju nasljedne, progresivne bolesti bijele tvari odnosno mijelina s dobro definiranom molekularnom podlogom koja je odgovorna za metabolički defekt mijelinskog omotača ili stanica koje ga stvaraju, a koja rezultira u destrukciji odnosno izostanku razvoja centralne bijele tvari (1-3,7-10). Manji broj leukodistrofija se prezentira već u dojenačkoj i ranoj predškolskoj dobi progresivnom neurološkom disfunkcijom pri čemu su više zastupljeni simptomi piramidnog (spastičnost) i ekstrapiramidnog sustava (ataksija, distonija, atetoza) te poremećaji vida i sluha. Više mentalne funkcije na početku bolesti uglavnom su očuvane, a kasnije i one propadaju (2,3).

Zahvaljujući sve široj uporabi dijagnostike slikovnog prikaza magnetskom rezonancijom (MRI) uključujući i protonsku magnetsku spektroskopiju (H-MRS) koje su najosjetljivije metode za prikaz poremećaja razvoja mijelina, te bolje definiranim kliničkim kriterijima, dobio se potpuniji

Tablica 1 Klasifikacija leukoencefalopatija prema patohistološkom nalazu

Klasifikacija leukoencefalopatija prema patohistološkom nalazu		
Dismijelinizirajuće	Hipomijelinizirajuće	Spongiformne
Adrenoleukodistrofija	Pelizeaus-Merzbacherova bolest	Canavanova bolest
Globoidna leukodistrofija Krabbeova bolest	Alexanderova bolest	Megalencefalična leukoencefalopatija sa subkortikalnim cistama (MLC)
Metakromatska leukodistrofija	Vanishing white matter disease	

uvid u već postojeće, a definirani su i novi, zasebni entiteti iz skupine neklasificiranih leukoencefalopatija, te se ujedno proširio koncept poremećaja koji zahvaćaju mijelin (11-13).

Tablica 2 Nalaz MRI u nasljednih leukodistrofija

Poremećaj	Nalaz MRI
Pelizaeus–Merzbacherova bolest	Zaustavljena mijelinizacija (iako normalna za taj stadija); visok intenzitet signala u T2 unutar nemijelinizirane bijele tvari (BT), smanjen volumen BT, povećan volumen ventrikla, tanak korpus kalozum, atrofija mozga (uglavnom moždano deblo i mali mozak)
Alexandrova bolest	Opsežne promjene BT edematoznog izgleda s kavitacijama uglavnom sprijeda; abnormalnosti bazalnih ganglija, talamusa i moždanog debla; imbibicija kontrastom
Canavanova bolest	Cerebralna i cerebelarna BT dominantno zahvaćene, edematoznog izgleda; kasnije zahvaćena centralna BT, obostrano zahvaćeni globus palidus i talamus, kaudatus i putamen pošteđeni; cerebralna i cerebelarna atrofija; NAA šiljak na MRS
L-2-Hidroksiglutarinska acidurija	Multipla simetrična žarišta visokog intenziteta subkortikalne BT; centralna BT pošteđena na T2; atrofija kaudatusa i malog mozga, abnormalni signal nukleus dentatusa, normalna cerebelarna BT
Megalencefalična leukodistrofija sa subkortikalnim cistama	Difuzno abnormalna, edematozna cerebralna BT sa subkortikalnim cistama u prednjim i temporalnim regijama; centralna BT pošteđena, normalne strukture sive tvari
Vanishing white matter disease	Simetrično difuzno zahvaćena BT hemisfera uključujući centralni tegmentalni trakt; cistična degeneracija BT koju zamijenjuje likvor, atrofija malog mozga

Legenda: BT – bijela tvar; MRS – spektroskopija magnetskom rezonancom; NAA – N-acetil aspartat

Biokemijska klasifikacija dijeli leukoencefalopatije na one koje zahvaćaju poremećaj metabolizma lipida, mijelinskih proteina, organskih kiselina, poremećaj energetskog metabolizma i druge

(Tablica 3) (1). Uočavamo da su prema navedenim klasifikacijama bolesti svrstane u različite kategorije.

Tablica 3 Biokemijska klasifikacija leukoencefalopatija

Biokemijska klasifikacija leukoencefalopatija				
Lipidi	Mijelinski proteini	Poremećaji organskih kiselina	Mitochondriopatije	Ostalo
Adrenoleukodistrofija	Pelizeaus-Merzbacherova bolest	Glutarička acidurija tip I i II	MELAS	Alexandrova bolest
Globoidna leukodistrofija Krabbeova bolest	MBP (Myelin basic protein) deficijencija	L-2 hidroksiglutarička acidurija	Citokrom oksidaza	Vanishing white matter disease
Metakromatska leukodistrofija		Canavanova bolest	Kompleksi I/III oksidativne fosforilacije	Megalencefalična leukoencefalopatija sa subkortikalnim cistama (MLC)

Leukoencefalopatije uzrokovane nasljednim poremećajem mijelinizacije SŽS-a

Mijelinizacija je posljednji u nizu neurogenetskih procesa SŽS, regulirana u vremenskom slijedu i sekvencama. Sinteza mijelina počinje u drugoj polovini gestacije s vrlo aktivnim napredovanjem u prvoj godini poslije rođenja (1-4,10).

Pelizeaus-Merzbacherova bolest (PMD) - bolest uzrokovana poremećajem stvaranja proteolipid proteina. PLP gen je smješten na Xq21-q22 i regulira sintezu PLP u oligodendrocitima, glavne strukturne komponente mijelina SŽS. Klinički spektar poremećaja povezanih s PLP mutacijom je izrazito širok, od najtežih oblika PMD do blagih spastičnih paraplegija s početkom u odrasloj dobi (1-4,10). PMD uzrokuju delecija, duplikacija i mutacija PLP1 gena na Xq22. Pelizeaus-Merzbacherova bolest predstavlja prototip skupine poremećaja stvaranja mijelina, uz difuznu hipomijelinizaciju SŽS povezanu s izrazito smanjenim brojem zrelih oligodendrocita. Nasljeđuje se X- recesivno. Početak bolesti može varirati od rođenja (konatalni oblik PMD) do djetinstva (klasični oblik PMD). Konatalni oblik PMD očituje se u muške djece u prvim mjesecima života: nistagmusom (horizontalnim, vertikalnim, pendularnim), hipotonijom, stridorom i problemima hranjenja. Oboljeli dječaci mogu imati rani smrtni ishod prije prve godine.

U klasičnom obliku PMD, bolest počinje obično u prvoj godini, nistagmusom i usporenim razvojem, a koreoatetoza i ataksija se javljaju između 6-18 mj, dok progresivna spastičnost počinje nakon 4. godine (1-4,10). Težina bolesti je u korelaciji s razvojem motoričkih funkcija između 5-10 godine. U konatalnom obliku PMD izostaje razvoj motoričkih funkcija, dok u klasičnom obliku

PMD bolesnici dosegnu hod uz pomoć. Ukoliko razviju govor, postoji teška dizartrija (4, 10).

Uvođenje elektrofizioloških pretraga i MRI tehnika koje pokazuju poremećaj u stvaranju mijelina omogućavaju nove dijagnostičke kriterije za PMD (4). Elektrofiziološki kriteriji za PMD očituju se izrazitim poremećajem multimodalnih evociranih potencijala u SŽS. Taj poremećaj je prisutan od rođenja i ostaje stabilan za razliku od progresivnog pogoršanja provođenja u demijelinizirajućim bolestima (4,10).

Na MRI pokazuje se signal visokog intenziteta u svim nemijeliniziranim strukturama na T2 , a niski signal na T1 prikazu (Tablica 2). CT pokazuje normalan nalaz ili samo blage atrofične promjene. Prisutnost normalnog signala mijelinizacije se ponekad vidi u područjima koja rano mijeliniziraju (cerebellum, moždano deblo, kapsula interna i korpus kalozum) i nije u korelaciji s težinom bolesti (Tablica 2). Hipomijelinizacija bijele tvari na MRI se teže prikazuje u prve dvije godine, prije nego se dosegne sazrijevanje mijelinizacije (1,4,10).

Alexanderova bolest je rijetka leukodistrofija koja se očituje makrocefalijom, konvulzijama, intelektualnim propadanjem i progresivnom spastičnošću (1,2,4,5). Prema kliničkoj slici i početku bolesti, razlikuju se tri tipa ove bolesti: infantilni, juvenilni i odrasli. Najčeći je infantilni tip koji se očituje makrokranijom i leukoencefalopatijom. Djeca se rađaju s normalnim opsegom glave, potom postupno razvijaju megalencefaliju, uz spastičnost, epilepsiju i iritabilnost. Nakon blaže traume glave često se javljaju stanja povišenog intrakranijskog tlaka (4,5). Infantilni tip ove bolesti završava ranim smrtnim ishodom, prije 10 godina života. Juvenilni i adultni oblik Aleksandrove bolesti očituje se simptomima zahvaćenog moždanog debla ili bulbarnih struktura, što stvara problem diferencijalne dijagnoze prema tumorskom procesu (4). Dijagnoza infantilnog tipa se postavlja na temelju kliničke slike progresivnog tijeka i višestrukih neuroloških poremećaja te razvoja makrokranije tijekom ranog djetinjstva (4,5).

Nalaz CT i MRI mozga pokazuje opsežnu leukoencefalopatiju, pretežno frontalno i periventrikularno uz nakupljanje kontrasta u ranom stadiju bolesti (Tablica 2). Konačna potvrda dijagnoze postavlja se na temelju patohistološkog nalaza biopsije (autopsije) mozga, koja osim opsežne demijelinizacije pokazuje i tipična "Rosenthalova" vlakna (4,5). Ta vlakna su nakupine "*heat shock proteina*" među kojima se posebno ističe "*glial fibrillary acid protein*" (GFAP) koji se nalazi u citoplazmi astrocita. Aleksandrova bolest se najčešće javlja sporadično, ali su opisani slučajevi više oboljele djece u istoj obitelji, što upućuje na autosomno recesivan način nasljeđivanja, no još je donedavno genetičko porijeklo ove bolesti bilo proturječno.

1998. Messing i suradnici uzgojili su transgenične mišve koji su posjedovali kopije humanog GFAP gena . Klinička slika oboljelih životinja bila je u ovisnosti o razini ekspresije GFAP transgena. Neuropatološki nalaz je pokazao hipertrofične astrocite sa inkluzijama koje su bile slične Rosenthalovim vlaknima. To upućuje da prekomjerna ekspresija humanog GFAP transgena dovodi do stvaranja Rosenthalovih vlakana, jer je poremećen mehanizam regulacije stvaranja GFAP, što rezultira njihovom prekomjernom produkcijom. Nakon toga, ista skupina istraživača potvrdila je da mutacija humanog GFAP gena na 17q21 lokusu može uzrokovati Alexanderovu bolest

(14). Ispitivana je skupina 11 bolesnika sa Aleksanderovom bolešću potvrđenom patohistološkim nalazom i heterozigotna mutacija GFAP gena je nađena u 10, ali ni u jednog roditelja oboljele djece, što pokazuje da je većina slučajeva Alexanderove bolesti genetički uvjetovana, zbog "de novo" nastale dominantne mutacije GFAP gena (14-16). Postoji mogućnost da Aleksanderovu bolest uzrokuju i mutacije drugih gena. Identifikacija mutacije u GFAP genu je izuzetno važna jer potvrđuje da je Alexanderova bolest primarno genetički uvjetovana bolest astrocita (14-16). Za bolesnike sa sumnjom na Alexanderovu bolest analiza mutacije GFAP gena pruža mogućnost neinvazivne potvrde dijagnoze umjesto do sada obavezne patohistološke analize biopsije mozga, kao i mogućnost prenatalne dijagnostike u obiteljima s već jednim zahvaćenim djetetom. GFAP mutacija je jednostavna i brza pretraga u dijagnostici infantilne Alexanderove bolesti, ukoliko klinički i paraklinički (frontalna leukoencefalopatija na MRI, CT) simptomi upućuju na tu bolest.

Myelinopathia centralis diffusa (MCD), Vanishing white matter disease (VWMD), Childhood ataxia with CNS hypomyelination (CACH). Hanefeld i sur. su 1993. godine objavili novi entitet heredodegenerativne bolesti bijele tvari mozga u troje djece na temelju karektrističnih nalaza MRI i H-MRS (17). Degenerativne promjene bijele tvari očitovale su se na MRI opsežnim promjenama signala u T1 i T2 vremenu, zbog čega je bolest i nazvana "crna bolest bijele tvari mozga" (17), "mijelinopatija centralis diffusa" ili naziv koji su predložili van der Knaap i sur. "vanishig white matter disease" VWMD (18). Nalaz MRS je pokazao gubitak svih navedenih metabolita mozga, uz pojavu spektra laktata i glukoze koje inače ne nalazimo u normalnom spektru metabolita mozga (17). Prema broju novopisanih slučajeva to je jedna od najčešćih leukoencefalopatija (19). Ova bolest se očituje normalnim ili blago usporenim psihomotornim razvojem u dojenačkoj i ranoj dječjoj dobi (19). Početni simptomi su cerebelarna ataksija i spastičnost u ranom djetinjstvu, s relativno očuvanim intelektualnim funkcijama. Kasnije se razvija sljepoća zbog atrofije optičkog živca. Neki bolesnici imaju i epilepsiju. Rast glave je u granicama normocefalije (19). Razgradnja neuroloških funkcija ima kronično-progresivan tijek, ali i krize naglog pogoršanja koje su obično uzrokovane infekcijom ili blažom traumom glave, što dovodi dijete u stanje letargije ili kome (17-19).

Vidimo da na tijek bolesti osim genetskih, značajno mogu utjecati i okolišni čimbenici, kranio-cerebralna povreda i infekcija (17-19). Bolest se nasljeđuje AR, opisano je više stotina bolesnika u cijelom svijetu (17-20). Bolest na kraju progredira do teške razgradnje neuroloških funkcija. Napretkom molekularne dijagnostike identificirana su dva genska lokusa povezana s tom bolešću: 3q27 i 14q24. Na tim lokusima identificirani su geni *ALF2B* i *EIF2B2* koji predstavljaju jedinice faktora koji počinje translaciju RNA, zadnju kariku u sintezi proteina. Funkcija tih gena je uključena u regulaciju tog procesa posebno u uvjetima stresa, te u tom slučaju mutacija objašnjava podložnost stresu te naglom kliničkom pogoršanju (20,21). Dodatno su prisutne i druge anomalije: oligohidramnion, intrauterini zastoje rasta, katarakta, hipoplazija bubrega, pankreatitis i hepatosplenomegalija (4). Unatoč varijabilnoj kliničkoj slici i velikom broju opisanih slučajeva, ne postoji korelacija genotipa i fenotipa (4,18-21). Patohistološki nalaz umrle djece upućuje na moguću uključenost defektna funkcije astrocita u ovu bolest (21). MRI nalaz pokazuje difuzne promjene bijele tvari mozga s karakterističnom ranom zahvaćenošću centralnog tegmentalnog trakta (4,18-21). (Tablica 2). Dijagnoza se postavlja na temelju morfoloških MRI kriterija, a s

obzirom na varijabilnost kliničke slike treba biti potvrđena analizom *eIF2B* gena (4).

Megalencefalična leukoencefalopatija sa supkortikalnim cistama (MLC). M.S.van der Knaap i suradnici definirali su 1995. leukoencefalopatiju s megalencefalijom, opsežnim promjenama bijele tvari prikazanim MRI, što je bilo u nesrazmjeru s blagim kliničkim tijekom (22). Svi bolesnici su imali inicijalno uredne motoričke miljokaze. Bolest se očituje tijekom prvih godina sporo progresivnim spasticitetom i ataksijom, atetozom i dizatrijom, dok su intelektualne sposobnosti i senzoričke funkcije sačuvane godinama nakon početka bolesti. Mentalno propadanje nastaje kasnije u tijeku bolesti. Ubrzan rast glave, uvijek iznad 90. percentile, evidentan je tijekom prve godine života, da bi se kasnije stabilizirao (22). Neurofiziološke pretrage su također dale normalne rezultate osim EEG-a u djece koja su tijekom perioda praćenja razvila epilepsiju (22). Ključni i najkonzistentniji nalaz, MRI mozga, u pravilu je pokazivao edem bijele tvari s opsežnim cistama supratentorijalno, tipičnih lokacija frontoparijetalno i temporalno subkortikalno, s relativno pošteđenom centralnom bijelom tvari i očuvanom sivom tvari mozga, uključujući bazalne ganglije (22) (Tablica 2). Nova spongiformna leukoencefalopatija naknadno je dobila ime – *Megalencefalična leukoencefalopatija sa subkortikalnim cistama* (MLC) (4). Bolest se nasljeđuje autosomno recesivno.

Zahvaljujući već definiranim morfološkim kriterijima koji se temelje na nalazima MRI mozga i kliničkim dijagnostičkim kriterijima, objavljivano je sve više slučajeva ove bolesti (4). Među opisanim bolesnicima, izdvojena su dva oblika bolesti: blaži, s makrocefalijom i gotovo normalnim psihomotornim razvojem do blaže mentalne i motoričke disfunkcije i teži s progresivnom simptomatologijom uključujući ataksiju i spastičnu kvadriplegiju, epilepsiju i mentalno propadanje (4,22).

Također, dokazano je da opseg morfoloških promjena prikazanih na MRI ne odražava progresiju niti težinu kliničke slike bolesti. Dugoročnim praćenjem dobio se uvid u varijabilnost kliničke ekspresije bolesti kao i dobi koju takvi pacijenti mogu doživjeti (4,22).

Genetsku podlogu ove bolesti prvo su pronašli Topqu i sur. pomoću linkage DNA-analize. Tom analizom genski je lokus mapiran na telomernom kraju 22. kromosoma (23). Leegwater i suradnici suzili su područje interesa 22q^{tel} u 13 analiziranih obitelji različitih etničkih skupina te našli u 10 obitelji poveznicu markera na 22q^{tel} i MLC (24). Mutacija je utvrđena na genu označenom kao MLC1, pri čemu je osam obitelji imalo istu mutaciju, a dvije obitelji bili su složeni heterozigoti (24). No, još uvijek postoji određen broj bolesnika s MLC u kojih nije dokazana mutacija MLC1 gena. Stoga je jasno da molekulska genetika ove bolesti nije do kraja istražena (4,25-27).

Spoznaje o tipovima mutacija MLC1 gena se proširuju, a postoje i dokazi da to nije jedini gen koji odgovoran za nastanak ove bolesti (28). Isto tako, nakon što je reverznom genetikom dobiven genski produkt, te su istražene njegove biokemijske karakteristike, došlo se do zaključka da oblik i težina mutacije ne koreliraju s fenotipskim obilježjima bolesti (28).

Imunohistokemijski, pomoću obilježenih poliklonalnih protutijela, lokaliziran je protein MLC1 u različitim regijama mozga miša i čovjeka (29). Mutacije MLC gena dovode do smanjenja ekspresije na membranama zbog poremećene posttranslacijske modifikacije odnosno defektnog slaganja proteina u funkcionalnu jedinicu, što u konačnici dovodi do nestabilnosti i kraćeg poluvijeka trajanja proteina (29). Isto tako, otvoren je put prenatalnoj dijagnostici u obitelji s jednim ili više

zahvaćene djece (24).

Poremećaj metabolizma organskih kiselina

Canavanova bolest je AR neurološki poremećaj udružen s makrocefalijom i spongiformnom degeneracijom mozga. Neuropatološki opis ove bolesti dala je Myrtille Canavan 1931., a nasljednu osnovu i kliničku sliku opisali su van Bogaert i Bertrand 1949 (4). Biokemijska osnova ove bolesti rasvijetljena je 1988. utvrđivanjem manjka enzima aspartoacilaze koja dovodi do porasta koncentracije N-acetilaspertične kiseline (NAA) u mozgu i urinu (30). Molekularna osnova Canavanove bolesti utvrđena je kloniranjem gena i utvrđivanjem najčešćih mutacija (31).

Klinička trijada: hipotonija, zaostajanje glave pri povlačenju u sjedeći položaj i makrocefalija karakteristični su za Canavanovu bolest (1,4,5). Djeca s Canavanovom bolešću imaju u prvim mjesecima normalan razvoj. Makrocefalija se razvija od 6 mjeseca do 1. godine. Kontrola položaja glave izostaje trajno. U drugoj godini razvijaju se konvulzije, atrofija vidnog živca sa sljepoćom (1,4,5). Česti simptomi su iritabilnost i poremećaj spavanja. S vremenom se razvijaju problemi hranjenja: gastroezofagealni refluks i teškoće gutanja, što zahtijeva nazogastričnu sondu ili perkutanu gastrostomu (4,5). Većina djece s Canavanovom bolešću umire do desete godine (4).

Klinička dijagnoza se potvrđuje nakon identificiranja povišene NAA u urinu ili mjerenjem NAA MRI spektroskopijom (1,4,5,30). MRI nalaz pokazuje difuznu leukoencefalopatiju koja zahvaća subkortikalnu bijelu tvar mozga, sa zahvaćenim U vlaknima i postupnim širenjem i prema periventrikularnoj bijeloj tvari (Tablica 2).

Gen za aspartoacilazu je lokaliziran u 17p13-ter (31). Identificirane mutacije se dijele u mutacije nađene kod Ashkenazi Židova i u osoba nežidovskoj porijekla. Prenatalna dijagnostika Canavanove bolesti temelji se na utvrđivanju mutacije gena u uzorku korionskih resica (4).

L-2-hydroxy-glutaric aciduria (L2HGA) je rijetka AR sporo progresivna nasljedna metabolička leukoencefalopatija koja zahvaća isključivo SŽS. Klinički tijek se očituje usporenim psihomotoričkim razvojem od rane dječje dobi nakon čega slijedi mentalna retardacija te u veće djece regresija psihomoričkog razvoja sa simptomima neurološke disfunkcije s ataksijom, piramidnom i ekstrapiramidnom disfunkcijom te epilepsijom (4,32). Oko 50% zahvaćene djece ima makrocefaliju. Biokemijski L2HGA se očituje povišenom koncentracijom L2HGA u serumu, urinu te cerebrospinalnom likvoru. Temeljni biokemijski poremećaj u L2HGA je nedavno razjašnjen, a patofiziološki mehanizam u toj bolesti rezultat je toksičnog djelovanja L2HGA na SŽS. Do sada je opisano oko 100 slučajeva L2HGA u svijetu. Topqu i sur. identificirali su gen *14orf1600* lokaliziran na kromosomu 14q22.1, i nazvali ga duranin, prema M. Duranu, prvom autoru koji je opisao ovu bolest 1980. godine (33). Duranin je odgovoran za sintezu mitohondrijskog proteina, no njegova uloga u intermedijarnom metabolizmu još nije poznata (33). MRI mozga u većini slučajeva pokazuje oštećenja u subkortikalnoj bijeloj tvari, atrofiju cerebeluma i promijenjeni signal nukleus dentatusa i putamena, što ujedno predstavlja i značajan dijagnostički kriterij (32).

Literatura

1. Kaye EM. Update on genetic disorders affecting white matter. *Pediatr Neurol* 2001;24:11-24
2. Di Rocco M, Biancheri R, Rossi A, Filocamo M, Tortori-Donati P. Genetic disorders affecting white matter in the pediatric age. *Neuropsychiatr Genet* 2004;129:85-93
3. Berger J, Moser HW, Forss-Petter S. Leukodystrophies; recent developments in genetics, molecular biology, pathogenesis and treatment. *Neurology* 2001;14:305-312
4. Aicardi J. Heredodegenerative disorders. In: Aicardi J, Bax M, Gillberg C, (Eds.) *Diseases of the nervous system in childhood*. 3rd Edition. Cambridge: Mc Keith Press, 2009, pp 327-380.
5. Mejaški-Bošnjak V. Nasljedne degenerativne bolesti SŽS U: Zergollern i sur. *Medicinska genetika, Školska knjiga*, 1994, pp189-211
6. Van der Knaap MS. Leukoencephalopathies in children-how to attack the problem? *Europ J Ped Neurol* 2001;5:A37
7. Giorgio A, De Stefano N. Leukoencephalopathies and metabolic diseases. *Neurol Sci* 2008;29:323-326
8. Phelan JA, Lowe LH, Glasier CM. Pediatric neurodegenerative white matter processes: leukodystrophies and beyond. *Pediatr Radiol* 2008;38:729-749
9. Mejaški Bošnjak V. Novija dostignuća u dijagnostici heredodegenerativnih encefalopatija. *Paediatr Croat* 2002;46(Supl 1):125-130
10. Schiffmann R, Boespflug-Tanguy O. An update on the leukodystrophies. *Neurology* 2001;14:789-794
11. Frahm J, Hanefeld F. Localized proton magnetic resonance spectroscopy of cerebral metabolites. *Neuropediatrics* 1996;27:64-69
12. Frahm J, Hanefeld F. Localized proton magnetic resonance spectroscopy of brain disorders in childhood. In: *Magnetic Resonance Spectroscopy and Imaging in Neurochemistry, Advances in Neurochemistry*, Vol 8, Bachelard, Plenum Press, New York, 1997, pp 329-402
13. Pridmore CL, Baraiser M, Harding B, Boyd SG, Kendall B, Brett EM. Alexander's disease: Clues to diagnosis. *J. Child Neurol* 1993;8:134-144
14. Messing A, Head MW, Galles K et al. Fatal encephalopathy with astrocyte inclusions in GFAP transgenic mice. *Am J Pathol* 1998;152:391-398
15. Brenner M, Johnson AB, Boespflug-Tanguy O et al. Mutations in GFAP, encoding glial fibrillary acidic protein, are associated with Alexander disease. *Nature Genet* 2001;27:117-120
16. Lujčić L, Mejaški-Bošnjak V, Pažanin L, Marušić-Della Marina B, Duplančić R, Đuranović V, Čačić M, Huzjan R. Alexander's disease- a case report. *Neurologia Croatica* 2000;49:1-2,65-75
17. Hanefeld F, Holzbach U, Kruse B, Wilichowski E, Christen HJ, Frahms J. Diffuse white matter disease in three children: an encephalopathy with unique features on magnetic resonance imaging and proteon

magnetic resonance spectroscopy. *Neuropediatrics* 1993;24:244-248.

18. Van der Knaap MS, Kamphorst W, Barth PG, Kraaijeveld CL, Gut E, Valk J. Phenotypic variation in leukoencephalopathy with vanishing white matter. *Neurology* 1998;51:540-547

19. Leegwater PAJ, Sandkuijl, Nadiu S, Pronk JC, van der Knaap MS. Chromosomal location of vanishing white matter. *Europ J Paed Neur* 1999;3:O34

20. Van der Knaap MS, Pronk JC, Scheper GC. Vanishing white matter disease. *Neurology* 2006;5:413-423

21. Schiffmann R, van der Knaap, MS. The latest on leukodystrophies. *Current Opinion in Neurology* 2004;17:187-192

22. Van der Knaap MS, Barth PG, Stroink H, van Nieuwenhuizen O, Arts WF, Hoogenraad F, Valk J. Leukoencephalopathy with swelling and discrepantly mild clinical course in eight children. *Ann Neurol* 1995;37:324-334

23. Topçu M, Gartioux C, Ribierre F, Yalçinkaya C, Tokus E, Öztekin N, Beckmann J, Özguc M, Seboun E. Vacuolizing megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts, mapped to chromosome 22q_{tel}. *Am J Hum Genet* 2000;66:733-739

24. Leegwater AJ, Yuan BQ, van der Steen J, Mulders J, Könst AAM, Boor PKI, Mejaski-Bosnjak V, van der Maarel SM, Frants RR, Oudejans CBM, Schutgens RBH, Pronk JC, van der Knaap MS. Mutations of *MLC1* (KIAA0027), encoding a putative membrane protein, cause megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts. *Am J Hum Genet* 2001;68:831-838

25. Bešenski N, Bošnjak V, Cop S, Pavić D, Mikulić D, Oršolić K. Neuroimaging and clinically distinctive features in van der Knaap megalencephalic leukoencephalopathy. In *J Neuroradiol* 1997;3:244-249

26. Mejaški-Bošnjak V, Bešenski N, Brockmann K, Powels PJ, Frahm J, Hanefeld FA. Cystic leukoencephalopathy in a megalencephalic child: clinical and magnetic resonance imaging/magnetic resonance spectroscopy findings. *Pediatr Neurol*

27. Mejaški-Bošnjak V, Bešenski N. Megalencephalic leukoencephalopathy: a further case of a new neurodegenerative white matter disease. *Dev Med Child Neurol* 1997;39:561-563

28. Mejaški Bošnjak V, Lončarević D, Đuranović V, Lujčić L, Krakar G. Leukoencefalopatije sa subkortikalnim cistama. *Paediatr Croat* 2007;51:171-178

29. Ilja Boor P K, de Groot K, Mejaski-Bosnjak V, Brenner C, van der Knaap M S, Scheper GC, Pronk J C. Megalencephalic leukoencephalopathy with subcortical cysts: an update and extended mutation analysis of *MLC1*. *Hum Mutat* 2006;27(6):505-12

30. Matalon R, Kaul R, Casanova J. et al. Aspartoacylase deficiency, the enzyme defect in Canavan disease. *J Inherited Metab Disease* 1989;12:1329-33

31. Kaul R, Gao, GP, Balamurrgan K, Matalon R. Cloning of the aspartoacylase c DNA and common missense mutation in Canavan disease. *Nar Genet* 1993;5:118-23

32. Topçu M, Ömer Faruk Aydın, Cengiz Yalçinkaya, Göknur Haliloglu, Sabiha Aysun, Banu Anlar, Haluk Topaloglu, Güzide Tranlı, Dilek Yalnizoglu et al. L-2 Hydroxyglutaric aciduria: a report of 29 patients. *Turk J Pediatrics* 2005;47:1-7

33. Topçu M, Jobart F, Halliez S, Coskun T, Yalcinkaya C et al. L-2-Hydroxyglutaric aciduria: identification of mutant gene C14orf160, localized on chromosome 14q22.1 Human molecular genetics, 2004, 13(22), 2803-11

Nasljedni poremećaji energetskeg metabolizma mozga

Ivo Barić

Klinika za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta u Zagrebu, Kišpatićeva 12, Rebro, 10000 Zagreb

Izvori energije za mozak i biokemijska osnova nasljednih poremećaja energetskeg metabolizma mozga

Mozak ima vrlo slabe mogućnosti pohrane spojeva iz kojih može stvoriti energiju pa je ovisan prvenstveno o stalnoj raspoloživosti glukoze kao izvora iz kojeg može stvarati adenzin trifosfat, energijom bogati spoj koji svojom razgradnjom uvijek može osloboditi energiju. Iako je iz ovoga jasno da svi nasljedni i drugi poremećaji koji dovode do hipoglikemije, bez obzira gdje se oni zbivali, imaju utjecaj na opskrbu mozga energijom, kad govorimo o poremećajima energetskeg metabolizma u mozgu mislimo prvenstveno na nasljedne poremećaje u iskorištavanju glukoze za proizvodnju ATP-a. U njih ubrajamo poremećaje kompleksa piruvat dehidrogenaze, poremećaje Krebsovog ciklusa, poremećaje respiratornog lanca i poremećaje nekih prijenosnika i drugih mehanizama koji služe održavanju normalnih odnosa i koncentracija svih spojeva unutar mitohondrija. U nastavku teksta govorit ćemo upravo o njima. Druga dva mehanizma koji također sudjeluju u osiguranju energije mozgu i koja su podložna nasljednim poremećajima spomenuta su u drugim dijelovima ovog priručnika (vidi tekstove autorica Cvitanović-Šojat i Meštrović). To su sistem kreatin/kreatin-fosfat koji u citosolu služi kao energetska pufera i prijenos glukoze preko krvno-moždane barijere, koji je neophodan da glukoza koja postoji u cirkulaciji uopće bude na raspolaganju mozgu. Rezervni alternativni izvor iz kojeg se također može stvoriti energija su ketoni, iskoristivi upravo pri poremećaju prijenosa glukoze preko krvno-moždane barijere.

Klinička slika

Klinička slika mitohondrijskih poremećaja stvaranja energije koje neki nazivaju i mitohondriopatijama u užem smislu vrlo je raznolika. Poznata je tvrdnja eksperata za ovo područje koji navode da se ove bolesti mogu očitovati u bilo kojoj dobi, bilo kojim simptomom i na bilo kojem organu te da se mogu nasljeđivati bilo kojim od dosad poznatih načina nasljeđivanja. Ta se tvrdnja može prenijeti i na one mitohondrijske poremećaje koji zahvaćaju mozak. Neki od njih štetno djeluju već intrauterino pa se djeca rađaju s malformacijama mozga, npr. s atrofijom pojedinih dijelova mozga. Vrlo česta je u ovih bolestima, kad počinju intrauterino, ageneza korpusa kalozuma. Postna-

talno mogu se vidjeti gotovo svaki simptom i znak bolesti koji se uopće mogu pripisati mozgu. Vrlo je često psihomotorno zaostajanje, a poslije ispodprosječno mentalno funkcioniranje. Opažaju se i najrazličitiji motorički problemi. U neke djece dominira centralna hipotonija dok su drugi hipertoničnog mišićja zbog stradavanja gornjeg motornog neurona. Neki imaju potpunu kliničku sliku spastične cerebralne paralize. Epileptički napadi su u ovih bolesti također česti, posebno mioklonog tipa. Kod nekih se dijete jedno vrijeme razvija normalno, a onda počinje gubitak usvojenih sposobnosti. U mnogih su simptomi intermitentni, npr. ataksija ili naglašena slabost samo u vrijeme interkurentnih infekcija ili drugih stresnih situacija. U takvim okolnostima kod nekih dolazi i do nekih težih problema, čija pojava uvijek treba pobuditi sumnju na mitohondriopatiju, npr. stanje slično cerebrovaskularnom udaru u sindromu MELAS ili subakutna encefalopatija Leigh kod koje dolazi do simetričnog propadanja bazalnih ganglija, nerijetko udruženog s oštećenjima bijele tvari, moždanog debela ili malog mozga. Takva, ali i druga oštećenja potonje navedenih dijelova mozga mogu biti razlogom atetoze, distonije, diskinezije, ataksije, nistagmusa, strabizma, teškoća gutanja i drugih. Poremećaji mitohondrijskog stvaranja energije mogu se očitovati i poremećajima osjeta, npr. kortikalnim gubitkom vida ili zamjedbenom gluhoćom. Na postojanje mitohondriopatije mogu uputiti i pridruženi simptomi i znakovi bolesti drugih organa. Među njima su miopatija, kardiomiopatija, Fanconijev sindrom, hepatopatija i drugi.

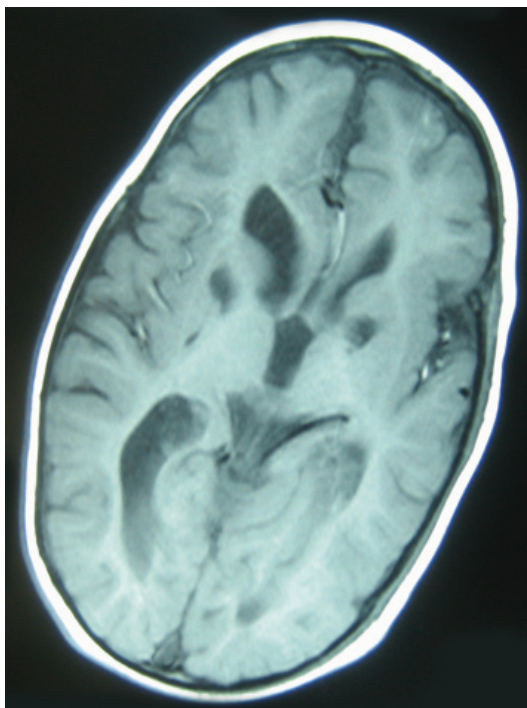
Dijagnostičke mogućnosti

Važna pretpostavka za postavljanje dijagnoze nasljednog poremećaja mitohondrijskog stvaranja energije je pravovremena pomisao da bi se o takvoj bolesti moglo raditi. Iz gore navedenih razloga ove bolesti treba uključivati u diferencijalnu dijagnozu svih nejasnih cerebralnih simptoma i znakova. U takvim je slučajevima važno što prije započeti s odgovarajućim dijagnostičkim postupcima jer, iako su mogućnosti liječenja ove skupine bolesti razmjerno skromne, ipak za neke bolesnike liječenje ima koristi ili otkrivanje uzroka bar omogućuje drugačije praćenje bolesnika i genetsku informaciju obitelji. Biokemijski pokazatelji koji upućuju na ove bolesti su ponajprije povišenje laktata u krvi, pri čemu treba paziti da je uzorak valjano uzet i da nema razloga za sekundarni porast laktata (loša cirkulacija, hipoksija), i/ili povišeni laktat u likvoru. Ponekad se znakovito povišenje laktata dobije tek pri opterećenju glukozom koje u takvih bolesnika treba izvesti oprezno. Kod manjka piruvat dehidrogenaze povišenje laktata praćeno je i porastom piruvata. U bar oko 30% bolesnika s mitohondriopatijama laktat bude uredan. Analiza aminokiselina može otkriti povišenu koncentraciju alanina. Analiza organskih kiselina u urinu može otkriti također pojačano izlučivanje laktata i/ili piruvata, ali i neke od kiselina Krebsovog ciklusa, ili kiselina koje su među ostalim stanoviti biljeg mitohondriopatija- etilmalonske ili 3-metilglutakonične kiseline. U nekih bolesnika nađe se blago povišenje glutarne, 2-OH-glutarne ili metilmalonske kiseline. Slikovne pretrage mozga mogu otkriti tipične promjene za Leighovu encefalopatiju (slika 1) ili znakove moždanog udara koji zapravo nema veze s opskrbom krvlju. Magnetska spektroskopija mozga može pokazati povećani šiljak laktata. Biopsija mišića važan je dijagnostički korak kojim se može opaziti: u rijetkih bolesnika iskidana crvena vlakna, a u nekih imunohistokemijski manjak ili nehomogenu raspodjelu proteina respiracijskog lanca, elektronskom mikroskopijom promijenjeni broj i/ili izgled mitohondrija. Dijagnoza se konačno potvrđuje mjerenjem aktivnosti enzima respiracijskog lanca u brzo i duboko u tekućem dušiku smrznutom komadiću mišića ili, što je u

nas teško ostvarivo, u svježem tkivu mišića. Takva se mjerenja rade u visoko specijaliziranim inozemnim laboratorijima. Ona mogu uključivati i mjerenje potrošnje kisika i različitih supstrata respiracijskog lanca ili proizvodnju ATP-a. U novije vrijeme napretkom tehnologije analize DNA dijagnoza se sve češće potvrđuje ili čak i postavlja analizom gena. Pri tom se valja podsjetiti da su poremećaji mitohondrijskog stvaranja energije u manje od 10% bolesnika uzrokovani mutacijama mitohondrijske DNA, a u većini slučajeva mutacijama nuklearne DNA.

Liječenje

Mogućnosti liječenja poremećaja mitohondrijskog stvaranja energije prilično su ograničene, posebno u bolesnika koji već intrauterino dožive oštećenja mozga. U bolesnika s manjkom piruvat dehidrogenaze, a ponekad i onih s manjkom kompleksa I respiratornog lanca korisna je ketogena dijeta. Općenito je dobro paziti da ne pretjera s unosom ugljikohidrata. U „koktele“ kojima se pokušavaju liječiti mitohondriopatije obično se uključuju vitamini B1, B2, C i biotin. Vrijedno je probati i koenzimom Q10, posebno u bolesnika u kojih su zahvaćeni kompleksi I do III respiracijskog lanca. U rijetkih bolesnika to dovede do značajnog poboljšanja. Neki reaguju samo na idebenon. Kad se nađe sniženi karnitin opravdano je nadomjesiti ga. Neki preporučuju i kreatin. Važne su simptomatske mjere: suzbijanje povišene temperature, adekvatna hidracija, po potrebi antiepileptici i, ako je potrebno, suzbijanje acidoze. Valproat zbog inhibitornog djelovanja na respiratorni lanac treba izbjegavati, a neki ne preporučuju niti fenobarbiton. Dikloracetat može pomoći u suzbijanju težih laktacidoza produljenjem djelovanja piruvat dehidrogenaze, no njegova klinička korist nije sigurna, a moguće nuspojave razmjerno opasne. Bezafibrat se pokazao korisnim na djelovanje respiratornog lanca *in vitro*, a tek ga treba ispitati na bolesnicima.



Slika 1 *Atrofija mozga, promjene bijele tvari i teška simetrična oštećenja bazalnih ganglija karakteristična za Leighovu subakutnu encefalopatiju u djeteta s manjkom kompleksa III respiratornog lanca*

Literatura

1. Bauer MF, Gempel K, Hofmann S, Jaksch M, Philbrook C, Gerbitz K-D. Mitochondrial disorders. A diagnostic challenge in clinical chemistry. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37: 855-876.
2. Betts J, Lightowlers RN, Turnbull DM. Neuropathological Aspects of Mitochondrial DNA

Disease. *Neurochem Res* 2004; 29:505-511.

3. Di Donato S. Multisystem manifestations of mitochondrial disorders. *J Neurol* 2009;256:693-710.
4. Martin-Kleiner I, Barić I, Boranić M. Vrijednost analize mitohondrijske DNA u kliničkoj praksi. *Paediatr Croat* 2000; 44: 145-150.
5. Morava E, van den Heuvel L, Hol F, de Vries MC, Hogeveen M, Rodenburg RJ, Smeitink JA. Mitochondrial disease criteria: diagnostic applications in children. *Neurology*. 2006;67:1823-6.
6. Munnich A, Roetig A, Chretien D, Saudubray JM, Cormier V, Rustin P. Clinical presentations and laboratory investigations in respiratory chain deficiency. *Eur J Pediatr* 1996; 155: 262-274.
7. Naess K, Freyer C, Bruhn H, Wibom R, Malm G, Nennesmo I, von Döbeln U, Larsson NG. MtDNA mutations are a common cause of severe disease phenotypes in children with Leigh syndrome. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1787:484-90.
8. Poe BG, Navratil M, Arriaga EA. Absolute quantitation of a heteroplasmic mitochondrial DNA deletion using a multiplex three-primer real-time PCR assay. *Analyt Biochem* 2007; 362:193-200.
9. Zeviani M, Antozzi C. Mitochondrial disorders. *Mol Human Reprod* 1997; 3:133-48.

Rizici anestezije i njihovo suzbijanje u nasljednim metaboličkim bolestima

Mladen Perić, Tajana Zah

Klinika za anesteziologiju, reanimatologiju i intenzivno liječenje, Klinički bolnički centar Zagreb

Nasljedne metaboličke bolesti su heterogena skupina bolesti. Anesteziološki pristup za svaku bolest treba biti prilagođen ovisno o njezinim patofiziološkim karakteristikama. Ipak, za neke skupine bolesti i neke tipične situacije vrijede zajednička upozorenja odnosno postoje zajedničke preporuke. Navodimo neke:

Hipoglikemija- preoperativno gladovanje mora biti minimalno, a intravenske otopine koje se daju trebaju sadržavati glukozu.

Otopine s Ringerovim laktatom (Hartmanova otopina) ne treba davati bolesnicima s rizikom od metaboličke acidemije.

Arterijske kanile su obavezne kod poremećaja koji zahtijevaju česte kontrole elektrolita i acidobaznog statusa.

Plućna aspiracija češća je kod ovih pacijenata u usporedbi sa općom populacijom.

Epileptički napadi su češći kod ovih bolesnika. Antikonvulzive treba nastaviti davati u perioperativnom periodu i izbjegavati epileptogene lijekove.

inhalacijski anestetik sevofluran može izazvati epileptiformnu aktivnost u indukciji u anesteziju. Iako sigurnost indukcije sevofluranom ostaje otvoreno pitanje na koje trebaju odgovoriti daljnja istraživanja većina pedijatrijskih anesteziologa se i dalje odlučuje za takvu indukciju.

Dublje razumijevanje genetike i patofiziologije nasljednih metaboličkih bolesti nedvojbeno pomaže u suzbijanju životno ugrožavajućih komplikacija vezanih uz operaciju i anesteziju. U nastavku osvrnut ćemo se na glavne anesteziološke aspekte nekih skupina nasljednih metaboličkih bolesti.

Mukopolisaharidoze

Dodatni rizik od anestezije za pacijente s mukopolisaharidozom (MPS) proizlazi iz nestabilnosti atlantoaksijalnog zgloba. To je posebno izraženo kod bolesnika s MPS tipa II i IV. U preoperativnoj pripremi treba uzeti anamnezu prethodnih problema s anestezijom, opstruktivnom apnejom u snu, prolaznim paralizama kao odrazom cervikalne nestabilnosti i kompresije kralježnične moždine. Uz standardne laboratorijske pretrage treba napraviti EKG, UZV srca, RTG srca i pluća, RTG vratne kralježnice, a kod onih s kifoskoliozom i testove plućne funkcije. Intubacija može biti otežana zbog makroglosije, mikrognacije i imobilnosti vrata. Često je potrebno koristiti manje tubuse od očekivanih za dob. Buđenje iz anestezije može biti usporeno, a ponekad se jave i postoperativni problemi s opstrukcijom dišnog puta. Treba preferirati, kad god je to moguće, regionalnu anesteziju, a opću predsjedacijom zbog potrebe kontrole dišnog puta.

Rabdomioliza i mioglobinurija u poremećajima oksidacije masnih kiselina

Opća anestezija i stres zbog operacije se smatraju odgovornima za akutnu razgradnju mišića u nekih bolesnika s ovim bolestima, posebno u miopatskom obliku manjka karnitin palmitoil transferaze II. Preporuča se osigurati nadoknadu dovoljne količine glukoze i vode u periodu gladovanja. Kod prisutne mioglobinurije potrebno je davati 10%-tnu glukozu, po potrebi uz insulin intraveniski za održanje normoglikemije. Kod Refsumove bolesti potreban je jednak pristup jer operacija i anestezija mogu inducirati metaboličku krizu.

Izbjegavanje hipoglikemije

Velik broj pacijenata s metaboličkim bolestima je pod rizikom od hipoglikemije. Za njih uobičajeno gladovanje prije opće anestezije i operacije može biti opasno. Preporuka je održavati normoglikemiju ($\text{GUK} \geq 4 \text{ mmol/L}$). Posebnu pažnju zahtijevaju poremećaji oksidacije masnih kiselina, poremećaji karnitinskog ciklusa, glikogenoze, poremećaji glukoneogeneze, hiperinzulinizam i ketotička hipoglikemija. Većina bolesnika s poremećajem oksidacije masnih kiselina može tolerirati gladovanje do 12 sati, no to razdoblje jako ovisi o dobi djeteta drugim okolnostima i bitno je kraće, npr. u dojenčadi. Neki bolesnici s glikogenozom ili hiperinzulinizmom ne mogu tolerirati niti 4-satno gladovanje. Pacijenti koji idu na kraće zahvate trebaju biti planirani za operaciju prvi i dobivati 10 %-tnu glukozu, po potrebi uz inzulin intravenski za održanje normoglikemije. Postoperativno treba postupno prekinuti s davanjem glukoze tek kad je pacijent sposoban peroralno se hraniti. Općenito treba davati 10 %-tnu glukozu brzinom $2500 \text{ ml/m}^2/24\text{h}$, odnosno $150 \text{ ml/kg}/24\text{h}$ kod djece 1-2 godine, $1200\text{-}1500 \text{ ml}$ kod djece 2-6 godina, $1500\text{-}2000 \text{ ml}$ djece ≥ 6 godina. Brzinu davanja infuzije treba prilagoditi nalazima GUK-a, vrsti bolesti i po potrebi drugim faktorima.

Organske acidurije i bolest s mirisom na javorov sirup

U pristupu ovim bolesnicima treba izbjegavati metaboličke krize, koje mogu biti izazvane prevelikom količinom proteina, ali i katabolizmom. Ako je moguće treba odgoditi anesteziju i operaciju sve dok bolesnik ne bude u optimalnom metaboličkom stanju te nema infekciju. U preoperativnoj

pripremi treba provjeriti metaboličko stanje

(amonijak u krvi, pH, elektrolite, plazmatsku koncentraciju aminokiselina, po potrebi i drugo, ovisno o kojoj se bolesti radi). Po potrebi se daju infuzija 10%-tne glukoze s elektrolitima u količini dvostruko od normalnih potreba i primjenjuju specifične mjere za suzbijanje hiperamonijemije. Kod bolesti s mirisom na javorov sirup preporučljivo je, iako teže dostupno, neposredno prije anestezije dati intravenozno 1/3 dnevne doze ili 0,25 g/kg posebnog nadomjestka aminokiselina. Postoperativno se nastavlja intravenozno davanje glukoze sve dok se ne započne s peroralnim hranjenjem.

Poremećaji ciklusa ureje

U ovim bolestima treba izbjegavati hiperamonijemiju uz izbjegavanje katabolizma vlastitih bjelancevina. Pristup je jednak kao i kod organskih acidurija, a razlika je što kod ovih poremećaja koncentraciju amonijaka treba još pažljivije kontrolirati. Bolesnici koji se liječe argininom ili citrulinom moraju ih, po potrebi i mogućnosti dobiti intravenski, uobičajeno 2.5g otopljeno u 50 ml 10%-tne glukoze, no doza ovisi o vrsti bolesti i dobi. Bolesnici koji dobivaju Na-benzoat, fenilbutirat ili oba trebaju dobiti intravenski benzoat-fenilacetat intravenski u dozi koja ovisi o njihovoj bolesti i tjelesnoj masi, u otopini 10%-tne glukoze. Kod kratkih zahvata ove lijekove se može dati i postoperativno, kod dugih zahvata koji će pokrenuti katabolizam ili preoperativno postoji hiperamonijemija, davati ove otopine intraoperativno. Kod dugih zahvata treba davati i infuzije lipida intravenski. Tijekom anestezije za izbjegavati je sve postupke koji mogu povisiti intrakranijalni tlak i provocirati edem mozga kojem su ovi bolesnici skloni. Kao antikonvulziv valja izbjegavati valproat jer može povisiti amonijak u krvi. Treba održavati normoglikemiju. Iz više razloga su ovi bolesnici skloniji povraćanju, pa valja paziti da ne dođe do plućne aspiracije.

Glikogenoza tipa 1 (von gierkeova bolest)

Metabolički poremećaj uzrokovan je manjkom glukoza-6-fosfataze koji onemogućuje pretvaranje glukoza-6-fosfata u glukozu i nema stvaranja glukoze iz glikogena, ali niti glukoneogenezom. Bolesnici imaju izrazitu sklonosti hipoglikemiji i laktacidozi. Također valja kontrolirati acidobazni status preoperativno i postoperativno. Metabolički poremećaj može dovesti do smanjene agregacije trombocita. Taj se problem može regulirati infuzijama glukoze u trajanju 24 do 48 sati prije operacije. Neki od tih bolesnika skloni su konvulzijama. Mnogi imaju hiperuricemiju i hiperlipoproteinemije. Za anesteziologe je važno znati da zbog neregulirane hipertriglicidemije mogu imati povišeni rizik od akutnog pankreatitisa. U literaturi se opisuju slučajevi akutnog pankreatitisa kod ovih bolesnika nakon anestezije propofolom.

Glikogenoza tipa 2 (pompeova bolest)

Karakteristika ove bolesti je progresivno nagomilavanje glikogena u lizosomima svih stanica, posebno mišića, srca i jetre. U kliničkoj slici imaju više ili manje izraženu kardiomiopatiju te slabost dišne muskulature, a iz toga proizlaze problemi u anesteziološkom pristupu. Skloniji su srčanim

aritmijama, imaju sklonost dijastoličkom zatajenju srca, a kasnije i sistoličkom. Ukoliko je moguće s obzirom na operativni zahvat treba raditi regionalnu umjesto opće anestezije. Opću anesteziju valja voditi vrlo oprezno ovisno o stupnju srčanog zatajenja, a kod težih kardiomiopatija paziti da koronarna perfuzija bude zadovoljavajuća. Valja raditi balansiranu anesteziju s lijekovima izbora midazolam i ketamin uz održavanje s N_2O . Preporučljivo je izbjegavati propofol i visoke volumne koncentracije sevoflurana jer su opisani slučajevi kardiorespiratornog aresta kod korištenja ovih lijekova. Kao inotrop prvog izbora koristi se dopamin. Ovisno o stupnju slabosti dišne muskulature može biti otežana ekstubacija i odvajanje od mehaničke ventilacije. Preporuka je da se ne koristi mišićne relaksanse.

Mitohondrijske bolesti

To su bolesti s poremećajem stvaranja energije zbog disfunkcije mitohondrijskih enzima. Organi koji su jako ovisni o energiji kao što su mozak, srce i skeletni mišići pokazuju najočitije znakove bolesti. Radi se o heterogenoj skupini bolesti. U preoperativnoj procjeni najbolji pokazatelj rizika je kliničko stanje bolesnika. Njihovi preoperativni problemi ih čine sklonima komplikacijama u anesteziji kao što su: refraktorna epilepsija, hipotonija i slabost bulbarne muskulature s povišenim rizikom aspiracije i pneumonije, smanjena respiratorna funkcija uz smanjenu kardijalnu rezervu sa sklonošću aritmijama i metabolički poremećaji. Ciljevi anestezije su kontrola stresa, kardiorespiratorna stabilnost, održavanje normoglikemije, izbjegavanje laktacidoze. Veza između mitohondrijskih bolesti i maligne hipertermije danas je u većini slučajeva odbačena, ali s oprezom treba pristupiti anesteziji bolesnika koji uz mitohondrijsku citopatiju imaju i miopatiju. U tim slučajevima valja izbjegavati depolarizirajuće mišićne relaksanse te potentne inhalacijske anestetike. Preporuke za ove bolesnike su sljedeće:

1. Detaljna preoperativna procjena respiratorne funkcije. Postoperativno po potrebi koristiti mehaničku ventilaciju da se osigura normalna oksigenacija i eliminacija CO_2 .
2. Detaljna preoperativna procjena kardijalne funkcije.
3. Aktivno tražiti znakove infekcije, posebno pneumonije koju treba odmah agresivno liječiti i odgoditi elektivne operacije do izlječenja.
4. Izbjegavati korištenje Ringerovog laktata zbog opasnosti od laktacidoze
5. Održavati normoglikemiju, normotermiju, normalan acidobazni status perioperativno.
6. Anestezija propofolom ima određene učinke na mitohondrije:
 - (1) inhibicija OXPHOS kompleksa I
 - (2) inhibicija karnitin palmitoil transferaze I

(3) inhibicija β -oksidacije

Smatra se da su ovi učinci na mitohondrije odgovorni za nastanak propofolskog infuzijskog sindroma (metabolička acidoza, refraktorno zatajenje srca, vrućica i mioglobinurija). Korištenje produljene TIVE s propofolom se ne preporuča kod bolesnika s mitohondrijskim bolestima.

7. Regionalna anestezija s lokalnim anestheticima izaziva smanjenje u sintezi ATPa; koristiti lokalne anestetike s posebnim oprezom
8. Barbiturati, benzodiazepini, opiodi, N_2O predstavljaju teorijski rizik za ove bolesnike zbog poremećaja koje izazivaju u oksidativnoj fosforilaciji
9. S današnjim znanjem ketamin i niske doze volatilnih anestetika se smatraju sigurnim izborima

Zaključak

Rizici anestezije u bolesnika s nasljednim metaboličkim bolestima u su brojni i za mnoge ove bolesti specifični. Može ih se smanjiti dobrom pripremom i uskom suradnjom anesteziologa i liječnika specično educiranih za liječenje nasljednih metaboličkih bolesti dovoljno prije anestezije, za vrijeme i poslije nje. Vrlo je važno surađivati i s osobljem metaboličkog laboratorija kako bi laboratorijska podrška postupcima anestezije i intenzivnog liječenja bila optimalna.

Literatura

Driessen JJ. Neuromuscular and mitochondrial disorders: what is relevant to the anaesthesiologist?. Current Opinion in Anaesthesiology. 2008;21:350–355.

Holzman RS, Manass TJ, Polover DM. A Practical Approach to Pediatric Anesthesia. Lippincot Williams and Wilkins. 2008

Bustamante SE, Appachi E. Acute pancreatitis after anesthesia with propofol in a child with glycogen storage disease type IA. Pediatr Anesth. 2006; 16:680-683.

Driessen J, Willems S, Dercksen S, Giele J, Van Der Staak F, Smeirink J. Anesthesia-related morbidity and mortality after surgery for muscle biopsy in children with mitochondrial defects. Pediatric Anesthesia. 2007; 17(1):16-21.

Shipton EA, Prosser DO. Mitochondrial myopathies and anesthesia. Eur J Anesthesiol. 2004;21:173-178.

Kongenitalni mijastenički sindromi

Nina Barišić, Ivan Lehman

Klinika za pedijatriju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, KBC Zagreb, Kišpatićeva 12, Zagreb

Kongenitalni mijastenički sindromi – dijagnostika i terapija

Kongenitalni mijastenički sindromi (KMS) predstavljaju poremećaje granice sigurnosti neuralne transmisije na presinaptičkoj, sinaptičkoj i postinaptičkoj razini. Dijagnoza kongenitalnog mijasteničkog sindroma postavlja se na temelju kliničke slike koja uključuje mišićnu slabost uzrokovanu zamorom koja se pojavljuje od ranog djetinjstva, pad amplitude mišićnog potencijala pri repetitivnoj stimulaciji (dekrementalni odgovor) i odsutnost protutijela na acetilkolinske receptore (AChR) i mišićno specifičnu kinazu (MuSK). Neki kongenitalni mijastenički sindromi manifestiraju se kasnije, a mišićna slabost i dekrementalni odgovor pojavljuju se intermumentno sa selektivnom raspodjelom u određenim mišićnim skupinama. Dijagnostički postupci uključuju morfološke (svjetlosna i elektronska mikroskopija) i elektrofiziološke pretrage funkcije završne ploče, molekularnu gensku analizu i analize ekspresije genske mutacije. Presinaptički oblici uključuju kongenitalni mijastenički sindrom s epizodičnom apnejom te kongenitalni mijastenički sindrom sa smanjenom sintezom i vezikularnim punjenjem ACh, kongenitalni mijastenički sindrom s manjkom sinaptičkih mjehurića i kongenitalni mijastenički sindrom sličan Lambert-Eatonovu sindromu. Presinaptički kongenitalni mijastenički sindrom vezan je uz recesivne mutacije gena ChAT (kolinacetiltransferaza). Sinaptički oblik uzrokovan je mutacijom podjedinice kolagenskog repa acetilkolinesteraze (AChE). Većina kongenitalnih mijasteničkih sindroma su postsinaptički, uzrokovani mutacijama AChR podjedinica. Najčešće su mutacije gena za epsilon podjedinicu. Općenito, besmislene ili mutacije s pomakom okvira čitanja uzrokuju kongenitalni mijastenički sindrom zbog smanjene ili odsutne ekspresije proteina i nasljeđuju se autosomno recesivno. Mutacije rapsina uzrokuju primarni manjak AChR na završnoj ploči. Prikazujemo djecu s kongenitalnim presinaptičkim i postinaptičkim poremećajima koji su udruženi sa značajnom varijabilnošću kliničke ekspresije u okviru kongenitalnog mijasteničkog sindroma.

Kongenitalni mijastenički sindromi

Kongenitalni mijastenički sindrom je vrlo heterogena skupina nasljednih bolesti neuromuskularne spojnice čija incidencija varira od 1:1.000.000 do 1:500.000. Kongenitalni mijastenički sindromi

vezani za presinaptički, sinaptički i postsinaptički dio neuromuskularne spojnice uzrokovani su nasljednim poremećajima granica sigurnosti neuralne transmisije kao posljedice genetski uvjetovanih oštećenja strukture i funkcije neuromišićne spojnice. Najčešće mjesto oštećenja je postsinaptički dio neuromuskularne spojnice (1, 2).

Nedostatak kolinacetil transferaze (ChAT) je presinaptički defekt uzrokovan mutacijom gena na kromosomu 10q11 (2, 3). Manifestira se pojavom periodičkih apneja te kliničkom slikom koja odgovara sindromu iznenadne dojenačke smrti. Posljedica mutacije je smanjena resinteza i vezikularno punjenje ACh, zatim smanjeni broj vezikula i smanjeno otpuštanje kvanta acetilkolina (4, 1). U skupinu presinaptičkih defekata ubraja se i Lambert-Eatonovu sindromu sličan sindrom. Nedostatak AChE predstavlja sinaptički defekt uzrokovan mutacijom gena za kolageni rep molekule AChE na kromosomu 3p25. U nedostatku AChE izražen je progresivan razvoj mišićne slabosti i skolioze te spore reakcije zjenica na svjetlost (5). Postsinaptički defekti obuhvaćaju primarne kinetičke abnormalnosti AChR te nedostatak AChR (6). Geni za podjedinice AChR čije mutacije uzrokuju primarnu funkcionalnu (kinetičku) abnormalnost AChR nalaze se na različitim kromosomima. Različiti tipovi mutacija, te kromosomske mikrolecije, su uzrok kongenitalnog mijasteničkog sindroma. Kinetičke abnormalnosti AChR dijele se na bolest brzih i bolest sporih kanala. Smanjeni odgovor na ACh povezan je s bolešću brzih kanala, pri čemu je izražen smanjeni afinitet za ACh. Klinički se bolest manifestira artrogripozom i recidivnim apnejama. Kinetičke abnormalnosti AChR mogu biti udružene sa smanjenim ili normalnim brojem AChR. Bolest sporih kanala povezana je s pojačanim odgovorom na ACh. Najčešći uzrok bolesti je mutacija gena ϵ -podjedinice AChR. Bolest karakterizira slabost izazvana naporom i selektivno zahvaćanje skapularnih i kranijalnih mišića te dorzifleksora šake. U bolesti sporih kanala karakteristična je pojava repetitivnog akcijskog potencijala na pojedinačni podražaj, kao i u nedostatku acetilkolinesteraze (AChE).

Primarni nedostatak AChR, uzrokovan je mutacijom gena za rapsin na kromosomu 11p. Rapsin je protein koji sudjeluje u formiranju i održavanju neuromišićne spojnice, odgovoran je za agregaciju AChR na postsinaptičkoj membrani i njihovo povezivanje, putem distroglikana, sa subsinaptičkim citoskeletom.

Gen DOK7 (kromosom 4p16.2) kodira fosfotirozin kinazu odgovornu za aktivaciju MuSK. MuSK je značajna za sazrijevanje i održavanje neuromuskularne spojnice, tako da povećava gustoću AChR (8).

Opisan je i kongenitalni mijastenički sindrom kao posljedica mutacije gena za MuSK.

Nedostatak plektina čiji je gen lokaliziran za kromosomu 8p24 vezan je za postsinaptički dio neuromuskularne spojnice i može uzrokovati razvoj kongenitalnog mijasteničkog sindroma.

Mutacija gena za natrijeve kanale uzrokuje poremećaj neuromuskularne transmisije vezan za postsinaptički dio neuromuskularne spojnice.

Klinička slika i dijagnostika

Simptomi su vrlo brojni i sukladni su simptomima drugih nasljednih i stečenih neuromuskularnih te metaboličkih bolesti. Kliničku sliku čine poremećaji bulbomotorike (ptoza i oftalmopareza), tih plač, teškoće pri sisanju i gutanju, bulbarni simptomi te generalizirana slabost muskulature, razvoj skolioze, kontraktura, artrogripoze i srčane aritmije (9). Kongenitalni mijastenički sindrom se može prezentirati intermitentnim pogoršanjima, zamaranjem uz pojačan napor, apnejama te razvojem respiratorne insuficijencije. Artrogripoza može biti prisutna već kod rođenja.

Kongenitalni mijastenički sindromi se nasljeđuju autosomno dominantno ili autosomno recesivno. Klinički se manifestiraju od rane dojenačke dobi do sedmog desetljeća. Tijek bolesti može biti vrlo raznolik, od progresivanog i teškog do potpuno neprogresivnog. Poboljšanje tijekom vremena nastaje kod deficijencije rapsina. Apneje se manifestiraju u primarnom nedostatku AChR uzrokovanom nedostatkom rapsina i kod bolesti brzih kanala (postsinaptički defekti) te u deficijenciji kolinacetil transferaze ChAT (presinaptički defekt) (10).. Nedostatak AChE očituje se razvojem progresivne skolioze, usporenim reakcijama zjenica na svjetlost i nedjelotvornošću inhibitora kolinesteraze (11).

Bolesnici s nedostatkom rapsina već intrauterino razvijaju kontrakture. Kasnije se javlja izrazita mišićna slabost te respiratorna insuficijencija uzrokovana interkurentnim infekcijama. Dekrementalni odgovor na repetitivnu stimulaciju može biti odsutan (2).

Kliničku sliku bolesti uzrokovane mutacijom gena DOK7 obilježava progredirajuća slabost proksimalnih i aksijalnih mišićnih skupina koja se pojavljuje tijekom druge godine života, uz blagu ptozu i blago izraženu slabost lične muskulature, razvoj skolioze te respiratorne insuficijencije (12). Prilikom hoda, bolesnici okreću i uvrću noge što je tipično za taj oblik kongenitalnog mijasteničkog sindroma.

Izraziti statički i dinamički zamor mišića te česte apneje obilježavaju kongenitalni mijastenički sindrom uzrokovan mutacijom gena natrijevih kanala *SCN4A* (Tsujino 2003)

Test pomoću edrofonij klorida (i.v.) ili prostigmina (0.01-0.02 mg/kg i.m.) je pozitivan u svih bolesnika s kongenitalnim mijasteničkim sindromom, osim u deficijenciji AChE. Anti-AChR i anti MuSK protutijela su negativna.

Neurofiziološki test repetitivnom stimulacijom uzrokuje smanjivanje evociranih mišićnih potencijala. Stimulacija se vrši frekvencijom 3-10 Hz. Stimulacija pomoću *single fiber EMG* (SFEMG) koristi se u svrhu određivanja gustoće mišićnih vlakana. Repetitivni M potencijal nastaje na pojedinačni stimulus u nedostatku AChE te bolesti sporih kanala.

Dijagnoza se postavlja pomoću vrlo složenih metoda. Određuje se i mjeri broj acetilkolinskih receptora na završnoj ploči. Analizom završne ploče pomoću elektronskog mikroskopa utvrđuje se izgled presinaptičkog i postsinaptičkog dijela neuromuskularne spojnice. Imunocitokemijskim

metodama analizira se sadržaj rapsina, agrina, urotrofina i laminina. Elektrofiziološkim tehnikama, ispitivanjem funkcije završne ploče *in vitro*, pomoću mikroelektroda, analiziraju se potencijali završne ploče, zatim broj oslobođenih kvanta te kvaliteta i tip ionskih kanala. Konačna se dijagnoza postavlja pomoću molekularno genetskih analiza (13). Analiza funkcije, odnosno genske ekspresije, vrši se u humanim embrionalnim stanicama bubrega.

Diferencijalna dijagnoza

Diferencijalna dijagnoza vrlo je opsežna obzirom da su simptomi kongenitalnog mijasteničkog sindroma sukladni simptomima većine nasljednih bolesti mišića i perifernih živaca. Kongenitalna mišićna distrofija, kongenitalne miopatije, proksimalna spinalna mišićna atrofija, kongenitalna hipomijelinizacijska neuropatija te neuropatija sa sklonošću kljenuti na pritisak očituju se vrlo sličnim simptomima. Klinički simptomi kongenitalnog mijasteničkog sindroma sukladni su i simptomima u stečenih neuromuskularnih bolesti te tako diferencijalna dijagnoza obuhvaća mijasteniju gravis, akutni neuritis, botulizam u dojenčadi i miozitis. U kongenitalnom mijasteničkom sindromu se manifestiraju faze intermitentnih pogoršanja simptoma uz simptome oftalmopareze. Klinička slika odgovara i mitohondrijskim bolestima. Diferencijalnodijagnostički dolaze u obzir i anomalije razvoja moždanog debla i Moebiusov sindrom. Svakako je potrebno isključiti navedene bolesti prije postavljanja dijagnoze kongenitalnog mijasteničkog sindroma. Dijagnostički postupak obuhvaća određivanje vrijednosti kreatin kinaze (CK), anti AChR, anti MuSK, laktata, EMG, test neuromuskularne spojnice, MR mozga, biopsiju mišića i živca, analizu cerebrospinalnog likvora te molekularno genetsku analizu.

Terapija

Specifična dijagnoza nakon detaljne obrade pacijenta vrlo je važna jer lijekovi koji pomažu u jednom obliku kongenitalnog mijasteničkog sindroma, mogu pogoršati kliničku sliku u drugom. U terapiji se koristi inhibitor acetilkolinesteraze piridostigmin osim u slučaju nedostatka AChE. U nekih bolesnika s mutacijama DOK7 gena te AChE dolazi do pogoršanja uz terapiju piridostigminom. U bolesnika u kojih inhibitori acetilkolinesteraze nisu djelotvorni primjenjuje se 3,4 diaminopiridin (DAP) u dozi 1 mg/kg dnevno: u bolesnika s nedostatkom AChR s i bez kinetičkih abnormalnosti, u bolesti brzih kanala, zatim u kongenitalnom mijasteničkom sindromu sličnom Lambert Eatonovu sindromu, u kongenitalnom mijasteničkom sindromu uzrokovanom poremećajima MuSK, nedostatkom plektina i rapsina. 3,4 DAP je djelotvoran smanjujući ptozu te povećavajući izdržljivost bolesnika s kongenitalnim mijasteničkim sindromom. 3, 4 DAP povećava oslobađanje kvanta acetilkolina produljujući trajanje akcijskog potencijala (8). Nuspojave 3,4 DAP uključuju parestezije, adrenergične nuspojave (palpitacije, nesanicu i ventrikularne ekstrasistole) te kolinergične nuspojave- (bronhalnu hipersekreciju, proljev i kašalj). U većim dozama može uzrokovati epileptičke napadaje. Lijek nije registriran od *Food and Drug Administration* (FDA) u Sjedinjenim Američkim Državama te se koristi uz odobrenje bolničkih povjerenstava dok se slobodno propisuje u nekim europskim zemljama (Njemačka). U kongenitalnom mijasteničkom sindromu uzrokovanom poremećajem na razini natrijevih kanala piridostigmin uz acetazolamid su bili djelotvorni u prevenciji recidivnih slabosti respiratorne i bulbarno inervirane muskulature.

U bolesti sporih kanala primjenjuje se kinidin (15-60 mg/kg/d, terapijska koncentracija 5 μ M/L) u 4-6 doza. Kinidin je blokator otvaranja kanala vezanih uz AChR (14). Kontraindiciran je u svim drugim oblicima kongenitalnog mijasteničkog sindroma. Nuspojave uključuju produljenje QT intervala, ventrikularne aritmije, hemolitičku anemiju, agranulocitozu, trombocitopeniju. Fluksetin (terapijska koncentracija 10 μ M/L) se primjenjuje u odraslih bolesnika koji ne podnose kinidin. U djece i adolescenata ga treba izbjegavati jer povećava sklonost suicidu. Efedrin (3 mg/kg/dan) se pokazao učinkovitim u nekoliko bolesnika s nedostatkom AChE (11), nedostatkom rapsina te kongenitalnom mijasteničkom sindromu uzrokovanom mutacijama gena DOK7 (14). Efedrin vjerojatno povećava oslobađanje acetilkolina, ali i blokira AChR. Nuspojave uključuju nesanicu, hipertenziju, palpitacije i anksioznost. U bolesnika s nedostatkom acetilkolinesteraze terapija je u principu neuspješna, ali je opisana uspješna primjena efedrina (8). U nekoliko bolesnika prednizon je bio djelotvoran, a u jednog bolesnika je uzrokovao pogoršanje dok je atrakurij omogućio privremeno odnosno povremeno odvajanje od strojnog disanja. Značajno je spomenuti da je piridostigmin kontraindiciran u bolesnika s nedostatkom AChE jer povećava stvaranje sekreta u dišnim putevima i blokira butirilkolinesterazu koja delomično kompenzira nedostatak AChE u završnoj ploči. U nekih bolesnika s kongenitalnim mijasteničkim sindromom potrebno je primjeniti strojno disanje već od rođenja, a odvajanje se provodi nakon nekoliko mjeseci. Operacije skolioze treba učiniti kada završi rast kostiju u drugom desetljeću. Prehrana preko gastrostome je potrebna u nekih bolesnika s disfagijom. Djelotvornost terapije procjenjuje se temeljem mogućnosti ustajanja iz čučnja ili sjedećeg položaja, održavanjem udova u atigravitacijskom položaju, smanjenjem stupnja ptoze, mogućnošću uspinjanja stubama, trajanja hoda bez potrebe odmora te spirometrijskim mjerenjima(14).

Literatura

1. Engel AG. *Congenital myasthenic syndromes: progress over the past decade. Muscle Nerve* 2003;27: 4-25.
2. Engel AG, Sine SM. *Current understanding of congenital myasthenic syndromes. Curr Opin Pharmacol.* 2005 Jun;5(3):308-21
3. Barisic N, Muller JS, Paucic-Kirincic E, Gazdik M i sur. *Clinical variability of CMS-EA (congenital myasthenic syndrome with episodic apnea) due to identical CHAT mutations in two infants. Eur J Pediatr Neurol* 2005; 9:7-12
4. Ohno K, Tsujino A, Brengman JM i sur. *Choline acetyltransferase mutations cause myasthenic syndrome associated with episodic apnea in humans. Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 :2017-2022.
5. Middleton LT. *Report on the 34 th ENMC International Workshop- congenital myasthenia syndormes. Neuromusc Disord* 1996; 6:133-136.
6. Hantai D, Richard P, Koeing J, Eymard B. *Congenital myasthenic syndromes. Curr Opin Neurol* 2004;17:539-551

7. Barišić N, Schmidt C, Sidorova OP, Herczegfalvi A, Gekht BM, Song IH, Stucka R, Karcagi V, Abicht A, Lochmuller H. Congenital myasthenic syndrome (CMS) in three European kinships due to a novel splice mutation (IVS7-2A/G) in the epsilon Acetylcholine receptor (AChR) subunit gene. *Neuropediatrics* 2002;33:249-254.
8. Palace J, Lashley D, Newsom-Davis J, Cossins J i sur. Clinical features of the DOK 7 neuromuscular junction synapthopathy. *Brain* 2007; 130:1507-1515.
9. Hoffmann K, Muller JS, Stricker S, i sur. Escobar syndrome is a prenatal myasthenia caused by disruption of the acetylcholine receptor fetal gamma subunit. *Am J Hum Genet.* 2006 Aug;79(2):303-12.
10. Cai Y, Cronin CN, Engel AG i sur. Choline acetyltransferase structure reveals distribution of mutations that cause motor disorders. *EMBO J* 2004; 23:2047-2058.
11. Bestue-Cardiel M, Saenz de Cabezon-Alvarez A, Capablo-Liesa JL, i sur. Congenital endplate acetylcholinesterase deficiency responsive to ephedrine. *Neurology.* 2005 Jul 12;65(1):144-6.
12. Muller JS, Herczegfalvi A, Vilchez JJ i sur. Phenotypical spectrum of DOK7 mutations in congenital myasthenic syndromes. *Brain.* 2007 Jun;130(Pt 6):1497-506.
13. Von der Hagen M, Schallner J, Kaindl AM, i sur. Facing the genetic heterogeneity in neuromuscular disorders: linkage analysis as an economic diagnostic approach towards the molecular diagnosis. *Neuromuscul Disord* 2006 Jan;16(1):4-13.
14. Engel AG. The therapy of congenital myasthenic syndromes. *Neurotherapeutics.* 2007 Apr;4(2):252-7.
15. Tsujino A, Maertens C, Ohno K, 2003 Myasthenic syndromes caused by mutation of the SCN4A sodium channel. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003 ; 100:7377-7382.

Nasljedni ekstrapiramidni poremećaji razvojne dobi

Ljerka Cvitanović-Šojat, Romana Gjergja Juraški, Tamara Žigman, Ivana Maloča

Klinika za pedijatriju, KB Sestre milosrdnice, Zagreb

Ekstrapiramidni poremećaji su važna manifestacija neurometaboličke bolesti u djece. Ekstrapiramidni sistem čini u mozgu dio motoričkog sistema koji je odgovoran za koordinaciju. Kada govorimo o ekstrapiramidnim simptomima, mislimo na bolesti s kliničkom simptomatologijom poremećaja kretanja - nevoljni pokreti tijela i ekstremiteta (diskinezija) uz abnormalnosti držanja, tonusa, ravnoteže i fine motoričke kontrole, odnosno smanjeni opseg voljnih pokreta (akinezija). Ekstrapiramidni sustav u širem smislu čine bazalni gangliji, retikularna formacija ponsa i medule, mali mozak, lateralna vestibularna jezgra, a u užem smislu bazalni gangliji. Budući je uloga ekstrapiramidnog sustava održavanje tonusa mišića, izvođenje automatskih i poluautomatskih pokreta i stvaranje uvjeta za izvođenje voljnih pokreta, tako se i poremećaji ovog sustava očituju poremećajima tonusa i poremećajima pokreta. Iako se ekstrapiramidni simptomi javljaju rjeđe kao prvi znak, već češće kasnije u tijeku progresije metaboličke bolesti, treba misliti i na mogućnost metaboličke bolesti u djece sa ekstrapiramidnim poremećajem.

Razne su kliničke manifestacije ekstrapiramidnog poremećaja: **Ataksija** je poremećaj koordinacije tijela koji se očituje nesposobnošću izvođenja jednostavnih, preciznih i koordiniranih motoričkih radnji. Ataksija može biti akutna ili rekurentna odnosno kronična ili progresivna. U testovima koordinacije potrebno je razlučiti da li se radi o senzornoj ili cerebelarnoj ataksiji. **Koreja** je pojam koji se odnosi na iregularne, brze, nekontrolirane, nevoljne pokrete ekstremiteta i vrlo često mišića odgovornih za artikulaciju i gutanje. **Atetoza** uključuje nehotične, nevoljne, polagane crvolike kretnje distalnih dijelova ekstremiteta, lica ili jezika. Vrlo često se koreja ne može razgraničiti od atetoze, pa govorimo o koreoatetozi. **Tremor** se sastoji od ritmičkih oscilacijskih pokreta pojedinih dijelova tijela (prsti, ekstremiteti, jezik, glava), a uzrokovan je izmjeničnim kontrakcijama pojedinih mišićnih skupina i njihovih antagonista. **Distonija** je prolongirana kontrakcija agonističkih i antagonističkih mišića trupa i proksimalnih dijelova ekstremiteta, što rezultira promjenom držanja ekstremiteta i trupa. **Parkinsonizam** je skup simptoma koji uključuje akinetski tremor (tremor u mirovanju), bradikineziju odnosno usporenje pokretljivosti i povišen mišićni tonus po tipu rigora.

Metaboličke bolesti koje se mogu očitovati **akutnom ili rekurentnom ataksijom** su Hartnupova bolest, bolest javorovog sirupa, deficit piruvat dehidrogenaze, neki poremećaji ciklusa ureje i neke

organske acidopatije. Hartnupova bolest je autosomno recesivna bolest uzrokovana poremećajem transporta neutralnih (npr. monoaminomonokarboksilnih) kiselina na apikalnom dijelu enterocita i stanica proksimalnog bubrežnog tubula. Javlja se najčešće u periodu od 3. do 9. godine života, iako su opisani slučajevi pojave u novorođenčeta u dobi od 10 dana. Očituje se kožnim promjenama nalik na pelagru, aminoacidurijom i neurološkim oštećenjima. U kliničkoj slici je prisutna intermitentna cerebelarna ataksija, hod na širokoj osnovi, spasticitet, odgođeno motoričko sazrijevanje. Mogu se javiti i dvoslike, nistagmus, fotofobija i strabizam. Mentalni status najčešće je uredan. Samo kod manjeg broja pacijanata opisana je retardacija (IQ 50-70). Bolest javorovog sirupa je aminoacidopatija koja nastaje zbog enzimskog defekta u katabolizmu razgranatih aminokiselina- leucina, izoleucina i valina. Akumulacija ovih aminokiselina i njihovih ketokiselina vodi encefalopatiji i progresivnoj neurodegeneraciji u neliječene djece. Klinička slika može biti različita, tako razlikujemo nekoliko fenotipova. U klasičnom tipu, koji se javlja u dobi od 4 - 7 dana neurološki znakovi se brzo razvijaju (fluktuirajući tonus muskulature, konvulzije, encefalopatija). Intermedijalni tip je rjeđi, može se prezentirati u bilo kojoj dobi, a klinički je obilježen neurološkim oštećenjem, zastojem u razvoju, konvulzijama. Intermitentni tip ima simptomatologiju u periodu interkurentne bolesti (npr. otitisa) kada se mogu javiti ataksija, letargija, konvulzije i koma. Bez liječenja je ishod letalan. Deficit piruvat-dehidrogenaze je jedan od najčešćih neurodegenerativnih poremećaja povezanih s abnormalnim mitohondrijalnim metabolizmom. Progresivni neurološki ispadi počinju već u dojenačkoj dobi, a uključuju usporen psihomotorni razvoj, intermitentnu ataksiju, hipotoniju, nevoljne pokrete očima i konvulzije.

Kronična ili progresivna ataksija je jedan od prvih kliničkih znakova nekih lizosomskih bolesti kao što su, Krabbeova bolest, GM₁ i GM₂ gangliozidoza, metakromatska leukodistrofija s kasnim početkom, Niemann-Pickova bolest tipa C, zatim L-2-hidroksiglutarina acidurija, abetalipoproteinemija, Refsumova bolest i ataksija teleangiektazija Louis-Bar. L-2-hidroksiglutarinska acidurija je poremećaj u kojoj su zahvaćeni bazalni gangliji, a promjene pojačanog intenziteta u bijeloj tvari pri magnetskoj rezonanciji se vide već u dojenačkoj dobi. Obilježena je hipotonijom, tremorom, epilepsijom, mišićnom koreodistonijom, mentalnom retardacijom i često makrokranijom. Krabbeova bolest je autosomno recesivna sfingolipidoza uzrokovana sniženom aktivnošću enzima galaktozil-ceramid-beta-galaktozidaze (GALC). S obzirom na dob pojavljivanja simptoma razlikuju se infantilni (3 - 6 mjeseci), kasni infantilni (6 mjeseci - 3 godine), juvenilni (3 - 8 godina) i adultni tip (>8 godina). Većina bolesnika ima klasični ili infantilni tip kod kojeg se razlikuju tri stadija. U prvom stadiju javljaju se iritabilnost, hipertonijska, hiperestezija, periferna neuropatija i usporenje psihomotornog razvoja. U drugom stadiju javlja se rapidno psihomotorno propadanje, pojačava se hipertonijska, opistotonus, hiperrefleksija i javlja se optička atrofija. Mogu se javiti i konvulzije. U trećem stadiju vidljiv je gubitak voljnih pokreta i perzistentan decerebrirani položaj. Bolesnici postaju slijepi, gluhi i nesvjesni vanjskih podražaja. U kasnom infantilnom tipu simptomi su isti ali se sporije razvijaju. Juvenilni tip ima varijabilnu brzinu progresije. Prvi znakovi adultnog tipa mogu biti periferna neuropatija, cerebelarna disfunkcija, spasticitet i oštećene više kortikalne funkcije. Kod GM₁ gangliozidoze nedostaje beta galaktozidaza zbog mutacija u genu GLB1. Kod kasne infantilne forme koja se javlja između 1. do 3. života godine simptomi počinju s ataksijom, konvulzijama, poteškoćama govora i razvojem demencije. U adultnom obliku koji se javlja između 3. do 30. godine života prisutna je distonija s kontrakcijama mišića i nenormalnim držanjem, javljaju se

angiokeratomi. GM₂ gangliozidoza uključuje Tay-Sachsovu i Sandhoffovu bolest; nedostaje lizosomski enzim beta-heksozaminidaza, što rezultira akumulacijom GM₂ ganglioziida u lizosomima, osobito u središnjem živčanom sustavu. Tay-Sachsova bolest počinje obično u drugom tromjesečju života gubitkom motoričkih funkcija i karakterističnom prejakom reakcijom na zvuk (hiperakuzija). Postupno slabi i vid, javlja se spastičnost mišića, teškoće gutanja, konvulzije, kasnije i makrocefalija. Smrt nastupa između druge i četvrte godine. Ova varijanta ima i svoj juvenilni i adultni oblik koji su sporijeg tijeka. Sandhoffova bolest ima sličan tijek, a dodatni znakovi bolesti mogu biti hepatosplenomegalija i lipidima ispunjeni makrofazi u koštanoj srži. Niemann-Pick tip C je neuronopatska forma bolesti koja se nasljeđuje autosomno recesivno; biokemijska podloga bolesti je poremećen transport kolesterola i rezultira nakupljanjem kolestreola i sfingomijelina u lizosomima. U oko petine djece bolest počinje u novorođenačkoj dobi kao kolestatska žutica s progresivnom hepatosplenomegalijom i smrću od zatajenja jetre unutar 6 mjeseci. Početak u dojenačkoj dobi obilježava hepatosplenomegalija na koju se nadovezuju hipotonija, zaostatak u razvoju, spastičnost, motoričko i mentalno propadanje. Smrt nastupa obično do pete godine. Najčešće bolest počinje u kasnoj dojenačkoj ili dječjoj dobi. Hepatosplenomegaliji često prethode neurološki simptomi, ataksija, popuštanje u školi, smetnje ponašanja, dizatrija, poremećena je fina motorika. Epilepsija je česta, a neka djeca imaju i katapleksiju. Za ovaj oblik tipična je supranuklearna vertikalna paraliza bulbomotora. Kasnije se razvijaju spastičnost i disfagija. Bolest smrtno završava obično u pubertetu ili adolescenciji. Ako bolest počne u odrasloj dobi, česti su neurološki simptomi bez visceromegalije. Abetalipoproteinemija je bolest s tipičnim profilom plazma lipoproteina u kojem su LDL i VLDL lipoproteini u plazmi odsutni. Uzrokovana je autosomno recesivnom mutacijom gena za mikrosomalni prijenosni protein za trigliceride. Klinički se očituje steatorejom, povraćanjem i slabim napredovanjem već u dojenačkoj ili ranoj dječjoj dobi, a kasnije najvjerojatnije kao posljedica nedostatka vitamina E. Gube se tetivni refleksi i senzitivne funkcije. Prisutni su ataksija, tremor, disartrijski i drugi neurološki simptomi koji s vremenom progrediraju. Smrtni ishod najčešće nastupa u trećem desetljeću života. Metakromatska leukodistrofija je autosomno recesivna bolest bijele tvari uzrokovana nedostatkom arilsulfataze-A, koja sudjeluje u razgradnji glikosfingolipida koji se talože u bijeloj tvari, pa nastaje demijelinizacija i neurodegeneracija. Razlikuju se tri tipa bolesti - kasnoinfantilni, juvenilni i adultni. Najčešći je kasnoinfantilni oblik u kojem bolest počinje krajem prve ili u tijeku druge godine života s brзом progresijom do smrti, obično do četvrte godine života. Simptomi su gubitak stečenih psihomotoričkih funkcija, mišićna hipotonija, oslabljeni tetivni refleksi, u kasnijim fazama mišićna hipertonijska napadaj rigora i hiperpireksija. Bolest završava obično slikom decerebracije. Juvenilni i adultni oblici bolesti očituju se kasnije u životu, razvoj bolesti je mnogo sporiji, a prosječno trajanje života dulje. Refsumova bolest je neurokutani sindrom biokemijski karakteriziran akumulacijom fitaničke kiseline u plazmi i tkivima. Defektan je enzim fitanoil-CoA hidroksilaza, peroksisomski enzim koji katalizira prvi korak alfa-oksidacije fitaničke kiseline. Kliničke karakteristike bolesti, koja obično počinje u školskoj dobi, su periferna polineuropatija, cerebelarna ataksija, retinitis pigmentosa i ihtioza. Rjeđe se opažaju oslabljen osjet sluha ili njuha. Kad se u kombinaciji s navedenim promjenama nađe i ihtioza dijagnoza je vrlo vjerojatna. Pelizaus Merzbacherova X-vezana (Xq21-22) recesivna nasljedna bolest ima poremećaj u sintezi mijelina zbog nedostatka određenog proteino-lipidnog apoproteina, aksonska vlakna su očuvana, a mutiran je gen PLP1. Razlikuje se prema kliničkoj slici nekoliko tipova s početkom u različitoj životnoj dobi (klasični, konatalni, prijelazni,

adultni oblici), sporo je progresivna, smrt nastupa s 30 godina. U kliničkoj slici dominira ataksija, koreoatetoza, nevoljni pokreti, tremor, spastičnost, nistagmus, psihomotoričko zaostajanje. Distonija se u vrtičkoj dobi može zamijeniti s mioklonijama. Zbog abnormalnog mijelina radi se o leukodistrofiji, a na MR mozga se nalaze demijelinizacijske promjene na velikom i malom mozgu. Kongenitalna malapsorpcija folata karakterizirana je nedostatnom apsorpcijom folata u crijevima i odsutnošću transporta folata u SŽS. Mutacije nastaju u genu C46A1 koji kodira protein za transport folata (PCFT). Simptomi počinju u ranom djetinjstvu kao teška megaloblastična anemija i nenapredovanje, a od 2. godine života javljaju se simptomi od strane živčanog sustava uzrokujući ataksiju, atetozu, periferne neuropatije, konvulzije, mentalnu retardaciju i kalcifikacije mozga. Ataksija teleangiektazija se nasljeđuje autosomno recesivno, mutacija je u genu ATM koji je serin-treonin kinaza i nalazi se na kromosomu 11q22-23. Može biti otkrivena putem kliničke slike ataksije, koreoatetoze, distonije, mioklonija i dizatrije već od u prvoj godini života. Dijagnozu obično možemo postaviti uočavanjem karakteristične okulocefaličke asinergije, okularnih teleangiektazija, učestalih infekcija respiratornog sustava, atrofije limfnih čvorova i niskih vrijednosti IgA antitijela.

Sve bolesnike sa **ponavljajućim atakama ataksije** između kojih su prisutni intervali bez simptoma treba obraditi na mogući metabolički poremećaj. Intermitentna ataksija je česta manifestacija metaboličke dekompenzacije kod poremećaja metabolizma ciklusa ureje, organskih acidopatija, nekih oblika bolesti javorovog sirupa i deficita piruvat dehidrogenaze.

Distonijom i koreoatetozom se mogu očitovati glutarna acidurija tipa I, Lesch-Nyhanov sindrom, metilmalonska i propionska acidemija nakon oštećenja nastalih u metaboličkim krizama, Hallervorden Spatzova bolest, *dystonia musculorum deformans*, Huntingtonova korea, bolest bazalnih ganglija osjetljiva na biotin. Glutarna acidurija tipa I je poremećaj karakteriziran manjkom enzima glutaril - CoA dehidrogenaze. Karakteristično je da bolest najčešće prolazi gotovo asimptomatski do dobi između pola i 3 godine kad dijete obično u okviru interkurentne infekcije ili drugog stresa doživljava tzv. encefalopatičnu krizu u kojoj su zahvaćeni bazalni gangliji, nukleus kaudatus i putamen, a posljedica su teška mišićna distonija i diskinezija. Prije toga na bolest mogu uputiti blaža hipotonija, makrokranija, razdražljivost i/ili tremor. Lesch-Nyhanov sindrom je rijedak X - vezani poremećaj u metabolizmu purina zbog nedostatka enzima hipoksantin-gvanin fosforibozil-transferaze. Kliničke manifestacije u dječaka se očituju u dojenačkoj dobi narančastim tragovima uratnih kristala na pelenama i hiperuricemijom, a kasnije se razvija intelektualni deficit, distonija, koreoatetoza, spasticitet, disartrični govor i kompulzivno samo-ozljeđivanje. Propionska acidemija zbog nedostatka propionil CoA karboksilaze klinički je karakterizirana nespecifičnim simptomima u prvom tjednu života, kao što su poteškoće hranjenja, povraćanje, hipotonija, letargija, dehidracija i klinički znakovima ketoacidoze. Ako novorođenčad preživi prvi tjedan života razvija se kasnije klinička slika teške mentalne retardacije, ponekad distonije i koreoatetoze. Metilmalonska acidemija uključuje heterogenu skupinu poremećaja karakteriziranih akumulacijom metilmalonske kiseline i njezinih ko-produkata u tjelesnim tekućinama. Najčešće se radi o nedostatku enzima metilmalonil - Co A mutaze ili deficitu intracelularnog metabolizma kobalamina. Klinički je, ako je riječ o manjku mutaze, slična propionskoj acidemiji, a poremećaji metabolizma kobalamina mogu imati drugačiji tijek u kojem metabolička kriza s acidozom i hiperamonijemijom manje izražena, a prevladava neurološka simptomatologija koja može uključivati i koreoatetozu,

distoniju, disfagiju, disartriju i zaostajanje u psihomotornom razvoju. Neuronalna degeneracija povezana s mutacijom gena za pantotenat kinazu (PANK2 gen) – Hallevorden- Spatz je autosomno recesivna progresivna bolest, koja se može razviti u bilo kojoj dobi u rasponu od 2 do 15 godina, a rjeđe i kasnije u odrasloj dobi. U globusu palidusu se nakuplja pigment sa željezom i dolazi do simetrične destrukcije. Progresivna distonija, rigidnost, koreoatetozu su često inicijalni simptomi. Rigiditet, distonija i koreoatetozu prethode progresivnoj i teškoj mentalnoj deterioraciji. Dijagnoza postaje evidentna kada ove rane manifestacije postaju udružene s demencijom, pigmentnim retinitisom i akantocitozom. Dystonia musculorum deformans (idiopatska torzijska distonija) je benigna nasljedna koreja (autosomno dominantna ili autosomno recesivna) koja ne dovodi do demencije i rane smrti. Supstrat su bazalni gangliji tj. njihova funkcionalna abnormalnost, vjerojatno poremaćaj djelovanja dopamina. Nastaje poslije 10. godine s bizarnim distonim torzijskim izvijanjem tijela ili dijelova tijela i kontrakcijama mišića agonista i antagonista. Distonija nestaje u spavanju, a može biti fokalna, segmentalna, multifokalna i generalizirana. Emocije i stres povećavaju distoniju. Intenzitet ovih simptoma je promjenljiv, a može biti prisutna i bol. S vremenom se razvije mentalna retardacija. Često je prisutna lordoza s lateralnim nakrivljenjem trupa. Obično je govor očuvan. Lice je rijetko zahvaćeno. Huntingtonova koreja je autosomno dominantno nasljedna bolest bazalnih ganglija, s mutacijom u genu HTT koji kodira protein huntingtin. Može se očitovati kao juvenilna, odnosno u dječjoj ili adolescentnoj dobi s nevoljnim pokretima, finim tremorom koji nestaje pri započinjanju pokreta, odsutnošću koordinacije, naglim pokretima bulbusa, koreom, rigiditetom, abnormalnim držanjem, demencijom i konvulzijama. Bolest bazalnih ganglija osjetljiva na biotin je recesivno oboljenje koje nastaje zbog mutacije gena SLC19A 1,2,3 koji kodiraju transport folata i tiamina. Počinje u djetinjstvu i očituje se kao subakutna encefalopatija, smetenost, disartrija, disfagija, rigiditet, distonija, kvadripareza i eventualno smrt. Magnetskom rezonancijom se vide promjene u nukleusu kaudatusu i putamenu. Simptomi se smiruju nakon par dana uz davanje 5-10 mg/kg/dnevno biotina.

Parkinsonizam i distonija su neurološke manifestacije Wilsonove bolesti, sindroma Segawa, Gaucherove bolesti tipa III. Wilsonova bolest je rijedak autosomno-recesivan poremećaj transporta bakra, karakteriziran razvojem ciroze jetre i degenerativnih promjena središnjeg živčanog sustava, dominantno bazalnih ganglija. Neurološke manifestacije bolesti rijetko se javljaju prije 10-te godine života, a uključuju progresivnu distoniju, tremor, disartriju, rigiditet i koreoatetozu. Hereditarna progresivna distonija s diurnalnom varijacijom, uz uredno intelektualno funkcioniranje i dobar terapijski odgovor na liječenje l-dopom su karakteristike sindroma Segawa. Nasljeđuje se autosomno-dominantno, a češće se javlja u ženskog spola. Odgovoran enzim je guanozin trifosfat ciklohidrolaza 1, koji sudjeluje u metabolizmu tetrahidrobiopterina, koji je potreban u sintezi neurotransmitera dopamina i serotonina, a mutacija se nalazi u genu GCH1. Gaucherova bolest tipa III uzrokovana je sniženom aktivnošću beta-glukocerebrozidaze. Bolest se može vrlo rijetko u početku očitovati distonijom koja je udružena s vertikalnom i lateralnom supranuklearnom oftalmoplegijom, a u kasnijem tijeku se može javiti parkinsonizam i kognitivno propadanje.

Nevoljni pokreti i tremor javljaju se u nasljednom poremećaju biosinteze kreatina na nivou guanidinoacetat metiltransferaze, zbog mutacije u genu GAMT koji se nalazi na kromosomu 19p13.3. Nasljeđuje se autosomno recesivno. Prvi znaci mogu biti teški ekstrapiramidni poremećaj (nevoljni pokreti, tremor, tik), hipotonija, smetnje govora, epilepsija i mentalna retardacija.

Promjene se nalaze u globus palidusu. Opaža se usporena mijelinizacija. Klinička slika i promjene na mozgu značajno se poboljšavaju suplementacijom kreatina.

Zaključak

Ekstrapiramidni znakovi nisu prisutni samo u neurološkim bolestima nego mogu biti i sastavni dio nasljednih metaboličkih poremećaja. Simptomi se mogu javiti u svim dobnim skupinama, iako je pojavnost rjeđa u ranoj životnoj dobi. Također, njihova pojavnost kao izoliran znak bolesti nije patognomonična niti za jedan metabolički poremećaj, već se javlja uz ostale kliničke simptome i manifestacije. Ekstrapiramidni pokreti nisu rijetki u nasljednim metaboličkim bolestima te bi njihova pojava u djece u razvojnoj dobi kod kliničara morala pobuditi sumnju i usmjeriti u opsežnu obradu mogućeg nasljednog metaboličkog poremećaja.

Literatura

Barić I. Nasljedne metaboličke bolesti u Mardešić D. i sur. *Pedijatrija, Školska knjiga Zagreb 2000*, 129-183.

Barišić N. i sur: *Pedijatrijska neurologija. Medicinska naklada Zagreb 2009*; 33-40,

Barth PG, Hoffmann GF, Jaeken J, Lehnert W, Hanefeld F, van Gennip AH, et al. L2 hydroxy glutaric academia: A novel inherited neurometabolic disease. *Ann Neurol* 1992;32:66-7

Christopher R, Sankaran BP. An insight into the biochemistry of inborn errors of metabolism for a clinical neurologist. *Ann Indian Acad Neurol* 2008;11:68-81.

Garcia-Cazorla A, Wolf NI, Serrano M, Perez-Duenas B, Pineda M, Campistol J, Fernandez-Alvarez E, Colmer J, Dimauro S, Hoffman GF. Inborn errors of metabolism and motor disturbances in children. *J Inherit Metab Dis* 2009 Aug 30. [Epub ahead of print]

Gascon GG, Ozand PT, Brismar J. Movement disorders in childhood organic acidurias: Clinical neuroimaging and biochemical correlations. *Brain Dev* 1994;16:94-103.

Hardie RJ, Young EP, Morgan-Hughes JA. Hexosaminidase A deficiency presenting as juvenile progressive dystonia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1988;51:446-59.

Heidenrieck R, Natowics M, Hainline BE, Berman P, Kelley RI, Hillman RE, et al. Acute extrapyramidal syndrome in methyl malonic academia: "Metabolic stroke" involving the globus pallidus. *J Pediatr* 1988;113:1022-7.

Johnson MV. Movement disorders. in *Nelson Textbook of Pediatrics, 18th edition, Saunders Elsevier Philadelphia 2007*; 2488 - 2493.

Joseph KA, Van ger pen MW, Van Gerpen JA. Adult onset nieman-pick disease type C presenting with psychosis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2003;74:528-9.

Muthane UB, Chikkabasaviah Y, Kaneski C, Shankar SK, Narayanappa G, Christopher R, et al. Clinical features of adult GM1 gangliosidosis: Report of three Indian patients and review of 40 cases. *Mov Disord* 2004;19:1334-41.

Parker CC, Evans OB. Metabolic disorders causing childhood ataxia. *Semin Pediatr Neurol* 2003;10:193-9.

Roze E, Paschke E, Lopez N, Eck T, Yoshida K, Maurel-Ollivier A, et al. Dystonia and Parkinsonism in GM1 type 3 gangliosidosis. *Mov Disord* 2005;20:1366-9.

Salem M. Metabolic ataxias. In: Vinken PJ, Bruyn GW, editors. *Handbook of clinical neurology*. Vol 21. Amsterdam: North-Holland; 1975. p. 573-85.

Saudubray JM, Charpentier C. Clinical phenotypes: Diagnosis/Algoritms. u Scriver CR, Beaudet AL, et al, eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. 8th ed. New York: McGraw-Hill 2001; 1366-1369.

Segawa M, Hosaka A, Miyagawa F, Nomura Y, Imai H. Hereditary progressive dystonia with marked diurnal fluctuation. *Adv Neurol* 1976;14:215-33.

Stockler S, Isbrandt D, Hanefeld F, Schmidt B, von Figura K. Guanidinoacetate methyltransferase deficiency: the first inborn error of creatine metabolism in man. *Am J Hum Genet* 1996; 58:914-22.

Superti-Furga A, Hoffman GF. Glutaric aciduria type 1 (Glutaryl CoA-dehydrogenase deficiency): Advances and unanswered questions. *Eur J Pediatr* 1997;157:821.

Topcu M, Aydin OF, Yalcinkaya C, Haliloğlu G, Aysun S, Anlar B, et al. L-2-Hydroxyglutaric aciduria: A report of 29 patients. *Turk J Pediatr* 2005;47:1-7.

Razvojne anomalije mozga zbog nasljednih metaboličkih bolesti

Sanda Huljev Frković

Klinika za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta u Zagrebu, Kišpatićeva 12, Rebro, 10000 Zagreb

Razvojne anomalije mozga uzrokovane su prekidom normalnog razvoja mozga bilo zbog okolišnih ili genetskih uzroka. Mijenjajući intrauterini okoliš, nasljedne metaboličke bolesti genetski uzrokovanom promjenom u nekom od metaboličkih putova mogu postati uzrokom poremećaja u razvoju mozga. Ovim poglavljem prikazana je veza između pojedinih razvojnih anomalija i specifičnih metaboličkih poremećaja. Način na koji poremećaji u metabolizmu dovode do poremećaja u razvoju mozga nije do kraja razjašnjen - radi li se o toksičnom učinku, promjenama na membranama, energetsom deficitu ili je u pitanju poremećaj ekspresije gena odgovornih za morfogenezu pitanja su na koja će odgovarati buduća ispitivanja.^{1,2}

Poremećaji u formiranju neuralne cijevi

Poremećaji formiranja ili zatvaranja neuralne cijevi mogu biti vezani uz smanjenu aktivnost 5,10 metilentetrahidrofolat reduktaze (MTHFR) i poremećaje metabolizma folne kiseline. Folna kiselina je kofaktor neophodan za metilaciju homocisteina u metionin. Niska razina folata u eritrocitima tijekom prvog trimestra trudnoće vezana je uz povećani rizik za nastanak anomalija neuralne cijevi kao što su meningokele, encefalokele i malformacije Chiari.³ Nedavnim istraživanjima identificirana mutacija 677 C-T u genu za 5,10 metilentetrahidrofolat reduktazu predstavlja genetski rizični faktor za poremećaje u formiranju neuralne cijevi. Kao rezultat mutacije nastaje termolabilan enzim neophodan za metilaciju homocisteina u metionin. Ova mutacija u trudnica ili u fetusa oštećuje intrauterino metilaciju DNA i na taj način uzrokuje poremećaj morfogeneze.⁴

Osim uz metabolizam folata, poremećaji u formiranju neuralne cijevi kao što je malformacija Chiari tipa I, opisani su u etilmalonskoj aciduriji.

Poremećaji u nastanku prozencefalona

Holoprozencefalija predstavlja težak poremećaj u razvoju prozencefalona. Opisuje se u nekih bolesnika sa Smith - Lemli - Opitzovim sindromom (SLOS) koji je uzrokovan manjkom 7- dehidrokolesterol- reduktaze i posljedičnim poremećajem sinteze kolesterola. Bolesnici ima-

ju osobite crte lica (širok nos, mala brada, nisko položene vjeđe), mikrocefaliju, psihomotorno i tjelesno zaostaju, mogu imati višestruke malformacije udova (spojeni 2. i 3. prst na nogama, polidaktilija), anomalije srca, bubrega, genitala. Prema jednoj od studija Smith- Lemli-Opitzov sindrom nađen je u jednog od 125 pacijenata sa holoprozencefalijom.⁵ Prema drugom radu, od 80 pacijenata s ovim sindromom, jedan ima holoprozencefaliju.⁶

Uloga kolesterola u embriogenezi središnjeg živčanog sustava postala je jasnija otkrićem skupine gena Sonic hedgehog (SHH) među mnogim genima čije mutacije uzrokuju holoprozencefaliju. Kolesterol je bitan čimbenik u posttranslacijskom modificiranju Shh proteina kao i u njegovom signalnom putu. Ovo se navodi kao jedna od mogućih veza između sindroma SLO i poremećaja koji dovode do modifikacije Shh proteina te posljedičnih razvojnih anomalija mozga.^{5,7}

Smith-Lemli- Opitzov sindrom može u kliničkoj slici imati i ostale anomalije kao što su ageneza korpusa kalozuma, polimikrogirija, anomalije malog mozga.¹⁶

Tablica 1 Razvojne anomalije mozga (osim poremećaja migracije) u nasljednim metaboličkim bolestima.

Razvojna anomalija mozga Nasljedna metabolička bolest	Poremećaj formiranja neuralne cijevi	Holoprozencefalija	Anomalije malog mozga	Hipoplazija temporalnog režnja
Mitochondropatije: Manjak enzima respiratornog lanca			+	
Poremećaji oksidacije masnih kiselina: Glutarna acidurija tip 2			+	+
Metabolizam folne kiseline: MTHFRD	+			
Organske acidurije: Glutarna acidurija tip 1 Etilmalonska aciduria	+			+
Poremećaj metabolizma kolesterola: Smith-Lemli-Opitz		+		
Metabolizam glikoproteina: CDG tip Ia			+	
Poremećaj metabolizma elemenata u tragovima: Menkesova bolest			+	

Poremećaji migracije i nastanka korpusa kalozuma

Poremećaji migracije često se vide u peroksisomskim bolestima. Zellwegerov sindrom je bolest koju karakterizira hipotonija, dizmorfija, konvulzije, disfunkcija jetre, ciste bubrega, mentalna retardacija. Ovaj je sindrom prva metabolička bolest povezana s poremećajem migracije. Opisane su okcipitalna pahigirija, frontalna i perisilvička polimikrogirija, lisencefalija, periventrikularna heterotopija, hipoplastičan korpus kalozum, abnormalni slojevi malog mozga, displazija donjih jezgara olive i olfaktornog bulbusa. Blaži stupanj kortikalne displazije nađen je u drugim peroksisomskim bolestima kao što su infantilna Refsumova bolest, hondrodisplazija punktata, pseudoneonatalna adrenoleukodistrofija. Mehanizam nastanka ovih poremećaja nije poznat. Ranije teorije o toksičnosti metabolita kao što je pipekolična kiselina zbog oštećenja funkcije peroksisoma danas su uglavnom odbačene činjenicom da ih placenta većinu odstranjuje. Sarnat i autori⁸ našli su promjene u periventrikularnom endodimalnom području i poremećenu ekspresiju fetalnog proteina S-100 i citokeratina u Zellwegerovom sindromu nalik onima nađenim u drugim poremećajima migracije poput sindroma Miller- Dieker i kongenitalnoj mišićnoj distrofiji Fukuyama. Promjene periventrikularnog područja i poremećaj neurogeneze progenitorskih stanica mogle bi biti objašnjenje migracijskih poremećaja. Novije teorije povezuju poremećaje migracije s membranskim defektom u peroksisomskim bolestima te nedostatkom specifičnih peroksisomskih enzima kao što je D-bifunkcionalni protein.⁹

Mitohondropatije su heterogena grupa poremećaja stvaranja energije s različitim kliničkim manifestacijama. Razvojne anomalije mozga i simptomatologija od strane središnjeg živčanog sustava čest su nalaz u bolesnika s mitohondropatijama. Obzirom na potrebe mozga za energijom i nemogućnost regeneracije neurona, ovo nije neočekivano. Niti jedna malformacija nije specifična za određene mitohondrijske bolesti, sve se mogu naći samostalno ili u kombinaciji, u različitim poremećajima. No ipak, najbolje je poznata povezanost kompletne ili parcijalne ageneze korpusa kalozuma kod bolesnika s manjkom piruvat dehidrogenaze (PDH). Manjak piruvat dehidrogenaze je poremećaj mitohondrijskog stvaranja energije koji nastaje zbog mutacije u jednom od komponenti PDH kompleksa. U više od 90% pacijenta zahvaćena je E1 α podjedinica ovog kompleksa. Ovo je X vezana bolest s visokim postotkom ženskih heterozigota, dok je mutacija za muškarce letalna. U bolesnika s mutacijom gena za E1 β i E3 podjedinicu kompleksa PDH kod kojih postoji ostatna enzimska aktivnost obično se nađe parcijalna ageneza ili vrlo tanak korpus kalozum^{10,11}. Kod manjka E1 α kao i u nekim drugim mitohondropatijama kao što je poremećaj kompleksa I i IV respiratornog lanca ili kod mutacije MELAS mogu se naći i drugi poremećaji migracije: displazija i heterotopija donje olive, različiti oblici kortikalne disorganizacije, pahigirija, mikrogirija. Manjak fumaraze još je jedna bolest iz ove skupine u kojoj se može naći ageneza korpusa kalozuma, te cerebralne i cerebelarne heterotopije. Promjene u bijeloj tvari koje se vide u ovoj skupini bolesti mogle bi biti odraz degenerativnog procesa ili nastaju zbog poremećaja mijelinizacije. Još uvijek je otvoreno pitanje je li za nastanak anomalija mozga u mitohondrijskim bolestima zaslužan deficit energije, akumulacija toksičnih metabolita, nedostatak neurotransmitera ili kombinacija ovih čimbenika.

Glutarna acidurija tipa 2 je poremećaj oksidacije masnih kiselina karakteriziran neketotič-

nim hipoglikemijama, metaboličkom acidozom, hipotonijom, dismorfijom, progresivnom kardiomiopatijom i ranom smrću. Kod težih oblika ovog poremećaja nađene su pahigirija, neuronalne heterotopije, hipoplastičan korpus kalozum, hipoplastični temporalni lobusi kao i malformacije malog mozga.¹²

Poremećaji u metabolizmu aminokiselina rijetko uzrokuju anomalije mozga vjerojatno zbog sposobnosti placente da odstrani toksične metabolite. Neketotična hiperglicinemija je defekt u cijepanju glicina i iznimka je od ovog pravila. Bolest se očituje u neonatalnoj dobi letargijom, mioklonim napadima i nakupljanjem glicina u tijelu bez razvijanja ketoze. Kod fetusa s neketotičnom hiperglicinemijom visoke vrijednosti glicina u likvoru izmjerene su već 30 minuta nakon poroda. Neki bolesnici imaju disgenezu korpusa kalozuma. Uz poremećaj korpusa kalozuma u ovoj su bolesti opisane anomalije girusa i hipoplazija malog mozga.¹³

Primjer utjecaja intrauterinog okoliša na disgenezu korpusa kalozuma je i hiperfenilalaninemija majke. Kod neliječenih bolesnika s fenilketonurijom oštećenja

(progresivna mikrocefalija, mentalna retardacija, usporena mijelinizacija) nastaju nakon rođenja. Nasuprot tomu, neregulirana hiperfenilalaninemija majke tijekom trudnoće djeluje teratogeno, uzrokuje metalnu retardaciju, mikrocefaliju, nisku porođajnu težinu, prirođenu srčanu grešku novorođenčeta. Od razvojnih anomalija mozga opisana je hipoplazija korpusa kalozuma. Potomstvo dobro kontroliranih bolesnica nema anomalija kalozuma, a kod neplaniranog potomstva vidi se postnatalno kašnjenje mijelinizacije. Ovo se objašnjava činjenicom da visoka koncentracija fenilalanina oligodendrogliju pretvara u nemijelinizirajući fenotip čime se oštećuje intrauterina mijelinizacija.^{14,15}

Anomalije malog mozga

Razvojne anomalije malog mozga relativno su često opisane uz prirodene greške metabolizma. Prvenstveno se ovo odnosi na prirodene poremećaje glikozilacije tj. poremećaje u sintezi glikoproteina (CDG-sindromi). Ovi poremećaji nastaju zbog nedostatka enzima koji ima ulogu u sintezi, prijenosu ili doradi oligosaharidnog lanca, te kao posljedica nastaje nepotpuna glikozilacija proteina. Razlikuju su poremećaji N-glikozilacije, O-glikozilacije i kombinirani poremećaji. Među češćim poremećajima iz ove skupine je CDG sindrom tipa 1a koji nastaje zbog manjka fosfomanomutaze. Bolest obilježava mišićna hipotonija, hiporefleksija, zaostajanje u rastu i razvoju, dizmorfija, disfunkcija jetre, konvergentni strabizam, kardiomiopatija. Uz ovaj poremećaj opisane su cerebelarna hipoplazija i olivopontocerebelarna atrofija^{17,18}.

Kongenitalne mišićne distrofije skupina su bolesti koje karakterizira prirođena hipotonija, psihomotorno zaostajanje, mišićna slabost i specifičan histološki nalaz mišića. Mišićne distrofije koje pripadaju poremećajima O- glikozilacije karakteriziraju znatne promjene središnjeg živčanog sustava- poremećaji migracije i anomalije malog mozga. Tako bolesnici s kongenitalnom mišićnom distrofijom Fukuyama imaju polimikrogiriju malog mozga (s ili bez cista), polimikrogiriju frontalnog korteksa, hipoplaziju ponsa i vermisa s difuznom cerebralnom hipomijelinizacijom.

Tablica 2 Poremećaji migracije i dizgeneza korpusa kalozuma zbog nasljednih metaboličkih bolesti.

Poremećaj migracije i dizgeneza korpusa kalozuma Nasljedna metabolička bolest	Pahigirija / lizencefalija	Polimikrogirija	Kortikalna heterotopija	Cerebelarna displazija	Displazija olivarnih jezgara	Disgeneza korpusa kalozuma
Peroksizmalne bolesti: Zellwegerov sindrom Infantilna Refsumova b. Pseudoneonatalna adrenoleukodistrofija Hondrodisplazija punktata	+	+	+	+	+	+
Mitochondrijski poremećaji: Manjak piruvat dehidrogenaze Manjak fumaraze	+	+	+	+	+	+
Poremećaji metabolizma masnih kiselina: Manjak karnitin palmitoil transferaze 2 Glutarična acidemija 2	+		+			+
Aminoacidurije: Maternalna fenilketonurija Neketotična hiperglicinemija	+					+
Organske acidurije: 3 – hidroksibutarična acidurija	+					+
Poremećaji metabolizma kolestrola: Smith – Lemli – Opitz	+	+	+	+		+
Poremećaji metabolizma elemenata u tragovima: Menkesova bolest			+	+		+
Poremećaji metabolizma glikoproteina: CDG tip Ia Kongenitalna mišićna distrofija Fukuyama Bolest mišić-oko-mozak Walker-Warburgov sindrom	+	+	+	+		+

Ponekad se okcipitalno vidi tzv. „popločani“, (engl. *cobblestone*) korteks. Kod bolesnika s bolešću mišić-oko-mozak opisuje se polimikrogirija malog mozga s ili bez cista, nedostatak septuma

peluciduma, difuzna kortikalna displazija s područjima hipomijelinizacije, hipoplazija ponsa i vermisa, hipogeneza kalozuma i hidrocefalus. Bolesnici s Walker Warburgovim sindromom imaju karakterističnu tzv. *cobblestone* lizencefaliju difuzno, s potpunom odsutnošću mijelina uz polimikrogiriju malog mozga s ili bez cisti, te kao i ostali poremećaji iz ove skupine hipoplaziju ponsa i vermisa^{19,20}. Uz Walker Warburgov sindrom opisuju se i Dandy Walkerova anomalija.

Anomalije malog mozga nalaze se u poremećajima respiratornog lanca, npr. kompleksa IV (citokrom c oksidaza)²¹, a hipoplazija vermisa opisana je u pacijenta s Menkesovom bolešću²².

Hipoplazija temporalnih režnjeva

Metabolička bolest udružena s hipoplazijom frontotemporalnih dijelova mozga i širokom Silyijevom fisurom je glutarna acidurija tip 1. Ova bolest uzrokovana je manjkom enzima glutaril-CoA dehidrogenaze zbog kojeg nastaje poremećaj u razgradnji aminokiselina lizina, hidroksilizina i triptofana. Karakterizirana je makrocefalijom, stečenom strijatalnom degeneracijom s posljedičnom distonijom i koreatetozom. Do dobi od godinu dana može biti potpuno bez simptoma. Simptomi se javljaju kada bolesnik prođe „encefalopatičnu krizu“, obično u tijeku neke infekcije ili drugog napora. Frontotemporalna hipoplazija sa širokom Silvijevom fisurom može se vidjeti i na slikovnim pretragama asimptomatskih bolesnika. U ukupnom broju nalazi se u više od 90% bolesnika. Široka mezencefalična cisterna vidi se kod oko 80% bolesnika, dok se promjene bijele tvari i pseudociste bazalnih ganglija prisutne su kod otprilike 60% bolesnika^{23,24}.

Hipoplastični temporalni režnjevi opisani su i u glutarnoj aciduriji tipa 2.

Zaključak

Mnoge nasljedne metaboličke bolesti mogu se očitovati razvojnim poremećajem središnjeg živčanog sustava. Metode slikovnog prikaza zajedno s anamnestičkim podacima i fizikalnim statusom imaju ulogu u postavljanju rane dijagnoze i donošenju kliničkih odluka. Također, prepoznavanje metaboličkog poremećaja kao uzroka određene razvojne anomalije mozga važno je radi odabira terapijskog pristupa, te genetskog savjetovanja.

Literatura

1. Bamforth FJ, Bamforth JS, Applegarth DA. Structural anomalies in patients with inherited metabolic diseases. *J Inherit Metab Dis* 1994;17:330-332
2. Brown G.K. Congenital brain malformations in mitochondrial disease *J Inherit Metab Dis* 28 (2005)393-401
3. Mills JL, Scott JM, Kirke PN, et al. Homocysteine and neural tube defects. *J Nutr* 1996;126:756s-760s.
4. Van der Put NMJ, Steegers-Theunissen RPM, Frost P, et al. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase

as a risk factor for spina bifida. *Lancet* 1995; 346: 1070-1078.

5. Kelley RL, Roessler E, Hennekam CM, et al. Holoprosencephaly in RSH /Smith-Lemli-Opitz Syndrome: does abnormal cholesterol metabolism affect the function of sonic hedgehog? *Am J Med Genet* 1996;66:478-484.

6. Cuniff C, Kratz LE, Moser A et al. Clinical and biochemical spectrum of patients with RSH/ Smith- Lemli –Opitz Syndrome and abnormal cholesterol metabolism. *Am J Med Genet* 1997;68:263-269.

7. Cooper MK, Porter JA, Young KE, et al. Teratogen mediated inhibition of target tissue response to SHH signaling. *Science* 1998;280:1603-1607.

8. Sarnat HB, Treven CL, Darwish HS. Ependymal abnormalities in cerebro-hepato-renal disease of Zellweger. *Brain Dev* 1993;15:270-277.

9. Itoh M, Suzuki Y, Akaboshi S, et al. Developmental and pathological expression of peroxisomal enzymes: their relationship of D-bifunctional protein deficiency and Zellweger syndrome. *Brain Res* 2000;858:40-47.

10. Brown GK, Otero LJ, LeGris M, Brown RM. Pyruvate dehydrogenase deficiency. *J Med Genet* 1994; 21:875-879

11. Otero LJ, Brown GK, Silver K, et al. Association of cerebral dysgenesis and lactic acidemia with X-linked E1 alfa subunit mutations in females. *Pediatr Neurol* 1995; 13: 327-332.

12. Takanashi J, Fujii K, Sugita K, et al. Neuroradiologic findings in glutaric aciduria type II. *Pediatr Neurol* 1999;20:142-145.

13. Press G, Barshop BA, Haas RH, et al. Abnormalities of the brain in nonketotic hyperglycinemia: MR manifestations. *AJNR Am J Neuroradiol* 1989;10:315-321.

14. Levy HL, Lobbregt D, Barnes PD, et al. Maternal phenylketonuria: Magnetic resonance imaging in offspring. *J Pediatr* 1996;128:770-775.

15. Koch R, Verma S, Gilles FH. Neuropathology of a 4-month-old infant born to a woman with phenylketonuria. *Developmental Medicine and Child Neurology* 2008; 50: 230-233.

16. Caruso PA, Poussaint TY, Tzika AA, Zurakowski D, Astrakas LG, Elias ER, Bay C, Irons MB. MRI and 1H MRS findings in Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Neuroradiology* 2004 Jan; 46(1):3-14.

17. Jaeken J, Matthijs G. Congenital disorders of glycosylation: a rapidly expanding disease family. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2007;8:261-78.

18. Holzbach U, Hanefeld F, Helms G, et al. Localized proton magnetic resonance spectroscopy of cerebral abnormalities in children with carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome. *Acta Paediatr* 1995;84:781-

786.

19. Barkovich AJ. Neuroimaging manifestations and classification of congenital muscular dystrophies. *Am J Neuroradiol* 19:1389-1396, September 1998.

20. Reed UC. Congenital muscular dystrophy, Part I: a review of phenotypical and diagnostic aspects. *Arq Neuropsiquiatr* 2009;67(1):144-168.

21. Lincke CR, van der Bogert C, Nijtmans LG, et al. Cerebellar hypoplasia in respiratory chain dysfunction. *Neuropediatrics* 1996;27:216-218.

22. Aynaci FM, Mocan H, Bahadir S, et al. A case of Menkes syndrome associated with deafness and inferior cerebellar vermis hypoplasia. *Acta Paediatr* 1997;86:121-123.

23. Twomey EL, Naughten ER, Donoghue VB, Ryan S. Neuroimaging findings in glutaric aciduria type I. *Pediatr Radiol* (2003) 33: 823-830.

24. Neumaier-Probst E, Harting I, Seitz A, Ding C, Kolker S. Neuroradiological findings in glutaric aciduria type I (glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency). *J Inher Metab Dis*. 27(2004)869-876.

Peroksisomne bolesti

Melita Čačić Hribljan

Klinika za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta u Zagrebu,
Kišpatićeva 12, Rebro, 10000 Zagreb

Peroksisomi

Peroksisomi su stanične organele prisutne u eukariotskim stanicama. Iako su prvi puta otkriveni prije više od pola stoljeća, do 1973. godine nije bila poznata njihova povezanost s bolestima u ljudi sve dok Sidney Goldfischer nije objavio da u bolesnika s Zellwegerovim sindromom nedostaju peroksisomi u stanicama jetre i bubrega. Od tada je učinjen veliki napredak u razumijevanju ne samo biologije i biokemije samih peroksisoma, nego su opisani i brojni poremećaji vezani uz disfunkciju ovih organela. Te entitete nazivamo grupno peroksisomne bolesti, a uzrok im je nedostatak jednog ili više peroksisomnih enzima.

Peroksisomi su sitne, višenamjenske stanične organele promjera 0,1 do 1 μm inicijalno nazvane mikrotjelešca. Njihove vrlo važne biokemijske funkcije obuhvaćaju beta-oksidaciju masnih kiselina, biosintezu eterskih fosfolipida (plazmalogeni, aktivirajući čimbenik trombocita, eng. *platelet activating factor*, PAF), biosintezu kolesterola i drugih izoprenoida, detoksifikaciju glikolata u glicin, oksidaciju L-pipekolične kiseline. Naziv su peroksisomi dobili nakon prvih proučavanja koja su pokazala da mogu i stvarati i razgrađivati vodikov peroksid (H_2O_2) te tako zauzimaju ključno mjesto u metabolizmu slobodnih radikala. Istraživanje biologije peroksisoma je i danas vrlo atraktivno područje u kojem je tek nedavno uzdrman stav da su peroksisomi autonomne organele s izdvojenim biokemijskim procesima. Sve je više podataka da peroksisomi i mitohondriji dijele svoje metaboličke puteve, reakcije i metabolite, a otkriveno je i nekoliko proteina koji su im zajednički fizijski adhezijski čimbenici. Također je poznato da su brojne i inetrakcije peroksisoma i s endoplazmatskim retikulumom te se vjeruje da su peroksisomi evolucijski potekli upravo od endoplazmatskog retikuluma. Peroksisomi imaju jednu membranu i nemaju vlastiti DNA što ih razlikuje od mitohondrija s kojima su u uskoj biokemijskoj suradnji tako da ne čudi da su promjene mitohondrija prisutne u nizu primarno peroksisomnih bolesti. Vrlo je interesantna međuigra mitohondrija i peroksisoma u dijeljenju i nadopunjavanju određenih biokemijskih puteva poput beta-oksidacije masnih kiselina. Da navedeni, striktno gledajući biokemijski podatci imaju i kliničke implikacije pokazuje nedavno opisani klinički entitet uzrokovan poremećajem dijeljenja peroksisoma i mitohondrija (kombinirana mitohondrijsko-peroksisomna bolest). Bolest

je uzrokovana mutacijom središnje domene dinaminu sličnog proteina (DLP1). Dinaminu slični proteini su bile prve proteinske molekule otkrivene kao ključni elementi u fiziji peroksisoma. Pripadaju skupini GTPaza koje sudjeluju u tubulacijskim i fizijskim procesima staničnih membrana. Njihova biokemijska važnost vidljiva je upravo iz otkrivenog poremećaja kojem je uzrok oštećena dioba i mitohondrija i peroksisoma zbog mutacije u genu DLP1. Opisan je bolesnik s blagom dismorfijom, mikrocefalijom, dismijelinizacijom, hipotonijom, horizontalnim nistagmusom, odsutnim tetivnim refleksima, povišenim laktatima i alaninom uz blago povišenje određenih masnih kiselina vrlo dugih lanaca. Koliko je važna funkcija dinaminu-sličnog proteina i samog procesa fizije vidi se u težini kliničke slike s letalnim završetkom nakon svega nekoliko tjedana života.

Značajno je imati na umu (zbog ev. terapijskih implikacija u budućnosti) da su peroksisomi vrlo dinamične organele koje pokazuju veliku plastičnost i mogućnost proliferacije u odgovoru na određene stimuluse zvane proliferatorima peroksisoma. Danas se zna da se elongirani peroksisomi mogu podijeliti ili rasti u skladu sa staničnim potrebama, a povremeno se i fuziraju s drugim peroksisomima. Poznato je da postoji i regulirana razgradnja. Njihovu dinamiku pokazuje i često mijenjanje veličine i oblika te sposobnost pomicanja duž citoskeletnih puteva s ciljem odgovarajuće unutarstanične raspodjele.

Peroksisomne bolesti danas grupiramo u dvije velike skupine- poremećaje stvaranja peroksisoma i izolirani nedostatak pojedinačnih enzima.

Poremećaji stvaranja peroksisoma

Poremećaji stvaranja peroksisoma se nasljeđuju atosomno recesivno i uzrokovani su mutacijama u PEX-genima. Defekti u peroksinima, proteinima važnim za biogenezu peroksisoma rezultiraju bilo njihovom potpunom odsutnošću u stanicama, bilo prisutnošću praznih, nefunkcionalnih membranskih vreća, „duhova“, ako je poremećaj zahvatio samo proteine matriksa. Jasno je da nemogućnost stvaranja same organele poput peroksisoma dovodi do višestrukih poremećaja niza tamo smještenih biokemijskih procesa. Takvi bolesnici imaju progresivnu metaboličku bolest uz različite razvojne poremećaje poput razvojnih anomalija koštanog ili središnjeg živčanog sustava. Neurodegeneracija s leukoencefalopatijom i atrofijom mozga se pripisuje progresivnim metaboličkim oštećenjima. I mnogi drugi organi su zahvaćeni: jetra, bubreg, uho i oko, a kliničkom slikom dominira dismorfija (visoko čelo, proširena velika fontanela) uz brojne neurološke ispade (promjena tonusa, smetnje motorike, epilepsija). U ovu skupinu svrstavamo Zellwegerov sindrom, pseudo-Zellwegerov sindrom, neonatalnu adrenoleukodistrofiju i još neka slična stanja.

Klasičan Zellwegerov sindrom je multisistemska autosomno recesivno nasljedna poremećaj koji nastaje uslijed kompletnog nedostatka peroksisoma u svim tkivima što ima za posljedicu generalizirani gubitak svih biokemijskih reakcija vezanih za peroksisome. To je najčešća od svih peroksisomalnih bolesti rane dobi i u tipičnoj kliničkoj prezentaciji se relativno lako prepoznaje već nakon rođenja kombinacijom dismorfičnih crta lica udruženih s koštanim, visceralnim i očnim promjenama uz jaku hipotoniju, odsutnost psihomotornog napredovanja i epilepsiju (*cerebrohepatorenalni sindrom*). Novorođenče s Zellwegerovim sindromom je izrazito hipotono, otežanog

sisanja i gutanja, gotovo bez reakcija na vanjske podražaje što se može pripisati oštećenju sluha i vida. Dominira pendularni nistagmus, a u očnim abnormalnostima se nalaze katarakta ili zamućenje leće, glaukom, atrofija ili ponekad hipoplazija očnih živaca, te degeneracija retine. Česte su Brushfieldove pjegice. Oštećenje sluha se teško može klinički procijeniti u tako malog djeteta, no potvrđuje ga patološki nalaz slušnih evociranih potencijala. Visoko čelo sa širokim korijenom nosa, epikantus, plitke orbite, mikrognatija i deformiteti uške pobuđuju kliničku sumnju da se radi o ovom sindromu. Vrlo je karakterističan nalaz kalcifikacija patele uz sinhondrozu acetabuluma, a česte su hepatomegalija, kriptorhizam, ciste bubrega, srčane mane, te adrenalna insuficijencija uz vrlo kratak životni vijek s neminovnim letalnim ishodom nakon nekoliko mjeseci života. Dijagnoza se potvrđuje bikemijskim nalazom povišenih VLCFA u plazmi, potvrdom odsutnosti peroksisoma u bioptatu jetre ili u kulturi fibroblasta, uz poremećenu sintezu plazmalogena, nakupljanje trihidrokolestanoične, dihidrokolestanoične te pipekolične kiseline. Danas je moguće otkrivanje patogenih mutacija u PEX genima kao potvrda dijagnoze. Prenatalna dijagnostika je dostupna, a u terapijske mogućnosti se ubrajaju samo suportivne mjere.

Točkasta rizomelična hondrodisplazija je bolest koju definira tipičan biokemijski trijas: poremećena sinteza plazmalogena, poremećaj alfa-oksidacije fitanske kiseline i nemogućnost procesiranja peroksisomske tiolaze. Za razliku od klasičnog Zellwegerovog sindroma, katalaza pozitivni peroksisomi se mogu detektirati u tkivima. Klinička prezentacija može varirati, no uobičajen je nalaz značajnog skraćivanja proksimalnih dijelova ekstremiteta (nadlaktice i natkoljenice), mikrocefalija, plosnat korijen nosa i male nosnice, kontraktуре uz spasticitet, katarakta te jako psihomotoričko zaostajanje. Rentgenske pretrage pokazuju točkaste promjene hrskavica. Životni vijek i ove djece je kratak, no dio njih, iako biokemijski pokazuju klasično trostruko biokemijsko obilježje bolesti, ima blažu kliničku sliku bez jasne hondrodisplazije, ali uz jače izraženu mentalnu retardaciju i katarakte. Ostali entiteti uzrokovani poremećenom biogenezom peroksisoma su vrlo rijetki.

Zaključno, biogeneza peroksisoma je skup vrlo složenih bioloških procesa u koje je uključen veliki broj gena (PEX geni) a njihovi genski produkti su proteini (peroksini) uključeni ili u matriks peroksisoma ili su prijenosnici kroz membranu, a poremećaji ekspresije tih gena rezultiraju s više od desetak danas jasno definiranih nasljednih bolesti.

X-vezana adrenoleukodistrofija (MIM 300100)

X-adrenoleukodistrofija (X-ADL) je najčešća proksisomna bolest. Incidencija je različita i procjenjuje se na 1:17000 muške novorođenčadi. Biokemijsko obilježje bolesti je nakupljanje masnih kiselina vrlo dugih lanaca (VLCFA, engl. *very long chain fatty acids*) u tkivima i tjelesnim tekućinama, prije svega u mozgu i srži nadbubrežne žlijezde. Uzrok je poremećena peroksisomna oksidacija navedenih masnih kiselina. Mjerenja su pokazala da je aktivnost peroksisomskih enzima acil-CoA sintetaze vrlo dugih lanaca poput heksakozanoil-CoA i lignoceroil-CoA sintetaze smanjena zbog nedostatka proteina zvanog ALDP koji je protein membrane peroksisoma uključen u aktivni transport enzimskih kofaktora i/ili substrata potrebnih za beta-oksidaciju VLCFA u peroksisomu. Gen za X-ALD je identificiran 1993. godine pozicijskim kloniranjem i nazvan je

gen ABCD1. Gen ima 19,9 kb, 10 egzona i kodira protein zvan ALDP sa 745 aminokiselina. On pripada transmembranskim prijenosnim proteinima superporodice ABC (*ATP-binding cassette*), nema VLCFA sintetaznu aktivnost, a dokazana je ATP-vežuća i ATPazna aktivnost ovog proteina smještenog u peroksisomskoj membrani. Funkcionalno, eukariotski ABC prijenosni proteini sadrže dvije homologne polovice od kojih svaka ima transmembransku domenu i ATP-vežuću domenu. U nekih je cijela molekula kodirana jednim genom, a u nekih dva različita homologa se spajaju u funkcionalnu molekulu. ALDP koji sadrži jednu membransku i jednu ATP-veznu domenu je stoga polumolekula. Novija istraživanja pokazuju postojanje dodatnih peroksisomskih ABC polutransportera koji su vrlo sličnih aminokiselinskih sastava, a čine ih ALDRP, PMP70, PMP69 i PMP70R. Te četiri molekule mogu stvarati različite heterodimerne kombinacije u peroksisomskoj membrani i vjerojatno su uključeni u prijenos različitih metabolita. Čini se da ALDP građen kao homodimer ili možda heterodimer prenosi VLCFA kroz peroksisomsku membranu bilo kao slobodnu masnu kiselinu bilo kao CoA ester. Važnost ovih dodatnih prijenosnih polumolekula je danas predmet istraživanja zbog njihove ev. kliničke indukcije kod oboljelih od X-ALD kojima nedostaje ALDP.

Ono što otežava genske analize je činjenica da je poznato nekoliko stotina mutacija u genu za X-ALD. Za X-ADL tipičan je nedostatak korelacije genotipa i fenotipa čime se postavlja pitanje postojanja ev. modificirajućeg ili modificirajućih gena kojima bi se objasnila velika fenotipska varijabilnost između pojedinih članova unutar iste obitelji koji nose istu mutaciju. Drugo vrlo važno praktično obilježje X-ALD je činjenica da je to bolest s iznimno velikim fenotipskim varijacijama. Danas je sve više jasno da gotovo polovica oboljelih dobije simptome ili se prepoznaje tek u odrasloj dobi s blagim oblicima bolesti (na žalost prečesto krivo dijagnosticirana i skrivena pod entitetima ADHD sindroma ili čak multiple skleroze). Pedijatri i dalje moraju biti senzibilizirani na ovu bolest jer je „tipična“ i najčešća klinička ekspresija još uvijek cerebralna ALD koja počinje u dječaka između 3. i 10. godine života s progresivnom neurološkom simptomatologijom poput hiperaktivnosti, smetnji koncentracije i smetnjama ponašanja u do tada zdravog djeteta. Hemianopsija i progresivno oštećenje vida te centralna sljepoća su vrlo česte i posljedica su oštećenja genikulostrižatalne radijacije, a rjeđe optičke atrofije. Centralni gubitak sluha je također rani znak. Progresivna hemiplegija, kvadriplegija, motoričko i mentalno propadanje, te cerebralni napadi slijede u sklopu progresije bolesti sve do vegetativnog stadija nakon godinu do dvije uz neminovni letalni završetak. Klinička slika izolirane ili cerebralnoj formi pridružene adrenomijeloneuropatije širi spektar ove bolesti, a adrenalna insuficijencija može biti vezana i uz cerebralnu formu i uz adrenomijeloneuropatiju, ali također i izolirani entitet.

Dijagnoza X-ALD osniva se na nalazu povišenih VLCFA u plazmi kod muških bolesnika koji je prisutan već od rođenja. Lažno negativni rezultati su mogući kod 15-20% žena heterozigota za X-ALD te se stoga dijagnoza potvrđuje mutacijskim analizama ABCD1 gena. Ovakav pristup je danas uobičajen i dostupan u mnogim svjetskim centrima. No, problem u takvom pristupu je otkrivanje probanda u već uznapredovaloj fazi bolesti što ga isključuje kao kandidata za prikladno liječenje i činjenici da u X-ALD kao i mnogim drugim X-vezanim poremećajima s učestalošću spontanih mutacija od 5-7% značajni udio zahvaćenih biva propušten obiteljskom evaluacijom. Stoga je rad na novorođenačkom probiru danas vrlo važno mjesto u istraživanju vezanim za X-

ALD. I ovdje postoji poteškoća vezana uz ovaj entitet jer analize osušene kapi krvi na filter papiru analizirane metodom masene spektrometrije nisu apsolutno pouzdane te se i dalje usavršavaju u kombinaciji s tekućom kromatografijom (combined liquid chromatography – tandem mass spectrometry) i vjerojatno će uskoro upravo takva analiza biti dio rutinskih novorođenačkih probira kojima bi na vrijeme detektirali bolesnike i dobili mogućnost terapijske intervencije (ne samo cerebralnog fenotipa, nego i adrenokortikalne insuficijencije s mogućom prvom kliničkom prezentacijom letalne adrenalne krize). Moguća je i prenatalna dijagnoza nakon amniocenteze ili biopsije korionskih resica određivanjem VLCFA, no kada je poznata obiteljska mutacija, tada je genska analiza jedina definitivna potvrda bolesti. Vrlo je važno ponovno napomenuti da je unutarobiteljska varijabilnost značajna (od asimptomatskih članova do letalne cerebralne prezentacije) te da jedino obradom baš svih članova obitelji, uzimajući u obzir način nasljeđivanja, možemo obuhvatiti sve zahvaćene.

Unatoč velikim istraživačkim naporima terapijske mogućnosti X-ALD su još uvijek ograničene. Kako većina oboljelih ima adrenokortikalnu insuficijenciju, nadomjesno liječenje kortikosteroidima je obligatorno, no iako rješava po život opasnu manifestaciju bolesti, nema učinak na neurološku simptomatologiju. Određeni pozitivan učinak steroida se uočava u oboljelih s izoliranim adrenomijeloneuropatijom (AMN). Potrebe za glukokortikoidima se ne razlikuju od onih u primarnoj adrenalnoj insuficijenciji. Bolesnici s klinički manifestnim hipogonadizmom vezanim uz nizak serumski testosteron bi trebali primati i androgene. Lorenzovo ulje je smjesa trioleat glicerola i trierukat glicerola u omjeru 4:1. Peroralnim unosom navedenih ulja u kombinaciji sa smanjenim unosom masti hranom može se značajno reducirati, pa čak i normalizirati razina VLCFA u plazmi oboljelih već unutar nekoliko tjedana. Taj izuzetni biokemijski učinak dao je nadu da bi posljedično moglo uslijediti i kliničko poboljšanje, no sva dosadašnja klinička istraživanja su pokazala da Lorenzovo ulje ne utječe značajno na brzinu progresije u već simptomatskih bolesnika koji su ga primali, naročito ne u oboljelih s inflamatornim cerebralnim fenotipom bolesti. Određena novija istraživanja ipak pokazuju da ulje ima učinak na dva druga fenotipa, kao prevenciju u asimptomatskih dječaka u kojih je nalaz MR mozga još uredan te da ulje usporava progresiju izolirane AMN. Transplantacija koštane srži je po mnogima danas jedino dugoročno uspješno liječenje X-ADL, naročito cerebralnog fenotipa bolesti. Točan mehanizam kojim transplantacija hematopoetskih matičnih stanica dovodi do kliničkog učinka nije jasan. Stanice donora ulaze u središnji živčani sustav i postupno zamjenjuju određeni dio perivaskularne mikroglije, no na koji način to utječe na usporavanje tijeka bolesti je nepoznanica. Ima li i imunosupresija u kombinaciji s obnavljanjem imunog sustava nakon transplantacije ulogu je predmet istraživanja jer sama imunosupresija u bolesnika koji nisu naknadno primili koštanu srž ne pokazuje učinak. Nekoliko stotina dječaka su od ranih devedesetih godina prošlog stoljeća na ovaj način tretirani s različitim uspjehom. Sam postupak je izrazito rizičan i vrlo često završava letalno. Stav je da je to metoda izbora u ranom stadiju cerebralne forme bolesti. Bolesnici kojima se postavi dijagnoza nakon obrade već razvijenih kliničkih manifestacija su obično u tako uznapređovalom stadiju bolesti da bi bili uspješni kandidati za transplantaciju. Stoga dječake s uznapređovalom kliničkom slikom treba usmjeravati prema eksperimentalnim oblicima liječenja jer se kod njih ne očekuje korist transplantacije koštane srži.

Idealan „liječ“ za X-ADL bi trebao korigirati metabolički poremećaj u beta-oksidaciji VLCFA i zaustaviti sekundarni neuroinflamatorni učinak vezan uz progresivnu demijelinizaciju. Hoće li takav učinak dati lovastatin, fenilacetat, hoće li se uspješnijim pokazati talidomid, beta-interferon ili citoksan koji su danas samo dio spojeva koji se istražuju kao potencijalno uspješni lijekovi ostaje otvoreno pitanje. Hoće li na kraju X-ADL biti bolest u kojoj će genska terapija zaživjeti (početno obećavajući rezultati na eksperimentalnim životinjama) ili će prevladati farmakološka indukcija redundantnih gena kojima bi se kompenzirao gubitak ALDP-a pokazat će vrijeme. Godine koje dolaze će očito biti vrlo uzbudljive za istraživače koji se bave ovom vrlo interesantnom bolešću.

Klasična Refsumova bolest (MIM 266500)

Refsumovu bolest (RB) je prvu izdvojio kao zasebni entitet Sigvald Refsum 1945. godine nazvavši bolest *heredoataxia hemeralopica polyneuritiformis*, no već godinu kasnije ispravlja pojam u *heredopathia atactica polyneuritiformis*. Kako eponimi dominiraju medicinskom literaturom, tako su, na sreću, dva početna naziva gotovo zaboravljena i danas je uobičajen naziv Refsumova bolest. Poznata je i kao hereditarna motorna i senzorna neuropatija tip IV (HMSN IV), deficijencija oksidaze fitanske kiseline, te kao bolest taloženja fitanske kiseline. Treba razlikovati „klasičnu RB“ od entiteta zvanog „infantilna Refsumova bolest“ koji je dio kliničkog spektra poremećaja stvaranja peroksisoma (poput Zellwegerovog sindroma, neonatalne adrenoleukodistrofije, točkaste rizomelične hondrodisplazije).

„Klasična“ Refsumova bolest je autosomno recesivni poremećaj uzrokovan nedostatkom fitanoil-CoA hidroksilaze, peroksisomnog enzima koji katalizira prvu reakciju alfa-oksidacije fitanske kiseline što dovodi do nakupljanja fitanske kiseline prvenstveno u živčanom tkivu. Iako rijetka, raširena je u svim dijelovima svijeta. Genetski je heterogena, velika većina bolesnika ima mutaciju u genu PHYH ili PAHX tj. genu za fitanoil-CoA hidroksilazu. Dio bolesnika koji nose mutaciju u genu PEX7 čiji je genski produkt protein Pex7p ili receptor PTS2 neophodan za unos određenih proteina u peroksisome pokazuju istu kliničku sliku. Interesantno je da promjene u tom istom genu također nalazimo kod bolesnika s točkastom rizomeličnom hondrodisplazijom.

Klinički znaci bolesti počinju u drugom ili trećem desetljeću iako se u trećine oboljelih već prije desete godine pojavljuje poremećaj hoda zbog sporo progresivne periferne neuropatije s tipičnom motornom slabošću i propadanjem mišića, naročito donjih ekstremiteta. Ta početna neurološka simptomatologija je vrlo diskretna i u pravilu neprepoznata, tako da se bolesnici češće javljaju zbog smetnji vida. Noćno sljepilo kao posljedica pigmentne degeneracije retine je rani, ali također učestalo zanemareni simptom. Oštrina vida je dugo očuvana danju, a tipično je zahvaćena periferija vidnog polja s koncentričnim suženjem vidnog polja. Prisutna je i fotofobija, a u kasnijoj fazi bolesti katarakta dodatno doprinosi oštećenju vida. Periferna neuropatija počinje podmuklo, ali neminovno progredira s razvojem distalne slabosti, atrofijom mišića i smetnjama propriocepcije te tada znatno smanjuje kvalitetu života. U nekih cerebelarna ataksija dominira nad senzornom ataksijom sa smetnjama govora, intencijskim tremorom i dissinergijom uz nistagmus. Važno je uočiti da su smetnje koordinacije i ravnoteže u RB predominantno odraz senzomotorne

neuropatije, a manje cerebelarne disfunkcije. Oštećenje sluha i anosmija su posljedica oštećenja odgovarajućih moždanih živaca. Ihtioza može pratiti, ali najčešće dolazi već nakon razvijanja gore navedenih simptoma. Dio bolesika ima koštane malformacije već pri porodu (skraćenje metakarpalnih ili metatarzalnih kostiju ili epifizealne displazije), a neki imaju smetnje provođenja na srcu poput AV blokova ili blokova grane što može, istina rijetko, dovesti do iznenadne smrti. Više živčane funkcije su očuvane.

Dijagnostika bolesti obuhvaća proširenu oftalmološku obradu koja mora uključivati vidno polje i elektrofiziološke pretrage (prije svega elektroretinogram koji tipično pokazuje promjene prije no što se vide znakovi pigmentne degeneracije retine na fundusu), a elektromioneurografskom analizom perifernih živaca karakteristično se nalaze usporene brzine provođenja. Povišeni su proteini u likvoru. Otorinolaringološkom obradom se potvrđuje oštećenje sluha. Plinskom kromatografijom se tipično detektira značajno povišenje fitanske kiseline u plazmi. U kulturi fibroblasta je smanjena mogućnost oksidacije fitanske kiseline, detektira se i nedostatak fitanoil-CoA hidroksilaze, a moguća je genetska analiza gena *PhyH* (*PHYH*). U heterozigota fitanska kiselina može biti umjereno povišena, no za sada nema dokaza o kliničkim posljedicama takvog povišenja. Dostupna je prenatalna dijagnoza.

Što se tiče liječenja, RB je jedna od rijetkih nasljednih metaboličkih bolesti gdje pravovremenom dijagnozom možemo pomoći oboljelima. Kako je fitanska kiselina gotovo potpuno egzogenog podrijetla, osnova liječenja bolesnika je restrikcija unosa putem hrane. Dijeta bez fitanske kiseline treba biti doživotna. Meso preživača, mliječni proizvodi i riba se trebaju izbjegavati. Prosječan dnevni unos fitanske kiseline se kreće između 50 i 100 mg, a isti bi u bolesnika trebalo smanjiti na 10-20 mg/dan. Fitanska kiselina je prisutna u povrću, ali kako je čvrsto vezana kao fitol za klorofil stav je da nije potrebno ograničavati unos povrća. Obzirom da je hrana bez fitanske kiseline loše palatabilnosti, suradljivost bolesnika zna varirati te se tada kao modalitet liječenja koristi plazmafereza. Plazmaferezom smanjujemo koncentraciju fitanske kiseline i u onih oboljelih u kojih dominira teža klinička slika akutne ili subakutne bolesti koja sliči Guillain-Barreovom sindromu te je potrebno brzo terapijski djelovati. Dijaliza nije metoda koja pomaže jer je fitanska kiselina vezana za lipoproteine.

Zaključno valja reći da treba poznavati simptome RB zbog pravovremenog prepoznavanja ove, istina rijetke, ali lječive peroksisomne bolesti jer samo rano otkrivanje i promjena načina prehrane može prevenirati vidno i slušno oštećenje, te znakove neuroloških, kardijalnih i kožnih promjena. Unatoč brojnim spoznajama od genetske osnove, biokemijskog poremećaja, patofiziologije preko kliničke slike i mogućnosti liječenja, mnogi znanstvenici i dalje proučavaju ovu bolest te je za očekivati daljnji napredak u razumijevanju koji će donijeti boljitak oboljelima (ne liječenje, nego izlječenje). Mehanizam kojim nakupljanje fitanske kiseline u živčanom, ali i drugim tkivima dovodi do oštećenja je još uvijek nepoznanica i za sada se vjeruje da ugradnja fitanske kiseline u membrane mijenja njihova svojstva i oštećuje funkciju, naročito mijelina. No, osim ovog „pojednostavljenog“ objašnjenja, vjerojatno postoji i složeniji mehanizam jer se prisutnost koštanih malformacija već kod poroda ne može razjasniti takvim patofiziološkim procesom obzirom da je to stadij kada fitanska kiselina još nije povišena. I na kraju, vrlo je važno napomenuti

da je svakako potrebno obraditi rođake oboljelih da se presimptomatske i osobe s minimalnim odstupanjima na vrijeme prepoznaju i uključe u odgovarajuću prehranu te tako zaustave progresiju oštećenja.

Literatura

1. Brown PJ, Mei G, Gibberd FB et al. Diet and Refsum's disease. The determination of phytanic acid and phytol in certain foods and the application of this knowledge to the choice of suitable convenience foods for patients with Refsum's disease. *J Hum Nutr Diet* 1993;6:295-305.
2. Camoes F, Bonekamp NA, Delille HK, Schrader M. Organelle dynamics and dysfunction: A closer link between peroxisomes and mitochondria. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:163-180.
3. Devlin TM (ed). *Textbook of biochemistry with clinical correlations*, New York, Wiley-Liss; 2002, 5th edition
4. Harari D, Gibberd FB, Dick JRP, Sidey MC. Plasma exchange in the treatment of Refsum's disease (hereditary ataxia polyneuritis). *J Neurol Neurosurg Psychiatr* 1991;54:614-617.
5. Hudspeth MP, Raymond GV. Immunopathogenesis of adrenoleukodystrophy: Current understanding. *J Neuroimmunol* 2007;182:5-12
6. Jayaram H, Downes SM. Midlife diagnosis of Refsum disease in siblings with retinitis pigmentosa – the footprint is the clue: a case report. *J Med Case Reports* 2008;2:80-83.
7. Kemp S, Wanders RJA. X-linked adrenoleukodystrophy: Very long-chain fatty acid metabolism, ABC half-transporters and the complicated route to treatment. *Mol Genet Metab* 2007;90:268-276.
8. Khan M, Singh J, Singh I. Plasmalogen deficiency in cerebral adrenoleukodystrophy and its modulation by lovastatin. *J Neurochem* 2008;106:1766-1779.
9. Mahmood A, Raymond GV, Dubey P, Peters C, Moser HW. Survival analysis of haematopoietic cell transplantation for childhood cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: a comparison study. *Lancet Neurol* 2007;6:687-692.
10. Moser AB. Newborn screening for X-linked adrenoleukodystrophy on the horizon. *Pediatric News* 2008;42:32-33.
11. Moser HW. Therapy of X-linked adrenoleukodystrophy. *NeuroRx* 2006;3:246-253.
12. Moser HW, Mahmood A, Raymond GV. X-linked adrenoleukodystrophy. *Nat Clin Pract Neurol* 2007;3:130-151.
13. Moser HW, Moser AB, Hollandsworth K, Brereton NH, Raymond GV. „Lorenzo's oil“ therapy for X-linked adrenoleukodystrophy: rationale and current assessment of efficacy. *J Mol Neurosci* 2007;33:105-113.

14. Moser HW, Raymond GV, Lu SE et al. Follow-up of 89 Lorenzo's oil treated asymptomatic adrenoleukodystrophy patients. *Arch Neurol* 2005;62:1073-1080.
15. Pai GS, Khan M, Barbosa E et al. Lovastatin therapy for X-linked adrenoleukodystrophy: clinical and biochemical observations on 12 patients. *Mol Genet Metab* 2000;69:312-322.
16. Peters C, Charnas LR, Tan Y et al. Cerebral X-linked adrenoleukodystrophy: the international hematopoietic cell transplantation experience from 1982 to 1999. *Blood* 2004;104:881-888.
17. Powers JM, Moser HW. Peroxisomal disorders: genotype, phenotype, major neuropathologic lesions, and pathogenesis. *Brain Pathol* 1998;8:101-120.
18. Shapiro E, Krivit W, Lockman L et al. Long-term effect of bone-marrow transplantation for childhood-onset cerebral X-linked adrenoleukodystrophy. *Lancet* 2000;356:713-718.
19. Steinberg SJ, Dodt G, Raymond GV, Braverman NE, Moser AB, Moser HW. Peroxisome biogenesis disorders. *Biochim Biophys Acta* 2006;1763:1733-1748.
20. Thoms S, Gronborg S, Gartner J. Organelle interplay in peroxisomal disorders. *Trends Mol Med* 2009;15:293-302.
21. Wanders RJA. Metabolic and molecular basis of peroxisomal disorders. *Am J Med Genet* 2004;126A:355-375.
22. Waterham HR, Koster J, van Roermund CW, Mooyer PA, Wanders RJ, Leonard JV. A lethal defect of mitochondrial and peroxisomal fission. *N Engl J Med* 2007;356:1736-1741.
23. Wierzbicki AS, Mitchell J, Lambert-Hamill M et al. Identification of genetic heterogeneity in Refsum's disease. *Europ J Hum Genet* 2000;8:649-651.
24. Wills AJ, Manning NJ, Reilly MM. Refsum's disease. *Q J Med* 2001;94:403-406.

Dvojbe i teškoće u provođenju enzimske nadomjesne terapije – primjer Pompeove bolesti

Danijela Petković Ramadža, Radenka Kuzmanić Šamija, Ivo Barić

Klinika za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra i Medicinskog fakulteta u Zagrebu,
Kišpatićeva 12, Rebro, 10000 Zagreb i Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Split,
Spinčićeva 1, Split

Uvod

Enzimska nadomjesna terapija (ENT) označava novu eru u liječenju lizosomskih bolesti nakupljanja jer na molekularnoj razini premoštava enzimski nedostatak i tako mijenja prirodan tijek bolesti. Premda nasuprot inicijalnim očekivanjima bolesnika ENT ne dovodi do izliječenja, nepo-
bitno je da uz ovu terapiju dolazi do povlačenja nekih simptoma bolesti i značajnog poboljšanja kvalitete života oboljelih.

Enzimska nadomjesna terapija u liječenju lizosomskih bolesti nakupljanja

Prvi pokušaji enzimskog nadomjesnog liječenja su bili još davnih šezdesetih godina prošlog stoljeća i to upravo za Pompeovu bolest, ali iz danas znanih razloga nisu rezultirali klinički vidljivim učinkom. Tijekom sljedećih godina su vršena brojna istraživanja, a nakon što je otkriveno da je manoz-6-fosfat molekula bitna za ulazak enzima u lizosome modificiran je enzimski pripravak i ENT je polučila uspjeh u pretkliničkim i kliničkim istraživanjima. Od 1991. godine se enzimskom terapijom počelo liječiti Gaucherovu bolest, a danas su na tržištu dostupni pripravci još i za liječenje mukopolisaharidoza tipa I, II i VI, Fabryeve i Pompeove bolesti. Sada već dugogodišnje iskustvo s ovakvim načinom liječenja pokazalo je osim dobrih strana i nedostatke ove terapije. Enzim nažalost ne prodire jednako u sva tkiva pa je i učinak u pojedinim tkivima ograničen ili neznan. U nekih bolesnika (vrlo rijetko) se razviju neutralizirajuća protutijela na enzim koja mogu i onemogućiti njegovo terapijsko djelovanje. Relativno su česte nuspojave na infuziju enzima, koje su ipak najčešće blage i ne zahtijevaju prekid terapije, a mogu se izbjeći odgovarajućom premedikacijom. Za kliničku praksu je najznačajnija spoznaja da zakašnjelo prepoznavanje bolesti, nakon što su nastupile ireverzibilne promjene u tkivima, ne ostavlja mnogo prostora za uspjeh enzimske nadomjesne terapije, pa je za željeni učinak ovakvog liječenja najvažnije rano dijagnosticiranje bolesti i što ranije započinjanje liječenja. Za sada, na žalost, još uvijek nema dovoljno dobrih i čvrstih kriterija o vremenu započinjanja liječenja i treba li započeti liječenje nekih bole-

snika u pretkliničkom stadiju bolesti. Također, nema dobrih kliničkih i biokemijskih pokazatelja za praćenje bolesnika na terapiji. Nije jasno definirano niti kada se od liječenja može odustati, ako nije došlo do terapijskog uspjeha, kao niti u kojih bolesnika uopće ima smisla započinjati terapiju. Zbog navedenog je velika odgovornost na liječnicima koji prate ovakve pacijente i nužno je da medicinsko osoblje ima dovoljno znanja i iskustva pa je preporuka da se dijagnostika i liječenje lizosomskih bolesti nakupljanja provodi u za to specijaliziranim centrima ili pod njihovim nadzorom. Osim medicinskih, bitne su i socijalne komponente ovakve terapije. To su potreba za doživotnim liječenjem, u relativno kratkim vremenskim intervalima (tjedno ili jednom u dva tjedna) i dugotrajna primjena infuzije (po nekoliko sati), što je značajan problem pogotovo uzevši u obzir da se enzimi nerijetko daju u specijaliziranim centrima do kojih bolesnici trebaju putovati iz mjesta stanovanja. I ne manje važno, izrazito visoka cijena ovakvih pripravaka koja je posljedica visoko sofisticirane tehnologije i istraživačkog sustava potrebnih za proizvodnju rekombinantnih enzima. No, za očekivati je da će se otkrivanjem novih pacijenata i stjecanjem više iskustva bolje oblikovati stavovi o praćenju i liječenju oboljelih, kao i postaviti čvršći kriteriji koga, kada i koliko dugo liječiti nadomjesnim enzimom. Naposljetku, napredak tehnologije i veći broj krajnjih korisnika će vjerojatno dovesti do smanjenja proizvodnih troškova i na koncu jeftinijih enzimskih pripravaka. U budućnosti očekujemo i dostupnost nekih novih terapijskih metoda (terapija lijekovima pratiteljima, genska terapija, itd.) uz pomoć kojih bismo mogli prevladati manjkavosti danas dostupnog liječenja.

Pompeova bolest i dosadašnja iskustva s enzimskom nadomjesnom terapijom

Pompeova bolest (glikogenoza tipa II) je autosomno recesivno nasljedna progresivna metabolička miopatija koja nastaje zbog manjka ili disfunkcije lizosomskog enzima kisele alfa glukozidaze. Nedostatna aktivnost enzima dovodi nakupljanja glikogena u lizosomima prvenstveno mišićnih stanica, oštećenja tkiva i naposljetku zatajenja pojedinih organa. Pompeova bolest se klinički očituje disfunkcijom srčanog, poprečno prugastih i glatkih mišića (premda je u *knockout* miševa dokazano nakupljanje glikogena u gotovo svim stanicama organizma). Stupanj zahvaćenosti pojedinih organa i brzina progresije patološkog procesa je u direktnoj svezi s rezidualnom enzimskom aktivnošću tako da je Pompeova bolest poprilično heterogena. Prvi simptomi se mogu javiti u bilo koje životno doba, a u pravilu vrijedi da je bolest teža i brže progresivna što se ranije javi. Ukupna incidencija bolesti je oko 1:40 000 živorođenih.

Na jednom kraju spektra je kao najteži oblik Pompeove bolesti klasični ili infantilni oblik. Oboljeli od ovog oblika bolesti najčešće nemaju rezidualne aktivnosti alfa-glukozidaze. Bolest se očituje već u prvim mjesecima života poteškoćama s hranjenjem, nenapredovanjem na tjelesnoj težini, zaostajanjem u psihomotornom razvoju, hipotonijom, recidivirajućim respiratornim infekcijama, a neki imaju uvećan jezik i umjerenu hepatomegaliju. Za ovaj oblik bolesti je karakteristična progresivna hipertrofična kardiomiopatija koja s vremenom dovodi do kongestivnog srčanog zatajenja, koje je uz respiratornu insuficijenciju zbog slabosti dišne muskulature najčešći uzrok smrti neliječene dojenčadi. Zbog odlaganja glikogena u provodnu muskulaturu srca ova dojenčad je osobito sklona aritmijama uslijed kojih može doći i do iznenadne smrti, čemu su osobito podložni u stresnim situacijama (interkurentna infekcija, febrilitet, opća anestezija). Prirodan tijek bolesti

je takav da, ukoliko se ne liječe, bolesnici prosječno umiru u dobi od 6-8 mjeseci, a gotovo svi do navršene prve godine života.

Siva zona između klasičnog i ne-klasičnog oblika bolesti je takozvani prijelazni oblik ili netipični infantilni oblik koji je po kliničkim karakteristikama sličan juvenilnom obliku bolesti, ali je brže progresivnog tijeka. Prvi znakovi bolesti se obično javljaju između šest mjeseci i druge godine života. Za razliku od ostalih ne-klasičnih oblika bolesti u kojih obično nije zahvaćeno srce ovi bolesnici mogu imati i kardiomiopatiju.

Neinfantilni odnosno ne-klasični oblik bolesti (koji se s obzirom na vrijeme javljanja bolesti dijeli na juvenilni i adultni oblik) je u odnosu na infantilni oblik sporije progresivan, a simptomi i znakovi bolesti su prvenstveno posljedica slabosti respiratorne i skeletne muskulature i za to vezanih komplikacija. Tipično su jače zahvaćene proksimalne mišićne skupine, i to jače na donjim ekstremitetima, i paravertebralna muskulatura. Za naglasiti je da su motorna i respiratorna funkcija neovisne jedna o drugoj, tako da su neki bolesnici teško pokretni, a bez izraženijih respiratornih problema, dok je nekima teško narušena respiratorna funkcija, a zadovoljavajuće su pokretljivosti i mišićne snage. Adultnim oblikom bolesti se naziva onaj koji se manifestira nakon petnaeste godine života, premda bolesnici nerijetko navode da su prve simptome bolesti imali još u djetinjstvu (tromost, slabije podnošenje napora, otežano uspravljanje iz pognutog položaja, ...), ali im tada nisu pridavali veću važnost.

Dijagnoza bolesti se nakon postavljene sumnje na temelju kliničke slike može potvrditi mjerenjem aktivnosti alfa glukozidaze u leukocitima, kultiviranim kožnim fibroblastima ili bioptu mišića te genskom analizom. Metode mjerenja alfa glukozidaze iz suhe kapi krvi, limfocita te kulture kožnih fibroblasta se dostupne u našoj državi u Laboratoriju za metaboličke bolesti Kliničkog bolničkog centra Zagreb.

Ranije su bile dostupne samo simptomatske i potporne mjere liječenja (fizikalna terapija, odgovarajuća prehrana, respiratorna terapija, strojna ventilacija, ortopedska pomagala, ...), no u posljednje vrijeme je ENT rekombinantnom humanom alfa-glukozidazom, u kombinaciji sa suportivnom terapijom, novi zlatni standard u liječenju ove bolesti. Od 1999. godine su započele kliničke studije o liječenju Pompeove bolesti rekombinantnom kiselom alfa glukozidazom i to prvo u bolesnika s klasičnim oblikom bolesti, a zatim i u oboljelih od neklasičnog oblika. Već iz pretkliničkih istraživanja je bilo jasno da je učinak enzimskog nadomjesnog liječenja na srce mnogo bolji nego na skeletnu muskulaturu, a prva klinička istraživanja su dokazala da je učinak ENT na skeletnu muskulaturu slabiji od očekivanog. Ono što se vidjelo već za vrijeme prvih godina primjene lijeka jest da ne odgovaraju svi pacijenti jednako na terapiju i da neki uprkos liječenju umiru, a isto tako i da primjena enzimske terapije ne znači izlječenje nego samo modificira prirodan tijek bolesti. Kliničke studije, kao i studije na životinjskim modelima, su pokazale da je za učinkovitost ENT najznačajnije stanje pacijenta prije započinjanja enzimskog nadomjesnog liječenja i da su učinci terapije to bolji što se liječenje ranije započne, odnosno dok patološke promjene u tkivima nisu jako uznapredovale. Rekombinantna alfa-glukozidaza je na tržištu dostupna od 2006., a preporučena doza je 20 mg/kg tjelesne težine, svaka dva tjedna. Za razliku od ostalih nadomjesnih enzima

rekombinantna alfa glukozidaza se daje u relativno velikoj pojedinačnoj dozi po kilogramu tjelesne težine što je nužno da bi dovoljna količina enzima mogla doći do mišića i tamo djelovati. Zbog toga su relativno česte nuspojave (po nekim novijim izvještajima čak i do 95% pacijenata iskusi neki oblik reakcije na enzim) koje su uglavnom blage pa se primjena enzima smatra sigurnom, ali moguće je i razvoj teških i po život opasnih nuspojava.

U bolesnika s infantilnim oblikom bolesti liječenje nadomjesnim enzimom produljuje preživljenje, odgađa ili uklanja potrebu za mehaničkom ventilacijom i ima povoljni učinak na kardiomiopatiju, a u dijela bolesnika se vidi i napredak u psihomotornom razvoju. S druge strane, duljim preživljenjem ovih bolesnika iskristalizirali su se brojni novi problem. Tako se sada zna da oboljeli od infantilnog oblika bolesti imaju smetnje sluha koje se prije zbog rane smrti ove dojenčadi nisu stigle ispoljiti. Naknadno je na mišjim modelima dokazano nakupljanje glikogena u Cortije-ovom organu i slušnim centrima u središnjem živčanom sustavu, što bi moglo biti objašnjenje za slušnu patologiju u djece s infantilnim oblikom bolesti. Slično vrijedi za osteopeniju i osteoporozu koje su s duljim preživljenjem ovih pacijenata postale novi problem i terapijski izazov. Poznati problem poremećaja srčanog ritma u općoj anesteziji djece s infantilnim Pompeom dobiva novu dimenziju jer ovakva djeca s duljim preživljenjem nerijetko moraju na neki od operativnih zahvata što zahtijeva posebne mjere opreza i stručan anesteziološki tim educiran za vođenje anestezije u ovakvih bolesnika. Za bolesnike koji ne odgovoraju na terapiju, a imaju visok titar protutjela na rekombinantni enzim, danas se zna da uopće nemaju vlastitog enzima i zbog toga imaju tako jak imunološki odgovor na rekombinantnu humanu alfa glukozidazu. To ih s jedne strane ugrožava zbog potencijalno teških alergijskih reakcija, a s druge strane nema očekivanog terapijskog učinka. Takvi se pacijenti u posljednje vrijeme uz enzim liječe i imunomodulatornim lijekovima, što prema prvim objavljenim rezultatima dovodi do eliminacije neutralizirajućih antitijela i terapijskog odgovora na nadomjesni enzim.

Spoznaje o učincima enzimske terapije u oboljelih od nekласičnog oblika bolesti su oskudnije. Dosadašnjim kliničkim studijama je dokazano da ovakva terapija sprječava daljnje mišićno propadanje i stabilizira respiratornu funkciju te u određenoj mjeri dovodi do poboljšanja mišićne snage i funkcije, i što je izuzetno bitno za pacijente - značajno poboljšava kvalitetu života. Za naglasiti je da učinci terapije nisu vidljivi unutar nekoliko tjedana i za prve pozitivne rezultate je potrebno više mjeseci liječenja. S obzirom da se enzimska nadomjesna terapija u liječenju Pompeove bolesti primjenjuje relativno kratko vrijeme potreban je duži vremenski odmak za objektivno utvrđivanje povoljnih učinaka terapije na usporavanje progresije bolesti i poboljšanje kvalitete života, kao i na eventualnu pojavu nekih novih komplikacija koje bi mogle nastati duljim preživljenjem ovih bolesnika.

Prikaz pacijenata

Pacijent 1. Žensko dojenče u dobi od 4 mjeseca upućeno je u Kliniku od nadležnog pedijatra zbog slabog napredovanja na tjelesnoj težini i hipotonije. Anamnestički se od roditelja saznalo da dojenče od najranije dobi ima poteškoća s hranjenjem, a zadnjih nekoliko dana pred prijem i otežano diše. Roditelji nisu u srodstvu, starija sestra po majci je zdrava. Kliničkim pregledom se našlo da

je dojenče tahidispnoično, oskudne spontane motorike, hipotonično i oslabljenih tetivnih refleksa. Pregledom se također našla umjereno uvećana jetra. Od inicijalne laboratorijske obrade za izdvojiti su povišene aktivnosti aminotransferaza i kreatin kinaze (do 1400 U/L). RTG srca i pluća, EKG i ehokardiografija su upućivali na hipertrofičnu kardiomiopatiju. Elektromiografijom se dobio miopatski obrazac. S obzirom na navedeno, posumnja se na infantilni oblik Pompeove bolesti što se potvrdi mjerenjem kisele alfa-glukozidaze u limfocitima, a naknadno i genskom analizom. Enzimsko nadomjesno liječenje je započeto u dobi od pet mjeseci. Već nakon prve infuzije dolazi do značajnog poboljšanja općeg stanja djeteta što se prije može pripisati izlječenju od interkurene infekcije zbog koje se vjerojatno stanje djeteta kod prijema doimalo teže nego što je uistinu bilo, negoli stvranom učinku lijeka. Dvadeset tjedana nakon početka liječenja ultrazvučnim parametrima je dokazano smanjenje mase lijevog ventrikla i poboljšanje ejekcijske frakcije. Uz to, već od početka terapije dolazi do značajnog pada NT-proBNP-a kao indikatora srčane preopterećenosti. Tijekom narednih mjeseci je došlo do određenog poboljšanja motoričke funkcije i zamijećen je napredak u psihomotornom razvoju. U dobi od osam mjeseci djevojčica je imala jednu tešku alergijsku reakciju na enzim koja je zahtijevala primjenu adrenalina. Nakon prve godine više nije zamijećeno poboljšanja mišićne funkcije, a negdje od dobi od godinu i pol dolazi do znatnijeg pogoršanja respiratorne funkcije te dijete tijekom jednog interkurentnog infekta završilo na strojnoj ventilaciji od koje se više nije uspjelo odvojiti. S vremenom dolazi do sve izraženijeg mišićnog propadanja tako da djevojčica postaje gotovo nepokretna. U to vrijeme je imala još jednu tešku alergijsku reakciju na enzim nakon čega se odredio titar antitijela na humanu alfa-glukozidazu i našlo da je on izrazito visok (1:6400), S obzirom da je jak imunološki odgovor organizma vjerojatni uzrok refrakternosti na terapiju, nakon konzultacije s inozemnim centrom prekinuta je ENT na nekoliko tjedana do pada titra antitijela (na 1:800), a nakon toga je započeta imunomodulatorna terapija anti CD-20 antitjelom (rituximab), metotrexatom i intravenoznim imunoglobulinom, uz dvostruku dozu nadomjesnog enzima (40 mg/kgTT svaki drugi tjedan). Pacijentica danas, prima ENT bez ikakvih hipersenzitivnih nuspojava. Kliničko stanje joj je stabilno i bez progresije simptoma, ali je i dalje respiracijski ovisna o strojnoj ventilaciji uz vrlo oskudnu motoriku. Kontrolni kardiološki pregled je pokazao smanjenje mase lijevog ventrikla i poboljšanje ejekcijske frakcije srca na vrijednosti prije porasta titra antitijela.

Pacijent 2. Žensko dojenče koje je u dobi od tri mjeseca upućeno na kliničku obradu zbog miopatije i hipertrofične kardiomiopatije. Dojenče je treće dijete zdravih roditelja koji nisu u krvnom srodstvu. Jedan stariji brat je zdrav, a drugi je bolovao od progresivne mišićne distrofije, tada nerazjašnjene etiologije. Dojenče od rođenja ima problema s hranjenjem (jede manje obroke, ali češće). U dobi od dva mjeseca je započeta obrada u drugoj ustanovi zbog nenapredovanja na tjelesnoj težini. Pregledom se nađe da je dijete generalizirano hipotonično, oskudnije spontane motorike i usporenog psihomotornog razvoja. Obradom je utvrđeno da ima povišene aktivnosti aminotransferaza i CK (oko 600 U/L) i koncentričnu hipertrofičnu kardiomiopatiju, nakon čega je upućena u naš Zavod gdje je postavljena dijagnoza Pompeove bolesti. Enzimsko nadomjesno liječenje je započeto u dobi od 4.5 mjeseca. Prva tri mjeseca liječenja rekombiniranom alfa-glukozidazom protječu bez nuspojava i komplikacija.

Pacijent 3. Dječak je drugo dijete u obitelji zdravih, nesrodnih roditelja. Navodno je od rođenja

hipotoničan, ali se od četvrtog mjeseca prati zbog usporenog psihomotornog razvoja. U dobi od 20 mjeseci je obrađivan u jednoj našoj ustanovi zbog sumnje na mišićnu distrofiju. Tada je bio generalizirano hipotoničan, s hipotrofijom proksimalnih mišićnih skupina i pseudohipertrofijom listova, samostalno je stajao na nogama i hodao uz pridržavanje. Učinjenom obradom (koja je uključivala i gensku analizu na DMD, SMN1, NAIP, SMN2) nije razjašnjena etiologija njegove bolesti. Naknadno je rađena i molekularna analiza gena FKRP, POMT1, POMT2, POMGnT1, FCMD, LARGE koji su povezani s kongenitalnom mišićnom distrofijom, ali također nije nađeno mutacija. U dobi od 26 mjeseci tijekom upale pluća dječak razvija respiratornu insuficijenciju zbog koje je morao biti strojno prodisavan. Od tada se više ne uspijeva odvojiti od respiratora te se prodisava u kućnim uvjetima. U dobi od tri godine je ehokardiografijom nađeno da dječak ima koncentričnu hipertrofičnu kardiomiopatiju. S vremenom dječakova mišićna snaga sve više slabi. U nekoliko navrata je imao respiratorne infekcije koje su još više pogoršale respiratorni status djeteta. Kontrolni ehokardiografski nalazi nisu upućivali na značajniju progresiju kardiomiopatije. Jednom prilikom je za vrijeme fizikalne terapije imao frakturu bedrene kosti koja je spontano zacijelila (denzitometrija kostura niti neka druga metoda procjene mineralne gustoće kosti nije rađena). Dijagnoza Pompeove bolesti je postavljena kada je dječak imao 4 godine i 9 mjeseci, i to nakon što je otkriveno da njegova, tada tromjesečna sestra (Pacijent 2.), boluje od iste bolesti. U to vrijeme je mogao micati samo mišićima lica, glave i pomalo šakama, komunicirao je treptanjem i pokretima bulbusa, a od respiratora bi se uspio odvojiti oko pola sata na dan. S obzirom na teško stanje respiratorne funkcije i izrazito ograničen stupanj pokretljivosti djeteta bilo je dvojbeno ima li uopće smisla započinjati enzimsku nadomjesnu terapiju, a pogotovo zbog nedostatka literaturnih podataka o iskustvima s enzimskim liječenjem bolesnika s toliko uznapredovalim stupnjem bolesti. Naposljetku smo planirali liječiti dijete tijekom jedne godine, a onda ovisno o učincima terapije revidirati potrebu za daljnjim liječenjem. Nažalost, dječak nije dočeka početak terapije jer je u međuvremenu umro od sepse fulminantnog tijeka.

Pacijent 4. Djevojka u dobi od 16 godina je upućena u ambulantu za metaboličke bolesti zbog perzistentno visoke aktivnosti kreatin kinaze. Iz anamneze se dobiju podatci da je jedino dijete zdravih roditelja, neupadljive obiteljske anamneze. Ne navodi nikakve subjektivne tegobe, ali na ciljano pitanja majka odgovara da je djevojka oduvijek bila “mirnije” dijete, izbjegavala zahtjevnije fizičke aktivnosti, a pri dugotrajnijem fizičkom naporu bi imala bol u mišićima. U dobi od 13 i pol godina, nakon što je preboljela mononukleozu, nađeno je da ima povećanu aktivnost aminotransferaza (oko 100 IU/L). Tijekom nekoliko godina je obrađivana i gastroenterološki, a učinjena obrada je uključivala i biopsiju jetre, no nije se našlo uzroka bolesti. Kada je djevojka imala oko 15 i pol godina nađena je visoka aktivnost kreatin kinaze (oko 1000 IU/L) te se učini EMNG koja pokaže miopatski obrazac. Nakon toga je upućena na metaboličku obradu. Između ostalog je izmjerena aktivnost alfa glukozidaze i postavljena dijagnoza Pompeove bolesti, koja je naknadno potvrđena i genskom analizom. Djevojka, sada u dobi od 16 i pol godina, ima blago reducirani tonus zdjelične muskulature, nešto slabiju snagu trbušnih i zdjeličnih mišića, blažu prominenciju trbuha i blage skapule alata. Testovi plućne funkcije upućuju na uredan respiratorni status. Djevojci je preporučena redovita fizikalna terapija i prehrana s više proteina na račun ugljikohidrata, uz dodatak L-alanina. Odluka o započinjanju enzimske nadomjesne terapije donijet će se ovisno o stanju pri kontrolnom pregledu, dodatnim nalazima te stavovima djevojke i roditelja.

Zaključak

Poznato je da se primjenom enzimske nadomjesne terapije u liječenju lizosomskih bolesti nakupljanja može značajno promijeniti prirodni tijek bolesti i da je za terapijski uspjeh ključan pravovremeni početak liječenja. Zbog toga i dalje vrijedi podizati osviještenost stručne javnosti kako bi se o ovim bolestima razmišljalo već u početku dijagnostičke obrade bolesnika s mišićnom slabošću, a ne tek nakon što su sve druge mogućnosti iscrpljene. Liječenje i praćenje bolesnika s lizosomskim bolestima nakupljanja je kompleksno, a preduvjet za adekvatno provođenje enzimske terapije i evaluaciju njene učinkovitosti je iskusan tim stručnjaka i interdisciplinarni pristup. S obzirom na kratko vrijeme dostupnosti ENT tek se otkrivaju novi momenti u liječenjem izmijenjenom tijeku bolesti pa je za rješenje novonastalih problema i eventualnih dvojbi nužan individualan pristup pacijentu.

Literatura:

Capelle CI, Winkel LPF, Hagemans MLC, Shapira SK, Arts WFM, van Doorn PA, Hop WCJ, Reuser AJJ, van der Ploeg AT. Eight years experience with enzyme replacement therapy in two children and one adult with Pompe disease. *Neuromuscul Disord* 2008;18:447–52.

Hagemans MLC, Winkel LPF, van Doorn PA, Hop WJC, Loonen MCB, Reuser AJJ, van der Ploeg AT. Clinical manifestation and natural course of late-onset Pompe's disease in 54 Dutch patients. *Brain* 2005;128:671–7.

Kishnani PS, Corzo D, Nicolino M, Byrne B, Mandel H, Hwu WL, Leslie N, Levine J, Spencer C, McDonald M, Li J, Dumontier J, Halberthal M, Chien YH, Hopkin R, Vijayaraghavan S, Gruskin D, Bartholomew D, van der Ploeg A, Clancy JP, Parini R, Morin G, Beck M, De la Gastine GD, Jokic M, Thurberg B, Richards S, Bali D, Davison M, Worden MA, Chen YT, MD, Wraith JE. Recombinant human acid α -glucosidase: Major clinical benefits in infantile-onset Pompe disease. *Neurology* 2007;68:99–109.

Kishnani PS, Steiner RD, Bali D, Berger K, Byrne BJ, Case L, Crowley JF, Downs S, Howel RMI, Kravitz RM, Mackey J, Marsden D, Martins AM, Millington DS, Nicolino M, O'Grady G, Patterson MC, Rapoport DM, Slonim A, Spencer CT, Tiffit CJ, Watson MS. Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genet Med*. 2006;8: 267–88.

Lim-Melia ER, Kronn DF. Current enzyme replacement therapy for the treatment of lysosomal storage diseases. *Pediatr Ann*. 2009;38:448–55.

Malicdan MC, Noguchi S, Nonaka I, Saftig P, Nishino I. Lysosomal myopathies: an excessive build-up in autophagosomes is too much to handle. *Neuromuscul Disord* 2008;18:521–9.

Nicolino M, Byrne B, Wraith JE, Leslie N, Mandel H, Freyer DR, Arnold GL, Pivnick EK, Ottinger CJ, Robinskon PH, Loo JC, Smitka M, Jardine P, Tato L, Chabrol B, McCandless S, Kimura S, Mehta L, Bali D, Skrinar A, Morgan C, Rangachari L, Corzo D, Kishnani PS. Clinical outcomes after long-term treatment with α -glucosidase alfa in infants and children with advanced Pompe disease. *Genet Med*. 2009;11:210–9.

Schoser B, Hill V, Raben N. Therapeutic approaches in glycogen storage disease type II/Pompe disease. *Neurotherapeutics* 2008;5:569–78.

van der Beek NA, Hagemans MLC, Reuser AJJ, Hop WCJ, van der Ploeg AT, van Doorn PA, Wokke JHJ. Rate of disease progression during long-term follow-up of patients with late-onset Pompe disease. *Neuromuscul Disord* 2009;19:113–7.

van den Hout HMP, Hop W, van Diggelen OP, Smeitink JAM, Smith PA, Poll-The BT, Bakker HD, Loonen MC, de Klerk JBC, Reuser AJJ, van der Ploeg AT. The natural course of infantile Pompe's disease: 20 original cases compared with 133 cases from the literature. *Pediatrics* 2003;112:332–40.

van der Ploeg AT, Reuser AJJ. Lysosomal Storage Disease 2: Pompe's disease. *Lancet* 2008;372:1342–53.

Zahvaljujemo sponzorima:

Genzyme Europe B.V.

G-M Pharma d.o.o.

Elektromedicina d.o.o.

Koju biste dijagnozu Vi postavili ?



Jeste li pomislili na **GAUCHEROVU BOLEST?**

- *Progresivna, po život opasna*
- *Nedovoljno prepoznata*
- *Može se liječiti*



genzyme

Genzyme Europe B.V., predstavništvo za Hrvatsku i Sloveniju
Hektorovičeva 2/VI, Grand Center, 10000 Zagreb, Hrvatska

Fabryjeva bolest?

Progresivna. Multisistemska. Po život opasna.



Pravovremeno prepoznavanje i rano liječenje su ključni


Fabrazyme®
agalsidase beta



genzyme

Za dodatne informacije o dijagnostici i liječenju Fabryjeve bolesti, molimo, obratite se na : Genzyme Europe BV, Predstavništvo za Hrvatsku i Sloveniju, Hektorovičeva 2/VI, Zagreb. Tel. 01-6386-250, Fax. 01-6386-254 • www.genzyme.com

ECM-FAB-CRO-MAY2008.



SHS



IZ BOGATE PONUDE IZDVAJAMO:



SHS
Maltodextrin 6
750 g



Cereal
breakfast
375 g



PKU
Flakes
375 g



PKU
mlijeko
Loprofin
200 ml



PKU
griz
specijalni
500 g



SHS
P-AM
1, 2, 3 i universal



PKU
mrvice za
paniranje
250 g



PKU
brašno
Loprofin
500 g



Polugotova
Tjestenina
s gljivama
85 g



PKU
čokolada
8x45 g



PKU
brašno
1000 g



Keksi
francuski
s čokoladom
150 g



PKU
nadomjestak
jajima
250 g

KOD NAS MOŽETE NABAVITI I OSTALE PROIZVODE:

KRUH - Bijeli kruh, Kruh baguette • **KEKSE** - Napolitanke voćne, Keksi vanilija, Biskviti s čokoladom, Keksi Aproten, Keksi kolutići anis • **SNACK** - Kruh knusperbrot Aproten • **TJESTENINU** - Makaroni, Pužići, Školjke, Rošići, Spiral, Valovita, Amorini, Juha • **POLUGOTOVA JELA ZA BRZU PRIPREMU** - Tjestenina s rajčicom • **OSTALO** - PKU mlijeko Harifen, PKU biskvit, Loprofin, PKU napolitanke čokolada Loprofin



Vaš distributer PKU formula i niskoproteinskih proizvoda:

G-M Pharma
Zagreb, d.o.o.

HR - 10020 Novi Zagreb, Hrašće, Velika cesta 74
Tel/Fax: +385 (0)1 6234-053; 6234-868 • Fax: +385 (0)1 6260-667
e-mail: g-m-pharma@zg.t-com.hr
g-m-pharma@g-m-pharma.hr
www.g-m-pharma.hr

ELEKTROMEDICINA

MEDICINSKA OPREMA



Elektromedicina d.o.o.
Zagreb, Ksaver 197,
tel/fax: 01/ 46 77 432,
e-mail: elektromedicina@zg.t-com.hr
www.elektromedicina.hr



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU - MEDICINSKI FAKULTET

MEDICINSKA NAKLADA, Zagreb

Nasljedne metaboličke bolesti 2009

Glavna tema:

Središnji živčani sustav

Izdavač

MEDICINSKA NAKLADA, 10000 Zagreb, Cankarova 13

Za izdavača

Anđa Raić, prof.

Urednik

Prof.dr.sc. Ivo Barić, dr.med.

Oblikovanje naslovnice

Andrea Knapić

Oblikovanje priručnika, slog i prijelom

Mario Čuk, dr.med. i Elektromedicina d.o.o.

Naklada 120 primjeraka

Tisak

MEDICINSKA NAKLADA, Zagreb, listopad 2009.
