

Dijagnostički izazovi, klinička slika i tijek klasične galaktozemije

Šmaguc, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:465884>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-10**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Ana Šmaguc

Dijagnostički izazovi, klinička slika i tijek klasične galaktozemije

Diplomski rad



Zagreb, 2020.

Ovaj diplomski rad izrađen je u Zavodu za genetiku i bolesti metabolizma Klinike za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb pod vodstvom prof. dr. sc. Ive Barića i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2019./2020.

KRATICE

ADHD – poremećaj pozornosti s hiperaktivnošću (engl. *Attention Deficit Hyperactivity Disorder*)

AMH – anti-Müllerov hormon

FSIQ – globalni kvocijent inteligencije (engl. *Full Scale Intelligence Quotient*)

Gal-1-P – galaktoza-1-fosfat

GALE – uridin-difosfat-galaktoza-4'- epimeraza

GALK – galaktokinaza

GALM – galaktoza-mutarotaza

GALT – galaktoza-1-fosfat-uridiltransferaza

GalNet – engl. *The Galactosemia Network*

LNA – engl. *locked nucleic acid*

NADPH – nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NAD⁺ – nikotinamid adenin dinukleotid

OMIM – McKusickov katalog monogenskih nasljednih bolesti čovjeka - online izdanje (engl. *Online Mendelian Inheritance in Men*)

UMP – uridin monofosfat

UDP – uridin difosfat

UTP – uridin trifosfat

WISC-IV – Wechslerov test inteligencije za djecu (engl. *Wechsler Intelligence Scale for Children*)

SADRŽAJ

SAŽETAK

SUMMARY

1. UVOD	1
1.1. METABOLIZAM GALAKTOZE	1
1.2. GEN <i>GALT</i> I GALAKTOZA-1-FOSFAT-URIDIL-TRANSFERAZA	3
1.3. PATOGENETSKI MEHANIZMI KLASIČNE GALAKTOZEMIJE	4
1.4. KLINIČKA SLIKA KLASIČNE GALAKTOZEMIJE	5
1.4.1. Klinička slika u novorođenačkom razdoblju	5
1.4.2. Klinička slika nakon novorođenačkog razdoblja	5
1.4.2.1. Smanjena gustoća kostiju	6
1.4.2.2. Endokrinološki poremećaji	6
1.4.2.3. Poremećaji razvoja, ponašanja i neurološke komplikacije	7
1.4.2.4. Katarakta	8
1.5. DIJAGNOSTIČKI POSTUPAK	8
1.5.1. Novorođenački probir	10
1.6. LIJEČENJE BOLESNIKA S KLASIČNOM GALAKTOZEMIJOM	11
1.6.1. Dijeta	11
1.6.2. Ostale terapijske mjere	11
2. HIPOTEZA i CILJEVI RADA	14
3. BOLESNICI I METODE	15
4. REZULTATI	16
4.1. OBILJEŽJA BOLESNIKA	16
4.1.1. Genska osnova i aktivnost enzima <i>GALT</i>	16

4.2. KLINIČKA SLIKA, DIJAGNOSTIČKI I TERAPIJSKI POSTUPCI U NOVOROĐENAČKOM RAZDOBLJU	17
4.3. BIOKEMIJSKI NALAZI	23
4.4. SIMPTOMI NAKON NOVOROĐENAČKOG RAZDOBLJA	25
4.5. POVEZANOST GENOTIPA I FENOTIPA	31
4.6. USPOREDBA BRAĆE I SESTARA	32
4.7. DIJETA I DODACI PREHRANI	34
4.8. PRAĆENJE	34
5. RASPRAVA.....	35
5.1. O GENSKOJ OSNOVI BOLESNIKA	35
5.2. O KLINIČKOJ SLICI U NOVOROĐENAČKOM RAZDOBLJU.....	36
5.3. O KLINIČKOJ SLICI NAKON NOVOROĐENAČKOG RAZDOBLJA	38
5.3.1. O poremećajima razvoja, ponašanja i neurološkim komplikacijama.....	38
5.3.2. O katarakti	41
5.3.3. O kriptorhizmu i ovarijskoj insuficijenciji	41
5.3.4. O smanjenoj gustoći kostiju i zastoju u rastu	43
5.4. OBITELJI S KLASIČNOM GALAKTOZEMIJOM.....	45
5.5. STROGOST DIJETE	47
5.6. SPOZNAJE ZA BUDUĆNOST.....	48
5.7. OGRANIČENJA STUDIJE	49
6. ZAKLJUČCI	51
7.ZAHVALE	52
8. LITERATURA.....	53
9. ŽIVOTOPIS	66

SAŽETAK

Dijagnostički izazovi, klinička slika i tijek klasične galaktozemije

Ana Šmaguc

Klasična galaktozemija nasljedni je poremećaj metabolizma galaktoze uzrokovan manjkom galaktoza-1-fosfat-uridiltransferaze. Simptomi u novorođenačkom razdoblju razvijaju se nakon početka unosa hrane s galaktozom, a uključuju nenapredovanje, povraćanje, žuticu, ascites, koagulopatiju, kataraktu, simptome zahvaćanja mozga i bubrega te sklonost *E. coli* sepsi uz mogući smrtni ishod. Unatoč uspješnom zbrinjavanju početnih simptoma djetom bez galaktoze, oboljeli često razvijaju dugoročne komplikacije poput zastoja u rastu i razvoju, osteoporozu, poremećaje govora, neurološke poremećaje i ovarijsku insuficijenciju.

Dijagnostički postupak, te u nekim zemljama novorođenački probir, uključuju mjerenje galaktoze i njenih metabolita, aktivnosti galaktoza-1-fosfat-uridil-transferaze i gensku analizu.

Cilj ovog rada bio je opis osobitosti bolesnika iz Hrvatske s klasičnom galaktozemijom. Ova retrospektivna studija uključila je 24 ispitanika s postavljenom dijagnozom klasične galaktozemije u razdoblju od 1977. do 2020. godine. Kao izvori podataka pregledani su bolnička arhiva, bolnički informacijski sustav i ambulanti kartoni. Dijagnoza je postavljena na temelju pozitivne obiteljske anamneze, kliničke slike, koncentracije galaktoze u krvi i urinu, a potvrđivana mjerenjem aktivnost galaktoza-1-fosfat-uridil-transferaze i analizom gena *GALT*. 87 % bolesnika razvilo je simptome u novorođenačkom razdoblju, a jedan bolesnik je umro. Medijan dobi pri pojavi prvih simptoma bio je četiri dana, a pri početku dijete 11,5 dana. 78,3 % bolesnika razvilo je barem jednu dugoročnu komplikaciju, uključujući poremećaje razvoja (65,2 %), ponašanja (30,4 %) i govora (52,6 %), smanjene intelektualne sposobnosti (31,6 %), neurološke komplikacije (39,1 %), kataraktu (26,1 %) i smanjenu gustoću kostiju (36,8 %). 50 % bolesnica starijih od 10 godina razvilo je ovarijsku insuficijenciju. Jasna povezanost između genotipa i fenotipa. Uspoređujući članove iste obitelji, u drugorođenih s klasičnom galaktozemijom početak dijete bio je raniji, a pojava simptoma u novorođenačkom razdoblju rjeđa, a čini se da dugoročne komplikacije nisu bile povezane s redoslijedom rođenja. Ova studija pokazuje da većina bolesnika s klasičnom galaktozemijom razvije simptome u novorođenačkom razdoblju i, unatoč strogom pridržavanju dijete, dugoročne komplikacije.

Ključne riječi: galaktozemija, akutne i dugoročne komplikacije, Hrvatska

SUMMARY

Diagnostic challenges, clinical presentation and course of classical galactosemia

Ana Šmaguc

Classical galactosemia is an inherited disorder of galactose metabolism caused by galactose-1-phosphate-uridylyltransferase deficiency. Symptoms develop after newborns become exposed to galactose-containing foods. Patients present with weight loss, vomiting, jaundice, ascites, coagulopathy, cataracts, symptoms of brain and kidney impairment and tendency for *E. coli* sepsis with death as a possible result. Acute manifestations are adequately controlled with a galactose-free diet, however, patients often develop long-term complications such as growth and developmental delay, speech disorders, neurological complications, osteoporosis and ovarian insufficiency. The diagnostic procedure, and in some countries neonatal screening, include the measurement of galactose and its metabolites, activity of galactose-1-phosphate-uridylyl-transferase and gene analysis. The aim of this study was to describe characteristics of Croatia patients with classical galactosemia. This retrospective study included 24 patients diagnosed with classical galactosemia between 1977 and 2020. Hospital records, hospital computer database and ambulance records were reviewed as sources of data. Diagnosis was made based on positive family history, clinical presentation and galactose values in blood and urine, and confirmed by measuring galactose-1-phosphate-uridylyl-transferase activity and GALT gene analysis. 87% of patients developed acute manifestations of the disease and one patient died. The median period for the onset of first symptoms was four days and for onset of therapy 11.5 days after birth. 78.3% of patients developed at least one negative long-term outcome, including developmental disorders (65.2%), behavioral disorders (30.4%), speech disorders (52.6%), impaired intellectual abilities (31.6%), neurological complications (39.1%), cataracts (26.1%) and decreased bone density (36.8%). 50% of female patients older than 10 years developed ovarian insufficiency. A clear correlation between genotype and phenotype was not detected. When comparing siblings, a galactose-free diet was started earlier in the second-born children with classical galactosemia who, consequently, had smaller incidence of symptoms in the neonatal period. However, the incidence of long-term outcomes did not appear to be connected to birth order. In conclusion, this study shows that the vast majority of patients develop symptoms in the neonatal period, as well as long-term complications despite strict adherence to a galactose-free diet.

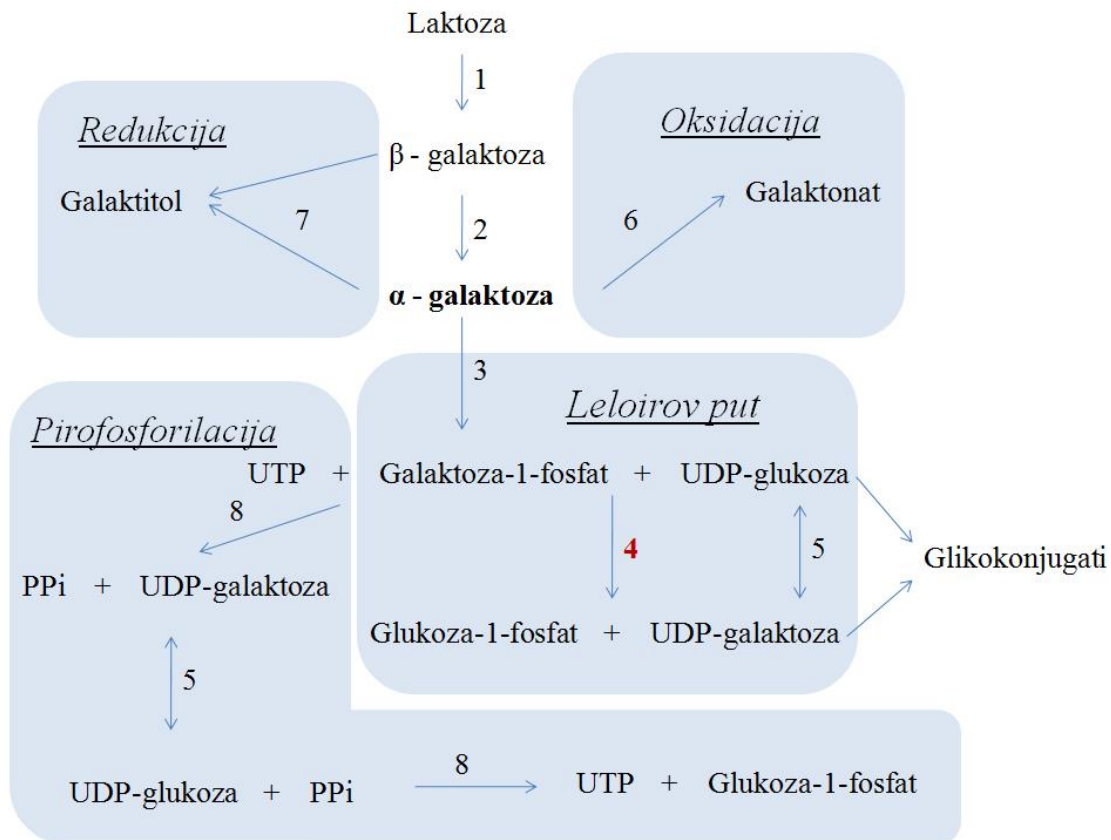
Keywords: galactosemia, acute and long-term outcomes, Croatia

1. UVOD

Galaktozemija je autosomno recesivno nasljedni poremećaj metabolizma galaktoze (OMIM #230400). Klasična galaktozemija nastaje zbog mutacija gena *GALT*, koji sadrži genetsku informaciju za enzim galaktoza-1-fosfat-uridil-transferazu, i najčešća je od svih galaktozemija. Mutacije gena *GALM*, *GALK* i *GALE* također mogu uzrokovati galaktozemiju dovodeći do poremećaja enzima galaktoza-mutarotaze, galaktokinaze odnosno uridin-difosfat-galaktoza-4'-epimeraze (1, 2). Incidencija klasične galaktozemije u Europi kreće se od 1 : 16000 do 1 : 60000 živorođenih, a značajno varira među državama (3). Vrlo je učestala u populaciji Irskih Putnika (engl. *Irish Traveller Population*) (4), a rjeđe se javlja u azijskim populacijama (5).

1.1. METABOLIZAM GALAKTOZE

Galaktoza ima značajnu ulogu kao izvor energije za dojenčad, a potrebna je i za sintezu glikokonjugata (6). U zdravih pojedinaca većina galaktoze u metaboličke putove dopijeva egzogenim unosom putem hrane. Glavni prehrambeni izvori galaktoze su mlijeko i mliječne prerađevine u kojima s glukozom čini disaharid laktozu. U tankom crijevu laktoza se hidrolizira na monosaharidne sastavnice djelovanjem laktaze. U jetrima galaktoza se metabolizira u Leloirovom putu (Slika 1) uzastopnim djelovanjem triju enzima: galaktokinaze, galaktoza-1-fosfat-uridili-transferaze i uridin-difosfat-galaktoza-4'-epimeraze (7). Galaktoza se po oslobađanju iz laktoze nalazi u β -konformaciji. Djelovanjem galaktoza-mutarotaze prebacuje se u α -konformaciju i galaktokinazom metabolizira u galaktozu-1-fosfat. Galaktoza-1-fosfat-uridil-transferaza katalizira izmjenu UMP-a između UDP-glukoze i galaktoze-1-fosfat rezultirajući nastankom glukoze-1-fosfat i UDP-galaktoze. U konačnici, uridin-difosfat-galaktoza-4'-epimeraza prevodi UDP-galaktozu u UDP-glukozu koja se ponovno iskorištava u prethodnom koraku. Glukoza-1-fosfat se pomoću fosfoglukomutaze prevodi u glukozu-6-fosfat za daljnje reakcije glikolize i glukoneogeneze, a UDP-galaktoza može služiti kao donor galaktoze za reakcije glikozilacije (1, 8).



Slika 1: Metabolizam galaktoze. 1 – laktaza, 2 – galaktoza-mutarotaza, 3 – galaktokinaza, 4 – galaktoza-1-fosfat-uridili-transferaza, 5 – uridin-difosfat-galaktoza-4'- epimeraza, 6 – NAD⁺ ovisna galaktoza dehidrogenaza, 7 – aldoza-reduktaza, 8 – UTP-ovisna pirofosforilaza, UTP – uridin trifosfat, PPi – pirofosfat. Modificirano prema: Coelho i sur. (9).

Opisana su tri dodatna metabolička puta galaktoze (Slika 1): redukcija, oksidacija i pirofosforilacija (9). Aldoza-reduktaza reducira galaktozu u alkohol galaktitol (7). Oksidacijom galaktoze galaktoza dehidrogenazom nastaje galaktonat koji se može izlučiti urinom ili metabolizirati u putu pentoza fosfata (10). Središnji enzim pirofosforilacije, UTP-ovisna pirofosforilaza, omogućuje ugradnju galaktoze-1-fosfata u UDP-galaktozu. Metabolički put pirofosforilacije ovisi o dvama enzimima Leloirovog puta. Aktivnost mu se povećava sa starenjem, a njegov najveći značaj proizvodnja je UDP-galaktoze i UDP-glukoze bitnih za sintezu glikokonjugata (11).

U patogenezi klasične galaktozemije značajna je endogena proizvodnja galaktoze (12). Najvjerojatniji izvori endogene galaktoze su lizosomska hidroliza glikokonjugata (13) i reverzibilni put pirofosforilacije (14). Osobe s klasičnom galaktozemijom imaju višu bazalnu endogenu proizvodnju galaktoze od zdravih kontrola i ta je proizvodnja najviša u ranoj dječjoj dobi. Endogena proizvodnja može doseći 2000 mg/dan (15, 16), a opterećenje egzogenom galaktozom ne utječe na bazalnu endogenu proizvodnju (17).

1.2. GEN *GALT* I GALAKTOZA-1-FOSFAT-URIDIL-TRANSFERAZA

Gen *GALT* nalazi se na kratkom kraku devetog kromosoma (9p13), sadrži 11 egzona i 4,3 kb genomske DNK (12). Do danas je opisano 340 mutacija, većinom onih krivog smisla (engl. *missense*) (18). Najčešća mutacija u bjelačkoj populaciji je c.563A>G (p.Q188R) koja se pretežno javlja u stanovništvu zapadne Europe s učestalošću od 65 % (19). Ima negativnu konotaciju na ishod dugoročnih komplikacija, a bolesnici obično imaju minimalnu ili nikakvu aktivnost enzima *GALT* u eritrocitima (3). U Afroamerikanaca i Latinoamerikanaca najčešća je mutacija c.404C>T (p.S135L) s učestalošću od 50 %. Dovodi do potpunog pomanjkanja aktivnosti enzima *GALT* u eritrocitima. Međutim, aktivnost enzima u jetrima i sluznici crijeva približno je 10 % aktivnosti u zdravih što vjerojatno objašnjava povoljniju kliničku sliku vezanu uz ovu gensku varijantu (20). Mutacija c.855G>T (p.K285N) ima najveću pojavnost u zemljama srednje i istočne Europe (19, 21). U potpunosti dokida aktivnost enzima *GALT* u eritrocitima i povezana je s lošijom kliničkom slikom (3). Mutacija c.940A>G (p.N314D) prisutna je u svim navedenim populacijama jer je najvjerojatnije nastala prije rasne divergencije (19). Povezana je s dvije varijante klasične galaktozemije: Los Angeles i Duarte. Varijanta Duarte pokazuje smanjenu aktivnost enzima *GALT*. Heterozigoti imaju aktivnost enzima 75 %, homozigoti 50 %, a složeni heterozigoti varijante Duarte i mutacije za tešku klasičnu galaktozemiju 25 % normalne (22). Smanjena aktivnost uvjetovana je delecijom četiri para baza u promoterskom području gena *GALT* koja remeti pozitivnu regulaciju ekspresije gena (23). U osoba s varijantom Los Angeles povećane su translacija i aktivnost enzima *GALT*, veća od 140 % (22).

Galaktoza-1-fosfat-uridil-transferaza evolucijski je značajno očuvan enzim (9), a nedavno je opisana struktura humanog enzima (24). Funkcionalni enzim GALT, približne molekularne mase 88 kDa, građen je od dvije proteinske jedinice sastavljene od 379 aminokiselina (25). Aktivno mjesto enzima sadrži sekvencu His-Pro-His koja je očuvana u svim poznatim uridil-transferazama (26). U strukturi enzima sadržan je i ion cinka koji ima strukturnu ulogu u stabilizaciji i sprječavanju agregacije (24).

1.3. PATOGENETSKI MEHANIZMI KLASIČNE GALAKTOZEMIJE

Patogeneza klasične galaktozemije vjerojatno počiva na nakupljanju i/ili manjku metabolita Leloirovog puta (12). *In vitro*, galaktoza-1-fosfat inhibira fosfoglukomutazu, glikogen fosforilazu i glukoza-6-fosfatazu (27). Inhibicija enzima uključenih u energetske metabolizam i pojačana sekrecija inzulina (28) mogu dovesti do hipoglikemije i hipoenenergoze stanica (29). Zabilježena je negativna regulacija signalnog puta fosfatidilinozitol-4,5-bisfosfat 3-kinaze koji sudjeluje u regulaciji sazrijevanja jajnih stanica i preživljenja neurona (30). Galaktoza-1-fosfat smanjuje aktivnost inozitol-monofosfataze čime dovodi do pada koncentracije slobodnog inozitola i poremećaja sinteze fosfatidilinozitola koji je važan sekundarni glasnik nekih neurotransmitora (31). Zabilježena je promijenjena ekspresija gena uključenih u signalne putove leptina, upalne reakcije, apoptozu (32), folikulogenezu (33), djelovanje IGF-1 (34) i stres endoplazmatskog retikuluma (35). U štakora, galaktoza dovodi do zakašnjelog puberteta, smanjenog ovulacijskog odgovora, poremećenih koncentracija gonadotropina i estrogena, smanjenog broja jajnih stanica u ženskih potomaka (36), poremećaja motoričke koordinacije, histoloških i biokemijskih promjena u stanicama malog mozga (37). Galaktoza inhibira oksidativnu baktericidnu i fagocitnu aktivnost leukocita (38, 39).

Galaktitol je odgovoran za nastanak katarakte i pseudotumora mozga jer nakupljanjem u stanicama uzrokuje stanični edem (40, 41). Aktivnošću aldoza reduktaze smanjuju se unutarstanične koncentracije NADPH čime se narušava aktivnost reduktaze glutationa s nakupljanjem slobodnih radikala i oksidativnim oštećenjem stanice (42). Osmotski stres pridonosi početnom nastanku katarakte, a oksidativni pogoduje daljnjoj progresiji (28).

Galaktoza-1-fosfat inhibira UTP-ovisnu pirofosforilazu što smanjuje koncentracije donora galaktoze čime se gube supstrati za sintezu glikokonjugata (27). Poremećaji glikozilacije očituju se promjenom sastava i funkcije glikoproteina (43-46). Zabilježene su i promjene bijele tvari središnjeg živčanog sustava (47). Na modelu vinske mušice uočen je poremećaj glikozilacije matriksa u području neuromuskularne sinapse (48).

1.4. KLINIČKA SLIKA KLASIČNE GALAKTOZEMIJE

1.4.1. Klinička slika u novorođenačkom razdoblju

Za klasičnu galaktozemiju karakteristična je pojava simptoma u prvim tjednima života kada dolazi do izlaganja novorođenčadi galaktozi iz majčinog mlijeka i/ili umjetne prehrane. Ako se ne pristupi pravodobnom liječenju, klinička slika može progredirati do smrtnog ishoda. Novorođenčad s klasičnom galaktozemijom često odbija hranu, ne napreduje ili gubi na tjelesnoj masi, povraća nakon obroka, ima proljev, žuticu, ascites, edeme, hepatomegaliju, letargična je i hipotonična. Oštećenje jetra može napredovati do fulminantog zatajenja s encefalopatijom i hemoragijskom dijatezom, a moguće je zatajenje bubrega. Novorođenčad je veoma sklona razvoju sepse uzrokovane *E. coli*, ali i drugim infekcijama. Može doći do razvoja katarakte, rjeđe pseudotumora mozga (3, 6, 49). Novorođenčad s varijantom Duarte u pravilu nema simptome (50).

1.4.2. Klinička slika nakon novorođenačkog razdoblja

U bolesnika s klasičnom galaktozemijom često se razvijaju dugoročne komplikacije, najvjerojatnije neovisno o strogom pridržavanju dijete. Neke od dugoročnih komplikacija su poremećaji rasta, razvoja, govora, kognitivnih i neuroloških funkcija, smanjena gustoća kostiju, katarakta, a u žena ovarijska insuficijencija. Zabilježeni su i mikrocefalija, samoozljeđivanje, autoimunosni hepatitis i kombinirana imunodeficijencija (6, 51). Osobe s varijantom Duarte nemaju dugoročnih komplikacija (52).

1.4.2.1. Smanjena gustoća kostiju

Osobe s klasičnom galaktozemijom imaju povećani rizik za smanjenu koštanu gustoću već u dječjoj dobi (53, 54). Dijeta bez mlijeka i mliječnih prerađevina uzrokuje nedostatan unos kalorija, proteina i kalcija. Prerađevine soje, koje se često koriste u prehrani, sadrže fitate koji u probavnom sustavu vežu minerale i sprječavaju apsorpciju. Motorički poremećaji zajedno s kognitivnim disfunkcijama mogu smanjiti tjelesnu aktivnost. Važan rizični čimbenik u žena smanjena je koncentracija estrogena zbog ovarijske insuficijencije. Poremećaj glikozilacije može zahvatiti kolagen i druge koštane proteine i poremetiti sintezu koštanog tkiva. Gustoća kostiju je u osoba s klasičnom galaktozemijom za više od pola standardne devijacije manja od one u općoj populaciji. Udio Z-vrijednosti do -2 SD je 10 – 25 % što je više od udjela od 2,3 % u općoj populaciji (54).

1.4.2.2. Endokrinološki poremećaji

U muške populacije s klasičnom galaktozemijom uočeni su povećana učestalost kriptorhizma, manji volumen sperme, niže koncentracije testosterona i inhibina B (55), te zakašnjeli pubertet (56). Ovarijska insuficijencija zahvaća čak 80 % žena s klasičnom galaktozemijom (56). Očituje se primarnom ili sekundarnom amenorejom, oligomenorejom, zakašnjelim ili odsutnim pubertetskim razvojem i subfertilitetom ili infertilitetom. Riječ je o hipergonadotropnom hipogonadizmu s povišenim koncentracijama folikulstimulirajućeg hormona (FSH), povišenim ili normalnim koncentracijama luteinizirajućeg hormona (LH) i smanjenim koncentracijama estradiola (57). Na slikovnim prikazima i histološkim analizama tkiva jajnika može se uočiti dijapazon od normalnih jajnika do vezivnih tračaka (58). Fluktuirajući tijek i nepredvidljivost karakteristični su za ovarijsku insuficijenciju u žena s klasičnom galaktozemijom. U jednoj studiji spontana menarhe zabilježena je u 68 % bolesnica. Od bolesnica koje su imale spontanu menarhe, njih 35 % je i dalje imalo redovite menstrualne cikluse nakon 5 godina, a manje od 15 % nakon 10 godina (59). Spontane trudnoće zabilježene su u žena s nepovoljnim koncentracijama gonadotropina, estrogena i AMH te

čak i nakon provedene krioprezervacije tkiva jajnika (60-62). Učestalost spontanih začea u žena s klasičnom galaktozemijom veća je od učestalosti u žena koje imaju primarnu ovarijsku insuficijenciju zbog drugih razloga (63). Čini se da trudnoća nema nepovoljnih utjecaja na majku ni na dijete (64). Nisu provedene studije koje bi prospektivno i dugoročno pratile žene s klasičnom galaktozemijom koje su iskusile trudnoću, a ni njihovu djecu (65).

1.4.2.3. Poremećaji razvoja, ponašanja i neurološke komplikacije

U osoba s klasičnom galaktozemijom mogu se javiti poremećaji razvoja, govora, pažnje, pamćenja, brzine obrade informacija, vizuospacijalnih i vizuomotoričkih funkcija, izvršnih funkcija, socijalne kognicije. Zabilježene su značajne razlike među pojedincima iako se češće izdvajaju poremećaji govora i intelektualnih sposobnosti. Obrazovni uspjeh često varira od nikakvih postignuća do fakultetskog obrazovanja (66-68). U jednoj studiji učestalost pohađanja specijalnih škola bila je gotovo trostruko veća nego u općoj populaciji, a oko 60 % ispitanika s klasičnom galaktozemijom imalo je završenu samo osnovnu ili srednju školu u usporedbi s 27 % u općoj populaciji (69). U studiji Wellinga i suradnika prosjek globalnog kvocijenta inteligencije bio je 87 s rasponom 47 – 122. 15 % ispitanika imalo je IQ manji od 70 (70). Iako se prvotno smatralo da se starenjem progresivno smanjuje kognitivno funkcioniranje (51), prospektivne studije i metaanalize pokazale su da do toga ne dolazi (70, 71).

Poremećaji govora javljaju se često, a uključuju oštećenje govora, vokabulara, gramatike, verbalnu dispraksiju i disartriju. Verbalna dispraksija nastaje zbog poteškoća u planiranju i koordiniranju rada mišića odgovornih za nastanak glasova. Učestalost u osoba s klasičnom galaktozemijom je oko 65 %. Očituje se poteškoćama u produkciji i ponavljanju glasova, različitim greškama u izgovaranju iste riječi, poteškoćama s intonacijom, sporijim govorom sa češćim pauzama i manjim brojem riječi, prekrajanjem riječi i povećanim brojem grešaka pri brzem ili složenijem govoru (72).

Osobe s klasičnom galaktozemijom često se opisuju kao sramežljive, povučene, teško prihvaćene u društvu s tendencijom da budu žrtve vršnjačkog nasilja, s hiperaktivnošću i

poteškoćama održavanja pažnje (73). Među odraslima česta je pojava depresije i anksioznosti (74, 75). Nedavno je uočena smanjena sposobnost prepoznavanja emocija na temelju izraza lica (76). Uspoređujući socijalne ishode, ispitanici s klasičnom galaktozemijom češće nemaju potomke od ispitanika s fenilketonurijom. Dijelom se to može objasniti endokrinološkim poremećajima u žena, međutim, uzrokom bi mogli biti i poremećaji socijalne adaptacije, formiranja dugoročnih veza i osobni stav prema vlastitoj genetičkoj bolesti (77, 78). Osobe s klasičnom galaktozemijom imaju usporen tok životnih događaja i prekretnica naspram vršnjaka s fenilketonurijom ili zdrave populacije (79).

Od neuroloških se komplikacija pretežno javljaju hiperkinetički motorički poremećaji, najčešće tremor, ataksija i distonija (47, 51, 74). Opisuju se i mioklonus, nespretnost, poremećaji koordinacije, dismetrija, cerebralni napadaji i mikrocefalija (75, 80).

1.4.2.4. Katarakta

Katarakta se u novorođenačkom razdoblju javlja s učestalošću od 13 do 59 %, a nakon novorođenačke dobi od 57 do 77 % (81). Nemogućnost prolaska svjetlosnih zraka kroz centralnu optičku osovinu može dovesti do razvoja slabovidnosti, strabizma i nistagmusa što je bitno u donošenju odluka o liječenju onih katarakta koje se ne povlače dijelom (82). Zamućenja leća mogu biti različitih karakteristika, lokalizacija, stadija te stacionarna ili progresivna (83, 84). Postoje mišljenja da heterozigotni nosioci mutacije za klasičnu galaktozemiju ili osobe s varijantom Duarte imaju povećan rizik za nastanak presenilne idiopatske katarakte (85, 86), ali rezultati studija su još uvijek oprečni (87).

1.5. DIJAGNOSTIČKI POSTUPAK

U anamnezi, bitni su podaci o konsangvinitetu roditelja, sličnim bolesnicima i nejasnim smrtnim slučajevima u obitelji, urednoj trudnoći i porođaju uz početak simptoma nakon hranjenja te progresivnom tijeku bolesti (8).

Galaktozurija se detektira testom na reduktivne tvari koji ima nisku osjetljivost i specifičnost. Lažno pozitivni rezultati mogu biti posljedica izlučivanja drugih reducirajućih šećera u urinu, jetrenog oštećenja ili antibiotske terapije. Lažno negativni rezultati će biti ako dijete ne unosi galaktozu. Koncentracije galaktoze i galaktitola u krvi i urinu najčešće se mjere plinskom kromatografijom. Ako dijete unosi galaktozu, njihove koncentracije budu višestruko povišene, a nakon uvođenja dijete smanjuju se. Galaktitol se uvijek može detektirati u urinu unatoč dijete (12). Galaktoza-1-fosfat u eritrocitima može se izmjeriti plinskom kromatografijom, tandemskom spektrometrijom masa ili spektrofotometrijskom detekcijom NADH ili NADPH. Koncentracije oba metabolita mogu poslužiti za postavljanje dijagnoze i za praćenje bolesnikovog odgovora na terapiju i pridržavanja dijete. Terapijski raspon galaktoze-1-fosfata je 2 – 4 mg/dL (111 – 222 μ mol/L), dok bazalne koncentracije galaktitola značajno variraju među bolesnicima i mogu ovisiti o dobi i tjelesnoj masi (88).

Zlatni standard mjerenje je aktivnosti enzima GALT u eritrocitima. Testovi se temelje na mjerenju potrošnje UDP-glukoze ili proizvodnje UDP-galaktoze. Razvijene su metode tekućinske kromatografije i tandemске spektrometrije masa koje omogućuju mjerenje aktivnosti enzima za sve vrste galaktozemija iz male količine uzorka (88). Aktivnost enzima u klasičnoj galaktozemiji obično je nemjerljiva ili manja od 1 %. Lažno negativni rezultati mogu biti posljedica transfuzije eritrocita ili krvi u prethodna 3 – 4 mjeseca (9).

U nekim laboratorijima dostupna je analiza gena *GALT*. Najčešće se provodi ciljano traženje mutacija što može biti neuspješno ako bolesnik ima novu, nepoznatu mutaciju. U tom slučaju provodi se sekvencioniranje gena *GALT*. Genska analiza korisna je za prepoznavanje benignih varijanti i heterozigotnih nositelja mutacije koji ne zahtijevaju terapiju. Preporuča se testiranje roditelja i punoljetne djece što omogućuje pravilno gensko informiranje (88, 89). U prenatalnoj dijagnostici pretežno se koristi genska analiza ili mjerenje aktivnosti enzima GALT iz uzorka dobivenog biopsijom korionskih resica (1).

1.5.1. Novorođenački probir

Novorođenački probir sustavno je traženje određenih prirođenih bolesti u cjelokupnoj novorođenačkoj populaciji prije razvoja kliničkih znakova bolesti, a s ciljem ranog započinjanja liječenja kako bi se spriječila invalidnost ili smrt. Uvođenje bolesti u sustav probira temelji se na Jungner-Wilsonovim kriterijima. Ne postoji jednoglasno mišljenje o novorođenačkom probiru za klasičnu galaktozemiju. Protivnici naglašavaju kako se unatoč rano započetoj terapiji razvijaju dugoročne komplikacije (51, 90). Nepovoljnim smatraju da se bolest može dijagnosticirati na vrijeme klinički i laboratorijski te da je klinička slika često razvijena prije rezultata probira (91). Argument je i činjenica da je klasična galaktozemija rijetka bolest s izrazito varijabilnom incidencijom u različitim državama (6). Zagovornici ističu važnost ranog otkrivanja bolesti i započinjanja liječenja za razvoj, težinu, komplikacije i smrtnost bolesti u novorođenačkom razdoblju. Dospijeće rezultata probira do petog dana života moglo bi omogućiti prevenciju akutne dekompenzacije (92).

U prošlosti se koristio Benedictov test za reduktivne tvari u urinu (93). Danas se najčešće koriste testovi za detekciju galaktoze ili galaktoze-1-fosfata i mjerenje aktivnosti GALT-a Beutler-Baluda fluorometrijskim testom iz uzorka krvi sakupljenog na filtrirnom papiru u prvim danima djetetova života. Lažno negativni rezultati testova koji detektiraju ukupnu galaktozu biti će ako dijete istu ne prima hranom. Povišenu koncentraciju galaktoze mogu uzrokovati poremećena aktivnost enzima GALM, GALK i GALE, deficijencija citrina, Fanconi-Bickelova bolest, oštećenja jetra i različiti lijekovi. U nekim programima koristi se i genska analiza (81, 88, 94). Među najboljim programima probira pokazao se program u Švedskoj koja pripada skupini zemalja s najmanjom incidencijom bolesti. Uzorci se u navedenom programu sakupljaju nakon prosječno 2,9 dana od rođenja, a u laboratorij pristižu nakon 5,5 dana. Postupak se sastoji od mjerenja aktivnosti enzima Beutlerovim testom, a ako su dobivene vrijednosti $\leq 15\%$, dodatno se mjeri koncentracija ukupne galaktoze u krvi s graničnom koncentracijom $\geq 1,5$ mmol/L (95).

1.6. LIJEČENJE BOLESNIKA S KLASIČNOM GALAKTOZEMIJOM

1.6.1. Dijeta

Prema međunarodnim smjernicama liječe se svi bolesnici s aktivnošću enzima GALT u eritrocitima manjom od 10 % normalne i/ili patološkim mutacijama na oba alela gena *GALT*. Liječenje varijante Duarte ne preporuča se, a dokazi o potrebi liječenja bolesnika s aktivnošću enzima GALT u eritrocitima 10 – 15 % normalne nedostatni su (89). Već se pri sumnji na klasičnu galaktozemiju treba uvesti dijeta bez galaktoze. U dojenčadi najčešće se koristi umjetna hrana na bazi soje. Elementarnim pripravcima se zbog manjeg rizika od osteopenije daje prednost u prijevremeno rođene djece, iako se pokazalo da brže dovode do smanjenja koncentracije galaktoze-1-fosfata (96). S dohranom se započinje od kraja 4. do 6. mjeseca života. Prehrambena restrikcija galaktoze doživotna je, a mišljenja su o strogoći dijete podijeljena. Danas se voće, povrće, sokovi, mahunarke, nefermentirane prerađevine soje, određeni tvrdi sirevi i kazeinati smatraju dozvoljenima budući da u usporedbi s endogenom sintezom galaktoze minimalno pridonose ukupnom prometu galaktoze (97). Starenjem se smanjuje količina endogeno sintetizirane galaktoze i povećava aktivnost alternativnog puta pirofosforilacije što bi moglo povećati toleranciju veće količine egzogeno unesene galaktoze i bolje prihvaćanje manje stroge dijete (11, 15, 16).

1.6.2. Ostale terapijske mjere

Doima se da veliki udio u patogenezi klasične galaktozemije ima nakupljanje galaktoze-1-fosfata iz čega je proizašla ideja o razvoju inhibitora galaktokinaze koji bi težak fenotip klasične galaktozemije preveli u lakši (98, 99). Nije jasno jesu li katarakta i pseudotumor mozga jedine komplikacije inhibicije galaktokinaze (65). U skupini 16 njemačkih bolesnika s nedostatkom galaktokinaze zabilježena je učestalost intelektualnih poremećaja od 31 % (100), a „dvostruka blokada“ gena *GALT* i *GALK* može dovesti do nepoželjnog sinergističkog djelovanja na razvoj dugoročnih komplikacija (101).

Na modelu vinske mušice je u prisutnosti dva oksidansa, parakvata i dimetil sulfoksida, uočena pojačana osjetljivost na toksičnost galaktoze. Toksičnost galaktoze bila je smanjena u prisutnosti dva antioksidansa, vitamina C i α -mangostina (102). Nadalje, dva oponašatelja superoksid dizmutaze, MnTnBuOE-2-PyP(5+) i MnTE-2-PyP(5+), bila su učinkovita u povećanju preživljenja vinske mušice i smanjenju poremećaja pokreta u odraslih modela (103). Acetilirani antocijanini i fenolski spojevi u ljubičastom slatkom krumpiru smanjuju lipidnu peroksidaciju, povećavaju aktivnost superoksid dizmutaze, katalaze i glutation peroksidaze, smanjuju ekspresiju proinflamatornih medijatora i apoptozu, a prodiru i u neurone što je sažeto prikazao Timson (104).

Budući da se klasična galaktozemija smatra konformacijskim poremećajem, javlja se mogućnost terapijskog korištenja molekula pratitelja. Mutacije gena *GALT* uzrokuju poremećaj agregacije proteina što može dovesti do poremećaja stanične homeostaze. Kemijske i/ili farmakološke molekule pratitelji mogli bi povećati vrijeme trajanja djelomično aktivnih varijanti enzima i spriječiti nakupljanje proteinskih agregata (105). Arginin je prepoznat kao stabilizator proteina (engl. *chaperon*) (106). Činilo se da u prokariotskom modelu povoljno djeluje na proteinske produkte nekih mutacija (107). Nažalost, daljnja studija pokazala je da u homozigota za mutaciju p.Q188R arginin nije poboljšao sposobnost oksidacije galaktoze, aktivnost enzima *GALT* ni koncentracije galaktoze i galaktitola (108).

Postoji nedostatak UDP-galaktoze u osoba s klasičnom galaktozemijom što uzrokuje poremećaje glikozilacije, a *in vivo* i *in vitro* primjena uridina normalizira koncentraciju UDP-galaktoze u eritrocitima (109). Nakon petogodišnje primjene uridina u bolesnika s klasičnom galaktozemijom, nije uočeno poboljšanje kognitivnih funkcija (71).

Neke mutacije intronskih regija gena *GALT* dovode do poremećaja spajanja egzona (18). *In vivo* i *ex vivo* analize pokazale su da je varijanta c.820+13A>G patogena i da se poremećaj prekrajanja uzrokovan tom varijantom može popraviti *antisense* (engl.) terapijom oligonukleotidima. Dva primijenjena LNA (engl. *locked nucleic acid*) oligonukleotida uspješno su normalizirala prekrajanje, blokirajući mutacijom novonastalo mjesto prekrajanja (110).

Sve se više ispituje mogućnost liječenja glasničkom RNK koja ne prolazi u jezgru i time ne čini opasnost za mutagenezu, a omogućuje prolaznu aktivnost enzima ovisnu o dozi. Na

mišjem modelu klasične galaktozemije je nakon primjene humane *GALT* glasničke RNK zabilježena dugoročna ekspresija jetrenog enzima *GALT* i statistički značajno smanjenje koncentracije galaktoze-1-fosfata u tkivima i galaktoze u plazmi. Omogućeno je preživljenje novorođenih miševa i povećan prirast tjelesne mase (111).

Genska terapija klasične galaktozemije još uvijek nije zaživjela. Cilj terapije bio bi unijeti funkcionalnu kopiju gena *GALT* u organizam čime bi se omogućio put eliminacije galaktoze. Istražuju se mogućnosti korištenja induciranih pluripotentnih matičnih stanica umjesto virusnih vektora čime bi se poništilo imunološko odbacivanje (99, 112).

Transplantacija organa pogodna je kada se manjkavi enzimski korak odvija u određenom organu, kao što su jetra ili koštana srž, te se transplantacijom omogućuje odvijanje metaboličke reakcije zdravim enzimom u transplantiranom organu (99, 113).

Djevojkama s ovarijskom insuficijencijom se na temelju individualiziranog pristupa određuje početak hormonske nadomjesne terapije koja uključuje postupno rastuće doze estrogena, a kasnije i cikličku primjenu progesterona (89). Ovulacija se u žena s klasičnom galaktozemijom može inducirati primjenom rekombinantnog FSH. U nekim zemljama moguć je postupak *in vitro* oplodnje donirane jajne stanice, krioprezervacija embrija nakon *in vitro* oplodnje i krioprezervacija neoplođene zrele jajne stanice. U djevojaka koje nisu ušle u pubertet istražuje se krioprezervacija tkiva jajnika koja podiže etička pitanja kao i sve intervencije u djevojaka koje nisu punoljetne i/ili su smanjenih kognitivnih sposobnosti (58). Eksperimentalne metode koje se prvenstveno razvijaju za žene oboljele od onkoloških bolesti uključuju bioinženjering i razvoj umjetnog jajnika (114) i korištenje matičnih stanica za regeneraciju jajnika (115). U štakora je uočen povoljan učinak dehidroepiandrosterona na sazrijevanje folikula (116) .

Sorbinil, inhibitor aldoza reduktaze, sprječava nastanak katarakte u štakora hranjenih galaktozom (117). Spoj kvercetin pomaže održavanju prozirnosti leće djelujući na ionski i proteinski sastav (118). Topički primijenjen tokotrienol odgađa nastanak i progresiju katarakte smanjujući oksidativni stres djelovanjem na sadržaj malondialdehida, superoksid dizmutaze, katalaze i glutationa (119). Ako se katarakta ne povuče adekvatnom dijetom, a uzrokuje poremećaje razvoja i funkcije vida, moguća je operacija s ekstrakcijom promijenjene i ugradnjom intraokularne leće (120).

2. HIPOTEZA i CILJEVI RADA

Klasična galaktozemija kao bolest poznata je već desetljećima, međutim, puno nepoznanica nerazjašnjeno je. To se osobito odnosi na moguće patogenetske mehanizme bolesti i čimbenike koji bi mogli utjecati na razvoj dugoročnih komplikacija bolesti. Cilj ovog diplomskog rada bio je opis biokemijskih, kliničkih i molekularnih osobitosti bolesnika s klasičnom galaktozemijom iz Republike Hrvatske i usporedba dobivenih rezultata s dostupnom literaturom. Očekuje se da rezultati ove deskriptivne studije ne odstupaju od studija provedenih u populacijama bez novorođenačkog probira za klasičnu galaktozemiju i populacijama sa sličnom genskom podlogom te da će potvrditi poznata saznanja o bolesti.

3. BOLESNICI I METODE

Ova retrospektivna studija uključila je ukupno 24 bolesnika iz 20 obitelji s područja Republike Hrvatske kojima je postavljena dijagnoza klasične galaktozemije u razdoblju od 1977. do 2020. godine. Uključeni su bolesnici koji su obrađivani, praćeni ili liječeni u Zavodu za genetiku i bolesti metabolizma i/ili u Metaboličkoj ambulanti KBC-a Zagreb. Kao izvori podataka pregledani su bolnička arhiva i bolnički informacijski sustav (BIS). Ambulantni kartoni pregledani su za one bolesnike čiji podaci o kontrolnim pregledima nisu bili dostupni u bolničkoj arhivi ni BIS-u. Dodatne podatke ustupila je dr. sc. Danijela Petković-Ramadža, a podaci o kvocijentima razvoja i inteligencije dobiveni su zahvaljujući profesorici psihologije Marini Grubić. Podaci su prikupljeni kroz siječanj i veljaču 2020. godine s osvrtom na dob pri pojavi simptoma, dob pri postavljanju dijagnoze i dob pri početku terapije, način postavljanja dijagnoze, terapijske postupke, kliničku sliku u novorođenačkoj dobi, laboratorijske nalaze pri početnom kliničkom pogoršanju ispitanika, aktivnost enzima GALT, gensku analizu, dugoročne komplikacije, dugoročno liječenje, praćenje i redovitost kontrole. Za analizu podataka korištene su metode deskriptivne statistike u programu Excel 2007 - Microsoft ®.

4. REZULTATI

4.1. OBILJEŽJA BOLESNIKA

Od 24 ispitanika uključenih u studiju, 54,2 % (13/24) bilo je muškog spola, a 45,8 % (11/24) ženskog. Studija je obuhvatila četiri para braće i sestara. Sadašnja dob bila je poznata za sve ispitanike koji su preživjeli bolest u novorođenačkom razdoblju s rasponom od šest mjeseci do 42 godine i medijanom od 16,6 godina. Prosjek sadašnje dobi bio je 17,8 godina sa standardnom devijacijom 10,5 godina.

4.1.1. Genska osnova i aktivnost enzima GALT

Genotip je bio poznat za 75 % (18/24) bolesnika. 44,4 % (8/18) bolesnika bilo je homozigotno, prema 55,6 % (10/18) heterozigota. Od 36 alela (uključujući dva člana iste obitelji), identificirane su četiri mutacije sa sljedećim frekvencijama: c.563A>G (p.Q188R) 41,7 % (15/36), c.855G>T (p.K285N) 38,9 % (14/36), c.367C>T (p.R123X) 16,7 % (6/36), c.812G>C (p.E271D) 2,8 % (1/36). Tri mutacije bile su krivog smisla (engl. *missense*) i jedna besmislena (engl. *nonsense*). U daljnjem tekstu mutacije će se navoditi samo promjenom slijeda nukleotida. Identificirano je 7 genotipova, uključujući homozigotnost za mutaciju c.563A>G u 22,2 % (4/18) ispitanika, za mutaciju c.855G>T u 16,7 % (3/18) ispitanika i za mutaciju c.367C>T u 5,6 % (1/18) ispitanika. U 27,8 % (5/18) ispitanika je genotip bio c.563A>G / c.855G>T, u 11,1 % (2/18) ispitanika c.367C>T / c.563A>G, 11,1 % (2/18) ispitanika c.367C>T / c.855G>T i u jednog bolesnika (5,6 %) c.855G>T / c.812G>C. Aktivnost enzima GALT bila je poznata za 62,5 % (15/24) bolesnika, a vrijednosti se mogu vidjeti u Tablici 2.

4.2. KLINIČKA SLIKA, DIJAGNOSTIČKI I TERAPIJSKI POSTUPCI U NOVOROĐENAČKOM RAZDOBLJU

Prisutnost simptoma u novorođenačkom razdoblju bila je poznata za 95,8 % (23/24) ispitanika. 13 % (3/23) ispitanika nije imalo simptome. Dob pri pojavi prvih simptoma bila je poznata za 95 % (19/20) ispitanika. Medijan je bio četiri dana s rasponom 2 – 42 dana, a aritmetička sredina 10,3 dana sa standardnom devijacijom 10,8 dana. Dob pri postavljanju dijagnoze ili pri sumnji na dijagnozu bila je poznata za 95,8 % (23/24) ispitanika. Medijan je bio 12,5 dana s rasponom 0 – 150 dana, a aritmetička sredina 27,5 dana sa standardnom devijacijom 38,1 dan. Dob pri početku dijete bez galaktoze bila je poznata za 95,8 % (23/24) ispitanika. Medijan je bio 11,5 dana s rasponom 0 – 150 dana, a aritmetička sredina 26,9 dana sa standardnom devijacijom 38,3 dana. Jednom ispitaniku koji je liječen u inozemstvu dijagnoza je postavljena i dijeta započeta u dojenačkoj dobi s nepoznatom točnom dobi. Vrijeme od početka dijete bez galaktoze do laboratorijskog oporavka jetrenih funkcija bilo je poznato za 40 % (8/20) bolesnika. Medijan je bio 7,5 dana s rasponom 1 – 27 dana, a aritmetička sredina 9,8 dana sa standardnom devijacijom 9,1 dan. Za jednu bolesnicu podaci o tijeku bolesti u novorođenačkom razdoblju nisu bili poznati.

Dijagnoza se postavljala na temelju pozitivne obiteljske anamneze na klasičnu galaktozemiju ili slične događaje u obitelji, kliničke slike, koncentracija galaktoze u krvi i urinu, a aktivnost enzima GALT i genska analiza radile su se naknadno kao potvrda dijagnoze. Način postavljanja dijagnoze bio je poznat za 83,3 % (20/24) ispitanika. Obiteljska anamneza bila je pozitivna u 30 % (6/20) bolesnika, klinička slika u 80 % (16/20), a koncentracije galaktoze u krvi i/ili urinu indikativne za klasičnu galaktozemiju u 75 % (15/20). Pokusni obrok galaktoze proveo se u 25 % (5/20) ispitanika, a mjerenje aktivnosti enzima GALT u eritrocitima u 20 % (4/20).

Svim ispitanicima bila je uvedena dijeta bez galaktoze pri sumnji na ili pri postavljanju dijagnoze klasične galaktozemije. Ostala terapija bila je poznata za 83,3 % (20/24) ispitanika. Albumini su korišteni u 30 % (6/20) bolesnika, a vitamin K u 35 % (7/20). U 37,5 % (6/16) bolesnika koristila se svježe smrznuta plazma.

Simptomi i znakovi klasične galaktozemije u novorođenačkoj dobi u naših ispitanika bili su: poremećeno opće stanje (85 %, 17/20), hiperbilirubinemija i/ili žutica (70 %, 14/20),

koagulopatija (65 %, 13/20), infekcije drugim uzročnicima (60 %, 12/20), hipotonija (55 %, 11/20), gubitak na tjelesnoj masi i/ili nenapredovanje (50 %, 10/20), zatajenje jetra (50 %, 10/20), poremećaj svijesti (45 %, 9/20), infekcija uzrokovana *E.coli* (45 %, 9/20), povraćanje i/ili bljućkanje (40 %, 8/20), nedefinirana hepatopatija (20 %, 4/20), hepatomegalija (20 %, 4/20), smanjena spontana motorika (20 %, 4/20), katarakta (15 %, 3/20), ascites (15 %, 3/20), odbijanje hrane (15 %, 3/20), povećan opseg neurokranija (15 %, 3/20), opistotonus (10 %, 2/20), distonija (10 %, 2/20), cerebralni napadaji (10 %, 2/20). Sepsa se javila u 35 % (7/20) bolesnika, a u 71,4 % (5/7) bila je uzrokovana *E. coli*. Jedan bolesnik je umro u dobi od 6 tjedana. Detalji o katarakti bili su poznati za jednog bolesnika u kojeg je ona bila obostrana, parcijalna, posteriorno kortikalna. Zatajenje jetra definiralo se prema kriterijima PALF (engl. *Pediatric Acute Liver Failure*). Kada podaci o protrombinskom vremenu ili INR-u nisu bili poznati, kao zamjenski kriterij koristio se protrombinski indeks manji od 0,7. U bolesnice s oznakom 11 prvi su se simptomi javili nakon novorođenačkog razdoblja u 6. tjednu života, ali uključeni su u obradu simptoma u novorođenačkom razdoblju kao početnih simptoma bolesti. Nadalje, svi simptomi koji su se u bolesnika javili nakon novorođenačkog razdoblja, a bili su dio tijeka početne kliničke slike bolesti, uključeni su u istu obradu. Detaljniji prikaz simptoma u novorođenačkom razdoblju za svakog bolesnika je u Tablici 3.

Čimbenici u naših bolesnika koji su mogli doprinijeti kliničkoj slici su vezikoureteralni refluks i deficit imunoglobulina A i M u jednog bolesnika te Fanconijev sindrom, mekonijska plodova voda i prolazni hiperinzulinizam u po jednog bolesnika. Promjene stanja svijesti i hipotonija mogle su se javiti i kao posljedica sedacije bolesnika.

Tablica 1. Obilježja bolesnika, dob pri pojavi simptoma, dob pri postavljanju dijagnoze i/ili pri sumnji na dijagnozu i dob pri početku dijete bez galaktoze. M – muško, Ž – žensko, ? – nepoznato. Bolesnik s oznakom 09 umro je u dobi od 6 tjedana.

Oznaka bolesnika	Spol	Trenutna dob	Dob pri pojavi simptoma	Dob pri postavljanju dijagnoze	Dob pri početku dijete
01	M	32 godine	bez simptoma	0. dan	0. dan
02	M	12 godina	20. dan	27. dan	27. dan
03	M	27 godina	18. dan	4. mjesec	4. mjesec
04	Ž	23 godine	bez simptoma	0. dan	0. dan
05	M	24 godine	4. dan	5. mjesec	5. mjesec
06	Ž	3 godine	bez simptoma	0. dan	0. dan
07	M	26 godina	?	dojenačka dob	?
08	Ž	12 godina	4. dan	11. dan	11. dan
09	M	/	4. dan	oko 14. dana	oko 14. dana
10	Ž	23 godine	?	?	?
11	Ž	42 godine	6. tjedan	53. dan	53. dan
12	M	6 mjeseci	3. dan	9. dan	8. dan
13	M	26 godina	3. dan	41. dan	41. dan
14	M	17 godina	12. dan	21. dan	12. dan
15	M	8 godina	2. dan	17. dan	17. dan
16	Ž	16 godina	3. dan	8. dan	5. dan
17	M	7 godina	5. dan	14. dan	14. dan
18	M	5 godina	2. dan	7. dan	7. dan
19	Ž	9 godina	4. dan	8. dan	8. dan
20	Ž	14 godina	3. dan	7. dan	7. dan
21	Ž	20 godina	4. tjedan	49. dan	49. dan
22	Ž	16 godina	2. dan	8. dan	8. dan
23	Ž	16 godina	17. dan	22. dan	22. dan
24	M	18 godina	14. dan	26. dan	26. dan

Tablica 2. Aktivnost enzima GALT, genotip i način postavljanja dijagnoze. OA – pozitivna obiteljska anamneza, KG – koncentracije galaktoze u krvi i/ili urinu, KS – klinička slika, PO – pokusni obrok, GALT – aktivnost enzima GALT u eritrocitima, ? – nepoznato, * normalno > 0,3 μ kat/gHb, ** normalan raspon 2,3 – 25 U/gHb, *** normalno > 4.

Oznaka bolesnika	Aktivnost GALT-a	Genotip	Način postavljanja dijagnoze
01	Nemjerljiva	?	OA, KG
02	?	c.563A>G/c.563A>G	?
03	Nemjerljiva	?	KS, KG
04	?	c.563A>G/c.563A>G	OA
05	0,25 μ kat/gHb*	c.563A>G/c.855G>T	PO, KS, KG, GALT
06	0 %	?	OA, GALT
07	?	?	?
08	0,14 U/gHb**	c.367C>T/c.563A>G	PO, KS, KG
09	?	?	PO, KS, KG
10	?	?	OA
11	0,13 U/gHb**	c.367C>T/c.563A>G	OA, KS, KG
12	2 %	c.563A>G/c.855G>T	KS, KG
13	Nemjerljiva	c.563A>G/c.563A>G	KS, KG
14	Nemjerljiva	c.855G>T/c.812G>C	KS, KG
15	Nemjerljiva	c.855G>T/c.855G>T	PO, KS
16	Nemjerljiva	c.855G>T/c.855G>T	KS, KG
17	0,83 U/gHb**	c.367C>T/c.855G>T	KS, KG, GALT
18	2,15***	c.563A>G/c.563A>G	PO, KS, KG
19	0 %	c.563A>G/c.855G>T	KS
20	?	c.855G>T/c.855G>T	OA, KS, KG
21	?	c.367C>T/c.367C>T	KS, KG
22	0,0 U/gHb**	c.367C>T/c.855G>T	KS, KG, GALT
23	?	c.563A>G/c.855G>T	?
24	?	c.563A>G/c.855G>T	?

Tablica 3. Simptomi i mikrobiološki nalazi u novorođenačkom razdoblju. UK – urinokultura, TM – tjelesna masa, KN – koagulaza negativan, / – kulture nisu rađene ili nisu bile pozitivne, ? – nepoznato. Zatajenje jetra definiralo se prema kriterijima PALF (engl. *Pediatric Acute Liver Failure*) (121).

Oznaka bolesnika	Simptomi u novorođenačkom razdoblju	Pozitivne kulture
01	Bez simptoma	/
02	Poremećenog općeg stanja, povraćanje, hepatopatija, septički šok, meningitis, somnolencija, hipotonija, distonija	+ kulture na <i>E.coli</i>
03	Poremećenog općeg stanja, povraćanje, ↓TM, zatajenje jetra, mikoza kože, urosepsa, rotavirusna infekcija	+ UK na <i>E. coli</i> , + UK na <i>K. Pneumoniae</i>
04	Bez simptoma	/
05	Poremećenog općeg stanja, bljuckanje, odbijanje hrane, ↓TM, žutica, koagulopatija, sepsa (nekroza pete), otitis, somnolencija, ↑opseg neurokranija	+ UK na <i>P. mirabilis</i>
06	Bez simptoma	/
07	Poremećenog općeg stanja, hepatopatija	/
08	Poremećenog općeg stanja, povraćanje, ↓TM, žutica, koagulopatija, zatajenje jetra, infekcija gornjih dišnih putova, perinatalna sepsa, apneja	+ kulture na <i>E. coli</i> (nos, želudac), + kulture na <i>Enterococcus, H. influenzae</i>
09	Poremećenog općeg stanja, bljuckanje, ↓TM (atrofija), nenapredovanje, žutica, koagulopatija, hepatomegalija, zatajenje jetra, katarakta, bronhopneumonija	/
10	?	?
11	Poremećenog općeg stanja, povraćanje, ↓TM, nenapredovanje, odbijanje hrane, žutica, ascites, hepatomegalija, angina, traheitis, somnolencija, hipotonija, cerebralni napadaji	+ stolica na <i>E. coli</i> , + stolica na <i>Pseudomonas pyocyanea</i>
12	Poremećenog općeg stanja, žutica, koagulopatija, zatajenje jetra, perinatalna sepsa, koma, hipotonija	+ hemokultura na <i>E. coli</i>
13	Poremećenog općeg stanja, ↓TM (hipotrofija), žutica, koagulopatija, hepatomegalija, ascites, zatajenje jetra, hidrocefalus, hipotonija, ↓motorika, opistotonus, distonija	/

14	Poremećenog općeg stanja, odbijanje hrane, žutica, koagulopatija, zatajenje jetra, somnolencija, hipotonija, ↓motorika	+ kulture na <i>E. coli</i> (UK, nos, ždrijelo), <i>S. aureus</i> (uho), <i>Enterococcus</i> (CVK), Rotavirus (stolica)
15	Žutica, hepatopatija	/
16	Poremećenog općeg stanja, žutica, sepsa, apneja	+ hemokultura na <i>E. coli</i>
17	Poremećenog općeg stanja, hiperbilirubinemija, koagulopatija, sepsa	+ kulture na <i>E.coli</i>
18	Poremećenog općeg stanja, ↓TM, žutica, koagulopatija, zatajenje jetra, perinatalna infekcija, akutna bilirubinska encefalopatija, hipotonija, opistotonus	+ UK na <i>E. coli</i> i <i>K. pneumoniae</i> , + iskašljaj na <i>K. pneumoniae</i> , KN <i>Staphylococcus</i> , <i>S. viridans</i>
19	Poremećenog općeg stanja, povraćanje, ↓TM, žutica, koagulopatija, zatajenje jetra, perinatalna infekcija, hipotonija	/
20	Poremećenog općeg stanja, povraćanje, žutica, koagulopatija, perinatalna infekcija, somnolencija, hipotonija	+ UK na <i>E. coli</i>
21	Poremećenog općeg stanja, nenapredovanje, ↓TM (pothranjenost), hepatomegalija, koagulopatija, ascites, zatajenje jetra, bronhopneumonija, enterokolitis, hipotonija, ↓motorika, ↑opseg neurokranija, cerebralni napadaji	+ UK na <i>Citrobacter</i>
22	Poremećenog općeg stanja, ↓TM, žutica, koagulopatija, zatajenje jetra, perinatalna infekcija, somnolencija, hipotonija, ↓motorika	+ kulture na <i>E. coli</i> (UK, ždrijelo)
23	Koagulopatija, katarakta	/
24	Hepatopatija, katarakta, somnolencija, hipotonija	/

4.3. BIOKEMIJSKI NALAZI

Obradili su se laboratorijski nalazi pri početnom kliničkom pogoršanju bolesnika. Uključeni su ispitanici koji su imali simptome u novorođenačkom razdoblju i za koje su podaci bili dostupni (n = 20). Vrijednosti su navedene u Tablici 4. Podaci o reduktivnim tvarima u urinu bili su poznati za 55 % (11/20) ispitanika, a u 81,8 % (9/11) one su bile pozitivne. Povišena galaktoza u serumu bila je u 90,9 % (10/11) bolesnika, a u urinu u 75 % (6/8). Parametri koagulacije (protrombinski indeks, PV INR, APTV i fibrinogen) bili su poremećeni u svih ispitanika s dostupnim nalazima. Smanjena glukoza u krvi bila je u 44,4 % (4/9) bolesnika. Povišena koncentracija AST-a bila je u 86,7 % (13/15) ispitanika, ALT-a u 80 % (12/15), GGT-a u 38,5 % (5/13), ukupnog bilirubina u 73,3 % (11/15), a alkalne fosfataze u 75 % (9/12) ispitanika. Koncentracije direktnog bilirubina > 35 $\mu\text{mol/L}$ bile su u 88,9 % (8/9) ispitanika. U 55,6 % (5/9) ispitanika je udio direktnog bilirubina bio veći od 20 % koncentracije ukupnog. Smanjena koncentracija fosfora bila je u 62,5% (5/8) bolesnika.

Pokusni obrok galaktoze provodio se u kontroliranim uvjetima u ispitanika dobrog općeg stanja s urednim laboratorijskim pokazateljima bolesti jetra. Pošto je dijete nahranjeno mliječnim obrokom, pričekalo se određeno vrijeme do mjerenja koncentracija galaktoze u serumu i/ili urinu. Ako su koncentracije bile indikativne za klasičnu galaktozemiju (galaktoza u serumu > 300 $\mu\text{mol/L}$, a u urinu > 1665 $\mu\text{mol/L}$), mogla se potvrditi sumnja na bolest. Raspon koncentracija galaktoze u serumu nakon pokusnog obroka u naših bolesnika bio je 303 – 2880 $\mu\text{mol/L}$, a u urinu 550 – 8126 $\mu\text{mol/L}$.

Tablica 4. Biokemijski nalazi pri početnom pogoršanju u novorođenačkom razdoblju. U zagradama su navedene referentne vrijednosti.

	Broj bolesnika	Medijan	Raspon	Aritmetička sredina	Standardna devijacija
Galaktoza u serumu (< 300 $\mu\text{mol/L}$)	11/20	1998,2	243 – 9597	2683,8	2879
Galaktoza u urinu (< 1665 $\mu\text{mol/L}$)	8/20	5500	101 – 49733	8704,9	15587,2
Protrombinski indeks (> 0,7)	10/20	0,16	0,05 – 0,5	0,2	0,15
PV INR (< 1,1)	4/20	3,74	1,5 – 5,18	3,54	1,55
APTV (< 59 s)	6/20	113,9	83,6 – 124,6	108,8	16
Fibrinogen (1,25 – 3 g/L)	7/20	0,8	0,49 – 1,5	0,8	0,4
GUK, najniže vrijednosti (2,8 – 5 mmol/L)	9/20	2,9	1,8 – 4,1	2,9	0,8
AST (26 – 75 U/L)	15/20	130	57 – 660	186,9	160,5
ALT (11 – 46 U/L)	15/20	76	27 – 225	98,3	62,8
GGT (13 – 147 U/L)	13/20	82	6 – 208	96,3	72,5
Bilirubin, ukupni (11,7 – 205 $\mu\text{mol/L}$)	15/20	313	80,4 – 616	305,6	146,7
Bilirubin, direktni (0 – 3,4 $\mu\text{mol/L}$)	9/20	59	11 – 134	64,5	38,3
Omjer direktnog i ukupnog bilirubina (< 0,2)	9/20	0,27	0,06 – 0,5	0,25	0,16
Fosfor (1,4 – 3 mmol/L)	8/20	1,34	1,1 – 1,73	1,4	0,2
Alkalna fosfataza (25 – 500 U/L)	12/20	596	37 – 1101	592,3	281,4

4.4. SIMPTOMI NAKON NOVOROĐENAČKOG RAZDOBLJA

Tablica 5. Poremećaji razvoja, ponašanja, govora i ostale dugoročne komplikacije. U zagradama je navedena dob u danima – d, mjesecima – m ili godinama – g kada su određeni poremećaji primijećeni. PM – psihomotorički, OI – ovarijska insuficijencija, SAH – subarahnoidni prostor, / – bez zabilježenih poremećaja, ? – nepoznato.

Oznaka bolesnika	Poremećaji razvoja, ponašanja i govora	Ostale dugoročne komplikacije i nalazi	Dob pri zadnjoj kontroli
01	Usporen PM razvoj (2. g); emocionalna nezrelost, labilnost, anksioznost (13. g)	Osteoporoza (13. g); suspektni cerebralni napadi (19. i 21. m), Tourettov sindrom (11. g)	12 godina
02	Usporen PM razvoj (14. m), hipertenzija; elementi ADHD, stereotipije, poremećaj komunikacije (3. g); slabiji razvoj govora (14. m), oskudan govor, onomatopeje	Katarakta (14. m); obostrani kriptorhizam; EEG: visokovoltazna, diskretno sporija aktivnost (6. m)	3 godine
03	/	Kriptorhizam	7 mjeseci
04	/	/	20 godina
05	Usporen PM razvoj, hipotenzija (5. m); potpora socijalnom funkcioniranju (11. g); dislalija (4. g)	Katarakta (5. m); višak pokreta, ataksija, dismetrija, teškoće ravnoteže (11. g); MRI: leukoencefalopatija (4. g)	10 godina
06	/	/	3 godine
07	Sporije reakcije (1. – 12. g); sporiji razvoj govora, otežano razumljiv i usporen govor (3. g)	Osteoporoza (18. g)	21 godina
08	/	/	6 godina
10	Smetnje razvoja	MRI: zakašnjela mijelinizacija (8. g)	8 godina
11	/	Katarakta (47. d); cerebralni napadi	6 mjeseci
12	Fluktuirajući tonus (3. m)	/	2 mjeseca
13	Hipertenzija, opistotonus (5. m); teškoće grafomotorike, perceptivne organizacije (11. g)	Katarakta (41. d)	23 godine
14	Hipertenzija (6. m); teškoće analize, sinteze, logike, grafomotorike, radnog pamćenja, vizuokonstruktivnih,	Katarakta (11. g)	14 godina

	perceptivno-motoričkih sposobnosti (9. g); slabija socijalizacija, burne reakcije, emocionalna nezrelost, poremećaji afekta i pažnje (7. g); sporiji razvoj govora, oskudan vokabular, nepravilnost gramatike		
15	Isprekidan kontakt, usporen PM razvoj (4. m); slabiji razvoj govora, teškoće izgovora, dislalija, nepravilnost gramatike (5. g)	Osteopenija (5. g); suspektne cerebralni napadi (3. – 4. m); EEG: dizritmično promijenjen uz žarište (6. m)	7 godina
16	Hipertonija (2. m); nezrelost grafomotorike (5. g)	OI (12. g); osteoporoza (14. g); dismetrija, tremor (14. g)	16 godina
17	/	/	7 mjeseci
18	Hipertonija (2. m); sporiji i slabiji razvoj govora, ponavljanje slogova, blaža dislalija (2. g)	Osteopenija (4. g); suspektne cerebralni napadi (2. m); EEG: suspektno žarišno promijenjen (10. m)	5 godina
19	Distonija (5. m); sporiji razvoj govora	UZV: širi SAH, jača ehogenost bazalnih ganglija (2. g)	4 godine
20	Poremećaji pažnje; sporiji razvoj govora, slabije razumljiv, sakadiran, neartikularan i usporen govor, disartrija	Cerebralni napadi (3. g); tremor, ataksija, distonija, diskinezija, teškoće ravnoteže, disdijadohokineza (13. g); EEG: encefalopatija, epileptogene promjene (13. g); MRI: reducirana mijelinizacija, blaga difuzna atrofija mozga (15. g)	14 godina
21	Hipertonija (4. m); teškoće vizualne percepcije, grafomotorike, perceptivne organizacije (5. g); emocionalna nezrelost, labilnost, negativizam, poremećaj pažnje (5. g); sporiji razvoj govora, teško razumljiv i isprekidan govor, dislalija (3. g)	Katarakta (2. m i 4. g); OI (12. g), atrofija jajnika (20. g); osteoporoza (14. g); tremor, ataksija, teškoće ravnoteže, disdijadohokineza (14. g); MSCT: demijelinizacija (3. m); EEG: iritativno, dizritmično promijenjen uz suspektno diskretno žarište (9. m do 19. g)	20 godina
22	Teškoće grafomotorike, okulomotoričke koordinacije (4.g), neposrednog pamćenja (7. g); negativizam, emocionalna nezrelost (4. g); slabiji razvoj govora, slabije razumljiv govor, oskudan vokabular (4. g)	OI (13. g); osteoporoza (12. g); tremor, dismetrija, teškoće ravnoteže (13. g)	16 godina
23	?	?	16 godina
24	Poremećaji ponašanja	Rezidualna katarakta	18 godina

Tablica 6. Intelektualne sposobnosti te obrazovni dosezi i poteškoće. U zagradama je navedena dob u godinama kada je određeni poremećaj primijećen. Uz kvocijent razvoja i inteligencije je u zagradi navedena dob testiranja u godinama. U tablici su uključeni samo oni ispitanici za koje su neki od podataka bili poznati. MR – mentalna retardacija, OŠ – osnovna škola, SŠ – srednja škola, SSS – srednja stručna sprema, ? – nepoznato, / – nije zabilježen poremećaj.

Oznaka bolesnika	Intelektualne sposobnosti	Kvocijent razvoja	Kvocijent inteligencije	Obrazovni dosezi i poteškoće	Dob pri zadnjoj kontroli
01	Prosječne	?	90 (12)	OŠ, pomoć u matematici i engleskom jeziku u 8. razredu	12 godina
02	Teška MR (3)	84 (2,5)	56 (3)	/	3 godine
04	Normalne	90 (2)	108 (15,5)	Srednja ekonomska škola	20 godina
05	Normalne	?	?	OŠ i SŠ, potpora i pomoć u edukaciji (10)	10 godina
07	?	?	?	SSS (stolar)	21 godina
10	?	?	?	Po prilagođenom programu	8god
11	Teška MR	?	?	?	6 mjeseci
13	Normalne	98 (5)	109 (18,5)	SSS (srednja turistička škola), skladištar	23 godine
14	Donja granica prosječnih	?	80 (13)	Teškoće učenja, računanja, pomoć u matematici i hrvatskom jeziku (8)	14 godina
15	Normalne	?	?	/	7 godina
16	Teška MR	?	57 (?)	OŠ i SŠ po prilagođenom programu, teškoće s matematikom i učenjem (10)	16 godina
18	Prosječne	?	?	/	5 godina
20	Umjereno smanjene	?	?	Kasni, po prilagođenom programu (7)	14 godina
21	Teška MR (6)	79 (3)	40 (10)	OŠ i SŠ po prilagođenom programu, teškoće čitanja, računanja (7)	20 godina
22	Lakša MR	?	75 (6)	Kasni, teškoće s učenjem, čitanjem, matematikom (7), OŠ po prilagođenom programu	16 godina
23	?	?	?	Teškoće učenja	16 godina
24	?	?	?	Teškoće učenja	18 godina

U Tablicama 5 i 6 prikazana je klinička slika svakog bolesnika nakon novorođenačkog razdoblja. Pri tumačenju učestalosti dugoročnih komplikacija u obzir treba uzeti dob pri zadnjoj kontroli. Troje bolesnika je tada bilo mlađe od godine dana, još troje mlađe od 5 godina i još petero mlađe od 10 godina što znači da postoji mogućnost dodatne pojave dugoročnih komplikacija bolesti. Za bolesnicu s oznakom 11 dobiveni su dodatni podaci nakon zadnje kontrole u dobi od 6 mjeseci.

Poremećaji razvoja bili su u 65,2 % (15/23) bolesnika uključujući: hipertoniju (26,1 %, 6/23), poremećaje grafomotorike (21,7 %, 5/23), usporen psihomotorički razvoj (17,4 %, 4/23), poremećaje perceptivne organizacije i/ili vizualne percepcije i/ili perceptivno-motoričkih sposobnosti (13 %, 3/23), poremećaje pamćenja (8,7 %, 2/23), sporije reakcije (4,3 %, 1/23), hipotoniju (4,3 %, 1/23), distoniju (4,3 %, 1/23), opistotonus (4,3 %, 1/20) i isprekidan kontakt (4,3 %, 1/23). Vježbe razvojne gimnastike trebalo je 34,8 % (8/23) ispitanika. Poremećaji razvoja su po prvi puta uočeni u rasponu od drugog mjeseca do devete godine života.

Poremećaji ponašanja i socijalne prilagodbe bili su u 30,4 % (7/23) bolesnika uključujući: emocionalnu nezrelost (17,4 %, 4/23), poremećaje pažnje (13 %, 3/23), labilnost (8,7 %, 2/23), negativizam (8,7 %, 2/23), poremećaj pozornosti s hiperaktivnošću (4,3 %, 1/23), anksioznost (4,3 %, 1/23), poremećaje reakcija i afekta (4,3 %, 1/23), poremećaje komunikacije (4,3 %, 1/23), stereotipije (4,3 %, 1/23) i potrebu za potporu u socijalnom funkcioniranju (4,3 %, 1/23). Poremećaji ponašanja su po prvi puta uočeni u rasponu od treće do 13. godine.

Intelektualne sposobnosti su u 31,6 % (6/19) ispitanika starijih od 2,5 godine bile ispod razine normalnih i/ili prosječnih. Sedam ispitanika bilo je u skupini normalnih i/ili prosječnih intelektualnih sposobnosti, jedan s umjereno smanjenim intelektualnim sposobnostima. Jedan bolesnik imao je lakšu, a četvero tešku mentalnu retardaciju. Problemi u školovanju bili su u 66,7 % (10/15) ispitanika starijih od šest godina, uključujući: pomoć i potporu s nastavnim predmetima (33,3 %, 5/15), školovanje po prilagođenom programu (33,3 %, 5/15), teškoće računanja i/ili matematike (33,3 %, 5/15), teškoće učenja (33,3 %, 5/15) i čitanja (13,3 %, 2/15). Bolesnik 02 koji je imao tešku mentalnu retardaciju je u novorođenačkom razdoblju prebolio *E. coli* meningitis.

Poremećaji govora bili su u 52,6 % (10/19) ispitanika starijih od jedne godine. Uključivali su: sporiji i/ili slabiji razvoj govora (47,4 %, 9/19), dislaliju (21,1 %, 4/19), otežano razumljiv govor (15,8 %, 4/19), oskudnost govora i/ili vokabulara (15,8 %, 3/19), usporen govor (10,5 %, 2/19), poremećaje gramatike (10,5 %, 2/19), onomatopeje (5,3 %, 1/19), disartriju (5,3 %, 1/19). Logopedске vježbe polazilo je 36,8 % (7/19) ispitanika.

Poremećaji govora su prvi puta primijećeni u dobi od 14. mjeseca do pete godine života.

Neurološke komplikacije imalo je 39,1 % (9/23) bolesnika. Uključivale su: cerebralne napadaje (21,7 %, 5/23), poremećaje ravnoteže (17,4 %, 4/23), tremor (17,4 %, 4/23), dismetriju (13 %, 3/23), ataksiju (13 %, 3/23), disdijadohokinezu (8,7 %, 2/23). Jedna bolesnica imala je i febrilne konvulzije, diskineziju, distoniju, hemiparezu, neurooftalmopatiju i polineuropatiju. Dob pri pojavi neuroloških simptoma bila je od drugog mjeseca do 14. godine života. Promijene u EEG-u bile su u 21,7 % (5/23) ispitanika, a smanjena mijelinizacija na magnetskoj rezonanciji ili CT-u u 13 % (3/23).

Katarakta je u novorođenačkom razdoblju bila u tri ispitanika, a nakon novorođenačkog razdoblja u 26,1 % (6/23). U dva bolesnika javila se nakon uvođenja djeteta. U po jednog bolesnika zabilježena je obostrana nuklearna, obostrana zonularna točkasta, incipijentna nuklearna, obostrana incipijentna katarakta i nježna prašinasta mutnina. U jednog bolesnika katarakta je na jednom oku bila operirana u trećoj godini života, a na drugom neprogresivna. U jednog je bolesnika katarakta najprije bila stacionarna, a potom progresivna. U dva bolesnika katarakta je nestala nakon uvođenja djeteta, ali samo u jednog u potpunosti. U jedne pacijentice katarakta se javila dva puta, prvo nuklearna katarakta koja je nestala nakon djeteta i potom periferna incipijentna katarakta koja je bila stacionarna. Dob detekcije katarakte nakon novorođenačkog razdoblja bila je od 41. dana do 11. godine života.

Kriptorhizam je bio u 15,4 % (2/13) muške novorođenačadi. Spontani razvoj sekundarnih spolnih karakteristika zabilježen je u 66,7 % (4/6) djevojaka starijih od 10 godina između 11. i 14. godine. Od toga su dvije bolesnice kasnije imale postavljenu dijagnozu ovarijske insuficijencije. Spontana menarhe bila je kod jedne djevojke s redovitim i urednim menstrualnim ciklusima do zadnje kontrole u 21. godini života. Ovarijska insuficijencija dijagnosticirana je u 50 % (3/6) djevojaka starijih od 10 godina između 12. i 13. godine života. Hormonsku nadomjesnu terapiju primale su sve

djevojke s dijagnozom ovarijske insuficijencije, a uvodila se između 13. i 15. godine života. Jedna je bolesnica imala menarhe i pravilne menstrualne cikluse pod terapijom, ali je u 20. godini života ultrazvučno zabilježena atrofija jajnika. Kod druge bolesnice menarhe nije nastupila ni nakon skoro 3 godine terapije, a treća bolesnica ju je uzimala tek nekoliko mjeseci, također bez pojave menarhe.

Tablica 7. Koncentracije gonadotropina, estradiola i dob pri prvom mjerenju, pri postavljanju dijagnoze ovarijske insuficijencije i nakon početka hormonske terapije. U zagradama su napisane normalne koncentracije gonadotropina s obzirom na dob. Normalne koncentracije estradiola za dijete mlađe od 10 godina su < 54 pmol/L, za odrasle žene u folikularnoj fazi 72 – 1260 pmol/L, u sredini ciklusa 540 – 2700 pmol/L, u lutealnoj fazi 108 – 1620 pmol/L i postmenopauzalno < 72 pmol/L. OI – ovarijska insuficijencija, ? – nepoznato.

	Oznaka bolesnice	Dob	LH (IU/L)	FSH (IU/L)	Estradiol (pmol/L)
<u>Prvo mjerenje</u>					
	08	7. godina	0,15 (1,5 – 10)	2,54 (0,5 – 6)	< 37
	16	12. godina	13,6 (2,5 – 12)	63,1 (1,2 – 5)	?
	21	8. godina	2,8 (1,5 – 10)	34,7 (0,5 – 6)	?
	22	11. godina	21 (2,5 – 12)	93 (1,2 – 5)	< 23
<u>Dijagnoza OI</u>					
	16	12. godina	13,6 (2,5 – 12)	63,1 (1,2- 5)	?
	21	12. godina	22,9 (2,5 – 12)	95,4 (1,2 – 5)	?
	22	13. godina	59,5 (2 – 20)	139,5 (1,5- 10)	59
<u>Nakon terapije</u>					
	16	15. godina	2,2 (7,5 – 30)	6,1 (2 – 12)	387
	21	15. godina	3,1 (7,5 – 30)	4,8 (2 – 12)	228,9
	22	15. godina	18,2 (7,5 – 30)	29,5 (2 – 12)	193

Smanjenu gustoću kostiju imalo je 36,8 % (7/19) bolesnika starijih od 3 godine. Najranija denzitometrija rađena je u četvrtoj godini života. Učestalost osteopenije bila je 10,5 % (2/19), a osteoporoze 26,3 % (5/19). U ispitanika s osteoporozom medijan koštane gustoće bio je -3 SD, a u ispitanika s osteopenijom -1,35 SD. Raspon dobi kada je zamijećena smanjena gustoća kostiju bio je od četvrte do 18. godine života. Svi ispitanici koji su imali smanjenju mineralnu gustoću kostiju imali su normalne koncentracije kalcija, fosfora i alkalne fosfataze u serumu.

Kao razdoblje za detekciju smanjene tjelesne mase i visine uzeti su podaci u trećoj i četvrtoj godini života koji su bili poznati za 6 djevojčica i 5 dječaka. Ta dob odabrana je zbog manjih varijacija i fluktuacija u tjelesnoj masi i visini. Ujedno, dano je dovoljno vremena za oporavak bolesnika u slučaju da su gubili na tjelesnoj masi ili nisu napredovali zbog bolesti u novorođenačkom razdoblju. Samo jedan bolesnik je u četvrtoj godini života imao tjelesnu masu manju od 3. percentile.

4.5. POVEZANOST GENOTIPA I FENOTIPA

U Tablici 8 mogu se vidjeti učestalost pojave simptoma u novorođenačkoj dobi i dugoročnih komplikacija za svaki genotip. Svi navedeni ispitanici imali su simptome u novorođenačkom razdoblju osim bolesnice 04 koja je odmah po rođenju stavljena na dijetu bez galaktoze zbog pozitivne obiteljske anamneze. Najuočljivije je da svi ispitanici istog genotipa nemaju razvijene dugoročne komplikacije pri čemu se u obzir mora uzeti dob pri zadnjoj kontroli. Za detaljniji prikaz svakog ispitanika vidjeti Tablicu 5 i 6.

Tablica 8. Povezanost genotipa i kliničke slike. OI – ovarijska insuficijencija, MR – mentalna retardacija.

Genotip	Oznaka bolesnika	Simptomi u novorođenačkom razdoblju	Dugoročne komplikacije
c.563A>G/c.563A>G	02, 04, 13, 18	75 % (3/4)	75 % (3/4)
c.855G>T/c.855G>T	15, 16, 20	100 % (3/3)	100 % (3/3)
c.563A>G/c.855G>T	05, 12, 19, 23, 24	100 % (5/5)	80 % (4/5)
c.367C>T/c.367C>T	21	100 % (1/1)	100 % (1/1)
c.367C>T/c.563A>G	08, 11	100 % (2/2)	50 % (1/2)
c.367C>T/c.855G>T	17, 22	100 % (2/2)	50 % (1/2)
c.855G>T/c.812G>T	14	100 % (1/1)	100 % (1/1)

4.6. USPOREDBA BRAĆE I SESTARA

U Tablici 9 prikazana je učestalost simptoma između prvorođenih i drugorođenih s klasičnom galaktozemijom u obitelji. U izdvojenoj skupini bio je isti broj ispitanika muškog i ženskog spola, svi prvorođeni s klasičnom galaktozemijom bili su muškog, a svi drugorođeni s klasičnom galaktozemijom ženskog spola. Medijan razlike u dobi između prve i druge skupine bio je 3,9 godina s rasponom 3 – 4,5 godine. Genotip u prvoj obitelji (ispitanici 03 i 10) nije bio poznat, u drugoj obitelji (ispitanici 04 i 13) bio je c.563A>G / c.563A>G, u trećoj obitelji (ispitanici 06 i 15) c.855G>T / c.855G>T, a u četvrtoj obitelji (ispitanici 09 i 11) c.367C>T / c.563A>G. Detaljniji prikazi kliničke slike za svakog bolesnika mogu se vidjeti u tablicama simptoma u novorođenačkoj dobi i dugoročnih komplikacija bolesti. Dob pri postavljanju dijagnoze i početku terapije bila je mlađa u drugorođenih s klasičnom galaktozemijom. 66,7 % drugorođenih s klasičnom galaktozemijom nije razvilo simptome u novorođenačkom razdoblju. Dugoročne komplikacije javile su se u obje skupine s manjom učestalošću poremećaja razvoja, govora, katarakte, smanjene gustoće kostiju i neuroloških komplikacija u drugorođenih s klasičnom

galaktozemijom. Učestalost smanjenih intelektualnih sposobnosti i poremećaja mijelinizacije na slikovnim prikazima mozga bila je manja za prvorodne s klasičnom galaktozemijom. Pri tumačenju učestalosti dugoročnih komplikacija u obzir treba uzeti dob pri zadnjoj kontroli. Medijan dobi prvorodenih s klasičnom galaktozemijom bio je 7 godina s rasponom od sedam mjeseci do 23 godine, a drugorodenih s klasičnom galaktozemijom 5,5 godina s rasponom od šest mjeseci do 20 godina. Za bolesnicu s oznakom 11 naknadno su dobiveni podaci nakon zadnje kontrole u dobi od šest mjeseci.

Tablica 9. Usporedba učestalosti kliničkih simptoma između bolesnika s klasičnom galaktozemijom iz iste obitelji. * za starije od jedne godine, ** za starije od 2,5 godine, *** za starije od tri godine.

	Prvorodeni s klasičnom galaktozemijom	Drugorodeni s klasičnom galaktozemijom
Dob pri pojavi simptoma (medijan i raspon)	3,5 dana (2 – 18 dana)	42 dana
Dob pri postavljanju dijagnoze i početku terapije (medijan i raspon)	27,5 dana (10 – 120 dana)	0 dana (0 – 53 dana)
Pojava simptoma u novorođenačkoj dobi	100 % (4/4)	33,3 % (1/3)
Smrtnost u novorođenačkom razdoblju	25 % (1/4)	0 % (0/4)
Poremećaji razvoja	66,7 % (2/3)	25 % (1/4)
Poremećaji govora*	50 % (1/2)	0 % (0/4)
Smanjene intelektualne sposobnosti**	0 % (0/2)	25 % (1/4)
Katarakta	33,3 % (1/3)	25 % (1/4)
Smanjena gustoća kostiju***	50 % (1/2)	0 % (0/4)
Neurološke komplikacije	33,3 % (1/3)	25 % (1/4)
Poremećaj mijelinizacije	0 % (0/3)	25 % (1/4)

4.7. DIJETA I DODACI PREHRANI

Svi ispitanici koji su preživjeli početne komplikacije bolesti i za koje su postojali podaci (n = 21) su se tokom praćenja pridržavali dijeta bez mlijeka i mliječnih prerađevina. Dva bolesnika su izbjegavala i drugu hranu bogatu galaktozom kao što su bijeli grah i brokula, a u jedne bolesnice zabilježeno je povremeno odstupanje od dijeta bez mlijeka i mliječnih prerađevina. Nakon treće godine života, 8,7 % (2/23) ispitanika primalo je preparate željeza, 34,8 % (8/23) preparate kalcija, a 26,1 % (6/23) vitamin D.

4.8. PRAĆENJE

Dob pri zadnjoj kontroli bila je poznata za 91,3 % (21/23) ispitanika. Medijan je bio 7,6 godina s rasponom od dva mjeseca do 23,5 godina, a aritmetička sredina 10 godina sa standardnom devijacijom 7,7 godina. Od ispitanika koji su bili hospitalizirani u KBC-u Zagreb, većina (58,8 %, 10/17) je bila hospitalizirana jednom, a samo jedan bolesnik 3 puta. Za jednu bolesnicu nije poznato koliko puta je bila hospitalizirana. Nakon zbrinjavanja bolesti u novorođenačkom razdoblju, većina ispitanika se kontrolirala u Ambulanti za metabolizam KBC-a Zagreb. U početku su se kontrolni pregledi provodili svakih šest mjeseci, a kasnije svakih godinu dana s obaveznom kontrolom biokemijskih nalaza jetrene funkcije. Osim pedijatra metaboličara, procjena razvoja provodila se od strane psihologa, a logopedi su sudjelovali u procjeni i tretmanima govora. Jednom godišnje provodile su se oftalmološke kontrole zbog praćenja i detekcije katarakte. Ovisno o procjeni spolnog razvoja djevojčice su upućivane na kontrole pedijatrijskim endokrinolozima te na dječju i adolescentnu ginekologiju. Koštani metabolizam i neurološke tegobe kontrolirale su se u suradnji pedijatra metaboličara i endokrinologa odnosno neurologa. Neki su ispitanici provodili kontrole kod pedijatra u mjestu boravka i povremeno u KBC-u Zagreb, a neki su izgubljeni iz praćenja. 10 ispitanika mlađih od 18 godina nije bilo na kontroli dulje od 2 godine.

5. RASPRAVA

Cilj ovog diplomskog rada bio je opis obilježja bolesnika iz Hrvatske s klasičnom galaktozemijom, uzrokovanom manjkom galaktoza-1-fosfat-uridiltransferaze. Rezultati su pokazali da većina bolesnika razvija simptome bolesti u novorođenačkom razdoblju i da unatoč adekvatnoj terapijskoj dijeti veliki broj razvija dugoročne komplikacije bolesti što je u skladu s postojećom literaturom.

5.1. O GENSKOJ OSNOVI BOLESNIKA

Tri najčešća genotipa u naših ispitanika bila su c.563A>G / c.855G>T (27,8 %), c.563A>G / c.563A>G (22,2 %) i c.855G>T / c.855G>T (16,7 %). Identificirane su četiri mutacije: c.563A>G (41,7 %), c.855G>T (38,9 %), c.367C>T (16,7 %) i c.812G>C (2,8 %). U istraživanju GalNet-a, koje je uključilo 509 većinski bjelačkih ispitanika iz 13 europskih zemalja, Izraela i Sjedinjenih Američkih Država, učestalost genotipa c.563A>G / c.563A>G bila je viša (57,7 %), a c.563A>G / c.855G>T (7,2 %) i c.855G>T / c.855G>T (1,7 %) niža nego u naših ispitanika (80). U 34 američka pacijenta učestalost homozigotnog genotipa za mutaciju c.563A>G bila je 24 %, slično onoj u naših ispitanika (122). Objе navedene studije su u svojih bolesnika identificirale veći broj mutacija i genotipova naspram naših ispitanika. Veća genska heterogenost mogla bi utjecati na pojavu razlika u kliničkoj slici uspoređivanih skupina, osobito dugoročnih komplikacija. U sistemskom pregledu literature Varela-Leme i suradnika zabilježena je nešto viša učestalost mutacije c.563A>G (45 – 90 %) i nešto niža mutacije c.855G>T (25 – 35 %). Učestalost varijante Duarte bila je 2 – 15 % dok je u naših bolesnika nije bilo, što se vjerojatno može objasniti nepostojanjem novorođenačkog probira u Hrvatskoj kojim se otkriva ova asimptomatska varijanta (81). Rezultati genske analize većine naših ispitanika objavljeni su u članku Petković-Ramadže i suradnika koji su proveli molekularnu karakterizaciju 16 bolesnika iz Hrvatske i zabilježili učestalost mutacije c.563A>G 40 %, c.855G>T 37 %, c.367C>T 20 % i c.812G>C 3,3 %. Spektar mutacija klasične galaktozemije u Hrvatskoj ograničen je na samo četiri mutacije, ali epidemiološki

odgovara očekivanim učestalostima s homogenom genskom pozadinom. Dobiveni rezultati mogli bi se iskoristiti s ciljem smišljanja prikladne strategije za brzu molekularnu dijagnostiku u novorođenčadi (123). Sve mutacije u naših ispitanika već su otprije identificirane i povezane su s teškom kliničkom slikom. Dvije najčešće mutacije, c.563A>G i c.855G>T, udružene su s potpunim gubitkom aktivnost enzima GALT (3). Mutacija c.367C>T jedina je besmislena mutacija i kao takva uzrokuje prerani prekid sinteze proteina i tešku kliničku sliku (124). Varijanta c.812G>C opisana je dosad u samo jednog bolesnika i smatra se teškom (18). U Tablici 8, u „Rezultatima“, može se vidjeti učestalost simptoma u novorođenačkom razdoblju i dugoročnih komplikacija za svaki genotip. Svi navedeni ispitanici imali su simptome u novorođenačkom razdoblju, osim jedne bolesnice. Ona nema ni dugoročnih komplikacija bolesti za razliku od svog brata. U tablici se može zapaziti da svi ispitanici istog genotipa nemaju razvijene dugoročne komplikacije, ali se u obzir mora uzeti dob pri zadnjoj kontroli. To bi moglo upućivati da na razvoj komplikacija bolesti utječu i drugi čimbenici, poput dobi pri početku dijete i pridržavanje dijete, te da veza između genotipa i fenotipa nije u potpunosti jasna.

5.2. O KLINIČKOJ SLICI U NOVOROĐENAČKOM RAZDOBLJU

Pojava simptoma u novorođenačkom razdoblju zabilježena je u 87 % naših ispitanika, uz jedan smrtni ishod (5 %). Medijan dobi pri pojavi simptoma bio je četiri dana s rasponom 2 – 42 dana i prosječnom dobi 10,3 dana sa standardnom devijacijom 10,8 dana. Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze ili pri sumnji na dijagnozu bio je 12,5 dana s rasponom 0 – 150 dana, a prosječna dob 27,5 dana sa standardnom devijacijom 38,1 dan. U Estoniji, u kojoj se provodi novorođenački probir na klasičnu galaktozemiju, prosječna dob pri hospitalizaciji bila je 12 dana, a pri konačnom postavljanju dijagnoze 19 dana (125) što je ranije nego u naših ispitanika. U Turskoj gdje nema novorođenačkog probira, medijan dobi pri pojavi prvih simptoma bio je 10 dana, a pri postavljanju dijagnoze 30 dana. Unatoč jasnim simptomima, skoro polovica bolesnika (47,4 %) bila je dijagnosticirana nakon prvog mjeseca života (126). U Hrvatskoj je taj postotak 26,1 % (6/23). Vidljivo je da postojanje novorođenačkog probira omogućuje ranije postavljanje dijagnoze i posljedično raniji početak dijete. S druge strane, u naših bolesnika je dob pri postavljanju dijagnoze

bila više nego dvostruko manja od ispitanika u Turskoj unatoč tome što u obje zemlje nema probira za klasičnu galaktozemiju. To bi moglo upućivati na veću spremnost hrvatskih liječnika da uključe klasičnu galaktozemiju u diferencijalnu dijagnozu bolesti u novorođenačkom razdoblju.

U GalNet-ovoj studiji učestalost simptoma u novorođenačkom razdoblju bila je 79,8 % što nije velika razlika naspram 87 % u naših ispitanika, osobito ako se uzme u obzir da je gotovo polovica ispitanika u GalNet-ovom registru (45,9 %) bila detektirana novorođenačkim probirom (80). U skupini 34 američka bolesnika, otkrivenih probirom za klasičnu galaktozemiju, učestalost simptoma u novorođenačkom razdoblju bila je oko 50 % (122) što je manje nego u naših ispitanika i upućuje na uspješnost probira u smanjenju učestalosti simptoma u novorođenačkom razdoblju. Najčešće pojave u novorođenačkom razdoblju zabilježene u GalNet-ovom registru bile su porast AST i ALT > 30 U/L (70,3 %), koagulopatija (42,5 %), encefalopatija (29 %), infekcije (27,4 %), katarakta (25,8 %) i hipoglikemija s glukozom u krvi < 2,6 mmol/L (25,1 %) (80). U naših ispitanika, ALT je bio povišen (> 30 U/L) u 86,7 % (13/15) ispitanika, a AST u svih čiji je bio poznat. Hipoglikemija (< 2,6 mmol/L) je bila u 33,3 % (3/9) naših ispitanika. 45 % naših bolesnika imalo je neki oblik poremećaja svijesti, a za jednog je navedeno postojanje akutne bilirubinske encefalopatije (5 %, 1/20). Sve navedene manifestacije, osim katarakte, češće su se javljale u naših ispitanika. U američkih ispitanika učestalost je nenapredovanja bila 20 %, žutice/jetrenog zatajenja 50 % i katarakte 6 % (122) što je rjeđe nego u naših ispitanika. U turskih bolesnika koji nisu bili dijagnosticirani probirom učestalost je žutice, katarakte, hepatomegalije i sepse bila viša nego u naših ispitanika što bi mogla biti posljedica kasnijeg postavljanja dijagnoze. Povišene koncentracije jetrenih transaminaza i bilirubina te koagulopatija javljali su se podjednako često (126). Ove usporedbe mogle bi upućivati na uspješnost novorođenačkog probira i ranije dijagnoze u smanjenju pojave simptoma u novorođenačkom razdoblju. Protiv toga bi govornice studije u Mađarskoj i Italiji gdje je > 90 % novorođenčadi bilo simptomatsko prije rezultata novorođenačkog probira, a čak njih 72,7 % imalo je tešku kliničku sliku (127, 128).

U naših ispitanika za koje je bila poznata koncentracija direktnog bilirubina, 44,4 % (4/9) imalo je pretežno nekonjugiranu žuticu s udjelom direktnog bilirubina manjim od 20 % koncentracije ukupnog bilirubina. U jednog je bolesnika bila pripisana Rh-senzibilizaciji. Jedan bolesnik imao je zabilježeno postojanje akutne bilirubinske encefalopatije. Shodno

tome, zanimljiva je nedavno provedena studija u Danskoj koja je pokazala da se u sklopu novorođenačkih simptoma klasične galaktozemije može javiti teška novorođenačka žutica koja je unutar prvih deset dana života pretežno nekonjugiranog tipa. Kao takva može dovesti do akutne bilirubinske encefalopatije, a u konačnici i kernikterusa s dugoročnim komplikacijama. Klasična galaktozemija bila je uzrokom teške novorođenačke žutice u 1,7 % slučajeva što upućuje na potrebu uključivanja galaktozemije u diferencijalnu dijagnozu nekonjugiranja novorođenačke žutice i agresivnije liječenje žutice u bolesnika s klasičnom galaktozemijom (129).

Svim našim ispitanicima je pri sumnji na ili pri postavljanju dijagnoze klasične galaktozemije uvedena dijeta bez galaktoze. U GalNet-ovoj studiji je u bolesnika uključenih u novorođenački probir dijeta bez galaktoze obično započeta unutar prvog tjedna života (80). U 25 % (6/24) naših ispitanika dijeta je započeta u dobi \leq sedam dana što otvara mogućnost poboljšanja uvođenjem probira.

5.3. O KLINČKOJ SLICI NAKON NOVOROĐENAČKOG RAZDOBLJA

5.3.1. O poremećajima razvoja, ponašanja i neurološkim komplikacijama

U GalNet-ovoj studiji je 52,2 % bolesnika imalo usporen psihomotorički razvoj, a 21,8 % izolirano kašnjenje govora. Ostali poremećaji govora i jezika bili su prisutni u 66,4 % bolesnika, a uključivali su smanjeni fond riječi (40,6 %), poremećaje gramatike (38,7 %), dispraksiju (23,5 %) i disartriju (19,9 %). Češće su se javljali u mlađih bolesnika muškog spola (80). U studiji Yuzyuk i suradnika, koja je uključila 34 američka bolesnika, učestalost zastoja u razvoju bila je 19 %, a poremećaja govora 42 % (122). U naših ispitanika je učestalost poremećaja razvoja bila slična (65,2 %) ispitanicima GalNet-a, a samo 17,4 % imalo je usporen psihomotorički razvoj, slično kao u studiji američkih bolesnika. Sporiji razvoj govora zabilježen je u 47,4 % bolesnika, a od toga su svi imali i poremećaj razvoja, nitko nije imao izolirano kašnjenje razvoja govora. Učestalost poremećaja govora u naših ispitanika bila je niža nego u kohorti GalNet-ovog registra, a slična skupini američkih. Sve podskupine poremećaja govora u naših ispitanika bile su rjeđe u odnosu na ispitanike GalNet-a, a Yuzyuk i suradnici ih nisu detaljnije razvrstali. 70

% naših ispitanika s poremećajem govora pohađalo je logopedске vježbe, što je usporedivo sa 65 % u studiji Waggonera i suradnika koja je uključila 350 ispitanika iz Europe i Amerike (51). Poremećaji govora su se u naših ispitanika također nešto češće javljali u muških nego ženskih. Vidljivo je da je učestalost pojedinih poremećaja govora raznolika, ali da uspoređivane skupine imaju isti spektar poremećaja. U naših ispitanika bila je samo jedna dijagnoza disartrije, a verbalne dispraksije ni jedna. Kod nekih bi bolesnika možda postojali elementi za postavljanje dijagnoze verbalne dispraksije poput otežano razumljivog, oskudnog i usporenog govora, smanjenog fonda riječi i poremećaja gramatike. Češćim evaluacijama i kontrolnim pregledima logopeda i pohađanjem logopedskih tretmana bolesnika s poremećajima govora omogućilo bi se pravodobno postavljanje točne dijagnoze, pružanje prikladne intervencije i posljedično veća šansa za poboljšanje govora, daljnjeg razvoja i obrazovnih postignuća. 75 % (3/4) naših ispitanika s poremećajem govora koji su bili stariji od 6 godina i imali prosječne/normalne intelektualne sposobnosti trebalo je neki oblik pomoći u nastavi ili imalo poteškoće s čitanjem. Jedan od njih nije pohađao logopedске tretmane. Navedene teškoće, između ostalog, mogle bi biti i posljedica poremećaja govora što naglašava potrebu logopedskih tretmana.

Neurološke komplikacije su u studiji GalNet-a bile u 52 % ispitanika, uključujući tremor (31 %), nespretnost i poremećaje koordinacije (27 %), ataksiju (12,2 %), epilepsiju (8,1 %) i distoniju (7,5 %). Tremor se najčešće javljao nakon drugog desetljeća života, a ataksija, epilepsija i distonija u svim dobnim skupinama podjednako. Neurološki poremećaji javljali su se rjeđe u onih bolesnika koji su imali manje strogu dijetu (80). U naših ispitanika učestalost neuroloških poremećaja bila je manja (39,1 %). Tremor i distonija bili su gotovo upola rjeđi, a poremećaji ravnoteže, disdijadohokineza i ataksija bili su sličnih učestalosti. Jedino su cerebralni napadaji bili više nego dvostruko češći (21,7 %), ali su u statističku obradu uključeni i suspektni cerebralni napadaji. Kada bi se oni izuzeli, učestalost u naših ispitanika bila bi 8,7 % što je gotovo jednako skupini GalNet-a. U američkih bolesnika neurološki motorički poremećaji bili su prisutni u 16 % ispitanika (122), a u naših 21,7 % (5/23). Ponovno se primjećuje isti spektar poremećaja s varijabilnim učestalostima. Nešto manja učestalost motoričkih neuroloških poremećaja u naših ispitanika u usporedbi s kohortom GalNet-a mogla bi biti posljedica mlađe životne dobi pri zadnjoj kontroli budući da su ti poremećaji u naših ispitanika uvijek zabilježeni u drugom desetljeću života (11. –

14. godine). Međutim, skupina američkih bolesnika prosječno je starija od naše, a ima manju učestalost motoričkih poremećaja. Postoji mogućnost da ta skupina zbog heterogenije genske osnove ima i veću učestalost povoljnijih mutacija i genotipova.

Školovanje po prilagođenom programu pohađalo je 26,2 % bolesnika GalNet-a. Mentalni poremećaji i poremećaji ponašanja javili su se u 44,4 % bolesnika, češće u muških bolesnika te u porastu s dobi. Najčešće su zabilježeni anksiozni poremećaji (22,3 %, u svim dobnim skupinama), depresija (12,5 %, ponajviše nakon drugog desetljeća života), ADHD (7,3 %) te poremećaji autističnog spektra (6 %), oba prije drugog desetljeća života. Učestalost navedenih poremećaja i bolesti bila je u skladu s onom u općoj populaciji, međutim, u drugim studijama navodi se veća učestalost anksioznosti u odrasloj populaciji s klasičnom galaktozemijom (74, 80). U američkih bolesnika zabilježeni su ADHD i autizam u jednog bolesnika te u još jednog Aspergerov sindrom (122). U skupini naših ispitanika poremećaji ponašanja bili su rjeđi, a u jednog bolesnika zabilježeni su elementi hiperaktivnosti s deficitom pažnje u trećoj godini života. U jednog bolesnika zabilježena je anksioznost u 13. godini života, a u njih troje poremećaji pažnje. Učestalost pohađanja škole po prilagođenom programu bila je viša u naših ispitanika (33,3 %). Yuzyuk i suradnici zabilježili su poteškoće učenja u 26 % bolesnika (122), što je rjeđe u odnosu na naše (33,3 %). Psihološke evaluacije su u naših ispitanika bile dobro provedene, 63,2 % (12/19) starijih od 2,5 godine bilo je pregledano od strane psihologa i većina je išla na kontrolne preglede kada je to bilo potrebno. Jedan bolesnik bio je u kontroli psihijatra.

Na slikovnim prikazima mozga u osoba s klasičnom galaktozemijom mogu biti zabilježeni poremećaji signala i prisutnost fokalnih lezija bijele tvari, povećanje ventrikula, cerebralna i cerebelarna atrofija (12). Promjene bijele i sive tvari mozga mogu biti značajne za sporiju obradu informacija i izvršno funkcioniranje (68). Nedavna studija usporedila je sivu tvar mozga između osam adolescenata s klasičnom galaktozemijom i kontrolne skupine. U različitim regijama mozga pronađena je smanjena i povećana gustoća sive tvari pri čemu je raspodjela zahvaćenih područja odgovarala poremećajima motorike, govora i viših kognitivnih funkcija. Lošiji nalazi bili su povezani s mlađom dobi, lošijom radnom memorijom i kasnijim početkom dijete bez galaktoze (130). U studiji američkih bolesnika zabilježen je jedan nalaz blage kortikalne atrofije i blage zakašnjele mijelinizacije (122). U naših ispitanika na slikovnim prikazima mozga zabilježene su leukoencefalopatija, zakašnjela mijelinizacija, leukomalacija, prošireni subarahnoidni prostor i difuzna atrofija

mozga s proširenim ventrikularnim sustavom. Svi ispitanici s promjenama na slikovnim prikazima mozga imali su neki poremećaj razvoja i/ili neurološku komplikaciju. Iako bi lokalizacija promjena u središnjem živčanom sustavu mogla upućivati na vrstu poremećaja, međunarodne smjernice za klasičnu galaktozemiju ne preporučaju rutinsku slikovnu dijagnostiku (89).

5.3.2. O katarakti

Nakon uvođenja djeteta katarakta iz novorođenačkog razdoblja nestala je u 50 % (1/2) naših ispitanika. Nakon novorođenačkog razdoblja bila je u 26,1 % naših ispitanika, u dva nakon početka djeteta. Pojava katarakte mogla bi biti posljedica nepridržavanja djeteta, međutim, u navedenih ispitanika nije zabilježena takva nedosljednost. Katarakta iz novorođenačkog razdoblja je u kohorti GalNet-ovog registra djetom nestala u 54,5 % bolesnika. Nakon završetka novorođenačkog razdoblja bila je u 9,2 % bolesnika, a u 11,2 % ispitanika tek u odrasloj dobi (80). Viša učestalost katarakte nakon novorođenačkog razdoblja u naših ispitanika mogla bi biti posljedica kasnijeg postavljanja dijagnoze i kasnije detekcije katarakte koja je mogla biti prisutna i ranije u četvero naših bolesnika. U Waggonerovoj kohorti operirano je zbog katarakte ukupno osam (~8,5 %) bolesnika (51), u usporedbi s jednim u naših ispitanika (14,3 %).

5.3.3. O kriptorhizmu i ovarijskoj insuficijenciji

Kriptorhizam je u naših bolesnika bio prisutan u 15,4 % muške novorođenčadi što je više nego u općoj populaciji (3 – 4 %). U naših ispitanika muškog spola nije zabilježen nijedan poremećaj spolnog razvoja ni puberteta. Učestalost kriptorhizma u kohorti GalNet-ovog registra bila je niža (5,6 %), dok je zakašnjeli pubertet uočen u 4,8 % dječaka što je u skladu s učestalošću u općoj populaciji. Naglašeno veća učestalost kriptorhizma u naših ispitanika mogla bi biti i posljedica malog ukupnog broja muških ispitanika uključenih u studiju i statističku obradu.

Spontani razvoj sekundarnih spolnih karakteristika je u naših bolesnica starijih od 10 godina zabilježen u 66,7 %, u dobi između 11. i 14. godine. Ovarijska insuficijencija bila je u 50 % djevojaka starijih od 10 godina. Za dvije djevojke dijagnoza je postavljena u 12. godini života, a za jednu u 13. godini života. Medijan koncentracije luteinizirajućeg hormona pri postavljanju dijagnoze bio je 22,9 IU/L s rasponom 13,6 – 59,5 UI/L što je povišeno u usporedbi s normalnim rasponom od 2 do 20 UI/L. Medijan folikulostimulirajućeg hormona bio je 95,4 IU/L s rasponom 63,1 – 139,5 UI/L što je značajno više od normalnog raspona od 1,5 do 10 IU/L. U Tablici 7, u „Rezultatima“, vidi se da su u bolesnica koje će razviti ovarijsku insuficijenciju koncentracije gonadotropina (u jedne bolesnice FSH, a u druge FSH i LH) bile povišene i ranije što je u skladu s postojećom literaturom (57). S druge strane, bolesnica koja je u sedmoj godini života imala normalne koncentracije gonadotropina, kasnije nije razvila ovarijsku insuficijenciju. To bi moglo upućivati na povezanost između koncentracija FSH i razvoja ovarijske insuficijencije iako se pokazalo da FSH kao biljeg nije dovoljno pouzdan (131).

Hormonsku nadomjesnu terapiju primale su sve djevojke kojima je dijagnosticirana ovarijska insuficijencija, s početkom u dobi između 13. i 15. godine. Trudnoće i očitstvo u naših ispitanika nisu zabilježeni. Spontani pubertet u kohorti GalNet-a zabilježen je u 51,5 % bolesnica s medijanom dobi 13 godina (10 – 17 godine). Učestalost primarne ovarijske insuficijencije bila je 79,7 %, a u žena starijih od 35 godina čak 85,1 %. Hormonsku nadomjesnu terapiju primalo je 83,5 % žena kojima je dijagnosticirana primarna ovarijska insuficijencija, a medijan dobi pri početku terapije bio je 16 godina (11 – 45 godina). 25 % žena koje su imale primarnu ovarijsku insuficijenciju te su pokušale zanijeti je to i uspjelo prirodno, a 7,8 % muških bolesnika imalo je dijete (80). U američkih bolesnika zabilježene su tri uspješne trudnoće u dvije bolesnice (122). Visoki postoci uvođenja hormonske nadomjesne terapije u naših bolesnica odraz su uspješnog praćenja i liječenja bolesnica s ovarijskom insuficijencijom, a nakon uvođenja terapije koncentracije LH, FSH i estradiola su se u naših bolesnica normalizirale. Unatoč tome, dvije bolesnice nisu imale menarhe ni nakon početka terapije, a u jedne je kasnije zabilježena atrofija jajnika. Niža učestalost ovarijske insuficijencije u odnosu na kohortu registra i nepostojanje trudnoća mogli bi se pojasniti relativno mladom dobi naših bolesnica. Samo šest djevojaka bilo je starije od 10 godina, odnosno tri starije od 20 godina pri zadnjoj kontroli.

Kontroverzno je pitanje provođenja istraživanja, a osobito invanzivnih intervencija s ciljem očuvanja plodnosti u djece. Često je u trenutku postavljanja dijagnoze ovarijske insuficijencije manja šansa za uspjeh intervencije i liječenja (58). U nedavno provedenoj studiji uspoređena su tkiva jajnika šest djevojaka mlađih od 12 godina s klasičnom galaktozemijom s kontrolnom skupinom. U jajnicima djevojčica mlađih od pet godina bila je održana normalna morfologija i gustoća folikula dok u jajniku djevojke u 12. godini života folikuli više nisu bili prisutni (132). Navedeno potkrjepljuje važnost rane intervencije u djevojaka s klasičnom galaktozemijom iako još nije poznato hoće li nakon intervencije, na primjer autotransplantacije tkiva jajnika, plodnost biti održana u odrasloj dobi. Zbog takvih nejasnoća etički problemi su još naglašeniji.

Iako međunarodne smjernice ne preporučaju korištenje AMH kao biljega (89), Frederick i suradnici pokazali su da koncentracije AMH $\geq 0,04$ ng/mL imaju dobru prediktivnu vrijednost za spontanu menarhe. Ni razine FSH, postojanje simptoma u novorođenačkom razdoblju, rasa i socioekonomski status nisu imali prediktivnu vrijednost za spontanu menarhe (59). U naših bolesnica nije se rutinski mjerila koncentracija AMH. U jedne je bolesnice koncentracija AMH prije razvoja ovarijske insuficijencije bila $< 0,14$ pmol/L ($< 0,02$ ng/mL), a pri postavljanju dijagnoze nemjerljiva. U ove i još jedne bolesnice nakon uvođenja hormonske nadomjesne terapije koncentracija AMH bila je $< 0,21$ pmol/L ($< 0,03$ ng/mL), a ni jedna nije imala spontanu menarhe čak ni nakon terapije. Navedeno bi moglo upućivati da bi se koncentracije AMH u naših bolesnica s klasičnom galaktozemijom trebale češće i ranije mjeriti.

5.3.4. O smanjenoj gustoći kostiju i zastoju u rastu

Rezultati denzitometrije bili su poznati za 47,4 % (9/19) naših ispitanika, a medijan najgorih vrijednosti je bio je -2,3 SD (od -3,6 SD do -0,8 SD). Za neke ispitanike koji su imali normalnu koštanu gustoću nisu bile poznate točne vrijednosti koje bi mogle povećati medijan ukupne kohorte. Prevalencija osteopenije u naših ispitanika bila je 10,5 %, a osteoporoze 26,3 %. 57,1 % bolesnika sa smanjenom gustoćom kostiju bilo je muškog spola. Medijan rezultata denzitometrije u lumbalnom dijelu kralježnice u bolesnika sa smanjenom mineralnom gustoćom kosti bio je -2,6 SD (od -3,6 SD do -1 SD). Osteopenija

je najranije detektirana u 4. godini života, a osteoporoza u 12. godini. Koncentracija 25-OH-D3 izmjerena je u jednog bolesnika i bila je uredna. Od bolesnika koji su imali smanjenu gustoću kostiju, 85,7 % je uzimalo preparate kalcija i/ili vitamina D. U troje bolesnika s osteoporozom koji su imali barem jedno kontrolno mjerenje denzitometrijom, bilo je uočeno poboljšanje nakon suplementacije kalcijem i vitaminom D. Međutim, u njih dvoje koštana gustoća nije postala normalna. U skupini GalNet-a medijan Z-vrijednosti koštane gustoće bio je viši, -0,8 SD (od -5,1 SD do 4,0 SD). Učestalost osteoporoze bila je gotovo jednaka (26,5 %), a 65,8 % su bile žene. Učestalost fraktura bila je 9,9 %, od čega je 23,8 % imalo smanjenu gustoću kostiju. Frakture su bile češće u muškog spola. 26,5 % bolesnika iz registra imalo je deficit vitamina D, definiran kao koncentracija 25-OH-D3 niža od 50 nmol/L te je nadomjestak kalcija i vitamina D bio češći. Tako je 95,7 % bolesnika sa smanjenom gustoćom kostiju uzimalo kalcij, a 94,1 % vitamin D (80). Vidljivo je da je učestalost osteoporoze u uspoređivanim skupinama bila ista, međutim za ispitanike GalNet-a nije poznata učestalost osteopenije. U naših bolesnika su koncentracije kalcija, fosfata i alkalne fosfataze bile poznate i normalne za gotovo sve ispitanike sa smanjenom gustoćom kostiju što je u skladu s literaturom (54). To bi moglo upućivati na dobru kontrolu prehranbenog unosa kalcija unatoč tome što svi ispitanici sa smanjenom gustoćom kostiju nisu uzimali preparate kalcija. Koncentracije vitamina D se, osim u jednog ispitanika, nisu mjerile. Nekonzistentno praćenje koncentracija vitamina D zabilježeno je u literaturi (133), a smjernice naglašavaju potrebu praćenja (89). Gotovo svi naši ispitanici sa smanjenom gustoćom kostiju uzimali su preparate vitamina D, međutim, moglo bi biti korisno znati je li provedena suplementacija bila prikladna. Međunarodne smjernice za klasičnu galaktozemiju preporučaju probir za smanjenu koštanu gustoću u dobi od osam do deset godina (89). 81,8 % (9/11) naših ispitanika starijih od 8 godina za koje su podaci bili dostupni imalo je učinjenu denzitometriju što upućuje na dobro praćenje. Međutim, medijan dobi tih ispitanika pri prvoj denzitometriji bio je u 14. godini s rasponom od četvrte do 23. godine što upućuje da se procjena koštane gustoće možda radi prekasno. U troje naših ispitanika osteopenija je zabilježena već između četvrte i sedme godine života što bi moglo upućivati na potrebu smanjenja dobne granice za prvu denzitometriju.

Vitamin K djeluje kao kofaktor u posttranslacijskoj karboksilaciji glutamatnih ostataka određenih koštanih proteina što omogućuje vezanje kalcija. Koncentracije karboksiliranog

osteokalcina, pokazatelja nutritivnog statusa vitamina K, u bolesnika s klasičnom galaktozemijom mogu biti smanjenje, a primjena kalcija, vitamina D i vitamina K dovodi do statistički značajnog porasta koncentracije karboksiliranog osteokalcina i mineralne gustoće lumbalne kralježnice (134). Naši ispitanici nisu uzimali vitamin K, međutim, mogli bi imati koristi od praćenja koncentracija karboksiliranog osteokalcina i dodatnih istraživanja o utjecaju vitamina K na koštani metabolizam i gustoću kostiju budući da bi jednostavna terapija preparatima vitamina K mogla značajno poboljšati njihov koštani status.

U većine naših ispitanika su smanjena tjelesna masa i tjelesna duljina/visina zabilježene unutar dojenačkog razdoblja što bi moglo biti posljedica bolesti u novorođenačkom razdoblju, a kasnije postaju normalne. U studiji Waggonera i suradnika je rast bio značajno usporen tokom djetinjstva i ranog puberteta, a poboljšao se u kasnom pubertetu s normalnom konačnom visinom (51). Toga u naših ispitanika nije bilo.

5.4. OBITELJI S KLASIČNOM GALAKTOZEMIJOM

Naša skupina ispitanika imala je četiri para braće i sestara. Poznavanje obiteljske anamneze značajno je zbog brzine intervencije u novorođenačkom razdoblju jer u Republici Hrvatskoj klasična galaktozemija nije uključena u program novorođenačkog probira. U Tablici 9, u poglavlju „Rezultati“, prikazane su razlike u kliničkoj slici između braće i sestara s klasičnom galaktozemijom. Ideja ove usporedbe temelji se na interesu da se prepoznaju čimbenici koji mimo genotipa utječu na kliničku sliku. Jedan od njih je postavljanje dijagnoze prije nego što se razvije klinička slika u djece rođene u obiteljima u kojima je već bilo djece s klasičnom galaktozemijom. To bi ponajprije utjecalo na pojavnost, težinu i smrtnost simptoma bolesti u novorođenačkom razdoblju. U Tablici 9 može se vidjeti da se dijagnoza bolesti postavila ranije i dijeta bez galaktoze započela ranije u skupini bolesnika koji su imali brata ili sestru s klasičnom galaktozemijom. Učestalost simptoma u novorođenačkom razdoblju bila je manja za drugorođene s klasičnom galaktozemijom budući da su neki odmah po rođenju stavljeni na dijetu bez galaktoze. Prema podacima za dugoročne komplikacije čini se da redosljed rođenja nije toliko utjecao na njih jer se u obje skupine javljaju poteškoće. U prvoj obitelji genotip je

bio nepoznat. Prvorođeni brat s klasičnom galaktozemijom imao je simptomatsku bolest u novorođenačkom razdoblju, a kasnije je izgubljen iz praćenja s dobi pri zadnjoj kontroli od 3 mjeseca. Za drugorođenu sestru s klasičnom galaktozemijom podaci o novorođenačkom razdoblju nisu bili poznati, ali je kasnije razvila komplikacije u smislu smanjenih intelektualnih sposobnosti. U drugoj obitelji genotip je bio c.563A>G / c.563A>G koji se obično povezuje s lošijom prognozom. Drugorođena sestra s klasičnom galaktozemijom nije imala simptome u novorođenačkom razdoblju ni dugoročne komplikacije, za razliku od prvorođenog brata s klasičnom galaktozemijom. U trećoj obitelji identificiran je homozigotni genotip za mutaciju c.855G>T, povezan s lošijom prognozom. Prvorođeni brat s klasičnom galaktozemijom imao je simptomatsku bolest u novorođenačkom razdoblju uz razvoj dugoročnih komplikacija dok drugorođena sestra s klasičnom galaktozemijom nije imala ni jedno. U ovoj obitelji bilo bi značajno daljnje praćenje jer je mlađa sestra pri zadnjoj kontroli imala tri godine što ostavlja mogućnost naknadnog razvoja dugoročnih komplikacija. U četvrtoj obitelji identificiran je genotip c.367C>T / c.563A>G. Oba člana imala su simptomatsku bolest u novorođenačkom razdoblju. Prvorođeni brat s klasičnom galaktozemijom umro je u dobi od 6 tjedana. Drugorođenoj sestri s klasičnom galaktozemijom dijagnoza je, unatoč pozitivnoj obiteljskoj anamnezi, postavljena u dobi od 53 dana uz napomenu da su se simptomi javili tek u šestom tjednu života. Kasnije je razvila dugoročne komplikacije. Navedeno dodatno podupire mogućí pozitivni utjecaj rane intervencije na razvoj kliničke slike. Budući da je u ovoj podskupini uključen malen broj ispitanika, na temelju dobivenih razlika ne mogu se donositi čvrsti zaključci. Usporedbu među braćom i sestrama s klasičnom galaktozemijom proveli su Hughes i suradnici. Nisu pronađene statistički značajne razlike u kliničkoj slici i koncentracijama galaktoze-1-fosfata i galaktitola među skupinama. Spomenuli su slučaj u kojem je majka provodila restrikciju unosa galaktoze čak i tokom trudnoće, međutim, dijete je imalo najgoru kliničku sliku s kvocijentom inteligencije 40 i promjenama na magnetskoj rezonanciji mozga (135). U drugoj studiji, 75 % drugorođene braće i sestara s klasičnom galaktozemijom imalo je dugoročne komplikacije što bi moglo upućivati da perinatalni ishodi ne određuju dugoročne (6). To potvrđuje Waggonerova studija u kojoj nije bilo statistički značajne razlike u kvocijentu inteligencije, poremećajima govora i ovarijske funkcije među prvorođenima i drugorođenima s klasičnom galaktozemijom (51).

5.5. STROGOST DIJETE

Svi naši ispitanici su se tokom praćenja pridržavali dijetе bez mlijeka i mliječnih prerađevina. Dva bolesnika izbjegavala su i drugu hranu bogatu galaktozom kao što su bijeli grah i brokula. Oba bolesnika nisu imala simptome bolesti u novorođenačkoj dobi. Bolesnica nije imala razvijene dugoročne komplikacije bolesti, međutim pri zadnjoj kontroli imala je tek tri godine. S druge strane, bolesnik je imao razvijene dugoročne komplikacije bolesti, uključujući poteškoće u razvoju, ponašanju, obrazovne poteškoće, osteoporozu i suspektne cerebralne napade. U jedne bolesnice zabilježeno je povremeno odstupanje od dijetе bez mlijeka i mliječnih prerađevina, a nije razvila nikakve dugoročne komplikacije bolesti do 21. godine života. Zbog malog broja ispitanika koji su odstupali od dijetе bez mlijeka i mliječnih prerađevina, teško je donositi zaključke o utjecaju dijetе na tijek bolesti i razvoj dugoročnih komplikacija. U drugim studijama nije pronađena povezanost slobodnije dijetе s oftalmološkim i biokemijskim nenormalnostima (136), poremećajima rasta, adaptivnog ponašanja, pohađanjem logopedskih terapija i koncentracijama AMH (137). Waggoner i Jumbo-Lucioni pokazali su da dugoročne komplikacije nisu povezane s razinom pridržavanja dijetе, a čak i prekid unosa galaktoze od strane majki bolesnika s klasičnom galaktozemijom tokom trudnoće ne utječe na smanjenje učestalosti dugoročnih komplikacija (51, 138). Neke studije upućuju na moguću korist slobodnije dijetе u poboljšanju poremećaja glikozilacije (43, 44) što bi moglo imati pozitivan utjecaj na smanjenje učestalosti ili težine dugoročnih komplikacija. Navedeno upućuje da izloženost galaktozi iz nemliječnih proizvoda nije jedan od glavnih modifikatora dugoročnih komplikacija, već da tu ulogu imaju drugi čimbenici i da bi bolesnici mogli imati koristi od slobodnije dijetе. Potrebne su studije koje bi pomogle odrediti prikladnu količinu galaktoze i dob za početak slobodnijeg unosa galaktoze.

5.6. SPOZNAJE ZA BUDUĆNOST

Klasična galaktozemija ima široki dijapazon biokemijskih i kliničkih fenotipova često i u pojedinaца koji imaju isti genotip. Nemogućnost utjecaja na nastanak dugoročnih komplikacija nastoji se prevladati sve intenzivnijim istraživanjem čimbenika pomoću kojih bi se moglo predvidjeti koji pojedinci su u većoj mjeri podložni razvoju pojedinih komplikacija. Time bi se omogućilo rano prepoznavanje, intervencija i poboljšanje cjelokupne kontrole bolesti. Manja aktivnost enzima GALT povezuje se sa statistički značajno češćom pojavom početnih simptoma bolesti, mentalnih poremećaja, poremećaja ponašanja (80), poteškoća u matematici i jezicima te češćim pohađanjem prilagođenog programa u školi (139). Aktivnost enzima najvjerojatnije korelira genotipom (140), a budući da klasična galaktozemija pokazuje značajnu gensku heterogenost, nije teško zamisliti da je upravo genotip jedan od čimbenika koji određuju kliničku sliku bolesti. Homozigotnost za p.Q188R povezuje se s većim rizikom za nastanak primarne ovarijske insuficijencije, neuroloških simptoma (80), verbalne dispraksije (141) i smanjenih intelektualnih sposobnosti (142), ali postoje i oprečni rezultati (74).

Udio metabolizma galaktoze alternativnim metaboličkim putovima i njihova genska raznolikost mogli bi biti prediktivni čimbenici dugoročnih komplikacija. Individualnu sposobnost oksidacije galaktoze najvjerojatnije određuju ostatna aktivnost enzima GALT i alternativni metabolički putovi koji u svakog pojedinca imaju različiti doprinos. Kada bi se na molekularnoj razini identificirali proteini koji sudjeluju u alternativnom metabolizmu možda bi bilo moguće dodatno pojačati one koji značajno pridonose metabolizmu galaktoze (143). Time bi se razvile dodatne terapijske metode, omogućila veća količina prehrambenog unosa galaktoze i veća kvaliteta života. Manja oksidacijska sposobnost prisutna je u osoba s težim genotipom i povezana je s razvojem verbalne dispraksije (72) i primarne ovarijske insuficijencije (144). Veća oksidacijska sposobnost povezana je s boljim intelektualnim, neurološkim i biokemijskim ishodima (145). Više prosječne koncentracije galaktoze-1-fosfata povezane su s manjom ostatnom aktivnosti enzima GALT (146) i više nego dvostrukim rizikom od razvoja jedne ili više dugoročnih komplikacija (122). Čini se da bi primjerenije bilo koristiti koncentracije galaktoze-1-fosfata nakon novorođenačkog razdoblja i ukupnu oksidacijsku sposobnost organizma za

određivanje prognoze. Aktivnost enzima GALT u eritrocitima možda ne korelira s aktivnošću u ostalim tkivima koja može biti značajna za poboljšanje kliničke slike.

Problem kod istraživanja rijetkih bolesti je što se teško u pojedinim kliničkim centrima i državama mogu prikupiti i obraditi podaci o dovoljnom broju bolesnika da bi se donosili čvrsti zaključci. Često se ideje, hipoteze i smjernice donose na temelju pojedinačnih prikaza slučajeva ili malenih skupina, najčešće u presječnim ili retrospektivnim studijama s kroničnim nedostatkom prospektivnih studija. U najboljem slučaju provode se sistemski pregledi literature i/ili metaanalize što omogućuje dobivanje većeg uzorka i statistički značajnih rezultata, ali ipak ovise o kvaliteti već provedenih studija. Iz navedenih razloga značajnu ulogu u sakupljanju novih saznanja o klasičnoj galaktozemiji imaju međunarodne baze podataka poput baze mutacija gena *GALT* i registri bolesnika s rijetkim bolestima poput GalNet-a. Baza mutacija gena *GALT* omogućuje brži proces interpretacije rezultata dobivenih genskom analizom, osobito u slučajevima rijetkih varijanti (18). Registri rijetkih bolesti omogućuju sakupljanje značajnih količina informacija sa svrhom poboljšanja brige o bolesnicima, praćenja mogućih patogenetskih mehanizama kroz različita životna razdoblja i pružanja osnove za daljnja klinička istraživanja (147). Vrlo je korisna i baza podataka o utjecaju pojedine mutacije na strukturu i stabilnost proteina GALT što bi moglo koristiti u predviđanju utjecaja mutacije na aktivnost enzima (148). Poznavanje kristalografske strukture humanog enzima GALT i utjecaja pojedinih mutacija na nju će zasigurno koristiti u razvoju novih lijekova. Sve nepoznanice o klasičnoj galaktozemiji, a osobito još uvijek česti proturječni rezultati, sugeriraju da je pronalazak adekvatnog biljega i prediktivnog čimbenika vrlo zahtjevan i da na kliničku sliku bolesti utječe puno toga što nam je još nepoznato.

5.7. OGRANIČENJA STUDIJE

Prvo, iako je studija obuhvatila većinu bolesnika s klasičnom galaktozemijom u Republici Hrvatskoj i dalje je riječ o skupini sa skromnim brojem ispitanika. Na temelju malih brojeva teško se uspoređuju podaci i donose zaključci. Drugo, riječ je o retrospektivnoj opažajnoj studiji koja ima nedostatke vezane uz kvalitetu i pouzdanost podataka, a ističe se da svi bolesnici nisu bili praćeni na isti standardizirani način što često onemogućuje

uniformno obrađivanje i uspoređivanje podataka. Brojne informacije nisu bile dostupne što dodatno smanjuje broj obrađenih podataka. Gotovo svi bolesnici s neurološkim i endokrinološkim tegobama bili su praćeni od strane odgovarajućeg specijalista, međutim, često su izostajali podaci o kvocijentima razvoja i inteligencije. Deskriptivna narav studije uključuje obradu učestalosti podataka i njihovo uspoređivanje, međutim, statistička značajnost nije određivana što se mora uzeti u obzir pri tumačenju rezultata i usporedbi. Treće, većina ispitanika nakon punoljetnosti (5/9), a neki i ranije, prestala je s praćenjem kod pedijatra čime je otežana mogućnost longitudinalnog praćenja, osobito razvoja dugoročnih komplikacija.

6. ZAKLJUČCI

Ova studija pokazuje da velika većina bolesnika s klasičnom galaktozemijom i svi u kojih nema pozitivne obiteljske anamneze na ovu bolest razvije simptome u novorođenačkom razdoblju. Unatoč strogom pridržavanju dijete bez mlijeka i mliječnih prerađevina, 78,3 % bolesnika razvilo je barem jednu dugoročnu komplikaciju, uključujući poremećaje razvoja (65,2 %), poremećaje ponašanja i socijalne prilagodbe (30,4 %), smanjene intelektualne sposobnosti (31,6 %), poremećaje govora (52,6 %), neurološke komplikacije (39,1 %), kataraktu (26,1 %), ovarijsku insuficijenciju (50 %) i smanjenu mineralnu gustoću kostiju (36,8 %). Jasna povezanost između genotipa i fenotipa nije pronađena. Nije pronađena ni jasna povezanost između odstupanja u dijeti bez galaktoze s razvojem dugoročnih komplikacija. Usporedba prvorođenih i drugorođenih s klasičnom galaktozemijom u obitelji pokazala je da je početna intervencija, uključujući ranije postavljanje dijagnoze i raniji početak dijete, brža, a učestalost simptoma u novorođenačkom razdoblju manja u drugorođenih s klasičnom galaktozemijom. S druge strane, čini se da redoslijed rođenja ne utječe na pojavnost dugoročnih komplikacija. Pronađene razlike u učestalosti simptoma u novorođenačkom razdoblju u uspoređivanim skupinama iz drugih studija najvjerojatnije su posljedica postojanja novorođenačkog probira u nekim državama i ranijeg postavljanja dijagnoze. U svih uspoređivanih skupina javio se isti spektar dugoročnih komplikacija s varijabilnim učestalostima. Takve razlike bi također mogle biti posljedica ranije dijagnoze i ranijeg početka dijete, ali i razlike u genskoj podlozi, prosječnoj dobi skupine ispitanika, razlikama u pridržavanju dijete i drugih još nepoznatih čimbenika. Daljnja istraživanja klasične galaktozemije, osobito prospektivnog tipa s većim uzorkom, potrebna su kako bi se rasvijetlila složena patogeneza ove bolesti, jasno definirala važnost pojedinih prediktivnih čimbenika te omogućila primjerena intervencija za dobrobit bolesnika.

7.ZAHVALE

Velika hvala mentoru, prof. dr. sc. Ivi Bariću, na želji za prenošenjem znanja, vodstvu, savjetima i spremnosti da odgovori na sva pitanja tijekom pisanja ovog diplomskog rada.

Najveća hvala mojoj obitelji, sestri Ivani, mami Veri i tati Vladimiru. Hvala vam od srca na neizmjerne podršci tokom studija i cijelog mog života. Ivana, hvala ti na smijehu i brižnosti. Mama, hvala ti na dobroti i nježnosti. Tata, hvala ti na bezgraničnoj vjeri u mene, uvijek ćeš biti u mojim mislima i srcu.

Hvala ti, Josipe, na bezrezervnom razumijevanju, nesebičnosti, veselju, motivaciji i potpori. Hvala najboljim prijateljima, jer uspjeh i veselje ne znače ništa ako ih nemaš ni sa kim podijeliti, a teške trenutke lakše je prebroditi zajedno.

8. LITERATURA

1. Segal S, Berry G. Disorders of galactose metabolism. U: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, ur. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill Professional; 2001. Str. 1553-1589.
2. Wada Y, Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Takezawa Y, Iwasawa S, i sur. Biallelic GALM pathogenic variants cause a novel type of galactosemia. *Genet Med*. 2019;21(6):1286-94.
3. Berry GT. Classic Galactosemia and Clinical Variant Galactosemia. U: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, i sur., ur. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington; 2020.
4. Coss KP, Doran PP, Owoeye C, Codd MB, Hamid N, Mayne PD, i sur. Classical Galactosaemia in Ireland: incidence, complications and outcomes of treatment. *J Inherit Metab Dis*. 2013;36(1):21-7.
5. Choi R, Jo KI, Ko DH, Lee DH, Song J, Jin DK, i sur. Novel GALT variations and mutation spectrum in the Korean population with decreased galactose-1-phosphate uridyltransferase activity. *BMC Med Genet*. 2014;15:94.
6. Kotb MA, Mansour L, Shamma RA. Screening for galactosemia: is there a place for it? *Int J Gen Med*. 2019;12:193-205.
7. Coelho AI, Berry GT, Rubio-Gozalbo ME. Galactose metabolism and health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015;18(4):422-7.
8. Barić I. Nasljedne metaboličke bolesti. U: Mardešić D, Barić I, ur. *Pedijatrija*. Zagreb: Školska knjiga; 2016. Str. 127-93.
9. Coelho AI, Rubio-Gozalbo ME, Vicente JB, Rivera I. Sweet and sour: an update on classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis*. 2017;40(3):325-42.
10. Lai K, Klapa MI. Alternative pathways of galactose assimilation: could inverse metabolic engineering provide an alternative to galactosemic patients? *Metab Eng*. 2004;6(3):239-44.
11. Shin YS, Niedermeier HP, Endres W, Schaub J, Weidinger S. Agarose gel isoelectrofocusing of UDP-galactose pyrophosphorylase and galactose-1-phosphate uridyltransferase. Developmental aspect of UDP-galactose pyrophosphorylase. *Clin Chim Acta*. 1987;166(1):27-35.

12. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29(4):516-25.
13. Berry GT, Nissim I, Gibson JB, Mazur AT, Lin Z, Elsas LJ, i sur. Quantitative assessment of whole body galactose metabolism in galactosemic patients. *Eur J Pediatr.* 1997;156 Suppl 1:S43-9.
14. Gitzelmann R. Formation of galactose-1-phosphate from uridine diphosphate galactose in erythrocytes from patients with galactosemia. *Pediatr Res.* 1969;3(4):279-86.
15. Berry GT, Moate PJ, Reynolds RA, Yager CT, Ning C, Boston RC, i sur. The rate of de novo galactose synthesis in patients with galactose-1-phosphate uridyltransferase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2004;81(1):22-30.
16. Schadewaldt P, Kamalanathan L, Hammen HW, Wendel U. Age dependence of endogenous galactose formation in Q188R homozygous galactosemic patients. *Mol Genet Metab.* 2004;81(1):31-44.
17. Huidekoper HH, Bosch AM, van der Crabben SN, Sauerwein HP, Ackermans MT, Wijburg FA. Short-term exogenous galactose supplementation does not influence rate of appearance of galactose in patients with classical galactosemia. *Mol Genet Metab.* 2005;84(3):265-72.
18. Calderon F, Phansalkar AR, Crockett DK, Miller M, Mao R. Mutation Database for the Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase (GALT). [Internet] 2007 [pristupljeno 15.4.2020.] Dostupno na: https://arup.utah.edu/database/GALT/GALT_display.php.
19. Suzuki M, West C, Beutler E. Large-scale molecular screening for galactosemia alleles in a pan-ethnic population. *Hum Genet.* 2001;109(2):210-5.
20. Lai K, Elsas LJ. Structure-function analyses of a common mutation in blacks with transferase-deficiency galactosemia. *Mol Genet Metab.* 2001;74(1-2):264-72.
21. Lukac-Bajalo J, Kuzelicki NK, Zitnik IP, Mencej S, Battelino T. Higher frequency of the galactose-1-phosphate uridyl transferase gene K285N mutation in the Slovenian population. *Clin Biochem.* 2007;40(5-6):414-5.
22. Elsas LJ, Lai K, Saunders CJ, Langley SD. Functional analysis of the human galactose-1-phosphate uridyltransferase promoter in Duarte and LA variant galactosemia. *Mol Genet Metab.* 2001;72(4):297-305.
23. Trbusek M, Francova H, Kozak L. Galactosemia: deletion in the 5' upstream region of the GALT gene reduces promoter efficiency. *Hum Genet.* 2001;109(1):117-20.
24. McCorvie TJ, Kopec J, Pey AL, Fitzpatrick F, Patel D, Chalk R, i sur. Molecular basis of classic galactosemia from the structure of human galactose 1-phosphate

- uridylyltransferase. *Hum Mol Genet.* 2016;25(11):2234-44.
25. Elsevier JP, Wells L, Quimby BB, Fridovich-Keil JL. Heterodimer formation and activity in the human enzyme galactose-1-phosphate uridylyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(14):7166-71.
 26. Wedekind JE, Frey PA, Rayment I. Three-dimensional structure of galactose-1-phosphate uridylyltransferase from *Escherichia coli* at 1.8 Å resolution. *Biochemistry.* 1995;34(35):11049-61.
 27. Lai K, Langley SD, Khwaja FW, Schmitt EW, Elsas LJ. GALT deficiency causes UDP-hexose deficit in human galactosemic cells. *Glycobiology.* 2003;13(4):285-94.
 28. Gannon MC, Khan MA, Nuttall FQ. Glucose appearance rate after the ingestion of galactose. *Metabolism.* 2001;50(1):93-8.
 29. Viggiano E, Marabotti A, Politano L, Burlina A. Galactose-1-phosphate uridylyltransferase deficiency: A literature review of the putative mechanisms of short and long-term complications and allelic variants. *Clin Genet.* 2018;93(2):206-15.
 30. Balakrishnan B, Chen W, Tang M, Huang X, Cakici DD, Siddiqi A, i sur. Galactose-1 phosphate uridylyltransferase (GalT) gene: A novel positive regulator of the PI3K/Akt signaling pathway in mouse fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016;470(1):205-12.
 31. Bhat PJ. Galactose-1-phosphate is a regulator of inositol monophosphatase: a fact or a fiction? *Med Hypotheses.* 2003;60(1):123-8.
 32. Colhoun HO, Rubio Gozalbo EM, Bosch AM, Knerr I, Dawson C, Brady J, i sur. Fertility in classical galactosaemia, a study of N-glycan, hormonal and inflammatory gene interactions. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):164.
 33. Lai K, Tang M, Yin X, Klapper H, Wierenga K, Elsas L. ARHI: A new target of galactose toxicity in Classic Galactosemia. *Biosci Hypotheses.* 2008;1(5):263-71.
 34. Al-Essa M, Dhaunsi G. Receptor-mediated attenuation of insulin-like growth factor-1 activity by galactose-1-phosphate in neonate skin fibroblast cultures: Galactosemia pathogenesis. *Adv Clin Exp Med.* 2020.
 35. Slepak TI, Tang M, Slepak VZ, Lai K. Involvement of endoplasmic reticulum stress in a novel Classic Galactosemia model. *Mol Genet Metab.* 2007;92(1-2):78-87.
 36. Chen YT, Mattison DR, Feigenbaum L, Fukui H, Schulman JD. Reduction in oocyte number following prenatal exposure to a diet high in galactose. *Science.* 1981;214(4525):1145-7.

37. Rodrigues AF, Biasibetti H, Zanotto BS, Sanches EF, Schmitz F, Nunes VT, i sur. D-Galactose Causes Motor Coordination Impairment, and Histological and Biochemical Changes in the Cerebellum of Rats. *Mol Neurobiol.* 2017;54(6):4127-37.
38. Litchfield WJ, Wells WW. Inhibitory action of galactose on phagocytes from normal and hypergalactosemic chicks. *Infect Immun.* 1977;16(1):198-202.
39. Litchfield WJ, Wells WW. Effect of galactose on free radical reactions of polymorphonuclear leukocytes. *Arch Biochem Biophys.* 1978;188(1):26-30.
40. Berry GT, Hunter JV, Wang Z, Dreha S, Mazur A, Brooks DG, i sur. In vivo evidence of brain galactitol accumulation in an infant with galactosemia and encephalopathy. *J Pediatr.* 2001;138(2):260-2.
41. Kador PF. Overview of the current attempts toward the medical treatment of cataract. *Ophthalmology.* 1983;90(4):352-64.
42. Pintor J. Sugars, the crystalline lens and the development of cataracts. *Biochem Pharmacol.* 2012;1.
43. Coss KP, Byrne JC, Coman DJ, Adamczyk B, Abrahams JL, Saldova R, i sur. IgG N-glycans as potential biomarkers for determining galactose tolerance in Classical Galactosaemia. *Mol Genet Metab.* 2012;105(2):212-20.
44. Knerr I, Coss KP, Kratzsch J, Crushell E, Clark A, Doran P, i sur. Effects of temporary low-dose galactose supplements in children aged 5-12 y with classical galactosemia: a pilot study. *Pediatr Res.* 2015;78(3):272-9.
45. Sairam MR. Role of carbohydrates in glycoprotein hormone signal transduction. *FASEB J.* 1989;3(8):1915-26.
46. Bandyopadhyay S, Chakrabarti J, Banerjee S, Pal AK, Goswami SK, Chakravarty BN, i sur. Galactose toxicity in the rat as a model for premature ovarian failure: an experimental approach readdressed. *Hum Reprod.* 2003;18(10):2031-8.
47. Kaufman FR, McBride-Chang C, Manis FR, Wolff JA, Nelson MD. Cognitive functioning, neurologic status and brain imaging in classical galactosemia. *Eur J Pediatr.* 1995;154(7 Suppl 2):S2-5.
48. Jumbo-Lucioni P, Parkinson W, Broadie K. Overelaborated synaptic architecture and reduced synaptomatrix glycosylation in a *Drosophila* classic galactosemia disease model. *Dis Model Mech.* 2014;7(12):1365-78.
49. Martinelli D, Bernardi B, Napolitano A, Colafati GS, Dionisi-Vici C. Teaching NeuroImages: Galactitol peak and fatal cerebral edema in classic galactosemia: Too

- much sugar in the brain. *Neurology*. 2016;86(3):e32-3.
50. Fridovich-Keil JL, Gambello MJ, Singh RH, Sharer JD. Duarte Variant Galactosemia. U: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, i sur., ur. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington; 2020.
 51. Waggoner DD, Buist NR, Donnell GN. Long-term prognosis in galactosaemia: results of a survey of 350 cases. *J Inherit Metab Dis*. 1990;13(6):802-18.
 52. Ficicioglu C, Thomas N, Yager C, Gallagher PR, Hussa C, Mattie A, i sur. Duarte (DG) galactosemia: a pilot study of biochemical and neurodevelopmental assessment in children detected by newborn screening. *Mol Genet Metab*. 2008;95(4):206-12.
 53. Batey LA, Welt CK, Rohr F, Wessel A, Anastasoie V, Feldman HA, i sur. Skeletal health in adult patients with classic galactosemia. *Osteoporos Int*. 2013;24(2):501-9.
 54. van Erven B, Welling L, van Calcar SC, Doulgeraki A, Eyskens F, Gribben J, i sur. Bone Health in Classic Galactosemia: Systematic Review and Meta-Analysis. *JIMD Rep*. 2017;35:87-96.
 55. Gubbels CS, Welt CK, Dumoulin JC, Robben SG, Gordon CM, Dunselman GA, i sur. The male reproductive system in classic galactosemia: cryptorchidism and low semen volume. *J Inherit Metab Dis*. 2013;36(5):779-86.
 56. Fridovich-Keil J, Walter J. Galactosemia. 2008. U: The online metabolic and molecular bases of inherited disease - OMMBID [Internet]. New York: McGraw-Hill Education.
 57. Kaufman FR, Kogut MD, Donnell GN, Goebelsmann U, March C, Koch R. Hypergonadotropic hypogonadism in female patients with galactosemia. *N Engl J Med*. 1981;304(17):994-8.
 58. Thakur M, Feldman G, Puscheck EE. Primary ovarian insufficiency in classic galactosemia: current understanding and future research opportunities. *J Assist Reprod Genet*. 2018;35(1):3-16.
 59. Frederick AB, Zinsli AM, Carlock G, Conneely K, Fridovich-Keil JL. Presentation, progression, and predictors of ovarian insufficiency in classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis*. 2018;41(5):785-90.
 60. Briones P, Giros M, Martinez V. Second spontaneous pregnancy in a galactosaemic woman homozygous for the Q188R mutation. *J Inherit Metab Dis*. 2001;24(1):79-80.
 61. Gubbels CS, Kuppens SM, Bakker JA, Konings CJ, Wodzig KW, de Sain-van der Velden MG, i sur. Pregnancy in classic galactosemia despite undetectable anti-Mullerian hormone. *Fertil Steril*. 2009;91(4):1293.e13-6.

62. Forges T, Monnier P, Leheup B, Cheillan D, Brivet M, Barbarino A, i sur. Ovarian tissue cryopreservation and subsequent spontaneous pregnancies in a patient with classic galactosemia. *Fertil Steril.* 2011;95(1):290.e1-3.
63. van Erven B, Berry GT, Cassiman D, Connolly G, Forga M, Gautschi M, i sur. Fertility in adult women with classic galactosemia and primary ovarian insufficiency. *Fertil Steril.* 2017;108(1):168-74.
64. Schadewaldt P, Hammen HW, Kamalanathan L, Wendel U, Schwarz M, Bosch AM, i sur. Biochemical monitoring of pregnancy and breast feeding in five patients with classical galactosaemia--and review of the literature. *Eur J Pediatr.* 2009;168(6):721-9.
65. Fridovich-Keil JL, Gubbels CS, Spencer JB, Sanders RD, Land JA, Rubio-Gozalbo E. Ovarian function in girls and women with GALT-deficiency galactosemia. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34(2):357-66.
66. Lezak M, Howieson D, Bigler E, Tranel D. *Neuropsychological assessment.* New York: Oxford University Press; 2012.
67. Doyle CM, Channon S, Orłowska D, Lee PJ. The neuropsychological profile of galactosaemia. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33(5):603-9.
68. Hermans ME, Welsink-Karssies MM, Bosch AM, Oostrom KJ, Geurtsen GJ. Cognitive functioning in patients with classical galactosemia: a systematic review. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14(1):226.
69. Bosch AM, Grootenhuis MA, Bakker HD, Heijmans HS, Wijburg FA, Last BF. Living with classical galactosemia: health-related quality of life consequences. *Pediatrics.* 2004;113(5):e423-8.
70. Welling L, Waisbren SE, Antshel KM, Colhoun HO, Gautschi M, Grunewald S, i sur. Systematic Review and Meta-analysis of Intelligence Quotient in Early-Treated Individuals with Classical Galactosemia. *JIMD Rep.* 2017;37:115-23.
71. Manis FR, Cohn LB, McBride-Chang C, Wolff JA, Kaufman FR. A longitudinal study of cognitive functioning in patients with classical galactosaemia, including a cohort treated with oral uridine. *J Inherit Metab Dis.* 1997;20(4):549-55.
72. Webb AL, Singh RH, Kennedy MJ, Elsas LJ. Verbal dyspraxia and galactosemia. *Pediatr Res.* 2003;53(3):396-402.
73. Lambert C, Boneh A. The impact of galactosaemia on quality of life--a pilot study. *J Inherit Metab Dis.* 2004;27(5):601-8.
74. Waisbren SE, Potter NL, Gordon CM, Green RC, Greenstein P, Gubbels CS, i sur. The

- adult galactosemic phenotype. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35(2):279-86.
75. Kuiper A, Grunewald S, Murphy E, Coenen MA, Eggink H, Zutt R, i sur. Movement disorders and nonmotor neuropsychological symptoms in children and adults with classical galactosemia. *J Inherit Metab Dis.* 2019;42(3):451-8.
76. Korner M, Kalin S, Zweifel-Zehnder A, Fankhauser N, Nuoffer JM, Gautschi M. Deficits of facial emotion recognition and visual information processing in adult patients with classical galactosemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14(1):56.
77. Bhat M, Haase C, Lee PJ. Social outcome in treated individuals with inherited metabolic disorders: UK study. *J Inherit Metab Dis.* 2005;28(6):825-30.
78. Gubbels CS, Maurice-Stam H, Berry GT, Bosch AM, Waisbren S, Rubio-Gozalbo ME, i sur. Psychosocial developmental milestones in men with classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34(2):415-9.
79. Bosch AM, Maurice-Stam H, Wijburg FA, Grootenhuis MA. Remarkable differences: the course of life of young adults with galactosaemia and PKU. *J Inherit Metab Dis.* 2009;32(6):706.
80. Rubio-Gozalbo ME, Haskovic M, Bosch AM, Burnyte B, Coelho AI, Cassiman D, i sur. The natural history of classic galactosemia: lessons from the GalNet registry. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14(1):86.
81. Varela-Lema L, Paz-Valinas L, Atienza-Merino G, Zubizarreta-Alberdi R, Villares RV, Lopez-Garcia M. Appropriateness of newborn screening for classic galactosaemia: a systematic review. *J Inherit Metab Dis.* 2016;39(5):633-49.
82. Kim KH, Ahn K, Chung ES, Chung TY. Clinical outcomes of surgical techniques in congenital cataracts. *Korean J Ophthalmol.* 2008;22(2):87-91.
83. Schmidt D, Shin YS, Auw-Haedrich C, Tacke U. Congenital ocular malformations (lens subluxation, pupillary displacement, cataract, myopia) and classic galactosaemia associated with Q188R and /or G1391A mutations. *Acta Ophthalmol.* 2011;89(5):489-94.
84. Burke JP, O'Keefe M, Bowell R, Naughten ER. Ophthalmic findings in classical galactosemia--a screened population. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus.* 1989;26(4):165-8.
85. Karas N, Gobec L, Pfeifer V, Mlinar B, Battelino T, Lukac-Bajalo J. Mutations in galactose-1-phosphate uridylyltransferase gene in patients with idiopathic presenile cataract. *J Inherit Metab Dis.* 2003;26(7):699-704.

86. Stevens RE, Datiles MB, Srivastava SK, Ansari NH, Maumenee AE, Stark WJ. Idiopathic presenile cataract formation and galactosaemia. *Br J Ophthalmol.* 1989;73(1):48-51.
87. Nema N, Kumar R, Verma A, Verma S, Chaturvedi K. Association of presenile cataract with galactose-1-phosphate uridylyl transferase gene mutations. *Natl Med J India.* 2017;30(2):73-5.
88. Pasquali M, Yu C, Coffee B. Laboratory diagnosis of galactosemia: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genet Med.* 2018;20(1):3-11.
89. Welling L, Bernstein LE, Berry GT, Burlina AB, Eyskens F, Gautschi M, i sur. International clinical guideline for the management of classical galactosemia: diagnosis, treatment, and follow-up. *J Inherit Metab Dis.* 2017;40(2):171-6.
90. Schweitzer-Krantz S. Early diagnosis of inherited metabolic disorders towards improving outcome: the controversial issue of galactosaemia. *Eur J Pediatr.* 2003;162 Suppl 1:S50-3.
91. Welling L, Boelen A, Derks TG, Schielen PC, de Vries M, Williams M, i sur. Nine years of newborn screening for classical galactosemia in the Netherlands: Effectiveness of screening methods, and identification of patients with previously unreported phenotypes. *Mol Genet Metab.* 2017;120(3):223-8.
92. Porta F, Pagliardini S, Pagliardini V, Ponzzone A, Spada M. Newborn screening for galactosemia: a 30-year single center experience. *World J Pediatr.* 2015;11(2):160-4.
93. Clarke J. Newborn screening. A clinical guide to inherited metabolic diseases. Cambridge: Cambridge University Press; 2005. str. 228-40.
94. Lak R, Yazdizadeh B, Davari M, Nouhi M, Kelishadi R. Newborn screening for galactosaemia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2017;12:Cd012272.
95. Ohlsson A, Guthenberg C, von Döbeln U. Galactosemia screening with low false-positive recall rate: the Swedish experience. *JIMD Rep.* 2012;2:113-7.
96. Zlatunich CO, Packman S. Galactosaemia: early treatment with an elemental formula. *J Inherit Metab Dis.* 2005;28(2):163-8.
97. Van Calcar SC, Bernstein LE, Rohr FJ, Scaman CH, Yannicelli S, Berry GT. A re-evaluation of life-long severe galactose restriction for the nutrition management of classic galactosemia. *Mol Genet Metab.* 2014;112(3):191-7.
98. Lai K, Boxer MB, Marabotti A. GALK inhibitors for classic galactosemia. *Future Med*

- Chem. 2014;6(9):1003-15.
99. Tang M, Odejinmi SI, Vankayalapati H, Wierenga KJ, Lai K. Innovative therapy for Classic Galactosemia - tale of two HTS. *Mol Genet Metab.* 2012;105(1):44-55.
 100. Hennermann JB, Schadewaldt P, Vetter B, Shin YS, Monch E, Klein J. Features and outcome of galactokinase deficiency in children diagnosed by newborn screening. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34(2):399-407.
 101. Daenzer JM, Jumbo-Lucioni PP, Hopson ML, Garza KR, Ryan EL, Fridovich-Keil JL. Acute and long-term outcomes in a *Drosophila melanogaster* model of classic galactosemia occur independently of galactose-1-phosphate accumulation. *Dis Model Mech.* 2016;9(11):1375-82.
 102. Jumbo-Lucioni PP, Hopson ML, Hang D, Liang Y, Jones DP, Fridovich-Keil JL. Oxidative stress contributes to outcome severity in a *Drosophila melanogaster* model of classic galactosemia. *Dis Model Mech.* 2013;6(1):84-94.
 103. Jumbo-Lucioni PP, Ryan EL, Hopson ML, Bishop HM, Weitner T, Tovmasyan A, i sur. Manganese-based superoxide dismutase mimics modify both acute and long-term outcome severity in a *Drosophila melanogaster* model of classic galactosemia. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(15):2361-71.
 104. Timson DJ. Purple sweet potato colour--a potential therapy for galactosemia? *Int J Food Sci Nutr.* 2014;65(4):391-3.
 105. Coelho AI, Trabuco M, Ramos R, Silva MJ, Tavares de Almeida I, Leandro P, i sur. Functional and structural impact of the most prevalent missense mutations in classic galactosemia. *Mol Genet Genomic Med.* 2014;2(6):484-96.
 106. Baynes BM, Wang DI, Trout BL. Role of arginine in the stabilization of proteins against aggregation. *Biochemistry.* 2005;44(12):4919-25.
 107. Coelho AI, Trabuco M, Silva MJ, de Almeida IT, Leandro P, Rivera I, i sur. Arginine Functionally Improves Clinically Relevant Human Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase (GALT) Variants Expressed in a Prokaryotic Model. *JIMD Rep.* 2015;23:1-6.
 108. Haskovic M, Derks B, van der Ploeg L, Trommelen J, Nyakayiru J, van Loon LJC, i sur. Arginine does not rescue p.Q188R mutation deleterious effect in classic galactosemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13(1):212.
 109. Ng WG, Xu YK, Kaufman FR, Donnell GN. Deficit of uridine diphosphate galactose in galactosaemia. *J Inherit Metab Dis.* 1989;12(3):257-66.

110. Coelho AI, Lourenco S, Trabuco M, Silva MJ, Oliveira A, Gaspar A, i sur. Functional correction by antisense therapy of a splicing mutation in the GALT gene. *Eur J Hum Genet.* 2015;23(4):500-6.
111. Balakrishnan B, An D, Nguyen V, DeAntonis C, Martini PGV, Lai K. Novel mRNA-Based Therapy Reduces Toxic Galactose Metabolites and Overcomes Galactose Sensitivity in a Mouse Model of Classic Galactosemia. *Mol Ther.* 2020;28(1):304-12.
112. Yu J, Vodyanik MA, Smuga-Otto K, Antosiewicz-Bourget J, Frane JL, Tian S, i sur. Induced pluripotent stem cell lines derived from human somatic cells. *Science.* 2007;318(5858):1917-20.
113. Otto G, Herfarth C, Senninger N, Feist G, Post S, Gmelin K. Hepatic transplantation in galactosemia. *Transplantation.* 1989;47(5):902-3.
114. Skory RM, Xu Y, Shea LD, Woodruff TK. Engineering the ovarian cycle using in vitro follicle culture. *Hum Reprod.* 2015;30(6):1386-95.
115. Truman AM, Tilly JL, Woods DC. Ovarian regeneration: The potential for stem cell contribution in the postnatal ovary to sustained endocrine function. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;445:74-84.
116. Sozen B, Ozekinci M, Erman M, Gunduz T, Demir N, Akouri R. Dehydroepiandrosterone supplementation attenuates ovarian ageing in a galactose-induced primary ovarian insufficiency rat model. *J Assist Reprod Genet.* 2019;36(10):2181-9.
117. Datiles M, Fukui H, Kuwabara T, Kinoshita JH. Galactose cataract prevention with sorbinil, an aldose reductase inhibitor: a light microscopic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1982;22(2):174-9.
118. Ramana BV, Raju TN, Kumar VV, Reddy PU. Defensive role of quercetin against imbalances of calcium, sodium, and potassium in galactosemic cataract. *Biol Trace Elem Res.* 2007;119(1):35-41.
119. Abdul Nasir NA, Agarwal R, Vasudevan S, Tripathy M, Alyautdin R, Ismail NM. Effects of topically applied tocotrienol on cataractogenesis and lens redox status in galactosemic rats. *Mol Vis.* 2014;20:822-35.
120. Churchill A, Graw J. Clinical and experimental advances in congenital and paediatric cataracts. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2011;366(1568):1234-49.
121. Squires RH, Jr., Shneider BL, Bucuvalas J, Alonso E, Sokol RJ, Narkewicz MR, i sur. Acute liver failure in children: the first 348 patients in the pediatric acute liver failure

- study group. *J Pediatr*. 2006;148(5):652-8.
122. Yuzyuk T, Viau K, Andrews A, Pasquali M, Longo N. Biochemical changes and clinical outcomes in 34 patients with classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis*. 2018;41(2):197-208.
123. Ramadza DP, Sarnavka V, Vukovic J, Fumic K, Krzelj V, Lozic B, i sur. Molecular basis and clinical presentation of classic galactosemia in a Croatian population. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018;31(1):71-5.
124. Boutron A, Marabotti A, Facchiano A, Cheillan D, Zater M, Oliveira C, i sur. Mutation spectrum in the French cohort of galactosemic patients and structural simulation of 27 novel missense variations. *Mol Genet Metab*. 2012;107(3):438-47.
125. Ounap K, Joost K, Temberg T, Krabbi K, Tõnisson N. Classical galactosemia in Estonia: selective neonatal screening, incidence, and genotype/phenotype data of diagnosed patients. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(2):175-6.
126. Teke Kisa P, Kose M, Unal O, Er E, Hismi BO, Bulbul FS, i sur. Clinical and molecular characteristics and time of diagnosis of patients with classical galactosemia in an unscreened population in Turkey. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2019;32(7):675-81.
127. Viggiano E, Marabotti A, Burlina AP, Cazzorla C, D'Apice MR, Giordano L, i sur. Clinical and molecular spectra in galactosemic patients from neonatal screening in northeastern Italy: structural and functional characterization of new variations in the galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GALT) gene. *Gene*. 2015;559(2):112-8.
128. Milánkovics I, Schuler A, Kámory E, Csókay B, Fodor F, Somogyi C, i sur. Molecular and clinical analysis of patients with classic and Duarte galactosemia in western Hungary. *Wien Klin Wochenschr*. 2010;122(3-4):95-102.
129. Bech LF, Donneborg ML, Lund AM, Ebbesen F. Extreme neonatal hyperbilirubinemia, acute bilirubin encephalopathy, and kernicterus spectrum disorder in children with galactosemia. *Pediatr Res*. 2018;84(2):228-32.
130. Timmers I, van der Korput LD, Jansma BM, Rubio-Gozalbo ME. Grey matter density decreases as well as increases in patients with classic galactosemia: A voxel-based morphometry study. *Brain Res*. 2016;1648(Pt A):339-44.
131. Sanders RD, Spencer JB, Epstein MP, Pollak SV, Vardhana PA, Lustbader JW, i sur. Biomarkers of ovarian function in girls and women with classic galactosemia. *Fertil Steril*. 2009;92(1):344-51.

132. Mamsen LS, Kelsey TW, Ernst E, Macklon KT, Lund AM, Andersen CY. Cryopreservation of ovarian tissue may be considered in young girls with galactosemia. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35(7):1209-17.
133. Rubio-Gozalbo ME, Hamming S, van Kroonenburgh MJ, Bakker JA, Vermeer C, Forget PP. Bone mineral density in patients with classic galactosaemia. *Arch Dis Child.* 2002;87(1):57-60.
134. Panis B, Vermeer C, van Kroonenburgh M, Nieman FHM, Menheere P, Spaapen LJ, i sur. Effect of calcium, vitamins K1 and D3 on bone in galactosemia. *Bone.* 2006;39(5):1123-9.
135. Hughes J, Ryan S, Lambert D, Geoghegan O, Clark A, Rogers Y, i sur. Outcomes of siblings with classical galactosemia. *J Pediatr.* 2009;154(5):721-6.
136. Bosch AM, Bakker HD, Wenniger-Prick LJ, Wanders RJ, Wijburg FA. High tolerance for oral galactose in classical galactosaemia: dietary implications. *Arch Dis Child.* 2004;89(11):1034-6.
137. Frederick AB, Cutler DJ, Fridovich-Keil JL. Rigor of non-dairy galactose restriction in early childhood, measured by retrospective survey, does not associate with severity of five long-term outcomes quantified in 231 children and adults with classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis.* 2017;40(6):813-21.
138. Jumbo-Lucioni PP, Garber K, Kiel J, Baric I, Berry GT, Bosch A, i sur. Diversity of approaches to classic galactosemia around the world: a comparison of diagnosis, intervention, and outcomes. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35(6):1037-49.
139. Ryan EL, Lynch ME, Taddeo E, Gleason TJ, Epstein MP, Fridovich-Keil JL. Cryptic residual GALT activity is a potential modifier of scholastic outcome in school age children with classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis.* 2013;36(6):1049-61.
140. Riehman K, Crews C, Fridovich-Keil JL. Relationship between genotype, activity, and galactose sensitivity in yeast expressing patient alleles of human galactose-1-phosphate uridylyltransferase. *J Biol Chem.* 2001;276(14):10634-40.
141. Robertson A, Singh RH, Guerrero NV, Hundley M, Elsas LJ. Outcomes analysis of verbal dyspraxia in classic galactosemia. *Genet Med.* 2000;2(2):142-8.
142. Shield JP, Wadsworth EJ, MacDonald A, Stephenson A, Tyfield L, Holton JB, i sur. The relationship of genotype to cognitive outcome in galactosaemia. *Arch Dis Child.* 2000;83(3):248-50.
143. Berry GT, Reynolds RA, Yager CT, Segal S. Extended [¹³C]galactose oxidation

- studies in patients with galactosemia. *Mol Genet Metab.* 2004;82(2):130-6.
144. Guerrero NV, Singh RH, Manatunga A, Berry GT, Steiner RD, Elsas LJ, 2nd. Risk factors for premature ovarian failure in females with galactosemia. *J Pediatr.* 2000;137(6):833-41.
145. Welsink-Karssies MM, van Harskamp D, Ferdinandusse S, Hollak CEM, Huidekoper HH, Janssen MCH, i sur. The 1-(13) C galactose breath test in GALT deficient patients distinguishes NBS detected variant patients but does not predict outcome in classical phenotypes. *J Inherit Metab Dis.* 2019.
146. Yuzyuk T, Balakrishnan B, Schwarz EL, De Biase I, Hobert J, Longo N, i sur. Effect of genotype on galactose-1-phosphate in classic galactosemia patients. *Mol Genet Metab.* 2018;125(3):258-65.
147. AHRQ Methods for Effective Health Care. U: Gliklich RE, Dreyer NA, Leavy MB, ur. *Registries for Evaluating Patient Outcomes: A User's Guide.* Rockville (MD):Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2014.
148. d'Acierno A, Facchiano A, Marabotti A. GALT protein database: querying structural and functional features of GALT enzyme. *Hum Mutat.* 2014;35(9):1060-7.

9. ŽIVOTOPIS

Rođena sam u Varaždinu 11.10.1995. godine. Završila sam VII. osnovnu školu Varaždin, a srednjoškolsko obrazovanje u Prvoj gimnaziji Varaždin.

Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu upisujem 2014. godine. Dobitnica sam Dekanove nagrade za postignut uspjeh na drugoj godini studija u akademskoj godini 2015./2016.

Tijekom studija bila sam demonstratorica na Katedri za histologiju i embriologiju akademske godine 2016./2017., Katedri za patofiziologiju 2017./2018. i 2018./2019., Katedri za pedijatriju 2019./2020. te na kolegiju Kliničke propedeutike 2018./2019. i 2019./2020. akademske godine.

Tečno govorim engleski jezik, a samostalno učim i japanski jezik.