

# Klinička i biokemijska obilježja djece s poremećajima beta-oksidacije masnih kiselina

---

**Mlinarić, Stella**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*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:105:686033>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-01-20**



*Repository / Repozitorij:*

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



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Stella Mlinarić**

**Klinička i biokemijska obilježja djece s  
poremećajima beta-oksidacije masnih kiselina**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2019.**

**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Stella Mlinarić**

**Klinička i biokemijska obilježja djece s  
poremećajima beta-oksidacije masnih kiselina**

**DIPLOMSKI RAD**

**Zagreb, 2019.**

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 2018./2019.

Mentor rada: prof. dr. sc. Ivo Barić, dr. med.



# Sadržaj

<b>1. Nasljedne metaboličke bolesti .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Masne kiseline.....</b>	<b>8</b>
2.1. Građa i podjela masnih kiselina .....	8
2.2. Uloge masnih kiselina u organizmu .....	9
2.3. $\beta$ -oksidacija masnih kiselina .....	10
<b>3. Poremećaji oksidacije masnih kiselina .....</b>	<b>14</b>
<b>4. Poremećaji <math>\beta</math>-oksidacije masnih kiselina .....</b>	<b>18</b>
4.1. Nedostatak acil-CoA dehidrogenaze masnih kiselina vrlo dugih lanaca .....	19
4.2. Nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina srednje dugih lanaca .....	23
4.3. Nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina kratkih lanaca .....	26
4.4. Multipli manjak acil-CoA-dehidrogenaza.....	29
4.5. Nedostatak trifunkcijskog proteina .....	31
4.5.1. Nedostatak $\beta$ -hidroksiacil-dehidrogenaze masnih kiselina dugih lanaca .....	35
4.5.2. Nedostatak ketoacil-CoA-tiolaze dugih lanaca .....	37
4.6. Nedostatak $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina kratkih lanaca....	38
<b>5. Zaključak.....</b>	<b>40</b>
<b>6. Zahvale.....</b>	<b>42</b>
<b>7. Popis literature .....</b>	<b>43</b>
<b>8. Životopis .....</b>	<b>52</b>

## Popis slika

Slika 1. Aktivacija masnih kiselina .....	10
Slika 2. Uloga karnitina u prijenosu dugolančanih masnih kiselina kroz unutarnju mitohondrijsku membranu .....	11
Slika 3. $\beta$ -oksidacija dugolančanih masnih kiselina .....	13

## Popis kratica

ALT – alanin-aminotransferaza

AST – aspartat-aminotransferaza

ATP – adenzin-trifosfat

CK – kreatin-kinaza

Co-A – koenzim A

CTP-1 – karnitin-palmitoil-transferaza 1

DNA – deoksiribonukleinska kiselina

EMA – etilmalonska kiselina

ETF – flavoprotein za prijenos elektrona

ETFDH – ETF-dehidrogenaza

FAD/FADH<sub>2</sub> – flavin- adenindinukleotid (oksidirani oblik/reducirani oblik)

HELLP – hemoliza, povišeni jetreni enzimi i smanjeni broj trombocita

(od engl. *hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count*)

LCHAD –  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaza masnih kiselina dugih lanaca

LCHET –  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaza masnih kiselina dugih lanaca

LCKAT –  $\beta$ -ketoacil-CoA-tiolaza masnih kiselina dugih lanaca

MCAD – acil-CoA-dehidrogenaza masnih kiselina srednje dugih lanaca

MCT – triacilgliceroli srednje dugih lanaca

MR – magnetska rezonancija

NAD<sup>+</sup>/NADH – nikotinamid-adenin-dinukleotid (oksidirani oblik/reducirani oblik)

PP<sub>i</sub> – pirofosfat

SCAD – acil-CoA-dehidrogenaza masnih kiselina kratkih lanaca

SCHAD –  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaza masnih kiselina kratkih lanaca

TFP – trifunkcijski protein

VLCAD – acil-CoA-dehidrogenaza masnih kiselina vrlo dugih lanaca



## Sažetak

### Klinička i biokemijska obilježja djece s poremećajima beta- oksidacije masnih kiselina

Stella Mlinarić

Mitohondrijski poremećaji  $\beta$ -oksidacije su heterogena skupina prirođenih metaboličkih pogrešaka koje se nasljeđuju autosomno recesivno. Masne kiseline ulaze u proces  $\beta$ -oksidacije, katabolički proces kojim se molekule masnih kiselina razgrađuju kada je mast potrebna kao izvor energije, tijekom razdoblja smanjenog energetskeg unosa ili povećanih energijskih potreba. Do sada je opisano osam različitih poremećaja.

Ovi poremećaji razlikuju se prema vremenskom nastupu, težini i širokom rasponu kliničkih manifestacija, uglavnom povezanih s oštećenjem organa koji imaju povećane metaboličke potrebe. Postoje tri klinička oblika bolesti u svim dobnim skupinama. Neonatalni fenotip je najteži i često po život opasan. Pacijenti obično imaju teška jetrena oštećenja, kardiomiopatiju i mišićnu slabost, a dio pacijenata i encefalopatiju. Infantilni tip javlja se u dojenčadi, ranoj dječjoj ili predškolskoj dobi, s povremenim epizodama letargije, povraćanja, hipoglikemije, disfunkcije jetre, rabdomiolize, srčane slabosti, najčešće povezanim s interkurentnim bolestima. Svi navedeni simptomi ne moraju biti dio svake metaboličke krize. Neki pacijenti godinama mogu biti bez simptoma, iako stalno izloženi riziku od teške metaboličke dekompenzacije i oštećenja organa tijekom bolesti, gladovanja i drugih stresnih stanja. Mišićni tip javlja se kasnije, a obično je praćen mišićnom slabošću, mialgijama, rabdomiolizom te rizikom od oštećenja bubrega.

Nakupljanje specifičnih acil-karnitina u krvi i organskih kiselina u urinu karakteristično je za ove poremećaje. Tijekom krize često dolazi do hipoketotične hipoglikemije. Većinom su povećane koncentracije amonijaka, te katalitičke koncentracije kreatin-kinaze i amino-transferaza. Da bi se potvrdila dijagnoza, potrebno je napraviti genetsko testiranje ili mjerenje aktivnosti enzima. Budući da rana dijagnoza i rani početak liječenja poboljšavaju ishode, poremećaji oksidacije masnih kiselina dio su novorođenačkog probira u mnogim zemljama.

**Ključne riječi:** beta-oksidacija, acilkarnitin, hipoketotična hipoglikemija, oštećenje organa, novorođenački probir

## Summary

### Clinical and biochemical characteristics of children with fatty acid beta-oxidation disorders

Stella Mlinarić

Mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation disorders are a heterogeneous group of congenital errors of metabolism that are inherited in an autosomal recessive way. Fatty acids undergo mitochondrial  $\beta$ -oxidation, the catabolic process by which fatty acid molecules are broken down when fat is needed as an energy source, during periods of decreased energy intake or increased energy demands. So far, eight different disorders have been described.

These disorders are characterized by different age of onset, severity and a wide variety of clinical manifestations, mostly related to the damage of high metabolic demanding organs. There are three variable clinical forms of disease in all ages. The neonatal phenotype is the most severe, life-threatening presentation of these disorders. Patients usually present with severe hepatopathy, cardiomyopathy and skeletal myopathy, whereas some patients may suffer encephalopathy. The infantile phenotype presents in infancy, early childhood or pre-school age with intermittent episodes of lethargy, vomiting, hypoglycemia, liver dysfunction, rhabdomyolysis and cardiomyopathy, usually associated with intercurrent illnesses. Some patients can be without symptoms for years, although at risk of severe metabolic decompensation and organ damage during illness, fasting and other stressful conditions. The myopathic type presents at a later age, with episodes of muscle weakness, myalgias, rhabdomyolysis, and risk of renal damage.

Accumulation of the specific acylcarnitine species in blood and organic acids in urine is characteristic of these disorders. Hypoketotic hypoglycemia often occurs during the crisis. Mostly, elevated levels of ammonia, creatine kinase and aminotransferases are present. To confirm the diagnosis, genetic testing or measurement of enzyme activity should be done. Since early diagnosis and early initiation of treatment are improving outcomes, fatty-acid-oxidation disorders are part of a newborn screening in many countries.

**Key words:** beta-oxidation, acylcarnitine, hypoketotic hypoglycemia, organ damage, newborn screening

# 1. Nasljedne metaboličke bolesti

Nasljedne metaboličke bolesti svrstavaju se u skupinu monogeniski nasljednih bolesti. Individualno su to rijetke bolesti, no zajedno čine značajan udio monogeniskih bolesti u pedijatrijskoj populaciji. Uzrokovane su mutacijama po jednog gena te se uglavnom nasljeđuju prema Mendelovim pravilima nasljeđivanja, najčešće autosomno recesivno, a rjeđe autosomno dominantno ili X-vezano. Pojedine nasljedne metaboličke bolesti mogu se nasljeđivati prema maternalnom tipu nasljeđivanja koji ne slijedi Mendelove zakone. Različite vrste mutacija gena najčešće dovode do promjena u aktivnosti proteina, od blago smanjene aktivnosti do potpune inaktivnosti. Posljedično nastaju biokemijski poremećaji te se, ako je riječ o enzimima, ili nakupljaju supstrati, koji imaju direktan toksični učinak u organizmu ili indirektno ometaju odvijanje drugih metaboličkih puteva, ili nedostaje produkt neke enzimske reakcije. Patogeneza je drugačija ukoliko je riječ o proteinima koji nemaju enzimsku već neku drugu funkciju (prijenosnici, receptori, itd). Otkrivanje novih poremećaja i poboljšanje razumijevanja patofiziologije postojećih dovode do promjene u njihovoj klasifikaciji. Prema važećoj klasifikaciji, glavne skupine metaboličkih bolesti čine:

1. Poremećaji metabolizma spojeva koji sadrže dušik
2. Poremećaji metabolizma vitamina, kofaktora i mineralnih tvari
3. Poremećaji metabolizma ugljikohidrata
4. Mitohondrijski poremećaji metabolizma energije
5. Poremećaji metabolizma lipida
6. Poremećaji metabolizma tetrapirola
7. Poremećaji skladištenja
8. Poremećaji peroksisoma i oksalata
9. Kongenitalni poremećaji glikozilacije

Razvojem tehnologije i posljedično novih laboratorijskih metoda povećava se opseg znanja o dosad poznatim nasljednim poremećajima metabolizma te se „otkrivaju“ nove bolesti. Napredak medicine omogućuje sve ranije postavljanje dijagnoze i liječenje, što podiže kvalitetu života pacijenata i smanjuje mortalitet. Velik broj nasljednih metaboličkih bolesti može se uspješno liječiti, stoga je važan segment na putu postavljanja dijagnoze diferencijalno dijagnostički razmišljati o njima na svim razinama zdravstvene zaštite, posebice kada se bolest očituje neuobičajenom kliničkom slikom

ili ako u obitelji postoji član sa sličnom kliničkom slikom ili bolesti. Pravodobna dijagnoza i znanje o svakoj pojedinoj bolesti važni su za pacijenta, bliske članove obitelji i širu rodbinu zbog prirode nasljeđivanja i mogućnosti genskog savjetovanja (1,2).

Ovaj rad orijentiran je prema skupini poremećaja metabolizma masnih kiselina. Točnije, iznosi dosadašnje spoznaje o kliničkim i biokemijskim obilježjima djece s poremećajima mitohondrijske  $\beta$ -oksidacije masnih kiselina, naglašavajući također dijagnostičke i terapijske mogućnosti te novorođenački probir.

## 2. Masne kiseline

### 2.1. Građa i podjela masnih kiselina

Masne kiseline su prema kemijskoj strukturi karboksilne kiseline građene od ugljikovodičnog lanca  $(-\text{CH}_2-)_n$ , s karboksilnom skupinom  $(-\text{COOH})$  na jednom kraju molekule, a metilnom skupinom  $(-\text{CH}_3)$  na drugom kraju molekule. To su amfipatske molekule koje polarnim krajem, na kojemu je smještena karboksilna skupina, privlače vodu, a suprotnim, nepolarnim, odbijaju vodu. Zajedničko svojstvo im je dobra topljivost u organskim otapalima, a loša topljivost u vodi. Osnovna su gradivna jedinica složenih lipida (esteri, fosfolipidi, triacilgliceroli i glikolipidi) što upućuje na raznolikost uloga u ljudskom organizmu. Strukturna, kemijska i fizikalna svojstva masnih kiselina posljedica su četiriju karakteristika u građi, a to su: broj ugljikovih atoma, prisutnost i broj dvostrukih veza između ugljikovih atoma, lokalizacija te konfiguracija dvostrukih veza.

Zasićene masne kiseline one su koje ne sadrže dvostruke veze, jer se vodik u maksimalnom mogućem broju veže za ugljikove atome u lancu, dok su nezasićene one koje sadrže barem jednu dvostruku vezu među ugljikovim atomima. Nezasićene masne kiseline s jednom dvostrukom vezom su mononezasićene masne kiseline, a one s dvije ili više nazivamo polinezasićene masne kiseline. Masne kiseline prema broju ugljikovih atoma mogu biti: masne kiseline kratkih lanaca (3-7 ugljikovih atoma), srednje dugih lanaca (8-13 ugljikovih atoma), dugih (14-20 ugljikovih atoma) i vrlo dugih lanaca (>21 ugljikov atom). Nezasićene masne kiseline prema broju ugljikovih atoma mogu biti: masne kiseline kratkih lanaca (<19 ugljikovih atoma), dugih lanaca (20-24 ugljikova atoma) i vrlo dugih lanaca (>25 ugljikovih atoma). Dvostruka veza može imati *cis* ili *trans* konfiguraciju, pri čemu *cis* označava orijentaciju dvaju vodikovih atoma oko dvostruke veze u istoj ravnini, dok *trans* označava orijentaciju dvaju vodikovih atoma oko dvostruke veze u različitim ravninama. Gotovo su sve prirodne masne kiseline u *cis* obliku, a *trans* oblik produkt je hidrogenacije (3,4).

## 2.2. Uloge masnih kiselina u organizmu

Izvor i skladište energije, izgradnja staničnih membrana i međustanična signalizacija neke su od uloga masnih kiselina u ljudskom organizmu. Kao izvor energije, masne kiseline u organizam mogu biti unesene prehranom, mobilizirane iz unutarstaničnih skladišta, pretežito jetre i masnoga tkiva, ili *de novo* sintetizirane.

Tijekom probave, većina se unesenih triacilglicerola u lumenu crijeva razgrađuje na monoacilglicerole i masne kiseline, koji potom prolaze kroz epitel tankog crijeva te ponovno formiraju molekule triacilglicerola. Triacilgliceroli zajedno s kolesterolom, fosfolipidima i apoproteinom-B tvore hilomikrone. Hilomikroni se prenose limfom do krvotoka, a potom ih lipoproteinska lipaza na endotelu kapilara masnog tkiva, srca i mišića hidrolizira te ponovno nastaju masne kiseline i glicerol. Gastrointestinalni hormoni signaliziraju potrebu za energijom te potiču mobilizaciju masnih kiselina iz skladišta u krv koja ih doprema do tkiva. *De novo* sinteza masnih kiselina najaktivnija je u jetri te mliječnoj žlijezdi prilikom laktacije (3,4). Nakon unutarstanične aktivacije, masne kiseline srednjih i kratkih lanaca difundiraju unutar mitohondrija, dok se mobilizacija masnih kiselina dugih lanaca u mitohondrij vrši uz pomoć karnitinskog ciklusa. Njihovom se razgradnjom unutar mitohondrija konačno stvaraju molekule adenozin trifosfata (ATP). Kao izvor energije masne su kiseline najpotrebnije prilikom gladovanja, za vrijeme produljene i intenzivne tjelesne aktivnosti, u akutnim infekcijama kada su zalihe glukoze ograničene. Tkiva koja najviše koriste masne kiseline su jetra, srce i skeletni mišići. Jetra u navedenim okolnostima proizvodi ketonska tijela koja su tada glavni izvor energije za mozak (5).

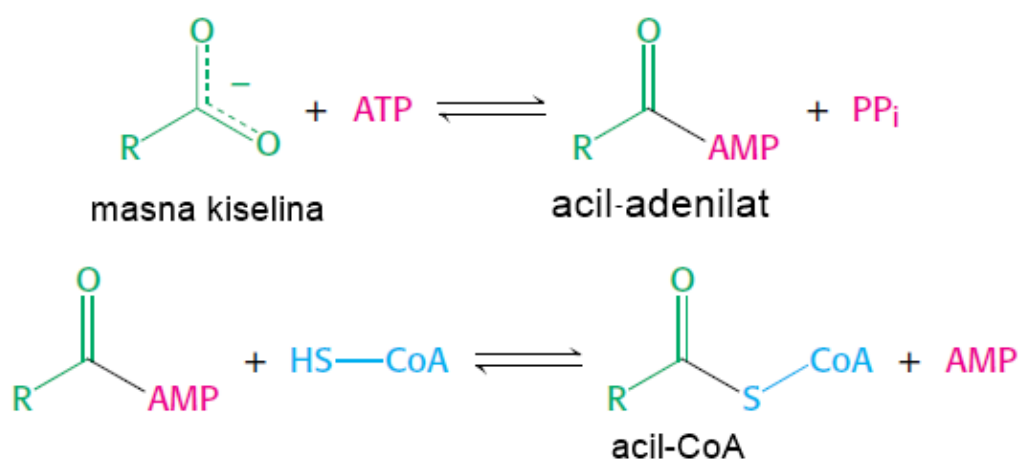
Nadalje, masne kiseline su gradivne jedinice fosfolipida i glikolipida koji tvore lipidni dvosloj stanične membrane. Struktura masnih kiselina modulira membransku propusnost i aktivnost membranskih receptora. Veća zastupljenost zasićenih masnih kiselina u membrani smanjuje propusnost membrane, dok veća zastupljenost nezasićenih masnih kiselina povećava propusnost stanične membrane.

Polinezasićene masne kiseline prekursori su eikozaonida, signalnih molekula važnih za odvijanje agregacije trombocita, kemotaksije i staničnog rasta. Glavni predstavnici su: leukotrieni, prostaglandini, tromboksani, prostaciklini, lipoksini i hidroperoksi-masne kiseline (3,4).

### 2.3. $\beta$ -oksidacija masnih kiselina

$\beta$ -oksidacija masnih kiselina ciklički je biokemijski proces razgradnje masnih kiselina koji rezultira nastankom određenog broja molekula acetil-CoA, koje zatim ulaze u daljnje procese dobivanja energije. Iako se masne kiseline oksidiraju do acetil-CoA, ali i sintetiziraju iz istih, procesi nisu ni reverzibilni niti se odvijaju u istim staničnim odjeljcima.  $\beta$ -oksidacija odvija se u mitohondrijima, individualno je kontrolirana, ali usklađena s potrebama tkiva. Osim mitohondrija, i peroksisomi sadrže sve potrebne enzime za  $\beta$ -oksidaciju.

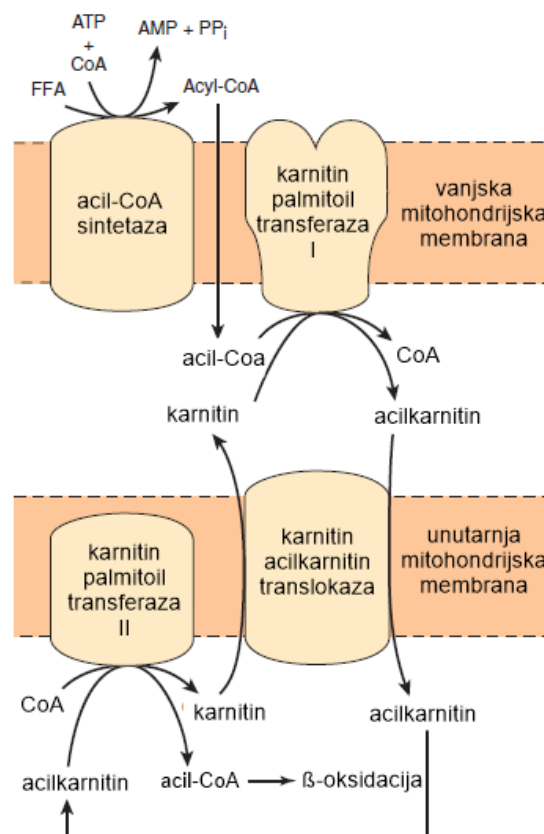
Masne se kiseline prije razgradnje moraju pregraditi u aktivni intermedijer, a potom proći kroz obje mitohondrijske membrane. Aktivacija masnih kiselina jedini je aktivni korak u procesu razgradnje, prilikom čega se koristi energija molekule ATP-a. Enzim acil-CoA-sintetaza u prisutnosti ATP-a i koenzima A katalizira pretvaranje masne kiseline u acil-CoA, aktiviranu masnu kiselinu, a pritom se troši jedan visokoenergijski fosfat te nastaje adenzin monofosfat (AMP) i pirofosfat ( $PP_i$ ). Enzim acil-CoA-sintetaza nalazi se na vanjskoj mitohondrijskoj membrani, unutarnjoj mitohondrijskoj membrani, endoplazmatskoj mrežici i u peroksisomima. Anorganska pirofosfataza hidrolizira nastali  $PP_i$  za što se troši još jedna energijom bogata veza i reakcija se dovršava (Slika 1).



Slika 1. Aktivacija masnih kiselina

(Preuzeto iz reference 6 i neznatno modificirano)

Nakon aktivacije na vanjskoj mitohondrijskoj membrani, dugolančane masne kiseline moraju proći kroz mitohondrijske membrane kako bi bile dostupne enzimima oksidacije, a to ostvaruju kao derivati karnitina. Karnitin-palmitoil-transferaza I (CPT-1) enzim je na vanjskoj mitohondrijskoj membrani, a glavna uloga mu je pregraditi acil-CoA u acilkarnitin, aktivni intermedijer koji je sposoban proći kroz unutarnju membranu mitohondrija. Na unutarnjoj membrani nalazi se karnitin-acilkarnitin-translokaza. To je kontratransporter koji u matriks mitohondrija unosi jednu molekulu acilkarnitina, a izbacuje molekulu karnitina natrag u citosol kako bi bio ponovno dostupan enzimu CPT-1. Na istoj membrani nalazi se i karnitin-palmitoil-transferaza II koja, oslobađajući karnitin iz acilkarnitina, stvara acil-CoA, spreman za proces  $\beta$ -oksidacije (Slika 2).



Slika 2. Uloga karnitina u prijenosu dugolančanih masnih kiselina kroz unutarnju mitohondrijsku membranu

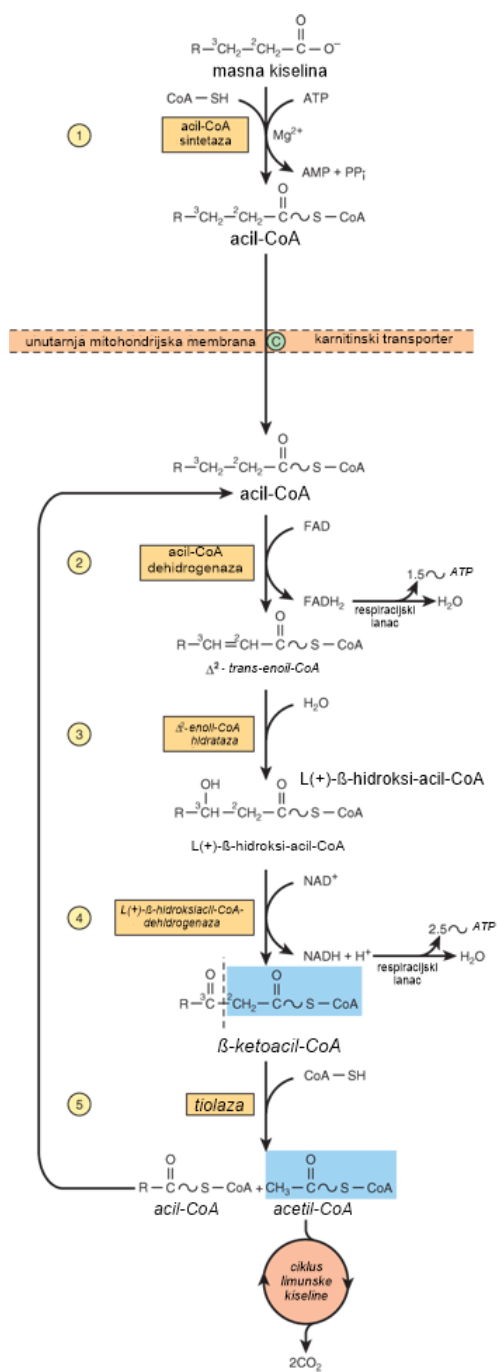
(Preuzeto iz reference 7 i neznatno modificirano)



Svaki ciklus  $\beta$ -oksidacije počinje na karboksilnom kraju molekule. Istodobno se odcjepljuju dva ugljikova atoma s molekule acil-CoA te ovisno o duljini dugolančane masne kiseline konačno nastaje različiti broj molekula acetil-CoA. Ciklus čine četiri ključne reakcije.

Prva reakcija svakog ciklusa je oksidacija acil-CoA uz pomoć jednog enzima iz obitelji acil-CoA-dehidrogenaza, za koje je FAD vezan kao prostetička skupina. Produkti reakcije su  $\Delta^2$ -trans-enoil-CoA te dva elektrona koja FADH<sub>2</sub> prenosi elektronskom nosaču (ETFP) na mitohondrijskom respiratornom lancu. Ovisno u duljini masne kiseline, prvu reakciju  $\beta$ -oksidacije katalizira acil-CoA-dehidrogenaza masnih kiselina vrlo dugih lanaca, acil-CoA-dehidrogenaza srednje dugih lanaca ili acil CoA-dehidrogenaza kratkih lanaca (VLCAD,MCAD,SCAD). Drugu reakciju hidratacije katalizira enzim  $\Delta^2$ -enoil-CoA-hidrataza, a produkt reakcije je  $\beta$ -hidroksiacil-CoA. Dehidrogenacijom, enzimom L(+)- $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaza u trećem koraku ciklusa nastaje spoj  $\beta$ -ketoacil-CoA. Ponovno, ovisno o duljini masne kiseline reakciju katalizira ili  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaza kratkih lanaca (HADH) ili  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaza dugih lanaca (LCHAD). Također, redukcijom NAD<sup>+</sup> nastaje NADH koji elektrone predaje NADH dehidrogenazi, elektronskom nosaču na mitohondrijskom respiratornom lancu. U posljednjem koraku,  $\beta$ -ketoacil-CoA cijepa se enzimom tiolaza na acetil-CoA i novu molekulu acil-CoA, kraću za dva ugljikova atoma u odnosu na početnu molekulu. Acil-CoA ponovno ulazi u ciklus oksidacije, a molekula acetil-CoA oksidira u ciklusu limunske kiseline. Enzimi  $\Delta^2$ -enoil-CoA-hidrataza,  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaza i  $\beta$ -ketoacil-CoA tiolaza dugih lanaca čine trifunkcijski protein (TFP) (Slika 3).

Oksidacija masnih kiselina s neparnim brojem ugljikovih atoma uobičajenog je tijeka do posljednjeg ciklusa u kojemu ostaje ostatak s tri ugljikova atoma, propionil-CoA, koji se pretvara u sukcinil-CoA, komponentu ciklusa limunske kiseline (6,7).



Slika 3. β-oksidacija dugolančanih masnih kiselina  
(Preuzeto iz reference 7 i neznatno modificirano)

### 3. Poremećaji oksidacije masnih kiselina

Oksidacija masnih kiselina jedan je od ključnih metaboličkih puteva dobivanja energije. Spomenuto je kako se njegova važnost posebno očituje u periodima gladovanja, kada je dostupnost glukoze smanjena, pa se 80% energije dobiva metabolizmom masnih kiselina. Također, prilikom febrilnih stanja, izloženosti hladnoći i povećanog mišićnog napora, kada je potreba za glukozom i energijom povećana, većina tkiva, osim mozga, direktno koristi masne kiseline kao izvor energije. Istovremeno, jetra koristi masne kiseline za sintezu ketonskih tijela, koja služe kao izvor energije svim tkivima, uključujući i mozak (5,8).

Incidencija svih poremećaja oksidacije masnih kiselina u svijetu je od 1:5 000 do 1:10000 rođenih, no incidencija individualnih poremećaja značajno varira. Svi se poremećaji nasljeđuju autosomno recesivno. Pacijenti od roditelja nasljeđuju dvije kopije gena koje sadrže patogenu mutaciju ili patogenu varijantu sekvence DNA. Roditelji pacijenata s poremećajima oksidacije masnih kiselina najčešće su zdravi heterozigoti s mogućim blagim biokemijskim abnormalnostima. Konsanguinitet nije rijetkost u ovim obiteljima, kao ni obiteljska anamneza novorođenačke smrti nedokazanog uzroka, spontanih pobačaja i dr. Mutacije u genima rezultiraju promjenama u proteinima koje kodiraju, a posljedično je opskrba stanica energijom manjkava, nakupljaju se toksični metaboliti, mijenja se proizvodnja enzimskog produkta te se gubi interakcija među proteinima. Općenito gledajući, postoje tri oblika poremećaja oksidacije masnih kiselina, ovisno o dobi i kliničkoj slici. Nastup bolesti u novorođenačkom periodu karakteriziran je teškom kliničkom slikom s razvojem kardiomiopatije, hipoketotične hipoglikemije, mišićne slabosti (često s težom rabdomiolizom), jetrene disfunkcije u prvim danima, tjednima ili mjesecima života te često ima letalni ishod. Infantilni tip bolesti javlja se u dojenčadi, ranoj dječjoj ili predškolskoj dobi. Klinička slika ovog tipa bolesti je obilježena povremenim epizodama letargije, povraćanja, hipoglikemije, disfunkcije jetre, rabdomiolize i srčane slabost, najčešće povezanim s interkurentnim bolestima. Mišićni tip javlja se u doba adolescencije i kasnije, te je praćen grčevima u mišićima, mialgijom, rabdomiolizom i posljedičnim rizikom za bubrežno oštećenje. Unatoč gruboj kategorizaciji, važno je napomenuti kako je spektar kliničkih slika vrlo širok, od blagih fenotipova koje neki liječnici ni ne smatraju bolestima do vrlo teških, pa i fatalnih fenotipova. Kompleksnost se očituje i u individualnim razlikama fenotipova unutar jedne bolesti, što upućuje na

ispreplitanje utjecaja genetskih, okolišnih, staničnih i drugih čimbenika. Bitno obilježje kliničke slike jest nastup kriza opasnih po život u okolnostima u kojima je tijelu potrebna dodatna energija (gladovanje, teži tjelesni napor, infekcije, operacije, cijepljenje i slično). Krize su posljedica akutnog pogoršanja funkcije srca, mišića i jetre, a težina krize ovisi o više čimbenika, poput dobi pacijenta i vrsti nasljednog poremećaja (5,8,9).

U periodima izvan kriza rezultati relevantnih laboratorijskih pretraga mogu biti bez osobitosti. Nastupom krize, u krvi dolazi do povećanja koncentracije enzima ili metabolita specifičnih za zahvaćeni organ, no takav nalaz može ukazivati na brojne druge poremećaje, metaboličke ili nemetaboličke. U krizi se hipoglikemija može pojaviti kod većine bolesti iz ove skupine. S obzirom da zbog poremećaja aktivnosti enzima  $\beta$ -oksidacije nema preduvjeta za stvaranje ketonskih tijela, radi se o hipoketotičnoj hipoglikemiji. Profil acilkarnitina u krvi može upućivati na jedan ili više poremećaja  $\beta$ -oksidacije i vrlo je važna pretraga u procesu postavljanja dijagnoze. U urinu je tipično pojačano izlučivanje dikarboksilnih kiselina. Za potvrdu dijagnoze može se učiniti genska analiza. Genetsko testiranje uključuje analizu pojedinih gena sekvenciranjem, često i analizom delecija/duplikacija, kada je fenotip jasno povezan s poznatim kliničkim i biokemijskim fenotipom, ili genske panele, kada klinički fenotip i biokemijski podaci nisu dovoljno jasni. Pronalazak po jedne patogene varijante gena na svakom alelu istog gena potvrđuje dijagnozu. Postoji mogućnost provođenja specifičnih biokemijskih testova poput Western blot metode, analize masnih kiselina i analize aktivnost enzima u leukocitima ili kulturi fibroblasta. Nakupljanje masti u mišićima, jetri, srcu, a katkad i u drugim organima vidljivo je na histološkim preparatima te također može uputiti na dijagnozu. Terapija ovisi o konačnoj dijagnozi, no postoje opće smjernice koje vrijede za većinu poremećaja. Ključne su preventivne mjere poput izbjegavanja gladovanja i dodatni oprez za vrijeme tjelesne aktivnosti, akutnih infektivnih i drugih stresnih stanja. Kako bi se izbjeglo gladovanje, važno je uvesti češće obroke i uzimati hranu bogatu polisaharidima prije spavanja (kukuruzni škrob). Kod poremećaja razgradnje masnih kiselina dugih lanaca korisno je uzimanje ulja s triacilglicerolima srednjih lanaca. Potrebno je pratiti dnevni energetske unos masti i ugljikohidrata, modulirati unos masnih kiselina ovisno o tipu poremećaja te, prema potrebi, uvesti dodatke prehrani. Medikamentna terapija nije uvijek potrebna, a svakom pacijentu potrebno je individualno pristupiti te ga dugoročno pratiti. Iznimno je važno pri prvoj pojavi simptoma metaboličke krize u pacijenata sa sumnjom na poremećaj

oksidacije masnih kiselina hitno dati u dovoljnoj količini otopinu glukoze intravenski (obično je to 10%-tna otopina), a potom učiniti daljnju obradu. Danas se većina poremećaja oksidacije masnih kiselina može rano dijagnosticirati analizom acilkarnitina iz suhe kapi krvi novorođenačkim probirom, uz pomoć tandemске spektrometrije masa. Na taj način mogu se otkriti nedostaci enzima acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina vrlo dugih lanaca (VLCAD), acil-CoA dehidrogenaze masnih kiselina srednje dugih lanaca (MCAD), acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina kratkih lanaca (SCAD),  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze dugih lanaca (LCHAD),  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze kratkih lanaca (HADH),  $\beta$ -ketoacil-CoA tiolaze (LCKAT), trifunkcijskog proteina (TFP) i glutarna acidurija tip 2. Također, moguće je otkriti poremećaje karnitinskog ciklusa, potpuni nedostatak karnitina, nedostatak enzima karnitin-palmitoiltransferaze tip 1 (CPT-1), karnitin-palmitoiltransferaze tip 2 (CPT-2) te nedostatak karnitin-acilkarnitin translokaze. U Republici Hrvatskoj se od listopada 2017. godine tim pristupom otkrivaju nedostaci MCAD-a, VLCAD-a, te TFP-a/LCHAD-a. U slučaju pozitivnog rezultata novorođenačkog probira osobu je potrebno pregledati u referentnom metaboličkom centru te učiniti daljnja genetska i specijalizirana biokemijska testiranja za potvrdu dijagnoze. Postotak lažno pozitivnih rezultata dobivenih probirom nije zanemariv. Često se detektiraju nositelji mutacija ili pojedinci s genskim varijantama koje uzrokuju blaži oblik bolesti. Dio njih nikada neće razviti simptome bolesti, dok će se kod nekih manifestirati tek u kasnijoj životnoj dobi. Zato se stavlja naglasak na dugoročno praćenje pacijenata i provođenje studija koje će razlučiti koji genotipovi uzrokuju klinički značajan fenotip, a koji su bezazleni, kako bi se znalo koje pacijente treba aktivno liječiti i pratiti, a koje zaštititi od opetovanih „nepotrebnih“ kontrolnih pregleda (5,8–11).

Poremećaji oksidacije masnih kiselina mogu se klasificirati ovisno o duljini masnih kiselina ili češće ovisno o nedostatku specifičnog proteina, odnosno enzima metaboličkom u lancu. Spektar nasljednih poremećaja oksidacije masnih kiselina dugih lanaca dodatno uključuje i poremećaje karnitinskog ciklusa.

Ovisno o poremećaju aktivnosti specifičnog enzima u sklopu procesa mitohondrijske oksidacije masnih kiselina, skupine nasljednih poremećaja mitohondrijske oksidacije masnih kiselina su (12):

1. Poremećaji karnitinskog ciklusa

- 1.1. Primarni nedostatak karnitina
- 1.2. Nedostatak karnitin-palmitoiltransferaze tip 1 (CPT-1)
- 1.3. Nedostatak karnitin-acilkarnitin translokaze
- 1.4. Nedostatak karnitin-palmitoiltransferaze tip 2 (CPT-2)

2. Poremećaji  $\beta$ -oksidacije masnih kiselina

- 2.1. Manjak acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina vrlo dugih lanaca (VLCAD)
- 2.2. Manjak acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina srednje dugih lanaca (MCAD)
- 2.3. Nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina kratkih lanaca (SCAD)
- 2.4. Glutarna acidurija tip 2
- 2.5. Nedostatak  $\beta$ -hidroxiacil-CoA-dehidrogenaze dugih lanaca (LCHAD)
- 2.6. Nedostatak  $\beta$ -hidroxiacil-CoA-dehidrogenaze kratkih lanaca (SCHAD)
- 2.7. Nedostatak  $\beta$ -ketoacil-CoA-tiolaze masnih kiselina dugih lanaca (LCKAT)
- 2.8. Nedostatak trifunkcijskog proteina (TFP = LCHAD + LCEH + LCKAT)

## 4. Poremećaji $\beta$ -oksidacije masnih kiselina

Osam specifičnih poremećaja čine skupinu poremećaja  $\beta$ -oksidacije masnih kiselina. Već navedena obilježja cijele skupine poremećaja oksidacije masnih kiselina vrijede kod većine pojedinih  $\beta$ -oksidacijskih poremećaja. Različite vrste mutacija, primjerice mutacije pogrešnog smisla (od engl. *missense*), besmislene (od engl. *nonsense*) ili one koje uzrokuju pomak okvira čitanja (od engl. *frameshift*) uzrokuju smanjenje aktivnosti ili potpuni gubitak aktivnosti enzima  $\beta$ -oksidacijskog lanca. Reakcije ciklusa staju na pojedinoj razini te dolazi do nakupljanja međuprodukata reakcije. Njihovo toksično djelovanje i nedostatna proizvodnja ATP-a uzrokuju oštećenja pojedinih organa (srce, jetra, skeletni mišići, mozak) pa se javljaju kliničke manifestacije bolesti, praćene povećanjem koncentracije enzima i metabolita u krvi. Pojedine bolesti javljaju se već u neonatalnom razdoblju, dok se druge očituju kasnije, neke i u odrasloj dobi. Neonatalni nastup bolesti češće je obilježen težim fenotipom te nerijetko ima letalni ishod, u suprotnosti s nastupom bolesti u doba adolescencije ili odrasloj dobi. Već je spomenuto kako su gladovanje, infekcije, operacije, cijepljenje i slične situacije, opasne za ovu skupinu pacijenata jer dovode do teških metaboličkih kriza koje, ukoliko se ne prepoznaju na vrijeme, nekada dovode do nepovratnih oštećenja (8,9,12).

Iako se  $\beta$ -oksidacija odvija i u peroksisomima, ovaj rad je orijentiran na mitohondrijsku  $\beta$ -oksidaciju. Cilj je pobliže opisati kliničke i biokemijske osobitosti pacijenata s pojedinim poremećajem mitohondrijske  $\beta$ -oksidacije, dosad navedene u literaturi. Slika pojedinog poremećaja nije uvijek jedinstvena, štoviše, vrlo često je kompleksna, te se isprepliće sa simptomima drugih  $\beta$ -oksidacijskih poremećaja, ali i ostalih bolesti, no uparivanje simptoma, laboratorijskih nalaza i molekularnih testova dovodi do konačne dijagnoze. Rad se osvrće na kliničku sliku za vrijeme i izvan metaboličke krize, te naglašava fenotipske karakteristike koje imaju kroničan tijek i nerijetko dovode do komplikacija. Rana dijagnoza i uvođenje terapije promijenile su tijek bolesti na bolje kod brojnih pacijenata, što slučajevi pacijenata opisani u novijoj literaturi i dokazuju.

## 4.1. Nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina vrlo dugih lanaca

Acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina vrlo dugih lanaca (VLCAD) je homodimer smješten na unutarnjoj mitohondrijskoj membrani, a katalizira inicijalni korak  $\beta$ -oksidacije dugolančanih acil-CoA estera. Incidencija bolesti je 1:30 000 do 1:100 000 rođenih, s opisanih preko 800 slučajeva. Enzim VLCAD kodiran je genom *ACADVL* koji sadrži 20 egzona i nalazi se u regiji 17p13 u kojoj se i dalje opisuju brojne nove mutacije, no klinički značaj većine još uvijek nije dokazan. Dosad nije opisana jedinstvena korelacija genotipa i fenotipa, no smatra se da je priroda mutacije važna za razvoj fenotipa. Potpuni gubitak enzimске aktivnosti rezultira teškom kliničkom slikom s ranim nastupom bolesti u neonatalnom razdoblju. S druge strane, ostatna enzimska aktivnost vidljiva je kod blažih fenotipova, s nastupom bolesti u djetinjstvu ili odrasloj dobi, a posljedica je mutacija pogrešnog smisla. Najčešće opisivana varijanta gena povezana s blažim fenotipovima je c.848T>C (p.Val283Ala), jednako kod homozigota i složenih heterozigota. U složenih heterozigota s kombinacijom varijanti c.848T>C i c.342+ 1G>C zamijećen je rani nastup hipoglikemije, dok je asimptomatski nastup bolesti zamijećen u pacijenta s kombinacijom varijanti c.848T>C i c.1376G>A. Ovakva se klinička slika objašnjava već naglašenom različitom prirodom mutacija koja uvjetuje težinu bolesti (13–19). Zbog brojnih varijanti za koje se još uvijek ne zna značaj, Diekman i suradnici (20) kao dobar prediktivni model budućeg fenotipa predlažu analizu acilkarnitina u kulturi fibroblasta, superiorno genotipu (20).

Pojedina istraživanja pokazuju kako majke koje nose dijete s nedostatkom enzima VLCAD u trudnoći tipično ne razvijaju komplikacije poput akutno masne jetre, preeklampsije i sindroma HELLP te trudnoću iznose do termina, što često nije slučaj s trudnoćama u kojima plod ima poremećaj trifunkcijskog enzima (19,21,22). Obaid i suradnici (23) su prikazali 37 pacijenata s nedostatkom ovog enzima, a jedan od rezultata njihova istraživanja prikazuje način nasljeđivanja nedostatka enzima VLCAD. U svim obiteljima roditelji su bili zdravi heterozigoti u krvnom srodstvu, te je obiteljska anamneza neočekivane fetalne smrti bila pozitivna u 31 obitelji. Nedostatak enzima VLCAD klinički se klasificira prema težini i vremenu nastupa kliničke slike, slično nekim drugim poremećajima oksidacije masnih kiselina. Tri tipične prezentacije bolesti su: kardijalni tip bolesti s ranim nastupom, hepatički tip bolesti s odgođenom prvom manifestacijom i mišićni tip s prvom pojavom u kasnom djetinjstvu ili odrasloj dobi (13).



Teški fenotip s ranim nastupom, poznat kao kardijalni tip bolesti, praćen je hipertrofičnom ili dilatativnom kardiomiopatijom, perikardijalnim izljevom, aritmijama, a potom i hepatomegalijom praćenom hepatičkom encefalopatijom, smanjenom aktivnošću, hipotonijom, hiporefleksijom ili teškom hipoketotičnom hipoglikemijom što često dovodi do multiorganskog zatajenja i završava fatalno unutar prve godine života. Opisani su pacijenti s razvojnim strukturnim srčanim pogreškama (atrijski septalni defekt, ventrikularni septalni defekt, otvoreni *foramen ovale*, anomalije plućne arterije i dr.), no zbog slične incidencije kao i u općoj populaciji, nije razjašnjeno jesu li povezane s nedostatkom enzima VLCAD ili se radi o strukturnoj pogrešci u istraživanjima. Abnormalnosti u EKG-u povezane s ovim poremećajem su: produljenje QT intervala, undulacija atrijska, ventrikularna fibrilacija, ventrikularna tahikardija i atrio-ventrikularni blok (14,19,22–24). Slučaj novorođenčeta s prvom manifestacijom bolesti 24h po rođenju vrlo je edukativan. Majka je primijetila kako novorođenče slabije siše, da bi potom postalo letargično. Medicinska sestra je na poziv majke prvo glukometrom izmjerila glukozu u plazmi  $<1,1$  mmol/L te je novorođenče premješteno u jedinicu intenzivnog liječenja. Novorođenče je postalo bradikardično, s ultrazvučno vidljivom oslabljenom funkcijom desnog ventrikula te mitralnom i trikuspidalnom regurgitacijom. Daljnje slabljenje srčane funkcije i razvoj kardiogenog šoka upotpunjeno je biokemijskim nalazom urične acidurije i povećane koncentracije acilkarnitina u plazmi, specifičnih za nedostatak enzima VLCAD, što je postavilo sumnju na poremećaj oksidacije masnih kiselina. Uvedena je parenteralna prehrana prije prethodno postavljene konačne dijagnoze. Majčino je mlijeko postupno zamijenjeno Monogen formulom koja sadrži 90% masnih kiselina srednje dugih lanaca, do omjera 3:1. Novorođenče je kroz tjedan dana postalo hemodinamski stabilno, s normalnim koncentracijama glukoze u plazmi kao i ostalim laboratorijskim parametrima te 24. dana od rođenja pušteno kući. Hitna intervencija ključna je kod nastupa bolesti prije dolaska rezultata novorođenačkog probira, posebice zbog dobrog odgovora na terapiju i normalizaciju kliničke i biokemijske slike što omogućuje dobar daljnji razvoj i napredak novorođenčeta (25). Iako nije uvijek tako, povoljan ishod nakon brze reakcije i primjene terapije češći je pri neonatalnom nastupu nedostatka enzima VLCAD, nego kod neonatalnog nastupa poremećaja trifunkcijskog proteina, koji većinom završava letalno (14,25–29).

Simptomi hepatičkog oblika nedostatka enzima VLCAD javljaju se kasnije u usporedbi s teškim oblikom bolesti, uglavnom bez srčanih simptoma, ali s tipičnim razvojem

oštećenja jetrene funkcije i hepatomegalijom, razvojem hipoketotične hipoglikemije i encefalopatije. Uvjeti koji provociraju pojavu bolesti su tipični - gladovanje i infekcija. Kod mnogih pacijenata su navedeni tipični simptomi jetrene disfunkcije, praćeni mučninom, povraćanjem, epileptičkim napadajima i poremećajima svijesti s prvim nastupom između 12. i 24. mjeseca života (14,26).

Mišićni oblik bolesti manifestira se u djetinjstvu ili odrasloj dobi. Ovo je ujedino i najčešći oblik nedostatka enzima VLCAD, a prognoza bolesti je dobra. Mišićni oblik nedostatka enzima VLCAD praćen je mialgijom, mišićnim grčevima i rabdomiolizom. Rabdomioliza najčešća je dugoročna komplikacija bolesti, a javlja se posebice za vrijeme povećane tjelesne aktivnosti kada pacijenti mogu navesti promjene u boji urina (crvena do tamnosmeđa), te se žale na prethodno navedene simptome. Rabdomioliza može voditi i do bubrežnog zatajenja, a biokemijski je redovito praćena značajnim povećanjem katalitičke koncentracije kreatin-kinaze (CK) u plazmi. Oštećenje mišića u manjoj mjeri dovodi i do povećane aktivnosti aspartat- i alanin-aminotransferaze (AST i ALT) (9,10,12). Glavni razlozi relativno kasnog postavljanja dijagnoze kod mišićnog tipa posljedica su previđanja ili zanemarivanja simptoma bolesti, zato što su često prisutni u blažem obliku kod blažeg mišićnog napora. Također, lažno negativni rezultati novorođenačkog probira, kao posljedica urednih biokemijskih parametara, dodatno pridonose kašnjenju u postavljanju dijagnoze. Bolnička obrada pacijenata, starije djece i odraslih, s opisanom kliničkom slikom i laboratorijskim nalazima trebala bi obuhvatiti pretrage koje mogu potvrditi ili isključiti poremećaj enzima VLCAD (14,23,26,30–32). Zanimljiv je slučaj djevojke kojoj je s 12 godina dijagnosticiran mišićni fenotip manjka enzima VLCAD, a sa 17 godina je zatrudnjela. Uz dva relapsa bolesti, u drugom i trećem trimestru, ali odgovarajuću terapiju i suportivne mjere, iznijela je trudnoću bez dodatnih komplikacija (30). Brown i suradnici (33) su istražili neurorazvojni aspekt nedostatka enzima VLCAD u skupini ispitanika u dobi od 4 do 10 godina, otkrivenih novorođenačkim probirom. Ispitali su inteligenciju, memoriju, ponašanje, socijalne i motoričke vještine, pažnju i drugo. U pacijenata je provedena terapija (smanjen energijski unos masti, a povećan unos triacilglicerola srednjih lanaca) za vrijeme tjelesne aktivnosti. Rezultat studije nije utvrdio postojanje klinički značajnih deficita, tek blage poremećaje u specifičnim domenama. Zamijećene su poteškoće govora, a kod jednog pacijenta smanjene jezične vještine. Kod dva pacijenta s ranim nastupom bolesti uočeni su poremećaji ponašanja, kod jednog udruženi s onima iz autističnog spektra, a kod drugog anksioznost i depresija (33).

Acil-karnitin s C14:1 masnom kiselinom primarni je marker nedostatka VLCAD te se u plazmi pacijenata detektiraju povećane koncentracije. Osim C14:1-karnitina, u plazmi se mogu izmjeriti abnormalne koncentracije C14:2-, C14-, i C12:1-karnitina. Koncentracija C14:1-karnitina pozitivno korelira i s većinom ostalih dugolančanih acilkarnitina (C14-, C14:2-, C16-, C16:1-, C16:1OH-, C18-, C18:1-, C18:2-karnitin), uključujući i hidroksilirane oblike (C14OH-, C14:1OH-, C16OH-, C16:1OH-, C18:1OH- i C18:2OH-karnitin). Koncentracija C14:1 >1mmol/L pronađena novorođenačkim probirom značajno upućuje na nedostatak enzima VLCAD kod novorođenčeta. Koncentracija C14:1 >0,8 mmol/L može biti prisutna kod djece s nedostatkom enzima VLCAD, ali i kod zdravih pojedinaca ili heterozigota, stoga je te pacijente potrebno dalje pratiti. Povećana koncentracija C14:1-karnitina uočava se u prvim godinama života, da bi se s vremenom smanjivala i kod većine pacijenata u odrasloj dobi bila u granicama normale (>0.2  $\mu$ mol/L). Analizom organskih kiselina u urinu, detektira se dugolančana dikarboksilna acidurija. Već je navedeno kako parametri mogu biti unutar referentnih vrijednosti kod novorođenačkog probira zbog blažeg fenotipa, kod djece izvan metaboličke krize ili kod djece koja dobivaju otopinu glukoze intravenski. Za potvrdu dijagnoze kod nejasnih biokemijskih testova, a kliničke slike koja sugerira postojanje ovog poremećaja, potrebno je ponoviti biokemijske testove i učiniti genetsko testiranje. Potvrda postojanja dva opisana ili novootkrivena visoko suspektna patogena varijanta u genu *ACADVL* potvrđuje dijagnozu. Ukoliko je dijagnoza još uvijek nedefinirana, a i dalje suspektna (npr. ukoliko je pronađena samo jedna patogena varijanta) rade se specijalizirani biokemijski testovi (analiza masnih kiselina u kulturi fibroblasta, analiza aktivnosti enzima VLCAD, Western blot) (13,17,19).

Terapija obuhvaća preventivne mjere (izbjegavanje perioda gladovanja, nadoknada masti putem ulja bogatog triacilglicerolima srednje dugih lanaca (MCT, engl. *medium chain triacylglycerols*) te povećan unos prilikom vježbanja ili u akutnim infektivnim stanjima) i odgovarajuću prehranu. Prehrana uključuje dijetu s niskim unosom masti (13-39% dnevnog energijskog unosa) te energijsku nadoknadu formulama MCT-a. Ukoliko se pridržavaju terapije, parametri se kod većine pacijenata normaliziraju te nemaju glavne kliničke manifestacije. Vockley i suradnici (13,24) istražili su učinak triheptanona na srčanu funkciju u pacijenata s nedostatkom enzima VLCAD te dobili pozitivan učinak.

## 4.2. Nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina srednje dugih lanaca

Nedostatak enzima acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina srednje dugih lanaca (MCAD) najučestalija je nasljedna metabolička bolest s incidencijom 1:14 600 rođenih u svijetu. Incidencija bolesti razlikuje se među pojedinim državama te je najviša u Europi (npr. Danska 1:9000 rođenih, Nizozemska 1:8700 rođenih, Engleska 1:10 700), potom u SAD-u, a najmanja u azijskim zemljama (npr. Japan 1:51 000 rođenih) (34,35). Prije uvođenja novorođenačkog probira incidencija je bila značajno niža što ukazuje na postojanje brojnih ranije neprepoznatih slučajeva, posebice neobjašnjenih slučajeva rane novorođenačke ili dojenačke smrti. Mutacije u genu *ACADM*, na poziciji 1p31, dovode do disfunkcije enzima i kliničke pojave bolesti. Gen *ACADM* pripada *ACAD* obitelji gena koji kodiraju acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina vrlo dugih, srednje dugih i kratkih lanaca. U oko 80% pacijenata s nedostatkom enzima MCAD najčešće mutacije su c.985A>G, (K329E), p.(Lys329Glu), potom c.199T>C (p.Tyr67His) i 127G>A (p.Glu43Lys), no valja napomenuti da se u novije vrijeme otkriva i sve više novih. Unatoč velikom broju novootkrivenih mutacija i opisanih fenotipova, njihova korelacija prema nekim dosadašnjim studijama nije utvrđena. Ranije je postojao stav da homozigoti za c.985A>G MCAD mutaciju imaju težu kliničku sliku te su ugroženi od rane iznenadne smrti, no brojna nova istraživanja opovrgnula su ovaj stav zaključivši kako i složeni heterozigoti imaju jednak rizik. Sturm i suradnici (34–39) navode kako mutacije c.199T>C (p.Tyr67His) i c.127G>A (p.Glu43Lys) u genu *ACAMD* predstavljaju varijante gena bez kliničkog značaja, opovrgavajući ranija razmišljanja i istovremeno naglašavajući važnost korelacije pojedine mutacije s ostatnom enzimskom aktivnosti, što značajno može pridonijeti smanjenju lažno pozitivnih rezultata probira. Prema istraživanju ovih autora, rezidualna aktivnost enzima MCAD <20% jasno je povezana s razvitkom metaboličkog poremećaja, pojedince s aktivnošću enzima između 20% i 30% potrebno je kontrolirati, dok ostala aktivnost enzima MCAD >30% nije povezana s pojavom simptoma (34–39). Opisano je tek nekoliko slučajeva majki koje boluju od manjka enzima MCAD i/ili nose dijete s istim nedostatkom, a da su razvile komplikacije u trudnoći koje se vežu za ovaj poremećaj oksidacije masnih kiselina (40–42).

Prije uvođenja novorođenačkog probira uvidjelo se da do kliničke pojave bolesti dolazi najčešće unutar prvih 3 do 24 mjeseca života kod prethodno naoko zdrave djece. U

već opisanim okolnostima (gastrointestinalne infekcije, akutne respiratorne infekcije i sl.) u pacijenata dolazi do gubitka energije i apetita, povraćanja i letargije koja može napredovati do kome ili smrti. Epileptički napad može biti prvi znak bolesti ili se pojaviti kasnije. Tijekom akutne dekompenzacije u fizikalnom statusu uočava se hepatomegalija. Letalni ishod bio je čest prije uvođenja probira te su obdukcijски nalazi pokazivali masnu infiltraciju jetre i bubrega te edem mozga. Sekundarno, zbog mogućeg oštećenja mozga za vrijeme akutnih metaboličkih događaja, kod pojedinih pacijenata opisane su neurorazvojne promjene. Navedeno valja uzimati u obzir prilikom praćenja rasta i razvoja djeteta (35,37,38).

Prema dosadašnjim podacima u literaturi, biokemijska je slika prilično jasna. Profil acilkarnitina karakteriziran je nakupljanjem kratko- i srednje-lančanih acilkarnitina (C6-, C8, i C10-karnitin). Povećana koncentracija oktanoilkarnitina (C8), povećan omjer oktanoilkarnitina i dekanoilkarnitina (C8/C10) te oktanoilkarnitina i acetil-L-karnitina (C8/C2) upućuju na manjak enzima MCAD te se koriste u novorođenačkim probirima. Dikarboksilna acidurija, s karakterističnim obrascem (C6>C8>C10), uklapa se u biokemijsku sliku. Prilikom akutne dekompenzacije u urinu su povećane koncentracije heksanoilglicina i/ili suberilglicina. Uz navedene, prisutni su i hipoketotična hipoglikemija, povećana aktivnost aminotransferaza, blaga hiperamonijemija, hiperuricemija i laktatna acidoza (35,37,38,43).

Terapija uključuje preventivne mjere poput izbjegavanja gladovanja u vremenskim intervalima ovisno o dobi i prilagođen obrazac hranjenja u akutnoj bolesti te prehranu koja uključuje ugljikohidrate i dnevni unos masti <30% energijskog unosa. Prema nekim istraživanjima karnitin se preporučuje, dok druga istraživanja suplementaciju ne podržavaju (35)(44,45).

Mogućnosti liječenja i ranog otkrivanja nedostatka enzima MCAD stvorili su preduvjet za provođenje novorođenačkog probira. Pacijenti se time dijagnosticiraju u asimptomatskoj fazi, nastavljaju se pratiti te se smanjio broj metaboličkih dekompenzacija i iznenadnih smrti. Roditelje je potrebno educirati o prirodi bolesti kako bi s razumijevanjem provodili prehranu te valjano reagirali u mogućim kriznim situacijama. Nakon inicijalne analize suhe kapi krvi i pozitivnog nalaza, dijagnozu je potrebno potvrditi analizom gena ili mjerenjem enzimске aktivnosti. Yusupov i suradnici (38) objavili su zanimljiv prikaz slučajeva. Radi se o četiri pacijenta dijagnosticiranih novorođenačkim probirom. Pacijenti su preminuli u dobi od 8 do 13 mjeseca uslijed nereagiranja roditelja na relaps bolesti prilikom gastrointestinalne

infekcije, infekcije srednjeg uha odnosno akutne respiratorne infekcije. Pojedini roditelji nisu bili suradljivi niti kod provođenja terapije. Bolest se očitovala klasičnom kliničkom slikom, s ponovnim naglaskom na nespecifične prve simptome (povraćanje, smanjen unos hrane). Autori ističu važnost suradnje liječnika i roditelja, kao i važnost dugoročnog praćenja pacijenata, a osobito unutar prve tri godine života (38). Objavljeni slučajevi pacijenata kod kojih su pravovremena reakcija roditelja, terapija i bolnički nadzor donijeli pozitivan ishod te normalan daljnji rast i razvoj djeteta potvrđuju važnost zaključka rada Yusupova i suradnika (37,43,46).

### 4.3. Nedostatak acil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina kratkih lanaca

Acil-CoA-dehidrogenaza masnih kiselina kratkih lanaca (SCAD) je heterotetramer koji pripada obitelji acil-CoA-dehidrogenaza ovisnih o flavin-adenin-dinukleotidu (FAD). Monomeri, kao osnovne gradivne jedinice ovog heterotetramera, sadrže po jednu nekovalentno vezanu molekulu FAD kao protetsku skupinu. Enzim SCAD katalizira reakciju dehidrogenacije kratkolančanih masnih kiselina (<C4) stvarajući acetil-CoA koji ulazi u ciklus limunske kiseline. Enzim SCAD kodiran je genom *ACADS* koji se nalazi na poziciji 12q24.31. Najčešće opisivani polimorfizmi su c.511C>T (p.Arg171Trp) i c.625G>A (p.Gly209Ser), a pronađeno je još oko 70 rijetkih varijanti. Opisane su varijante c.319C>T (p.Arg107Cys) kao najčešće u populaciji aškenaskih Židova, a varijante c.310\_312delGAG (p.Glu104del) i c.1138C>T (p.Arg380Trp) među romskom populacijom u Slovačkoj. Većina pacijenata s manjkom enzima SCAD su homozigoti ili složeni heterozigoti za jednu od dvije najčešće mutacije, dok je učestalost homozigota ili složenih heterozigota za rijetke mutacije rjeđa. Suprotno brojnim dosadašnjim istraživanjima, pokazano je i kako je frekvencija najčešćih varijanti c.511C>T i c.625G>A, među zdravom populacijom 3% odnosno 26% te je time naglašen esencijalni utjecaj ostalih genetskih, staničnih i okolišnih čimbenika na manifestaciju bolesti (47–50). Konzistentna klinička povezanost genotipa i fenotipa dosad nije utvrđena, no rezultati pojedinih istraživanja upućuju na moguće postojanje korelacije između urinarne koncentracije nusprodukata (etilmalonska kiselina i metiljantarna kiselina) i postojanja dvije ili više rijetkih patogenih mutacija (51,52).

Nedostatak enzima SCAD prekida lančanu reakciju  $\beta$ -oksidacije kratkolančanih masnih kiselina već na prvom koraku te dolazi do nakupljanja nusprodukata butiril-CoA-a u krvi, urinu i stanicama. U plazmi se detektira povećana koncentracija butirilkarnitina, stoga se koristi kao biomarker u sklopu novorođenačkog probira. U urinu se detektiraju povećane vrijednosti butirilglicina, metiljantarne kiseline i etilmalonične kiseline (EMA). Koncentracija C4 kiselina može biti povećana i u drugim metaboličkim poremećajima poput nedostatka izobutiril-CoA-dehidrogenaze (IBDHD), etimalonske encefalopatije, nedostatku enzima MCAD, glutarne acidurije tip II. Povećane koncentracije C4 i EMA u dva nezavisna mjerenja ukazuju na mogući nedostatak enzima SCAD. Sljedeći korak je potvrda dijagnoze molekularnim testiranjem sekvenci *ACADS* gena, što može biti i u okviru analize genskih panela.

Kod nejasnih slučajeva može se u kulturi fibroblasta, leukocita ili miocita mjeriti ostatna aktivnost enzima i na taj način potvrditi dijagnoza, no rezultati nisu u korelaciji s kliničkom slikom (50,53–55).

Metaboličke su krize rijetke, no ukoliko ih ima, obilježene su acidozom kao kod većine drugih dosad opisanih poremećaja oksidacije masnih kiselina. Nasuprot, hipoglikemija kod manjka enzima SCAD češće je ketotična, a prati se i porast C6 te omjer C4/C3 metabolita (53,56).

Vrlo je važno napomenuti kako je većina djece, identificiranih novorođenačkim probirom, bez simptoma te imaju uredan rast i razvoj. Zato je stav dijela pedijatarata i istraživača kako se više radi o biokemijskom fenotipu, nego bolesti. Klinička heterogenost govori u prilog stavu da znakovi i simptomi bolesti nisu posljedica manjka enzima SCAD. Epileptički napadaji, letargija, hipotonija, distonija, miopatija, otežano hranjenje i zaostajanje u psihomotornom rastu najčešće su prisutni u kliničkoj slici kod manjka enzima SCAD. Navodi se kako 20% djece ima poteškoće hranjenja, otežano napreduju te imaju razvijenu hipotoniju, 22% ima epileptičke napadaje, a 30% s epileptičkim napadajima ima udruženu hipotoniju. Brojni su primjeri iz prakse. Opisano je 16 pacijenata s biokemijskim fenotipom nedostatka enzima SCAD, molekularnim testovima dokazane su patogene varijante, no klinička slika svih pacijenata bila je bez osobitosti. U grupi pacijenata s nedostatkom ovog enzima, psihomotorno zaostajanje bilo je prisutno u 10/62 pacijenta, hipotonija u 6/62 pacijenata, epileptički napadaji/epilepsija u 4/62 pacijenta, metabolička acidoza u 5/62 pacijenta te hipoglikemija u 3 pacijenta. Unatoč tomu što su djeca s nedostatkom enzima SCAD najčešće bez simptoma bolesti, u pojedinim državama uveden je novorođenački probir na ovaj poremećaj (47,53–55).

Ne postoji jedinstven stav o liječenju jer se u većine pacijenata simptomi bolesti neće razviti, stoga pojedini pedijatri i znanstvenici ne preporučuju provođenje specifične terapije. U pacijenata sa simptomima, preporučuje se izbjegavanje perioda gladovanja u vremenskim intervalima specifičnima za dob, kraći periodi za novorođenčad i dojenčad do maksimalno 12 sati u djetinjstvu te provođenje dijeta s niskim udjelom masti, a visokim udjelom ugljikohidrata. Riboflavin, prekursor FAD-a, može imati pozitivan učinak u liječenju nedostatka enzima SCAD zbog stabilizirajućeg učinka na izmijenjeni enzim. Uočeno je smanjenje koncentracije EMA u urinu, no definitivni učinak ove terapije još uvijek je sporan. Propisivanje L-karnitina također je sporno. Opravdano je u slučaju istovremenog postojanja manjka karnitina. Vitamin C, vitamin



E, N-acetilcistein i bezafibrat predloženi su kao nove terapijske mogućnosti. Za vrijeme akutne metaboličke acidoze treba davati 10%-tnu otopinu dekstroze intravenski. Svi se slažu da je potrebno provođenje dodatnih istraživanja koja će dati odgovore na pitanja o dugoročnim ishodima liječenih i neliječenih asimptomatskih pacijenata s nedostatkom enzima SCAD (47,50,53,54)

#### 4.4. Multipli manjak acil-CoA-dehidrogenaza

Manjak flavoproteina i njegove dehidrogenaze nazivaju se još i multipli manjak acil-CoA-dehidrogenaza (MADD) ili glutarna acidurija tipa 2. Bolest nastaje kao posljedica mutacija u genima *ETF A* (15q23-q25), *ETFB* (19q13.3-q13.4) i *ETFDH* (4q32-q35). Geni kodiraju alfa i beta podjedinice flavoproteina za prijenos elektrona (ETF), te ETF-dehidrogenazu. Njihova disfunkcija ne rezultira samo manjkavom oksidacijom masnih kiselina, već dolazi i do poremećaja metabolizma aminokiselina i kolina (57,58). Klinička je slika heterogena, no pacijente se može kategorizirati u jednu od tri skupine prema vremenskom nastupu prvih simptoma i njihovoj težini. Smatra se da postoji korelacija genotipa i fenotipa bolesti. Neonatalni fenotip bolesti dijeli se na dva podtipa ovisno o prisustvu kongenitalnih anomalija (tipovi 1 i 2). Mutacije gena *ETFDH* i *ETFB* dovode do potpunog gubitka enzimske aktivnosti ETF-dehidrogenaze, uzrokujući razvoj neonatalnog fenotipa s kongenitalnim anomalijama, tip 1. Blaži oblik bolesti, tip 3, postaje klinički manifestan kasnije u djetinjstvu ili odrasloj dobi (59).

Neonatalni nastup bolesti, neovisno o tome radi li se o tipu 1 ili tipu 2, najčešće završava fatalno u novorođenačkom periodu, a pacijenti koji prežive imaju visok rizik za iznenadnu smrt uslijed gastrointestinalnih ili respiratornih infekcija. Klinički i biokemijski ovaj je fenotip obilježen letargijom, hipotonijom, hepatomegalijom, metaboličkom acidozom, sindromom respiratornog distresa, hipoketotičnom hipoglikemijom i epileptičkim napadajima, hiperamonijemijom, povećanom katalitičkom koncentracijom aminotransferaza i dr. Kod tipa 1 najčešća kongenitalna malformacija je policistična bolest bubrega. Opisane su i druge malformacije poput hipoplazije pluća, dismorfije lica, abnormalnosti genitourinarnog trakta i mikrogirije (59,60). Klinički početak bolesti u kasnijoj dječjoj dobi, adolescenciji ili odrasloj dobi obilježje je blažeg fenotipa. Javlja se progresivna slabost proksimalne muskulature donjih ekstremiteta te se pacijenti obično žale na otežano hodanje, penjanje po stubama, ustajanje sa stolca. Navedene smetnje mogu biti praćene epizodama povraćanja, gubitkom na masi, hipoglikemijom, metaboličkom acidozom i rabdomiolizom. U fizikalnom statusu može biti hepatosplenomegalija, laboratorijski praćena povećanim aktivnostima aminotransferaza i kreatin kinaze (61–64).

Za dijagnozu je važna detekcija povećanih koncentracija acilkarnitina kratkih, srednje dugih i dugih lanaca (C4-C18) u plazmi te dikarboksilnih kiselina, glutarne,

etilmalonske i 2-hidroksiglutarine kiseline, te glicinskih konjugata u urinu. Dijagnoza se potvrđuje genskom analizom gena *ETFA*, *ETFB* i *ETFDH* (57,60,62,65). Loša prognoza bolesti karakteristična je za tipove 1 i 2, dok se povoljna prognoza bolesti veže uz tip 3. Primjena riboflavina (100-400 mg/dan) ima pozitivan terapijski učinak te dolazi do stabilizacije bolesti u većine pacijenata s tipom 3 (62,64,66).

## 4.5. Nedostatak trifunkcijskog proteina

Trifunkcijski protein (TFP) je heterooktamer s tri jedinstvene funkcionalne domene, građen od četiri  $\alpha$ -podjedinice i četiri  $\beta$ -podjedinice, a nalazi se na unutarnjoj mitohondrijskoj membrani. Četiri  $\alpha$ -podjedinice kodirane su genom *HADHA* te vrše funkcije enoil-CoA-hidrataze i  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze, dok četiri  $\beta$ -podjedinice, kodirane genom *HADHB*, vrše funkciju  $\beta$ -ketotiolaze. Geni *HADHA* i *HADHB* smješteni su u istoj regiji kromosoma 2p23.3 (67). Nedostatak TFP-a javlja se zbog smanjene funkcije svih triju navedenih enzima, a do sada je u literaturi zabilježena podjednaka frekvencija mutacija u oba gena, u oko 100 opisanih bolesnika. Najčešća klinička inačica poremećaja TFP-a je izolirani nedostatak  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze dugih lanaca (LCHAD) uz značajno očuvanje funkcije ostala dva enzima. Unatoč tomu što se oba poremećaja očituju sličnim kliničkim znakovima i simptomima, zbog razlike u patologiji i patofiziologiji svaki je poremećaj jedinstven (68). Prema brojnim studijama i slučajevima opisanim u literaturi, roditelji djece s razvijenom kliničkom slikom manjka TFP-a su heterozigoti bez razvijene kliničke slike. U obiteljskoj anamnezi roditelji mogu navesti neobjašnjenu raniju smrt djeteta (27,29). Zabilježeno je da trudnice koje nose plod s manjkom TFP-a češće razvijaju komplikacije u trudnoći poput akutno masne jetre ili sindroma HELLP. Akutno masna jetra u trudnoći je teško stanje, a najčešće se javlja u trećem trimestru. Nespecifičan nastup bolesti, uključujući glavobolju, mučninu i povraćanje u trajanju od 1-2 tjedna, nerijetko vodi do razvoja jetrene insuficijencije i posljedično brzo progresivne koagulopatije, hepatičke encefalopatije i bubrežnog zatajenja. Stanje je biokemijski praćeno povećanim koncentracijama aminotransferaza i bilirubina u plazmi majke, hiperamonijemijom, hipoglikemijom, promjenama u testovima koagulacije, a histološki nalaz mikrovezikularne steatoze potvrđuje dijagnozu. Patofiziologija nastanka akutno masne jetre u trudnoći kod majke još uvijek nije razjašnjena, no kao mogući mehanizam opisuje se prolazak hepatotoksičnih metabolita, nastalih metabolizmom fetusa, kroz placentu u majčin krvotok i uzrokovanje simptoma bolesti (21).

Postoje tri klinička fenotipa nedostatka trifunkcijskog proteina, slično kao i kod nekih drugih poremećaja  $\beta$ -oksidacije. Letalni fenotip javlja se u novorođenačkom periodu te ga obilježavaju kardiomiopatija, akutna respiratorna insuficijencija, metabolička kriza (*Reye-like-sindrom*) i često letalni ishod. Ovaj je fenotip biokemijski praćen hipoketotičnom hipoglikemijom, hiperamonijemijom i laktanom acidozom. U plazmi se

detektiraju povećane koncentracije dugolančanih  $\beta$ -hidroksi-acilkarnitina (C16-OH, C18:1-OH, C18:2-OH), uz često smanjene koncentracije slobodnog karnitina. Pojačano izlučivanje  $\beta$ -hidroksi-dikarboksilnih kiselina u urinu također je tipičan biokemijski nalaz (28,29,69–72). Nerijetko se simptomi počnu razvijati u fetalnom razdoblju pa se mogu ultrazvučno otkriti na redovitim ginekološkim pregledima u trudnoći kada, između ostalog, valja diferencijalno dijagnostički razmišljati i o nedostatku TFP-a. U literaturi su opisani slučajevi pacijenata kod kojih je, najčešće u trećem tromjesečju, otkriveno zaostajanje u rastu, biventrikularna hipertrofija s očuvanom funkcionalnom strukturom srca. U kasnim tjednima trudnoće opisano je napredovanje kardiomiopatije i razvoj fetalnog hidropsa s letalnim ishodom nedugo nakon prijevremenog rođenja. Klinički i biokemijski znakovi kod gotovo su svih pacijenata odmah nakon rođenja ukazivali na nedostatak TFP-a. Postmortalno učinjeno MR-snimanje prikazalo je mikrocefaliju sa slabo formiranim girusima posebno u frontalnom i temporalnom režnju kod jednog pacijenta, dok su slične promjene u drugom slučaju bile otkrivene intrauterino. Obdukcijски nalaz može prikazivati masnu degeneraciju srčanih mišićnih stanica, miolizu i masnu degeneraciju skeletnih mišića, hepatocita i renalnih tubula. Kod dijela pacijenata obdukcijски nalaz prikazuje mitohondrijsku proliferaciju (27–29).

Osim opisane najtipičnije kliničke manifestacije, zabilježeni su i neke rjeđi prvi znakovi letalnog fenotipa manjka TFP-a. Taylor i suradnici (69) opisali su dva pacijenta koji su se osim kardiomiopatije doživjeli akutno respiratorno zatajenje, odnosno nekrotizirajući enterokolitis. Kod oba pacijenta su pronađene varijante c.212+1G>C i c.357+5delG gena *HADHB*. Pretpostavili su da nedostatak TFP-a interferira s normalnim razvojem crijeva i pluća u fetalnom razdoblju (69).

Nastup bolesti u dojenačkoj dobi i ranom djetinjstvu opisuje se kao srednje teški oblik nedostatka trifunkcijskog proteina, a klinička pojava bolesti provocirana je periodima gladovanja i akutnim bolestima (gastrointestinalne, respiratorne infekcije i drugo). Glavno su obilježje intermedijarnog fenotipa epizode hipoketotične hipoglikemije te je on također obilježen razvojem jetrene disfunkcije, metaboličkom acidozom, sa ili bez kardiomiopatije. Kardiomiopatija može imati fatalni ishod i u ovom fenotipu, a Bursle i suradnici (73) opisali su prvi slučaj dječaka koji je zbog nedostatka TFP-a razvio dilatativnu kardiomiopatiju te bio uspješno transplantiran u dobi od tri godine. Sa sedam godina urednog je psihomotoričkog razvoja, bez znakova i simptoma bolesti te bez terapije za ovaj specifični poremećaj (73). Kod pojedinih pacijenata zamijećena je

blaga mentalna retardacija i zaostajanje u razvoju, a djelomično je povezana s metaboličkim krizama i encefalopatijom (71). U usporedbi s prethodna dva fenotipa, mišićni fenotip nedostatka TFP-a najblaži je oblik bolesti, no treba imati na umu da se pacijenti i s mišićnim tipom bolesti međusobno razlikuju pa su kod nekih simptomi teži nego u drugih. Gladovanje, infekcije i produljena tjelovježba uobičajeno imaju važnu ulogu za prvu pojavu bolesti u djetinjstvu ili odrasloj dobi, ali i za kasnije relapse bolesti. Pacijenti se najčešće žale na grčeve, slabost mišića i otežano hodanje. U fizikalnom se statusu bilježi hipotonija, a nastup rabdomiolize praćen je crveno do tamnosmeđe obojenim urinom i povećanjem koncentracije kreatin-kinaze. Nepokretnost i potreba za mehaničkom ventilacijom opisane su kod težih slučajeva (71,72). Osim tri navedena fenotipa postoje i prijelazi i klinička preklapanja. Retinopatija i neuropatija značajne su kronične komplikacije nedostatka TFP-a i enzima LCHAD. U literaturi se navodi kako se u dugoročnom praćenju pacijenata s nedostatkom TFP-a kod 80% pacijenata javlja periferna neuropatija, a kod 10% retinopatija. Progresija retinopatije kod nedostatka TFP-a sporija je, u usporedbi s razvojem retinopatije i funkcionalnim gubitkom vida kod nedostatka enzima LCHAD. Pacijenti s nedostatkom TFP-a ne razvijaju miopiju u značajnoj mjeri kao pacijenti s nedostatkom enzima LCHAD (68,74). Hong i suradnici te Lu i suradnici (75,76) otkrili su kako mutacije u genu *HADHB* dovode do razvoja kliničke slike nalik bolesti Charcot-Marie-Tooth. Hong i suradnici nisu pronašli promijenjene biokemijske i kliničke parametre koji bi ukazivali na manifestni oblik nedostataka TFP-a te su opisali dvije varijante gena *HADHB*, c.210-1G> C i c.686G > T, stoga zaključuju kako mutacije u genu *HADHB* uzrokuju rani nastup bolesti Charcot-Marie-Tooth umjesto tipičnog nastanka manjka TFP-a. S druge strane, Lu i suradnici pronašli su povećane koncentracije acilkarnitina u plazmi kod dva pacijenta s kliničkom dijagnozom Charcot-Marie-Tooth bolesti. Mutacije koje su opisali u genu *HADHB* su: c.184A>G/c.340A>G i c.488G>A/c.1175C>T. Njihova studija proširila je fenotip nedostatka TFP-a te autori sugeriraju gensku analizu i gena *HADHB* u pacijenata s kliničkom slikom bolesti kod kojih prethodno kao uzrok ove bolesti nije pronađena druga genska osnova (75,76).

Opisano je nekoliko pacijenata s nedostatkom TFP-a i hipoparatiroidizmom. Uz karakteristična klinička i biokemijska obilježja pacijenata s manjkom TFP-a, u krvi se bilježe se i smanjene koncentracije kalcija u plazmi, paratiroidnog hormona (PTH), 25-OH vitamina D. Opisana su četiri pacijenta japanskog podrijetla s potpunim nedostatkom TFP-a i pratećim hipoparatiroidizmom, a zanimljivo je to da je kod svih

pacijenata pronađena varijanta c.1175C>T u barem jednom alelu gena. Do sada nije opisan patofiziološki mehanizam nastanka hipoparatiroidizma u pacijenata s manjkom TFP-a, no postoji nekoliko teorija. Kao mogući uzrok predlaže se nakupljanje dugolančanih masnih kiselina u paratiroidnim žlijezdama s posljedičnim toksičnim učinkom (71,77–79).

Proces postavljanja dijagnoze isti je kao i kod drugih poremećaja oksidacije masnih kiselina. Početni je korak detekcija povećanih koncentracija dugolančanih  $\beta$ -hidroksiacilkarnitina u plazmi i pojačanog izlučivanja  $\beta$ -hidroksidikarboksilnih kiselina u urinu. Dijagnoza se potvrđuje genskom analizom ili spominjanim specijaliziranim biokemijskim testovima.

Standardna terapija uključuje izbjegavanje perioda gladovanja uvođenjem češćih obroka te uzimanje polisaharida prije spavanja (kukuruzni škrob). Prehrambeni režim uključuje uzimanje ugljikohidrata, ulja s triacilglicerolima srednjih lanaca te unos esencijalnih masnih kiselina (ulje oraha), a smanjenje ukupnog unosa masti, posebno bogatih dugolančanim masnim kiselinama. Na prehranu je potrebno dodatno pripaziti u periodima povećane potrebe za energijom. Dodavanje karnitina se uglavnom ne preporučuje (80).

#### 4.5.1. Nedostatak $\beta$ -hidroksiacil-dehidrogenaze masnih kiselina dugih lanaca

Enzim  $\beta$ -hidroksiacil-dehidrogenaza masnih kiselina dugih lanaca (LCHAD) katalizira treću od četiri reakcije  $\beta$ -oksidacije te zajedno s  $\Delta^2$ -enol-CoA hidratazom i  $\beta$ -ketoacil-CoA-tiolazim čini mitohondrijski trifunkcijski protein (MTP). Važan je za metabolizam masnih kiselina dugih lanaca. Izolirani nedostatak enzima LCHAD je skoro jedini izolirani poremećaj mitohondrijskog trifunkcijskog proteina, najčešće uzrokovan supstitucijom c.1528G>C u genu *HADHA*. Većina su pacijenata homozigoti, dok su ostali uglavnom kombinirani heterozigoti koji nose navedenu patogenu varijantu gena i jednu od varijanti za koju se smatra da je patološka (74,81–85). Prije uvođenja novorođenačkog probira na manjak enzima LCHAD ili u slučaju lažno negativnih rezultata probira, bolest se najčešće klinički očitovala unutar prvih 23 mjeseca života, najčešće sa 6 mjeseci starosti (86,87). Trudnoće u kojima su majke nositeljice mutiranog gena *HADHA* te nose plod s manjkom enzima LCHAD, mogu biti komplicirane akutnim nastankom masne jetre u trudnoći, sindromom HELLP (hemoliza, povećani jetreni enzimi i sniženi trombociti) i posljedično prijevremenim porođajem (88–90).

Nedostatak enzima LCHAD dovodi do nakupljanja toksičnih intermedijernih spojeva  $\beta$ -oksidacije (hidroksilirane komponente: C14-OH-, C16-OH-, C18-OH- i C18:1-OH-karnitin) koji su odgovorni za nastanak simptoma bolesti te razvoj dugoročnih komplikacija. Za ovaj poremećaj je specifična  $\beta$ -hidroksidikarboksilna acidurija (81,91). Karakteristični prvi klinički simptomi i znakovi bolesti, i često teška dekompenzacija, javljaju se zasebno ili su međusobno kombinirani. Hranjenje postaje otežano što dovodi do zastoja u rastu i razvoju. Česta je jetrena disfunkcija, praćena letargijom, komom, hipotonijom ili epileptičkim napadajima, koji upućuju na razvoj hepatičke encefalopatije. U fizikalnom je statusu često prisutna hepatomegalija, a u biokemijskim nalazima povećane su katalitičke koncentracije „jetrenih enzima“ (86,89,92). Dugotrajne, teške ili ponavljane metaboličke krize hipoketotične hipoglikemije najviše pogađaju središnji živčani sustav i jedna su od osnova psihomotoričkog zaostajanja i mentalne retardacije kod dijela pacijenata, posebno onih otkrivenih prije uvođenja novorođenačkog probira. Za očekivati je kako će novorođenački probir i rana intervencija pozitivno utjecati na psihomotorički razvoj pacijenata (84,86,89,93). Također, u prvim mjesecima razvija se kardiomiopatija, dilatativna ili hipertrofična.



Pravovremeno postavljanje dijagnoze, uvođenje terapije i pridržavanje naputaka o izbjegavanju gladovanja i regulaciji prehrane tijekom infekcija sprječava daljnju progresiju prema srčanom zatajenju, razvoju aritmija ili arestu, a simptomi se povlače najčešće kroz pola godine. Pacijenti se moraju barem jednom godišnje kontrolirati kod kardiologa (87). Kao i u većini ostalih poremećaja  $\beta$ -oksidacije, zahvaćena je skeletna muskulatura pa pacijenti loše toleriraju napor. Rekurentne epizode rabdomiolize praćene su povećanjem koncentracije CK-a. Karall i suradnici (89) zamijetili su sve rjeđu pojavu epizoda rabdomiolize s godinama, u skladu s padom infektivnih bolesti odrastanjem (89).

Specifičnost ovog poremećaja, slično kao i kod nedostatka TFP-a, razvoj je retinopatije te periferne neuropatije. Radi se o najčešćim dugoročnim komplikacijama unutar ove skupine pacijenata. Odgovor na terapiju nije potpun (86,87). Miopija je najčešća refrakcijska greška s pojavom u kasnijem djetinjstvu i adolescenciji, a progredira s godinama. Istraživanja pokazuju da u pacijenata s godinama dolazi do pada vidne oštine, gubitka noćnog i kolornog vida te konačno potpunog gubitka vida uslijed gubitka fotoreceptora. Prema literaturi do oštećenja fotoreceptora dolazi sekundarno, uslijed atrofije pigmetnog epitela mrežnice i kapilara žilnice te se ovo saznanje smatra važnim za razvoj buduće terapije. Kontrole oftalmologa neizostavni su segment liječenja pacijenata s nedostatkom enzima LCHAD (74,94,95). Rani znakovi koji upućuju na razvoj polineuropatije jesu gubitak refleksa na donjim ekstremitetima te otežan hod na petama. Unatoč ranijim stavovima, Tuuli i suradnici (96) pokazali su kako provođenje terapije ima pozitivan učinak na progresiju polineuropatije. Napominju kako se pacijenti trebaju redovito kontrolirati kod neurologa, a uz osnovnu terapiju i dijetu, potrebno je dodatno provođenje fizikalne terapije kako bi se progresija usporila (96).

Terapijski pristup pacijentima baziran je na uobičajenim smjernicama za poremećaje oksidacije masnih kiselina. Provođa se dijeta s niskim udjelom masti i visokim udjelom ugljikohidrata, a 15-20% dnevnih energijskih potreba pacijenti dobivaju unosom dugolančanih triacilglicerola. Povećan unos dokosaheksaenske kiseline (DHA) usporava progresiju neuropatije i retinopatije. Haglind i suradnici (96,97) prikazali su kompleksnost terapije. Unatoč smanjenju i uklanjanju metaboličkih kriza, usporenju progresije neuropatije i retinopatije te urednom rastu i razvoju, većina pacijenata unutar njihove kohorte imala je povećanu tjelesnu masu, a dio pacijenata bili su pretili.

Preporučuju češće redovne kontrolne preglede s naglaskom na praćenje i regulaciju tjelesne mase (96,97). Karall i suradnici (87) zamijetili su veću kliničku stabilnost prilikom terapijske primjene heptanoata, stoga sugeriraju daljnje provođenje istraživanja koja će razjasniti terapijske mogućnosti njegove daljnje primjene (87).

#### **4.5.2. Nedostatak ketoacil-CoA-tiolaze dugih lanaca**

U svijetu je dosada opisan jedan pacijent s izoliranim manjkom enzima LCKAT. Pacijent je bio složeni heterozigot te su pronađene mutacije u genu *HADHB*, c.185G>A na egzonu 4, te c.1292T>C na egzonu 15. Analiza aktivnosti enzima LCHAD i TFP-a pokazala je urednu aktivnost. Koncentracija C14:1-, C16-, C16OH-, i C18:1OH-karnitina u plazmi bila je povećana, a koncentracija slobodnog karnitina i C2-karnitina smanjena. Koncentracije aminotransferaza i laktata u plazmi bile su povećane. U urinu su izmjerene povećane koncentracije dikarboksilnih i  $\beta$ -hidroksikarboksilnih kiselina. Pacijent je u šestom tjednu života uslijed bronhopneumonije otežano jeo, razvio hipotoniju, dispneju i srčanu disfunkciju te preminuo, a obdukcijski nalaz pokazao je samo hipertrofiju ventrikula.(98) .

#### 4.6. Nedostatak $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina kratkih lanaca

Nedostatak enzima  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina kratkih lanaca (HADH) rijedak je poremećaj  $\beta$ -oksidacije masnih kiselina s dosad dvadesetak opisanih bolesnika. U literaturi se za isti enzim također koriste nazivi enzim SCHAD ili enzim HAD. Enzim HADH kodiran je genom *HADHSC* koji se nalazi na poziciji 4q22–q26. Uz određene fenotipove opisani su genotipovi, no istraživači ih nisu dovodili u korelaciju. Enzim HADH je homodimer s dvije funkcije. Osim što katalizira reakciju dehidrogenacije masnih kiselina kratkih lanaca, ovaj homodimer regulira funkciju glutamat dehidrogenaze. Utvrđeno je kako enzim HADH katalizira i dehidrogenaciju  $\beta$ -hidroksiacil-CoA masnih kiselina srednje dugih lanaca pa se naziva i  $\beta$ -hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze masnih kiselina kratkih i srednje dugih lanaca (M/SCHAD). Iregularna inzulinska sekrecija povezana je s regulacijskom ulogom enzima SCHAD na GDH  $\beta$ -stanica gušterače. Uslijed smanjene proizvodnje ATP-a, zbog mutacije gena *HADHSC* i posljedično smanjene aktivnosti SCHAD, dolazi do smanjene inhibicije GDH i povećane sekrecije inzulina, što ima značajan učinak na kliničku prezentaciju. Uočeno je kako se simptomi bolesti javljaju unutar prve tri godine života, najčešće do kraja novorođenačkog razdoblja (99,100).

Hipoketotična hipoglikemija povezana s hiperinzulinemijom najčešći je fenotip nedostatka enzima HADH. Bolest je obilježena ponavljajućim hipoglikemijama koje mogu uzrokovati epileptičke napadaje. U laboratorijskim nalazima nalaze se: hipoketotična hipoglikemija, povećane koncentracije inzulina i c-peptida u trenutku hipoglikemije, blago povećana koncentracija amonijaka i povećana koncentracija 3-hidroksibutiril-karnitina (C4-OH) u plazmi. Analizom urina pronalaze se povećanje vrijednosti 3-hidroksiglutarata, dikarboksilnih i hidroksikarboksilnih kiselina. Terapija izbora je diazoksid (7-9 mg/kg/dan) te suportivne mjere, posebno redovito hranjenje. Diazoksid inhibira inzulinsku sekreciju ostavljajući otvoren kalijski kanal osjetljiv na ATP ( $K_{ATP}$ ) pa prevenira hipoglikemijske krize (101,102). Opisana je pacijentica koja nije pokazala dobar odgovor na diazoksid. Sekvencioniranjem gena *HADHSC* pronađena je mutacija pogrešnog smisla c.562A>G; p.Met188Val na oba alela. Ostali nalazi pokazali su normalni profil acilkarnitina, bez organske acidurije, smanjenu aktivnosti enzima HADH, a hipoglikemiju je izazivao unos veće količine proteina (100). Ukoliko se rano posumnja na ovaj poremećaj  $\beta$ -oksidacije, postavi dijagnozu i započne

terapija, popravljaju se i klinička i biokemijska slika te je daljnji razvoj pacijenata uredan (102,103).

Rjeđe su opisani pacijenti s kliničkom slikom fulminantnog jetrenog zatajenja ili Reye-like sindroma što se više uklapa u klasičnu prezentaciju bolesti metabolizma masnih kiselina. O'Brien i suradnici (101,104) su u pacijenata s nedostatkom enzima HADH i kliničkom slikom fulminantnog zatajenja jetre opisali dvije mutacije: c.118G-A (p.Ala28Thr) i c.171C-A (Asp45Glu) (101,104).

## 5. Zaključak

Poremećaji  $\beta$ -oksidacije masnih kiselina pripadaju skupini nasljednih metaboličkih poremećaja te se nasljeđuju autosomno recesivno. Napredak tehnologije omogućio je otkrivanje sve većeg broja patogenih mutacija koje su uzrok bolesti. Pokušava se utvrditi korelacija fenotipa i genotipa, no čvrsta veza za većinu mutacija ne postoji. Poremećaji  $\beta$ -oksidacije su kao skupina i pojedinačno klinički vrlo raznoliki. Pojedini pacijenti mogu godinama biti bez simptoma, primjerice kod nedostatka enzima MCAD, dok drugi mogu imati tešku kliničku sliku već par sati nakon rođenja, primjerice pacijenti s teškim, kardijalnim tipom manjka TFP-a. Postoje zajedničke karakteristike većine poremećaja  $\beta$ -oksidacije. Zbog energijskog manjka i toksičnog učinka nakupljenih metabolita dolazi do oštećenja organa koji ovise o metabolizmu masnih kiselina u okolnostima kada je tijelu potrebna dodatna energija. U dječjoj dobi to su periodi gladovanja (često vezani za izostavljanje noćnog obroka), akutne infekcije, povećani tjelesni napor i slično. Srce, skeletni mišići i jetra glavni su zahvaćeni organi, a zbog manjkave ketogeneze i mozak. Nastup krize može biti vrlo težak i dovesti do iznenadne smrti, srčanog zatajenja, jetrenog zatajenja, respiratorne insuficijencije, epileptičkih napadaja i pomućenja svijesti ili blaži kada su prisutni bolovi u mišićima, slabost mišića ili blaža rbdomioliza. Osim toga, postoje specifičnosti kliničkog fenotipa pojedinih poremećaja. Primjeri su neuropatija i retinopatija kod manjka TFP-a i enzima LCHAD, hipoparatiroidizam kod manjka TFP-a i hiperinzulinemijska hipoglikemija kod manjka enzima HADH.

Vrlo je važno obratiti pozornost na hipoglikemiju u djece. Pojavljuje se u većine poremećaja  $\beta$ -oksidacije, a tipično nije praćena proizvodnjom ketonskih tijela, stoga se naziva hipoketotična hipoglikemija. Uzrok je brojnih epileptičkih napadaja koji mogu ostaviti nepovratne posljedice na psihomotorički razvoj, stoga je kod svakog pacijenta u hipoglikemiji osim hitne terapije potrebno provjeriti prisutnost ketonskih tijela u urinu ili krvi. Svaki poremećaj ima specifični profil acilkarnitina u plazmi, koji je uz nalaz organskih kiselina u urinu temelj za potvrdu dijagnoze genetskim testiranjem ili mjerenjem enzimske aktivnosti. No, valja biti oprezan jer pojedini obrasci profila acilkarnitina u plazmi mogu biti posljedica i nekih drugih stanja, stoga je potrebno u svakog pacijenta zasebno detaljno sagledati sva biokemijska i klinička obilježja. Dio pacijenata, posebno oni s mišićnim tipom bolesti, mogu izvan krize imati uredne biokemijske nalaze. Zato se nekad, usprkos normalnim nalazima, radilo testove

opterećenja (uljem, fenilpropionskom kiselinom) ili gladovanja u kontroliranim bolničkim uvjetima. S obzirom na napredak dijagnostike, osobito analize gena, danas se oni sve više napuštaju. Koncentracija slobodnog i ukupnog karnitina u plazmi uredna je ili smanjena u svim bolestima iz ove skupine. Ovisno o zahvaćenosti pojedinih organa i oštećenja njihove funkcije mogu biti povećane koncentracije amonijaka, bilirubina, aktivnosti aminotransferaza i kreatin kinaze. Trudnoće u kojima plod ima manjak TFP-a ili enzima LCHAD katkad su praćene komplikacijama u poput sindroma HELLP ili akutno masne jetre pa je važno i prije rođenja unaprijed diferencijalno dijagnostički razmišljati o ovoj skupini poremećaja kod djece.

Obilježje ove skupine bolesti je mogućnost ranog otkrivanja i liječenja. To su razlozi koji su u brojnim zemljama potencirali uvođenje novorođenačkog probira na ove poremećaje. Dijagnoza novorođenačkim probirom prije kliničke pojave bolesti često sprječava metaboličke krize i dekompenzaciju, omogućuje rani početak liječenja, smanjuje mogućnost komplikacija, čime se povećava kvaliteta i produžuje trajanje života pacijenata. Treba naglasiti važnost multidisciplinarnog pristupa, u kojem osim pedijatarata koji se bave metaboličkim bolestima važnu ulogu imaju pedijatri drugih subspecijalnosti, biokemičari, nutricionisti, medicinske sestre, psiholozi i svakako roditelji i drugi skrbnici čija su edukacija i znanje o bolesti jedan od temelja uspješnog liječenja.

## **6. Zahvale**

Iskreno zahvaljujem mentoru, prof. dr. sc. Ivi Bariću, na predloženoj temi, stručnim savjetima i podršci tijekom izrade ovog diplomskog rada. Također, zahvaljujem na uloženom trudu i dostupnosti da odgovori na moja pitanja.

Zahvaljujem članovima komisije, prof. dr. sc. Ivančici Delaš i prof. dr. sc. Mariji Jelušić na stručnim savjetima prilikom izrade rada.

Hvala mojim kolegama i prijateljima uz koje su mi godine studija ljepše protekle.

Na kraju, zahvaljujem svojoj obitelji i Domagoju na podršci i razumijevanju tijekom cijelog školovanja.

Stella

## 7. Popis literature

1. Ezgu F. Inborn Errors of Metabolism. *Adv Clin Chem.* 2016;73:195–250.
2. Ferreira CR, van Karnebeek CDM, Vockley JBN. A proposed nosology of inborn errors of metabolism [Internet]. *Genet Med.* 2018. Preuzeto 07. lipnja 2019. Dostupno na: <http://www.iembase.org/iem-nomenclature.asp>
3. Kalish BT, Fallon EM, Puder M. A tutorial on fatty acid biology. *J Parenter Enter Nutr.* 2012;36(4):380–8.
4. Rustan AC, Drevon CA. Fatty Acids: Structures and Properties. *Encycl Life Sci.* 2005;1–7.
5. Houten SM, Wanders RJA. A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid  $\beta$ -oxidation. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33(5):469–77.
6. Berg, Jeremy M, Tymoczko JL, Gatto GJ, Stryer L. *Lipids and Cell Membranes.* Berg, Jeremy M, Tymoczko JL, Gatto GJ, Stryer L. *Biochemistry.* 8. izdanje New York: W. H. Freeman and Company 2015. 65, 69–71 p.
7. Botham KM i Mayes AM Oksidacija masnih kiselina: ketogeneza, Murray RK, Bender AD, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harperova ilustrirana biokemija. 28. izdanje. Zagreb: Medicinska naklada; 2011.
8. Olpin SE. Pathophysiology of fatty acid oxidation disorders and resultant phenotypic variability. *J Inherit Metab Dis.* 2013;36(4):645–58.
9. Lawrence MJ, Norris M, Kanungo S. Fatty Acid Oxidation disorders. *Indian J Pract Pediatr.* 2010;12(2):181–3.
10. Bilandžija I, Barić I, Škaričić A, Zekušić M, Križić I, Ramadža DP i sur. Program proširenog novorođenačkog probira Republici Hrvatskoj - zahtjevi i izazovi pravilnog uzimanja suhe kapi krvi. *Paediatr Croat.* 2018;62(Supl 1):10–4.
11. Banta-Wright SA, Shelton KC, Bennett MJ. Disorders of Fatty Acid Oxidation in the Era of Tandem Mass Spectrometry in Newborn Screening. *Newborn Infant Nurs Rev.* 2008;8(1):18–29.
12. Barić I Nasljedne metaboličke bolesti, Mardešić D i sur. *Pedijatrija.* 8. izdanje. Zagreb: Školska knjiga; 2016.
13. Leslie ND, Valencia CA, Strauss AW, Connor J, Zhang K. Very Long-Chain Acyl-Coenzyme A Dehydrogenase Deficiency. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. E, editor. *GeneReviews* [Internet]. 1993rd–2019th ed. Seattle (WA): University of Washington, Seattle Preuzeto 02. svibnja 2019. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6816/>
14. Zhang RN, Li YF, Qiu WJ, Ye J, Han LS, Zhang HW, et al. Clinical features and mutations in seven Chinese patients with very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *World J Pediatr.* 2014;10(2):119–25.
15. Pena LDM, Calcar SCV, Hansen J, Edick MJ, Walsh C, Leslie N, et al.



- Outcomes and genotype-phenotype correlations in 52 individuals with VLCAD deficiency diagnosed by NBS and enrolled in the IBEM-IS database. 2017;118(4):272–81.
16. Riaz N, Wolden SL, Gelblum DY, Eric J. Recurrent ACADVL molecular findings in individuals with a positive newborn screen for very long chain acyl-coA dehydrogenase (VLCAD) deficiency in the United States. 2016;118(24):6072–8.
  17. Spiekerkoetter U, Lindner M, Santer R, Grotzke M, Baumgartner MR, Boehles H, et al. Treatment recommendations in long-chain fatty acid oxidation defects: Consensus from a workshop. *J Inherit Metab Dis*. 2009;32(4):498–505.
  18. Andresen BS, Olpin S, Poorthuis BJHM, Scholte HR, Vianey-Saban C, Wanders R, et al. Clear Correlation of Genotype with Disease Phenotype in Very-Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency. *Am J Hum Genet*. 1999;64(2):479–94.
  19. Rovelli V, Manzoni F, Viau K, Pasquali M, Longo N. Clinical and biochemical outcome of patients with very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab* [Internet]. 2019 Preuzeto 28. travnja 2019. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2019.04.001>
  20. Diekman EF, Ferdinandusse S, Van Der Pol L, Waterham HR, Ruiten JPN, IJlst L, et al. Fatty acid oxidation flux predicts the clinical severity of VLCAD deficiency. *Genet Med*. 2015;17(12):989–94.
  21. Kobayashi T, Minami S, Mitani A, Tanizaki Y, Booka M, Okutani T, et al. Acute fatty liver of pregnancy associated with fetal mitochondrial trifunctional protein deficiency. *J Obstet Gynaecol Res*. 2015;41(5):799–802.
  22. Pena LDM, Calcar SCV, Hansen J, Edick MJ, Walsh C, Leslie N, et al. Outcomes and genotype-phenotype correlations in 52 individuals with VLCAD deficiency diagnosed by NBS and enrolled in the IBEM-IS database. *Mol Genet Metab*. 2017;118(4):272–81.
  23. Taylor AM. Clinical, Biochemical, and Molecular Features in 37 Saudi Patients with Very Long Chain Acyl CoA Dehydrogenase Deficiency. *JIMD Rep*. 2016;4:113–6.
  24. Martin D, Brivet M, Saudubray J-M, Rabier D, Jouvet P, Villain E, et al. Arrhythmias and Conduction Defects as Presenting Symptoms of Fatty Acid Oxidation Disorders in Children. *Circulation*. 2012;100(22):2248–53.
  25. Sedgwick ER. Early Presentation of Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency: Nursing Action Resulting in a Positive Outcome. *J Pediatr Nurs*. 2013;28(4):379–82.
  26. Li X, Ding Y, Ma Y, Liu Y, Wang Q, Song J, et al. Very long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency in Chinese patients: Eight case reports, including one case of prenatal diagnosis. *Eur J Med Genet* [Internet]. 2015;58(3):134–9. Preuzeto 28. travnja 2019. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2015.01.005>

27. Yamazaki H, Torigoe K, Numata O, Haniu H, Uchiyama A, Ogawa Y, et al. Mitochondrial trifunctional protein deficiency in a lethal neonate. *Pediatr Int.* 2004;46(2):178–80.
28. Spiekeroetter U, Mueller M, Cloppenburg E, Motz R, Mayatepek E, Bueltmann B, et al. Intrauterine cardiomyopathy and cardiac mitochondrial proliferation in mitochondrial trifunctional protein (TFP) deficiency. *Mol Genet Metab.* 2008;94(4):428–30.
29. Ojala T, Nupponen I, Saloranta C, Sarkola T, Sekar P, Breilin A, et al. Fetal left ventricular noncompaction cardiomyopathy and fatal outcome due to complete deficiency of mitochondrial trifunctional protein. *Eur J Pediatr.* 2015;174(12):1689–92.
30. Yamamoto H, Tachibana D, Tajima G, Shigematsu Y, Hamasaki T, Tanaka A, et al. Successful management of pregnancy with very-long-chain acyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *J Obstet Gynaecol Res.* 2015;41(7):1126–8.
31. Rovelli V, Manzoni F, Viau K, Pasquali M, Longo N. Clinical and biochemical outcome of patients with very long-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2019;
32. Stępień KM, Mark R, Hendriksz CJ. Very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency- diagnostic difficulties and own experience in multidisciplinary management. *Dev Period Med.* 2015;19(4):450–3.
33. Brown A, Crowe L, Andresen BS, Anderson V, Boneh A. Neurodevelopmental profiles of children with very long chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency diagnosed by newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2014;113(4):278–82.
34. Matern D, Rinaldo P. Medium-Chain Acyl-Coenzyme A Dehydrogenase Deficiency. In: dam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. E, editor. *GeneReviews® [Internet].* Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993. p. 1–25.  
Preuzeto 10. svibnja 2019.  
Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6816/%0A>
35. Olpin S. Medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency [Internet]. 2014 .  
Preuzeto 02. svibnja 2019.  
Dostupno na: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=EN&data\\_id=3570&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseGroup=Medium-chain-acyl-coenzyme-A-dehydrogenase&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group of diseases=Medium-chain-acyl-CoA-dehydrogen](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=3570&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Medium-chain-acyl-coenzyme-A-dehydrogenase&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group of diseases=Medium-chain-acyl-CoA-dehydrogen)
36. Nennstiel-Ratzel U, Arenz S, Maier EM, Knerr I, Baumkötter J, Röschinger W, et al. Reduced incidence of severe metabolic crisis or death in children with medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency homozygous for c.985A>G identified by neonatal screening. *Mol Genet Metab.* 2005;85(2):157–9.
37. Purevsuren J, Hasegawa Y, Fukuda S, Kobayashi H, Mushimoto Y, Yamada K, et al. Clinical and molecular aspects of Japanese children with medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab.* 2012;107(1–2):237–

- 40.
38. Yusupov R, Finegold DN, Naylor EW, Sahai I, Waisbren S, Levy HL. Sudden death in medium chain acyl-coenzyme a dehydrogenase deficiency (MCADD) despite newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2010;101(1):33–9.
  39. Sturm M, Herebian D, Mueller M, Laryea MD, Spiekerkoetter U. Functional Effects of Different Medium-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Genotypes and Identification of Asymptomatic Variants. *PLoS One.* 2012;7(9).
  40. Nelson J, Lewis B, Walters B. The HELLP syndrome associated with fetal medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 2000;23(5):518–9.
  41. Santos L, Patterson A, Moreea SM, Lippiatt CM, Walter J, Henderson M. Acute liver failure in pregnancy associated with maternal MCAD deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(1):103.
  42. Browning MF, Levy HL, Wilkins-Haug LE, Larson C, Shih VE. Fetal fatty acid oxidation defects and maternal liver disease in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2006;107(1):115–20.
  43. Woo HI, Park HD, Lee YW, Lee DH, Ki CS, Lee SY, et al. Clinical, biochemical and genetic analyses in two Korean patients with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Korean J Lab Med.* 2011;31(1):54–60.
  44. Potter BK, Little J, Chakraborty P, Kronick JB, Evans J, Frei J, et al. Variability in the clinical management of fatty acid oxidation disorders: Results of a survey of Canadian metabolic physicians. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35(1):115–23.
  45. Madsen KL, Preisler N, Orngreen MC, Andersen SP, Olesen JH, Lund AM, et al. Patients with medium-chain acyl-coenzyme a dehydrogenase deficiency have impaired oxidation of fat during exercise but no effect of L-Carnitine supplementation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(4):1667–75.
  46. Riaz N, Wolden SL, Gelblum DY, Eric J. Morbidity and mortality among exclusively breastfed neonates with medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Genet Med.* 2016;118(24):6072–8.
  47. Lisyová J, Chandoga J, Jungová P, Repiský M, Knapková M, Machková M, et al. An unusually high frequency of SCAD deficiency caused by two pathogenic variants in the ACADS gene and its relationship to the ethnic structure in Slovakia. *BMC Med Genet.* 2018;19(1):1–12.
  48. Van Maldegem BT, Wanders RJA, Wijburg FA. Clinical aspects of short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33(5):507–11.
  49. Tein I, Elpeleg O, Ben-Zeev B, Korman SH, Lossos A, Lev D, et al. Short-chain acyl-CoA dehydrogenase gene mutation (c.319C>T) presents with clinical heterogeneity and is candidate founder mutation in individuals of Ashkenazi Jewish origin. *Mol Genet Metab.* 2008;93(2):179–89.
  50. Nochi Z, Olsen RKJ, Gregersen N. Short-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: from gene to cell pathology and possible disease mechanisms. *J Inherit Metab Dis.* 2017;40(5):641–55.

51. Tonin R, Caciotti A, Funghini S, Pasquini E, Mooney SD, Cai B, et al. Clinical relevance of short-chain acyl-CoA dehydrogenase (SCAD) deficiency: Exploring the role of new variants including the first SCAD-disease-causing allele carrying a synonymous mutation. *BBA Clin.* 2016;5:114–9.
52. Gallant NM, Leydiker K, Tang H, Feuchtbaum L, Lorey F, Puckett R, et al. Biochemical, molecular, and clinical characteristics of children with short chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency detected by newborn screening in California. *Mol Genet Metab.* 2012;106(1):55–61.
53. Wolfe L, Jethva R, Oglesbee D. Short-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency Summary. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al. E, editor. *GeneReviews®* [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2019. p. 1–14.  
Preuzeto 15. svibnja 2019.  
Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK63582/>
54. Kim YM, Cheon CK, Park KH, Park SW, Kim GH, Yoo HW, et al. Novel and recurrent ACADS mutations and clinical manifestations observed in korean patients with short-chain Acyl-coenzyme a dehydrogenase deficiency. *Ann Clin Lab Sci.* 2016;46(4):360–6.
55. Pena L, Angle B, Burton B, Charrow J. Follow-up of patients with short-chain acyl-CoA dehydrogenase and isobutyryl-CoA dehydrogenase deficiencies identified through newborn screening: One centers experience. *Genet Med.* 2012;14(3):342–7.
56. Reddy GS, Sujatha M. A rare case of short-chain acyl-COA dehydrogenase deficiency: The apparent rarity of the disorder results in under diagnosis. *Indian J Clin Biochem.* 2011;26(3):312–5.
57. Olpin S. Multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency [Internet]. 2014  
Preuzeto 25. travnja 2019.  
Dostupno na: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=EN&data\\_id=8766&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseGroup=Glutaric-acidemia-type-2&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group of diseases=Multiple-acyl-CoA-dehydrogenase-deficiency&title=M](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=8766&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=Glutaric-acidemia-type-2&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group of diseases=Multiple-acyl-CoA-dehydrogenase-deficiency&title=M)
58. Multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency [Internet]. 2018  
Preuzeto 25. travnja 2019.  
Dostupno na: <https://www.omim.org/entry/231680#2>
59. Olsen RKJ, Andresen BS, Christensen E, Bross P, Skovby F, Gregersen N. Clear relationship between ETF/ETFDH genotype and phenotype in patients with multiple acyl-CoA dehydrogenation deficiency. *Hum Mutat.* 2003;22(1):12–23.
60. Angle B, Burton BK. Risk of sudden death and acute life-threatening events in patients with glutaric acidemia type II. *Mol Genet Metab.* 2008;93(1):36–9.
61. Wasant P, Kuptanon C, Vattanavicharn N, Liammongkolkul S, Ratanarak P, Sangruchi T, et al. Glutaric aciduria type 2, late onset type in thai siblings with myopathy. *Pediatr Neurol.* 2010;43(4):279–82.

62. Prasad M, Hussain S. Glutaric aciduria type II presenting as myopathy and rhabdomyolysis in a teenager. *J Child Neurol*. 2014;30(1):96–9.
63. Xue Y, Zhou Y, Zhang K, Li L, Kayoumu A, Chen L, et al. Compound heterozygous mutations in electron transfer flavoprotein dehydrogenase identified in a young Chinese woman with late-onset glutaric aciduria type II. *Lipids Health Dis*. 2017;16(1):1–7.
64. Zhu M, Zhu X, Qi X, Weijiang D, Yu Y, Wan H, et al. Riboflavin-responsive multiple Acyl-CoA dehydrogenation deficiency in 13 cases, and a literature review in mainland Chinese patients. *J Hum Genet*. 2014;59(5):256–61.
65. Zhuo Z, Jin P, Li F, Li H, Chen X, Wang H. A case of late-onset riboflavin responsive multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency (MADD) with a novel mutation in ETFDH gene. *J Neurol Sci*. 2015;353(1–2):84–6.
66. Fan X, Xie B, Zou J, Luo J, Qin Z, D’Gama AM, et al. Novel ETFDH mutations in four cases of riboflavin responsive multiple acyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Mol Genet Metab Reports*. 2018;16(May):15–9.
67. Ushikubo S, Aoyama T, Kamijo T, Wanders RJ a, Rinaldo P, Vockley J, et al. Molecular characterization of mitochondrial trifunctional protein deficiency: formation of the enzyme complex is important for stabilization of both alpha- and beta-subunits. *Am J Hum Genet*. 1996;58(5):979–88.
68. Fletcher AL, Pennesi ME, Harding CO, Weleber RG, Gillingham MB. Observations regarding retinopathy in mitochondrial trifunctional protein deficiencies. *Mol Genet Metab*. 2012;106(1):18–24.
69. Taylor AM. Necrotizing Enterocolitis and Respiratory Distress Syndrome as First Clinical Presentation of Mitochondrial Trifunctional Protein Deficiency Eugène. *JIMD Rep*. 2016;4:113–6.
70. Bo R, Hasegawa Y, Yamada K, Kobayashi H, Taketani T, Fukuda S, et al. A fetus with mitochondrial trifunctional protein deficiency: Elevation of 3-OH-acylcarnitines in amniotic fluid functionally assured the genetic diagnosis. *Mol Genet Metab Reports*. 2016;6:1–4.
71. Bo R, Yamada K, Kobayashi H, Jamiyan P, Hasegawa Y, Taketani T, et al. Clinical and molecular investigation of 14 Japanese patients with complete TFP deficiency: A comparison with Caucasian cases. *J Hum Genet*. 2017;62(9):809–14.
72. Purevsuren J, Fukao T, Hasegawa Y, Kobayashi H, Li H, Mushimoto Y, et al. Clinical and molecular aspects of Japanese patients with mitochondrial trifunctional protein deficiency. *Mol Genet Metab*. 2009;98(4):372–7.
73. Taylor AM. Mitochondrial Trifunctional Protein Deficiency: Severe Cardiomyopathy and Cardiac Transplantation. *JIMD Rep*. 2016;4:113–6.
74. Boese EA, Jain N, Jia Y, Schlechter CL, Harding CO, Gao SS, et al. Characterization of Chorioretinopathy Associated with Mitochondrial Trifunctional Protein Disorders: Long-Term Follow-up of 21 Cases. *Ophthalmology*. 2016;123(10):2183–95.
75. Hong YB, Lee JH, Park JM, Choi YR, Hyun YS, Yoon BR, et al. A compound

- heterozygous mutation in HADHB gene causes an axonal Charcot-Marie-tooth disease. *BMC Med Genet.* 2013;14(1).
76. Lu Y, Wu R, Meng L, Lv H, Liu J, Zuo Y, Zhang W, Yuan Y WZ. HADHB mutations cause infantile-onset axonal Charcot-Marie-Tooth disease: A report of two cases [Internet]. Vol. 37, *Clin Neuropathol.* 2018. p. 232–8. Preuzeto 20. svibnja 2019. Dostupno na <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29956646>
  77. Labarthe F, Benoist JF, Brivet M, Vianey-Saban C, Despert F, Ogier De Baulny H. Partial hypoparathyroidism associated with mitochondrial trifunctional protein deficiency. *Eur J Pediatr.* 2006;165(6):389–91.
  78. Naiki M, Ochi N, Kato YS, Purevsuren J, Yamada K, Kimura R, et al. Mutations in HADHB, which encodes the  $\beta$ -subunit of mitochondrial trifunctional protein, cause infantile onset hypoparathyroidism and peripheral polyneuropathy. *Am J Med Genet Part A.* 2014;164(5):1180–7.
  79. Taylor AM. Peripheral Neuropathy, Episodic Rhabdomyolysis, and Hypoparathyroidism in a Patient with Mitochondrial Trifunctional Protein Deficiency. *JIMD Rep.* 2016;4:113–6.
  80. Taylor AM. Diagnosis, Treatment, and Clinical Outcome of Patients with Mitochondrial Trifunctional Protein/Long-Chain 3-Hydroxy Acyl-CoA Dehydrogenase Deficiency. *JIMD Rep.* 2016;4:113–6.
  81. Olpin S. Long chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency [Internet]. 2014 Preuzeto 05. svibnja 2019. Dostupno na: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=EN&data\\_id=3555&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseGroup=LCHADD&Disease\\_Disease\\_Search\\_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group of diseases=Long-chain-3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase-deficiency&title=Long cha](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=3555&Disease_Disease_Search_diseaseGroup=LCHADD&Disease_Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group of diseases=Long-chain-3-hydroxyacyl-CoA-dehydrogenase-deficiency&title=Long cha)
  82. Wanders RJ, Duran M, Ijlst L, de Jager JP, van Gennip AH, Jakobs C, Dorland L van SF. Sudden infant death and long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase. *Lancet.* 1989;2(8653):52–3.
  83. Joost K, Ōunap K, Žordania R, Uudelepp M-L, Olsen RK, Kall K, et al. Prevalence of Long-Chain 3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Deficiency in Estonia. *JIDM Rep.* 2011;2:79–85.
  84. Tyni T, Pihko H. Long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Acta Pædiatr* 1999; 1999;1982(2):237–45.
  85. Nedoszytko B, Siemińska A, Strapagiel D, Dąbrowski S, Słomka M, Sobalska-Kwapis M, et al. High prevalence of carriers of variant c.1528G>C of HADHA gene causing long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency (LCHADD) in the population of adult Kashubians from North Poland. *PLoS One.* 2017;12(11):1–15.
  86. Ijlst L, Heymans HS a, Wijburg F a. Clinical Presentation and Follow-Up of 50 Patients. *Pediatrics.* 2002;109(1):99–104.
  87. Immonen T, Turanlahti M, Paganus A, Keskinen P, Tyni T, Lapatto R. Earlier

- diagnosis and strict diets improve the survival rate and clinical course of long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2016;105(5):549–54.
88. Lotz-Havla AS, Röschinger W, Schiergens K, Singer K, Karall D, Konstantopoulou V, et al. Fatal pitfalls in newborn screening for mitochondrial trifunctional protein (MTP)/long-chain 3-Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase (LCHAD) deficiency. *Orphanet J Rare Dis*. 2018;13(1):1–8.
  89. Karall D, Brunner-Krainz M, Kogelnig K, Konstantopoulou V, Maier EM, Möslinger D, et al. Clinical outcome, biochemical and therapeutic follow-up in 14 Austrian patients with Long-Chain 3-Hydroxy Acyl CoA Dehydrogenase Deficiency (LCHADD). *Orphanet J Rare Dis*. 2015;10(1).
  90. Sukanuma H, McPhee AJ, Bratkovic D, Gibson RA, Andersen CC. Serial fatty acid profiles in a preterm infant with long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatr Int*. 2019;415–6.
  91. Raval DB, Cusmano-ozog KP, Ayyub O, Jenevein C, Kofman LH, Lanpher B, et al. Diagnosis of LCHAD / TFP deficiency in an at risk newborn using umbilical cord blood acylcarnitine analysis. *Mol Genet Metab Reports*. 2017;10:8–10.
  92. Kivelä TT. Early dietary therapy for long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency can maintain vision despite subnormal retinal function. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2016;105(12):1461.
  93. Taylor AM. Neuropsychological Development in Patients with Long-Chain 3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase (LCHAD) Deficiency A. *JIMD Rep*. 2016;4:113–6.
  94. Tyni T, Kivela T, Lappi M, Summanen P, Nikoskelainen E, H P. Ophthalmologic findings in long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency caused by the G1528C mutation: A new type of hereditary metabolic chorioretinopathy. *Ophthalmology*. 1998;105(5):810–24.
  95. Espinosa-barberi G, Julissa C, Rosales A. Follow-up and multimodal imaging in long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency. *Int J Ophthalmol*. 2018;(Figure 2):1730–2.
  96. Tuuli I, Emilia A, Jussi T, Risto L, Tiina T, Leena L. Peripheral neuropathy in patients with long-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency - A follow-up EMG study of 12 patients. *Eur J Paediatr Neurol*. 2016;20(1):38–44.
  97. Haglind CB1, Stenlid MH, Ask S, Alm J, Nemeth A, Döbeln U NA. Growth in Long-Chain 3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Deficiency. *JIMD Rep*. 2016;4:113–6.
  98. Das AM, Illsinger S, Lücke T, Hartmann H, Ruitter JPN, Steuerwald U, et al. Isolated mitochondrial long-chain ketoacyl-CoA thiolase deficiency resulting from mutations in the HADHB gene. *Clin Chem*. 2006;52(3):530–4.
  99. Li C, Chen P, Palladino A, Narayan S, Russell LK, Sayed S, et al. Mechanism of hyperinsulinism in short-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency involves activation of glutamate dehydrogenase. *J Biol Chem*.

2010;285(41):31806–18.

100. Kapoor RR, James C, Flanagan SE, Ellard S, Eaton S, Hussain K. 3-Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase deficiency and hyperinsulinemic hypoglycemia: Characterization of a novel mutation and severe dietary protein sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(7):2221–5.
101. Martins E, Cardoso ML, Rodrigues E, Barbot C, Ramos A, Bennett MJ, et al. Short-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency: The clinical relevance of an early diagnosis and report of four new cases. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34(3):835–42.
102. Taylor AM. 3-Hydroxyacyl-Coenzyme A Dehydrogenase Deficiency: Identification of a New Mutation Causing Hyperinsulinemic Hypoketotic Hypoglycemia, Altered Organic Acids and Acylcarnitines Concentrations. *JIMD Rep.* 2016;4:113–6.
103. Vilarinho L, Sales Marques J, Rocha H, Ramos A, Lopes L, Narayan SB, et al. Diagnosis of a patient with a kinetic variant of medium and short-chain 3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase deficiency by newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2012;106(3):277–80.
104. Bennett MJ, Russell LK, Tokunaga C, Narayan SB, Tan L, Seegmiller A, et al. Rye-like syndrome resulting from novel missense mutations in mitochondrial medium- and short-chain l-3-hydroxy-acyl-CoA dehydrogenase. *Mol Genet Metab.* 2006;89(1–2):74–9.



## **8. Životopis**

Rođena sam 12. travnja 1994. godine u Zagrebu gdje sam završila Osnovnu školu Zapruđe i V.gimnaziju.

2013. godine upisala sam Medicinski fakultet u Zagrebu. Kroz svoje studentsko obrazovanje bila sam demonstrator na Katedri za anatomiju, Katedri za histologiju i embriologiju, Katedri za kliničku propedeutiku i Katedri za pedijatriju. Tijekom studija bila sam aktivni član Studentske pedijatrijske sekcije te, tijekom šeste godine, volonter Hrvatskog Saveza za rijetke bolesti..

Govorim engleski i njemački jezik. Volim trčanje, kojim se rekreativno bavim.