Poremećaji transmetilacije u djece

Golubić, Iva

Master's thesis / Diplomski rad

2017

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://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:105:700306

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**



Repository / Repozitorij:

Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository







SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

MEDICINSKI FAKULTET

Iva Golubić

Poremećaji transmetilacije u djece

DIPLOMSKI RAD



Zagreb, 2017

Ovaj diplomski rad izrađen je na Klinici za pedijatriju Kliničkog bolničkog centra Zagreb, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom doc. dr. sc. Marija Ćuka, dr. med. i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2016./2017.

Mentor : doc. dr. sc. Mario Ćuk, dr. med.

Kratice:

aDMA - asimetrično dimetilirani arginin

AdoHcy – S-adenozilhomocistein

AdoMet – S-adenozilmetionin

AHCY – gen za enzim SAHH

CK – kretin kinaza

GNMT – glicin N-metiltransferaza

MAT – metionin adenoziltransferaza

MI – metilacijski indeks

MR – magnetska rezonanca

SAHH – S-adenozilhomocistein hidrolaza

SAM - S-adenozilmetionin

tHyc – ukupni homocistein

SADRŽAJ

Sažetak 1

Summary 2

Patofiziologija bolesti 5

Epidemiologija metaboličkih bolesti 9

Dijagnostika i diferencijalna dijagnoza 15

Terapija 18

Kratki pregled ostalih poremećajima ciklusa metionina 21

Prognoza bolesti 23

Zahvale 24

Odabrana literatura 25

Životopis 30

Sažetak

Poremećaji transmetilacije

Poremećaji transmetilacije skupina su rijetkih metaboličkih bolesti vezanih uz ciklus metionina. Skupni je to naziv za četiri enzimopatije koje uzrokuju neadekvatnu metilaciju i prvenstveno djeluju na tri ciljna organa: mozak, jetru i mišiće. Treći enzim u metaboličkoj reakciji metionina je S-adenozilhomocistein hidrolaza. Nedostak aktivnosti SAHH bolesti je prvi puta opisana od strane hrvatskih istraživača 2004. godine. Do sada je zabilježeno tek 10 slučajeva spomenute bolesti. Bolest je to koja se vrlo teško dijagnosticira ako kliničar s njome nije upoznat. Povišene vrijednosti kretin kinaze i miopatija nalazi su koji moraju pobuditi sumnju na ovu bolest, a dijagnozu postavljamo mjerenje S-adenozilhomocisteina i S-adenozilmetionina. Terapija nije etiološka, ali se bolest uglavnom može držati pod kontrolom primjerenom dijetom. Važno je dijetu s niskim udjelom proteina početi provoditi u što ranijoj dobi da bi se izbjegle ireverzibilne posljedice toksičnog djelovanja S-adenozilhomocisteina na mozak i lokomotorni sustav, odnosno cilj terapije je izbjeći neuromotoričko zaostajanje djeteta. Prognoza je bolja, a komplikacije rjeđe ako se bolest prije otkrije. Komplikacije su najčešće vezane uz tromboemolijske incidente, hemoragijsku dijatezu i promjene na jetri. Pacijenti zahtijevaju multidisciplinarni pristup i doživotno praćenje kako bi se bolest što bolje kontrolirala i kako bi se spriječile njene komplikacije.

Summary

Transmethylation disorders in children

Transmethylation disorders are group of metabolic diseases related to the methionine cycle. It is a common name for four enzymes that cause inadequate methylation and, thus, primarily affect three organs: brain, liver and muscles. The third enzyme in metabolic reaction of methionine is S-adenosylhomocysteine hydrolase. Lack of activity of this enzyme is the disease which was first described by Croatian researchers in 2004. Up to now, only 10 cases of this disease have been reported. The illness is very difficult to be diagnosed by MDs, as many are unfamiliar with it. However, elevated levels of creatine kinase, accompanied by myopathy, are the clearest signs for suspecting this particular form of transmethylation disorder. Diagnosis is made by measuring S-adenosylhomocysteine and S-adenosylmethionine. Therapy is not etiological, but the disease can usually be controlled by an adequate diet. It is important to start a low-protein diet as early as possible in order to avoid the irreversible effects of AdoHcy's toxicity on the brain and locomotor system. The main goal is to prevent neuromotor retardation. Prognosis is better and complications are less severe if the disease is detected earlier. Complications are usually associated with thromboembolic incidents, hemorrhagic diathesis and liver pathology. Patients need a multidisciplinary approach and lifelong follow-up in order to control disease and prevent complications.

Uvod u poremećaje transmetilacije u djece

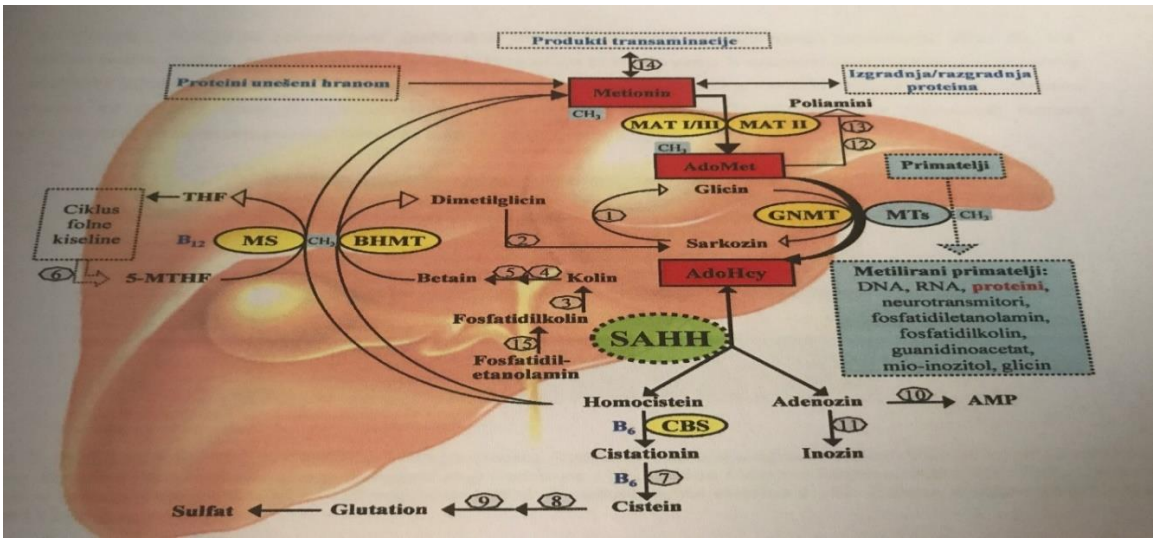
Transmetilacija je uz deaminaciju, desulfuraciju i transaminaciju jedna je od reakcija u metabolizmu aminokiselina. To je biološki važan proces prijenosa metilne grupe (-CH3) među aminokiselinama. Metilna se grupa prenosi s aktivnog metionina na drugu molekulu. Da bi metionin mogao biti donor skupine mora biti aktiviran u obliku S-adenozilmetionina. Ova je reakcija važna za organizam jer brojni spojevi nastaju ili postaju biološki aktivni, time i funkcionalni, tek nakon metilacije, a uz to brojni su proteini time zastićeni od raspadanja. Posebno značajni produkti ove reakcije su kolin, kreatin, epinefrin i norepinefrin. Poremećaji u ovome procesu spadaju u grupu rijetkih metaboličkih bolesti koje karakterizira slaba aktivnosti ili neaktivnost specifičnog enzima. Međupodukti koji se nakupljaju zbog poremećenog metabolizma najčešće služe u dijagnostičkim postupcima. Metabolički poremećaji općenito moraju se imati na umu uvijek kada se iscrpljenjem standardnih pretraga i dalje je ne može objasniti kliničko stanje ili laboratorijski nalazi bolesnika. Liječenje ako postoji, uspješno je jedino ukoliko počne dovoljno rano. Iz toga razloga ove bolesti, iako su izuzetno rijetke, uvijek moraju kliničaru biti na umu u diferencijalnoj dijagnozi i moraju se poznavati osnovni principi postupanja sa pacijentom za kojeg se sumnja da ima metaboličku bolest. Bolesti ovog tipa progresivnog su tijeka i pogoršanje stanja oboljelog djeteta u vrlo kratkom vremenu može biti značajno, što je još jedan od razloga zašto su ovi poremećaji vrlo su važni za prepoznati u što kraćem vremenu. Neprepoznati oni dovode do akutne dekompenzacije metaboličke bolesti, teških oštećenja, prije svega neuroloških te čak mogu dovesti i do smrti. Incidencija svake zasebne metaboličke bolesti je jako mala, naizgled beznačajna, ali pravu važnost tih bolesti prikazuje podatak da se one zajedno javljaju u 1 na 800 do 1 na 2500 slučajeva [1] [2], a tek ih se manji dio uistinu i otkrije. Smatra se da u najboljem

slučaju, u najrazvijenim zemljama ta brojka iznosi tek 20 posto [3]. Bolest odnosi tri puta više života nego ih se spasi pravodobnom intervencijom [3]. Ove bolesti su multisistemne i nastaju monogenskom mutacijom koja za posljedicu ima manjak ili nedostatak enzim. Nasljedne su što njihovu dijagnostiku ne čini važnom samo za pacijenta već i cijelu njegovu obitelj jer se bolest u obitelji često ponovi. Jednu vrlo malu skupinu metaboličkih bolesti čine poremećaji transmetilacije u reakcijama aminokiselina, glavna tema ovog rada. Trenutno su opisana četiri poremećaja metilacije, to su nedostatak aktivnosti metionin adenoziltransferaze (MAT), nedostatak aktivnosti glicin-N-metiltransferaze (GNMT), nedostatak aktivnosti adenozin kinaze (AK) i nedostatak aktivnosti S-adenozilhomocistein hidrolaze (SAHH). Ove četiri bolesti imaju neke zajedničke karakteristike, uzevši u obzir da su pogođeni ključni organi: mišići, jetra i mozak, ali se po mnogo čemu i razlikuju. U ovom preglednom radu biti će riječ najviše o posljednjem poremećaju, vezanom uz aktivnost SAHH koja je prvi puta opisana od strane istraživača KBC Zagreb 2004. godine [4].

Patofiziologija bolesti

Metabolički poremećaji kao posljedica potpunog nedostatka ili slabe aktivnosti enzima u metaboličkoj reakciji, rezultiraju nakupljanjem inicijalnog spoja ili nekog spoja u tijeku same reakcije, ovisno o tome u kojem dijelu reakcije se pogođeni enzim normalno nalazi. Na mjestu gdje se taj enzim nalazi dolazi do prekida reakcije, samim time i do nedostatka konačnog produkta reakcije, normalnog proteina. Nedostatak konačnog produkta i nakupljanje međuprodukata u količini u kojoj nisu normalno prisutni u organizmu, najčešće izazivaju simptomatsku metaboličku bolest. Metionin je jedna od dvadeset aminokiselina, esencijalna aminokiselina koja sadrži sumpor i služi za izgradnju proteina u organizmu potrebnih za brojne funkcije u organizmu, a druga uloga te aminokiseline je izvor metilnih skupina u transmetilaciji. Ovaj proces ima vrlo važnu ulogu u stvaranju složenog epigenetskog zapisa organizma kao osnovu raznolikosti svih živih bića [5]. Raznovrsnost proteina koji nastaju kodiranjem iz ograničenog broja gena uvjetovan je pravovaljanom aktivacijom točno određenog gena na točno određenom mjestu u točno određeno vrijeme. Nakon sinteze proteina odvija se sljedeći korak, specifična postranslacijska modifikacija tog proteina. Tim mehanizmima iz 20 tisuća gena nastaje 250 tisuća različitih proteina [5]. Različito ispoljavanje gena, u kojem važnu ulogu ima metilacija, u međudjelovanju s okolinom dovodi do razvoja različitog fenotipa kod svakog pojedinca. Metilacija, promjenom strukture mijenja i funkciju proteina, čime se ostvaruje tkivno i vremenski specifično djelovanje novonastalog proteina. U sva četiri gore navedena poremećaja postoji problem kod prijenosa metilne skupine, a enzimi koji vrše ove reakcije zajednički se nazivaju metiltransferaze ili

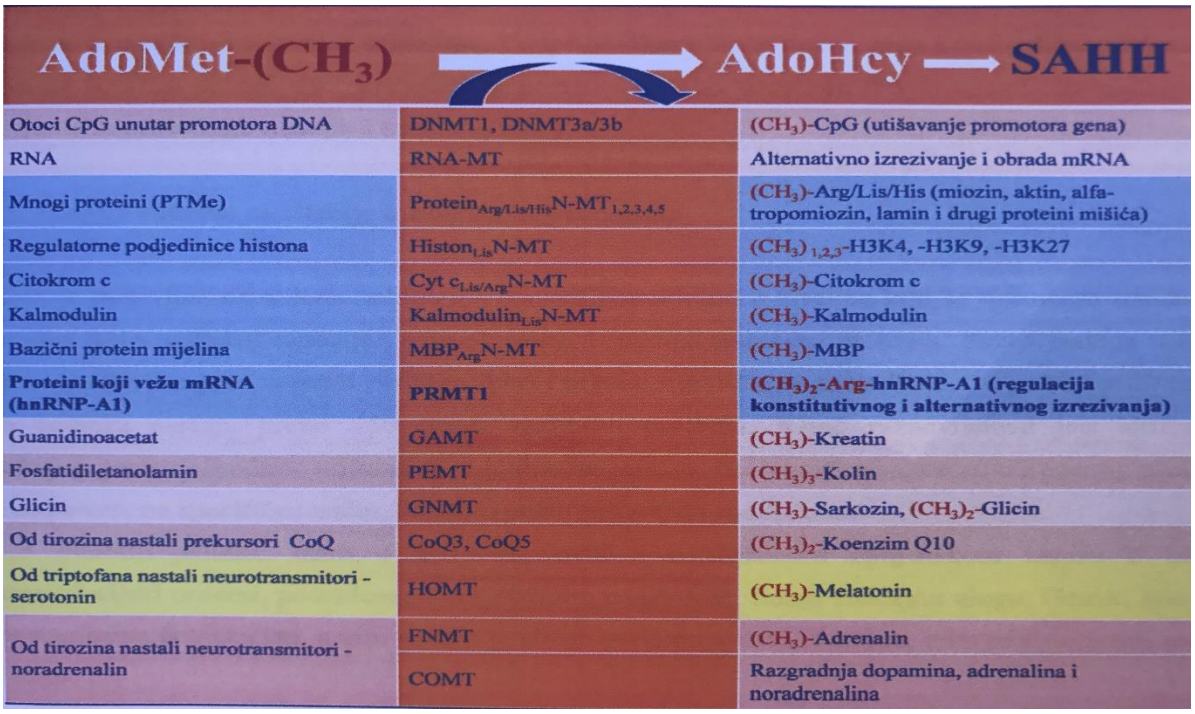
transmetilaze. SAHH je jedan od tih enzima, sudjeluje u ciklusu metionina, u transmetilaciji i transsulfuraciji. Treći je to enzim u metaboličkoj reakciji razgradnje metionina (Slika 1).



Slika 1. Ciklus metionina. Preuzeto i prilagođeno prema: Ćuk M, 2013 [5]

Njegova je uloga trenutna pretvorba AdoHcy, nakon njegova nastanka, u adenozin i homocistein [5]. Poremećaj nedostatne aktivnosti SAHH nastaje mutacijom na AHCY genu. Kada njegova aktivnost nije primjerena nalazimo nakupljanje AdoHcy uz manjak adenozina i homocisteina kao konačnih produkata reakcije. Ovime taj enzim ima ulogu održavanja metilacijskog indeksa, odnosno potencijala stanice, što je omjer koncentracija S-adenozilmetionina i S-adenozilhomocisteina [5]. Što je viša koncentracija AdoHcy , niži je metilacijski indeks koji određuje tijek transmetilacijskih procesa stanice, a niži indeks znači jaču inhibiciju transmetilacijskih reakcija [7]. SAHH enzim je jedina kontrola AdoHyc, spoja koji je snažni inhibitor svih transmetilacijskih reakcija ovisnih o AdoMet (Slika 2), što ovaj enzim čini regulatorom transmetilacije u svim stanicama. AdoHcy je slobodni radikal nastao prijenosom

metilne skupine sa AdoMet na druge molekule u reakciji posredovanoj metiltransferazama. Od AdoMet-a se razlikuje samo po jednoj metilnoj skupini manjka koja je predana nekoj drugoj molekuli, što je dovoljno da umjesto induktora metilacije postane inhibitor iste. Ukoliko se ovaj produkt dalje ne razgrađuje on ostaje slobodan u plazmi i može se odstranjivati samo bubregom jer ga stanice ne mogu metabolizirati. Nakupljanje AdoHcy inhibira djelovanje metiltranseraza i time uzrokuje manjak ili neaktivnost brojnih bitnih spojeva [5]. Brojnost tih spojeva vidi se na Slici 2.



Otoci CpG unutar promotora DNA	DNMT1, DNMT3a/3b	(CH_3)-CpG (utišavanje promotora gena)
RNA	RNA-MT	Alternativno izrezivanje i obrada mRNA
Mnogi proteini (PTMe)	$Protein_{Arg/Lis/His}$N-$MT_{1,2,3,4,5}$	(CH_3)-Arg/Lis/His (miozin, aktin, alfa-tropomiozin, lamin i drugi proteini mišića)
Regulatorne podjedinice histona	$Histon_{Lis}$N-MT	$(CH_3)_{1,2,3}$-H3K4, -H3K9, -H3K27
Citokrom c	Cyt $c_{Lis/Arg}$N-MT	(CH_3)-Citokrom c
Kalmodulin	$Kalmodulin_{Lis}$N-MT	(CH_3)-Kalmodulin
Bazični protein mijelina	MBP_{Arg}N-MT	(CH_3)-MBP
Proteini koji vežu mRNA (hnRNP-A1)	**PRMT1**	**$(CH_3)_2$-Arg-hnRNP-A1 (regulacija konstitutivnog i alternativnog izrezivanja)**
Guanidinoacetat	GAMT	(CH_3)-Kreatin
Fosfatidiletanolamin	PEMT	$(CH_3)_3$-Kolin
Glicin	GNMT	(CH_3)-Sarkozin, $(CH_3)_2$-Glicin
Od tirozina nastali prekursori CoQ	CoQ3, CoQ5	$(CH_3)_2$-Koenzim Q10
Od triptofana nastali neurotransmitori - serotonin	HOMT	(CH_3)-Melatonin
Od tirozina nastali neurotransmitori - noradrenalin	FNMT	(CH_3)-Adrenalin
	COMT	Razgradnja dopamina, adrenalina i noradrenalina

Slika 2. Prikaz reakcija transmetilacije za koje je dokazano, ili bi mogle biti poremećene u uvjetima nedostatne aktivnosti SAHH.

Lijevo su "primatelji" metilne skupine, u sredini enzimi, a desno produkti transmetilacije.

Prema: Ćuk M. Utjecaj nedostatne aktivnosti S-adenozilhomocistein hidrolaze na metilaciju proteina, 2013. [5]

Od tih spojeva manjak fosftidilkolina i kretina je posebno važan i supstituira se u terapiji. Ta su dva spoja dalje izvor za sintezu spojeva bitnih u diferencijaciji i funkciji stanica, prvenstveno jetre i središnjeg živčanog sustava. Fosfatidilkoline je neophodan za normalnu funkciju jetre [8,9], a kreatine za normalnu neuromuskularnu funkciju kod djece [10-12].Jedinstvena važnost enzima SAHH dokazana je i ispitivanjem na miševima s delecijom na genu koji kodira ovaj enzim i koji su ugibali devetog dana fetalnog razdoblja [13] i biljkama s istom delecijom koje se aberantno razvijaju [14], a pokazalo se da nedostatak aktivnosti tog enzima uzrokuje poremećaje metilacije [15,16]. Paralelno se dokazivala i toksičnost S-adenozilhomocisteina kao osnovnog produkta gore spomenute reakcije s nefunkcionalnim enzimom. Ova toksičnost se navodi vezana uz hiperhomocisteinemiju [17,18] sve se češće navodi i kao važniji kemopatogen u većini stanja s hiperhomocisteinemijom [19] i konačno se u više navrata S-adenozilhomocistein pokazao kao važan čimbenik u patogenezi bolesti s nedostatkom aktivnosti enzima SAHH (Barić 2004, Barić 2005,Buist 2006, Ćuk 2007, Vugrek 2009, Barić 2009, Grubbs 2010, Barić 2012, Honzik 2012) [5].

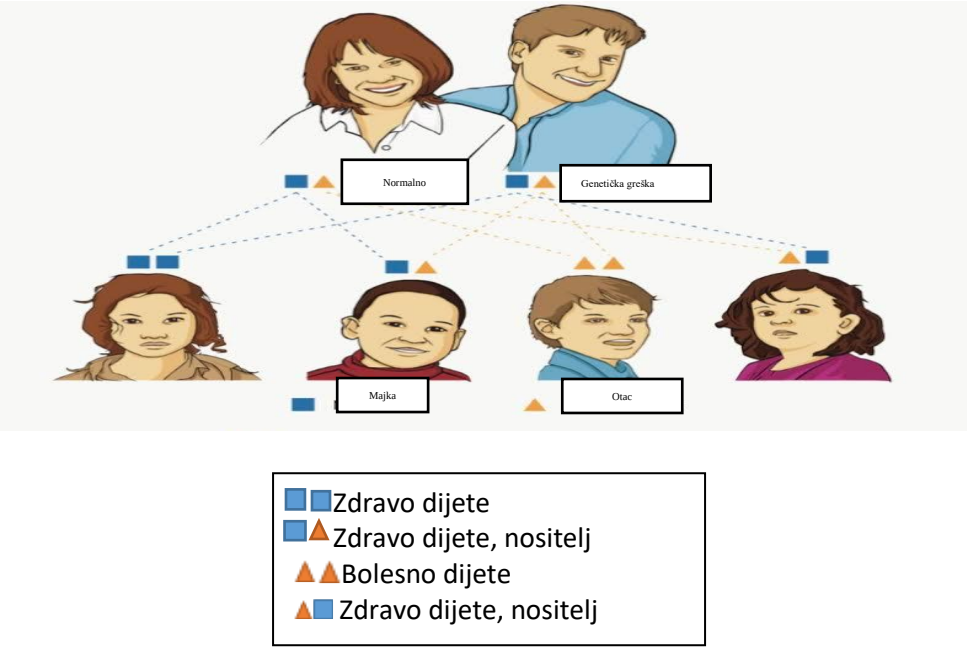
Epidemiologija metaboličkih bolesti

Metaboličke bolesti obuhvaćaju širok spektar zasebno vrlo rijetkih entiteta, ali oni proučavani zajedno čine značajan broj oboljele djece kojima se često pravom dijagnozom može spasiti život. Pogađaju 1% populacije [3]. Zasebno su vrlo rijetke, a zajedno njihova brojka doseže incidenciju od 1 na 800 do 1 na 2500 [1,2]. Poremećaji aminokiselina, u koju spadaju poremećaji transmetilacije, ovisno o proučavanom području imaju incidenciju između 7.6 i 18.7 na 100000 rođenih[1,2], ne računajući ovdje fenilketonuriju. Kao moguć uzrok različitih vrijednosti smatraju se razlike u etničkom sastavu stanovništva, različite metode ispitivanja i tehnološke razlike. Ukupno poremećaji transmetilacije bez nedostatne aktivnosti MAT (čija je incidencija veća jer je se bolest nasljeđuje autodomno dominantno i iznosi 1 na 28000) (Tablica 1) [20], do sada su opisana tek tridesetak slučajeva

Poremećaj	**Broj pacijenata s lab. podacima**	**Procjena broja pacijenata**
Nedostatak aktivnosti MAT	143	1:28,000
Nedostatak aktivnosti GNMT	0	3
Nedostatak aktivnosti SAHH	0	8
Nedostatak aktivnosti AK	0	6

Tablica 1. Metabolički poremećaji prema podacima obrađenima u članku [20] i njihova incidencij. Prema: Huemer M, 2015

Iako je ovaj broj nizak, smatra se da je ta vrijednost u stvarnosti viša jer brojni slučajevi ostanu nedijagnosticirani. Bolesti iz ovog spektra nasljeduju se autosomno recesivno. Ako su oba roditelja nosioci defektnog gena šansa da će dijete oboljeti u svakoj je trudnoći 25%, a da će dijete biti nositelj 50% (Slika 3).



Slika 3. Način nasljeđivanja poremećaja metioninskog ciklusa. Prema: http://www.e-hod.org/file/4145/methylation_EN_final.pdf [6]

Iz tog razloga ne iznenađuje činjenica veće pojavnosti bolesti unutar iste porodice i činjenica da su prva dva opisana slučaja, dva braća [21]. Nedostatak aktivnosti enzima SAHH do sada je opisana u deset slučajeva na svijetu, u šest različitih porodica, a prvi puta od hrvatske skupine istraživača. Osam od deset slučajeva bila su djeca, jedan slučaj ove bolesti opisan je kod odrasle osobe [22], a jedan postmortalno kod žene koja je umrla od karcinoma jetre. Dvoje pacijenata je umrlo u ranoj dobi, trenutno se smatra da s dijagnosticiranom bolesti živi 8 osoba (Tablica 1). Sinu

žene umrle od karcinoma u dobi od 7 godina otkrivena je mutacija iako nema izražene simptome. Nedostatak aktivnosti GMNT je opisana u 5 slučajeva iz iste porodice [23], a nedostatak aktivnosti AK u 6 osoba [20].

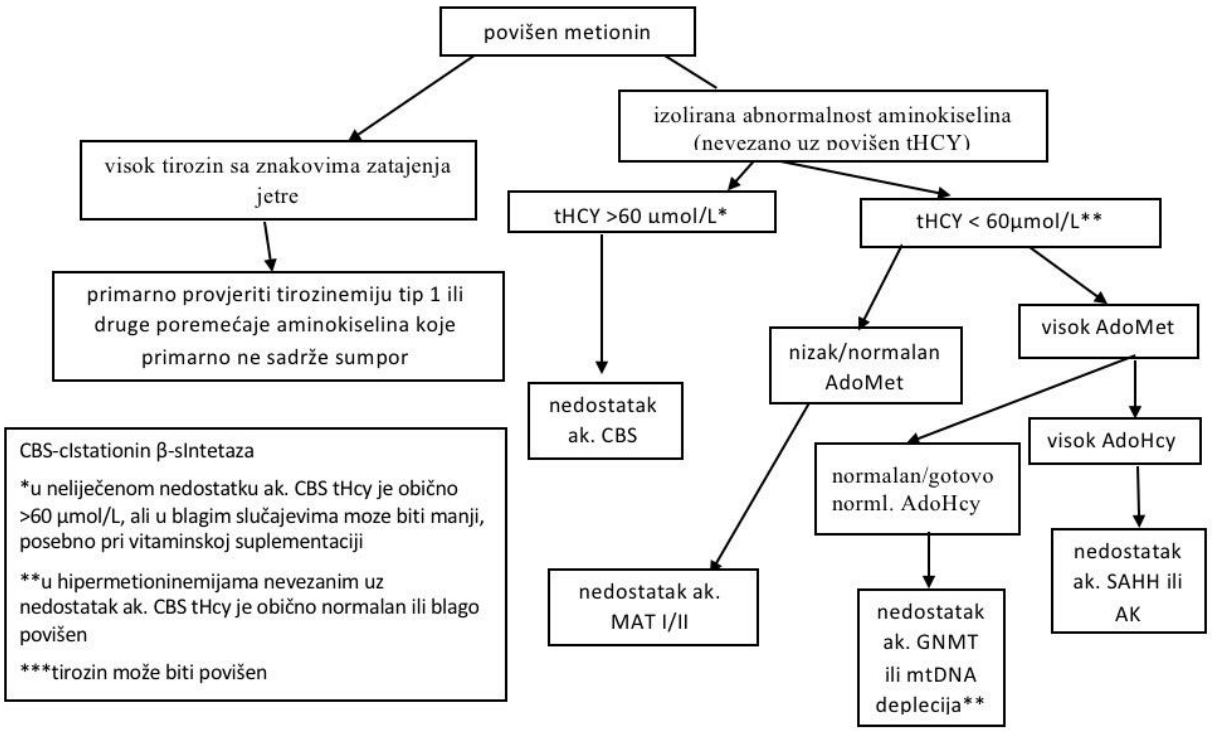
Klinička prezentacija

Različiti znakovi i simptomi javljaju se u različitim metaboličkim poremećajima, ali čak i ista bolest metabolizma može značajno varirati simptomatologijom od osobe do osobe. Klinička prezentacija varira ovisno o mnogim čimbenicima, prije svega o preostaloj funkciji enzima, stanju organizma, vremenu otkrivanja bolesti i vremenu kada je započeto liječenje. Unatoč širokom spektru simptoma, u akutnoj dekompezaciji, metaboličke bolesti imaju slične karakteristične simptome i znakove. Akutni znakovi metaboličke krize uključuju gastrointestinalne simptome s posljedičnom dehidracijom i šokom, letargiju i komu, zbog pogođenosti središnjeg živčanog sustava, a javljaju se i rabdomioliza i hipoglikemija. U pregledu 53 pacijenta prilikom prijema u hitnu službu, s dijagnosticiranom metaboličkom bolesti, 85% se prezentiralo neurološkim simptomima uključujući hipotoniju, letargiju, komu, napadaji i psihomotorno zaostajanje [24]. Laboratorijski nalazi koji se mogu naći prilikom prve procjene pacijenta u hitnoj službi jesu poremećaji acidobazne ravnoteže, hiperamonijemija, hipoglikemija i nalazi slični onima u sepsi vezano uz supresiju koštane srži. Često su upravo ovi nalazi prva stvar koja upućuje k dijagnozi metaboličke bolesti. Klinička manifestacija nedostatnosti enzima SAHH također varira od pojedinca do pojedinca. Pretežno pogađa tri organa: jetru, mišiće i mozak, ali ne nužno uvijek sve od navedenog. Općenito kod svake pojave kombinacije miopatije i povišene kreatin kinaze mora se posumnjati na nedostatak aktivnosti SAHH. Najčešće se javlja kombinacija urođene slabosti mišića i zaostajanje u psihomotornom razvoju, individualno različitog zahvaćanja i jakosti, kao dva vodeća simptoma. Bolest može biti i potpuno bez vidljivih simptoma. Mišići pokazuju znakove sporo progresivne destruktivne miopatije koja u teškim slučajevima zahvaća respiratorne mišiće i uzrokuje respiratornu insuficijenciju. U najgorim slučajevima to može biti i uzrok smrti

djeteta. Osim mišića lokomotorni sustav je pogođen i zbog slabe mijelinizacije živčanih vlakana što rezultira usporenim provođenjem živčanog impulse. Tetivni i primitivni refleksi su oslabljeni ili nepostojeći. Jetra pokazuje promjene nalik blago aktivnom hepatitisu sa nedostatkom hrapavog endoplazmatskog retikuluma kao glavnog izvora sintetske funkcije jetre. Promjene u jetri smatra se uzrokuju nisku proizvodnju albumina i produženo protrombinsko vrijeme. Uz to se za ovu bolest, kod nekih pacijenata, vezuje poremećeno grušanje krvi. Poremećeno grušanje krvi izvor je brojnih komplikacija, povećan rizik od krvarenja i patološko formiranja krvnih ugrušaka. Novija istraživanja su pokazala da bi ova bolest mogla biti povezana i s većom incidencijom carcinoma jetre [25]. Ostali znakovi bolesti, koji se rjeđe javljaju su: strabizam, usporeno sazrijevanje bijele tvari mozga, mikrocefalija i kongenitalne anomalije mozga i fetalni hidrops, kao najgori oblik bolesti. Dvije pacijentice, sestre, umrle su rano od teškog oblika bolesti. Rana prezentacija, u ovom teškom obliku bolesti, u vidu fetalnog hidropsa, dogodila se najvjerojatnije zbog nedovoljne proizvodnje proteina u jetri i posljedične hipoproteinemije. Obje pacijentice su imale i ozbiljnu mišićnu slabost, izraženu posebno u području dišne muskulature, s nemogućnošću adekvatnog disanja, uz to su imale i strukturne anomalije mozga. Zatajenje respiracijskog sustava konačno je dovelo do smrti kod obje pacijentice. Osim njih, ostali slučajevi bolesti nisu toliko ozbiljni, a kao zajednička karakteristika svima je nalaz poteškoća u neurorazvojnom procesu i odgođen i otežan početak normalnih faza razvitka poput sjedenja i hodanja. Pacijenti su bili motorički usporeni i neaktivni, hipotoni sa slabim interesom za zbivanja u okolini i okolinu općenito. U nešto starijoj dobi do izražaja dolaze problemi u ponašanju prije svega poremećaji pažnje i hiperaktivnost. Ovako mali broj slučajeva ne može nam sve reći o kompletnoj kliničkoj slici koja je u slučaju ovog poremećaja značajno varira ovisno o pacijentu. Ali se do sada u svim zabilježenim slučajevima

našla mišićna slabost i povećana vrijednost kreatin kinaze. Upravo kombinacija tih dvaju simptoma najčešće vodi k pravoj dijagnozi bolesti.

Dijagnostika i diferencijalna dijagnoza



Slika 4. Dijagnostički algoritam kod hipermetininemije. Preuzeto i prilagođeno prema: Barić I, 2017 [23]

Osnovni nalaz ove grupe poremećaja, koji posebno u ranoj dobi ne mora uvijek biti prisutan, je izolirana hipermetioninemija. Hipermetioninemija je stanje koje je dosta često i povezano s brojnim poremećajima i zbog toga samo njegovo mjerenje nije dovoljno selektivno i specifično za postavljanje dijagnoze. Dijagnostika i određivanju tipa metioninskog poremećaja iz tog razloga uključuje mjerenje plazmastske vrijednosti S-adenozilmetionina and S-adenozilhomocisteina. Njihove vrijednosti i međusobni odnos važni su za određivanje tipova metioninskog poremećaja. Kombinacija njihovih povećanih vrijednosti s normalnim ukupnim homocisteinom (tHcy) je

tipična za nedostatak aktivnosti SAHH. tHcy je pomoć u diferencijalnoj dijagnostici prema drugim poremćajima iz skupine poremećaja metioninskog ciklusa. Tipično je viša vrijednost AdoHyc prema AdoMet, dok je kod nedostatka aktivnosti kreatin kinaze, taj omjer suprotan. Dijagnoza se definitivno mora potvrditi analizom enzima ili dokazom mutacije. Velika većina standardih pretraga u ovoj bolesti ne pokazuje nikakvo odstupanje od normale, tek je nekoliko bitnih biokemijskih nalaza pokazalo odstupanja od referentnih vrijednosti i normalnih nalaza. Česti patološki nalaz su povišen plazmatski alanin i aspartat aminotransferaza te kreatin kinaza (posebno mišićni izoenzim). Plazmatski albumin i fibrinogen budu niski, a protrombinsko vrijeme produljeno. Elektromiografija pokazuje miopatske potencijale tipične za miopatiju, a histološki nalaz vlakna različite veličine uz pokoje nekrotično vlakno i vlakno u tijeku regeneracije. MR može pokazati promjene u bijeloj tvari mozga, a na ultrazvuku se mogu prikazati promjene na jetri u vidu difuzne hipoehogenosti. Analiza metabolite i enzima pokazuje smanjenu aktivnost SAHH, znatno povišenu koncentraciju metionina u plazmi i u cerebrospinalnoj tekućini posebno kod neliječenih (u ranoj dobi djeteta ne mora biti povišen) i vrlo blago povišen ili normalan ukupni homocistein (tHcy). Plazmatski tirozin je normalan, plazmatski cistation blago povišen, a AdoHcy i AdoMet vrijednosti su znatno više i u plazmi i u cerebrospinalnoj tekućini. Pokazalo se da su patološki povišeni AdoHcy i AdoMet te nizak MI povezani s povišenom koncentracijom asimetrično dimetiliranim argininom (aDMA) u plazmi. aDMA je produkt razgradnje metiliranih proteina i kao takav se može mjeriti. U slučaju kada postoji veća razgradnja proteina aDMA raste. Ta vrijednost služi kvantifikaciji katabolizma proteina, njime se dokazalo da nedostatna aktivnost SAHH uzrokuje poremećen katabolizam proteina i da se pravilnom prehranom taj katabolizam može dovesti u normalu [5]. Za sva četri metioninska poremećaja postoji mogućnost prenatalne dijagnostike analizom mutacija gena, ali ne može odgovoriti na pitanje opsežnosti i ozbiljnosti

bolesti u budućnosti, sam dokaz mutacije gena ne znači nužno ozbiljne zdravstvene probleme za dijete.

Terapija

Općenito metaboličke bolesti se mogu prezentirati u akutnom ili kroničnom stanju. Ako ona ne pogađa dijete odmah po rođenju, bolest se najčešće otkrije nakon akutizacije i dekompenzacije. U trenutku kada još ne znamo dijagnozu, a sumnjamo na metaboličku bolest, pristup je pacijentu kod svih metaboličkih bolesti isti. Kada se iscrpljenjem svih standardnih pretraga i dalje ne može objasniti kliničko stanje i laboratorijski nalazi, a stanje djeteta se klinički pogoršava, mora se na umu imati metaboličku bolest. Važno je što prije započeti s liječenjem da se spriječi daljnje pogoršanje bolesti. Do konačne potvrde dijagnoze važne su suportivne mjere poput ventilacije, ako je potrebna, nadoknade tekućine fiziološkom otopinom, restrikcije unosa hrane, pokušaj odstranjenja metabolita koji se nakuplja, dijalizom i sprečavanje katabolizma adekvatnom infuzijom. Glikemija se zbrinjava davanjem do 10 postotne otopine dekstroze i u nekim slučajevima inzulin za održavanje razine glukoze u krvi. Standard je i davanje kofaktora metaboličkih reakcija: kobalamin, piridoksin, biotin i karnitin. Ukoliko postoji hepatička disfunkcija može biti potrebno u terapiju uvesti svježe smrznutu plamu. Nakon konačne potvrde dijagnoze, liječenje se provodi jednostavno dijetetskim mjerama i može biti učinkovito, ali jedino ako se otkrije prava dijagnoza na vrijeme. Činjenica koja otežava liječenje je ta da se simptomi često ne prezentiraju odmah po rođenu, a bolest pogađa mnoge organe i dok se ona otkrije organizam može imati već brojne ireverzibilne posljedice. Prije svega bitno je da liječenje počne prije promjena na mozgu od strane toksično nakupljenih metabolita. Terapije je zapravo dijeta s niskim udjelom proteina. Izbjegavanjem mesa, mesnih prerađevina, ribe, jaja i mliječnih proizvoda nastoji se smanjiti unos metionina u organizam i zaustaviti toksično djelovanje međuprodukata metaboličke reakcije na organizam. Smije se unositi samo malo prirodnih proteina. Unos

metionina mora biti ograničen na 15 mg/kg po danu. Cilj je održavati razinu metionina u plazmi u granici ili malo ispod granice normale (~10 μmol/L). Unos ostalih proteina održava se normalnim tako da pacijenti uzimaju proteinske suplemente u vidu proteinskih napitaka ili praha koji sadrže mješavinu aminokiselina bez metionina. Ovakav način ishrane smanjuje količinu S-adenozilhomocisteina koji je štetan međuprodukt metaboličke reakcije. Njegova prisutnost u većoj mjeri, onemogućuje stvaranje različitih supstanci nužnih za normalno funkcioniranje organizma poput fosfatidilkolin i kretin. Iz ovog razloga suplementiranje mora uključivati i ova dva spoja. Da se prevenira nedostatak fosfatidilkolina, koji se očekuje uslijed inhibicije metiltransferaza S-adenozilhomocisteionom, pacijentima se daje fosfatidilkolin, najčešće u vidu dva i pola žumanjka jajeta. A za nadoknadu kretina daje se 5g kreatin monofosfata. Može se dati i nadoknada cisteina, prekursora glutationa, kojeg može manjkati zbog nedostatne proizvodnje iz metioina. Time se prevenira eventualni nedostatak glutationa i podložnost organizma utjecaju oksidativnog stresa i ksenobiotičnih preparata, koji mogu dodatno oštetiti jetru [26]. Ova tri spoja nisu, svaki zasebno, klinički dokazano djelotvorni jer se daju paralelno s dijetom pa njihova djelotvornost, odvojena od ostalih terapijskih mjera, nije dokazana. U novije vrijeme spominje se učinkovitost transplantacije jetre kod pacijentice koja nije reagirala na niskoproteinsku dijetu. Transplantacija je snizila AdoMet/AdoHcy odnos i normalizirala plasmatski metionin i AdoMet te poboljšala kliničku sliku bolesti. Ubrzao se rast glave uz vidljivo poboljšanje koordinacije i motorike te poboljšanje govora i socijalne interakcije. Poboljšanje laboratorijskog i kliničkog nalaza uz spomenutu mogućnost razvoja karcinoma kod oboljelih, glavni su argumenti za transplantaciju u novije vrijeme [23]. U svakom slučaju potrebno je pristupiti indivudualno, a potrebno je i još dokaza koji bi potvrdili definitivnu prednost transplantacije spram rigoroznije dijete, i daljnje praćenje transplantirane pacijentice. Ova je bolest vrlo rijetka i pouzdana saznanja o stvarnoj učinkovitosti liječenja vrlo

su ograničena, ali važno je naglasiti potrebu multidisciplinarnog pristupa kod ovih pacijenata. Važno je uz adekvatnu medicinsku terapiju i pomoć, pružiti bolesniku i njegovoj obitelji psihološku pomoć i edukaciju. Zbog slabijih kognitivnih i motoričkih funkcija ova djeca moraju biti uključena u program fizikalne i radne terapije, a vezano uz njihovu mišićnu slabost, potrebne su vježbe za poboljšanje motorike.

Kratki pregled ostalih poremećajima ciklusa metionina

Nedostatak metionin adenozil transferaze najblaža je bolest od četiri poremećaja ciklusa metionina i u većine pacijenata je bezopasna. Poremećaj je to prvog enzima reakcije (Slika 1). Kada bolest pokazuje simptome oni su vezani uz mozak i njemu pridružene probleme s ponašanjem i učenjem. Tipično se pojavljuje odgođen razvoj govora, poremećaji pokreta poput drhtanja, ukočenost, nekontrolirani pokreti očiju i glavobolje. Osobe imaju visoku koncentraciju metionina i uz to može biti vezan karakteristični miris. Bolesnici ne obolijevaju nužno u ranoj dobi. Osobe koje imaju veću koncentraciju metionina u plazmi, zbog manje aktivnosti enzima, pod većim su rizikom da razviju simptomatsku bolest, no nije nužno da svi s povećanom koncentacijom metionina razviju simprome. Zabilježeni su slučajevi kada osobe s potpunim nedostatkom enzimske aktivnosti uopće nisu imale simptome. Koncentracija metionina veća od 600μmol/L nosi visok rizik za pojavu simptoma i može se pojaviti potreba za liječenjem [6]. Liječenje se provodi kao i kod nedostatka aktivnosti SAHH enzima, prehranom siromašnom metioninom uz suplemenciju ostalih aminokiselina za izgradnju proteina, a može pomoći i davanje pacijentu S-adenozilmetionina.

Nedostatak Glicin N-metiltransferaze izuzetno je rijetka bolest koja je do sada zabilježena kod tek pet osoba. U ovom obliku poremećaja ciklusa metionina simptomatologija bolesti obuhvaća prvenstveno jetru, dok su ostali organi pošteđeni. Bolest je ili asimptomatska ili se prezentira blagim poremećajem jetrenih enzima i u dva slučaja povećanom jetrom te u jednom slučaju slabim dobivanjem na težini kod djeteta. Najčešće terapija nije potrebna, ali kod slučajeva s većom koncentracijom metionina može biti od koristi dijeta sa smanjenim udjelom proteina odnosno

metionina, također je važano praćenje pacijenta u budućnosti zbog, dokazano na laboratorijskim životinjama, većeg rizika za jetrenu disfunkciju.

Nedostatak aktivnosti adenozin kinaze je posljednja bolest u ovoj skupini i u usporedbi s prethodne dvije mnogo ozbiljnija. Do sada je od nje oboljelo 20 ljudi. Bolest se javlja rano nakon poroda i očituje se mlohavošću djeteta, žuticom i jetrenom bolesti, dakle pogađa jetru i središnji žičani sustav. Karakteristika bolesti su i tipične dizmorfične crte lica s prominentnim čelom i kod nekih kongenitalna bolest srca. Kod svih se javlja usporen razvoj i problemi s učenjem. I na kraju kao simptom se može pojaviti epilepsija, hipoglikemija i gluhoća. Provodi se dijeta s niskim udjelom metionina, ali s uspjehom ograničenim samo na jetru. Ovaj način terapije nije učinkovit kod neurološke problematike, stoga je terapija ovdje više simptomatska, dijazoksid se koristi kod hipoglikemija, a antiepileptici kod pacijenata s epilepsijom.

Prognoza bolesti

Ovi bolesnici, a i oni s drugim metaboličkim bolestima zahtijevaju praćenje liječnika specijaliste. Tijekom cijelog života potrebne su redovite procjene svih organskih sustava, s naglaskom na živčani i mišićni. Provodi se redovito slikovno prikazivanje jetre i mjerenje jetrenih enzima te praćenje koagulacije. Laboratorijski je potrebno pratiti status proteina, aminokiselina, AdoMet, AdoHcy, alfa-fetoproteina i CK. Cilj ovog praćenja je držati bolest pod kontrolom i učiniti sve da se dijete razvija i raste. Komplikacije koje se moraju očekivati i nastojati prevenirati su povezane s hemoragijskom dijatezom, tromboembolijom te one vezane uz prilagodbu djeteta nakon rođenja zbog prisutne hipotonije, respiratorne insuficijencije i probleme s hranjenjem. Hepatocelularni karcinoma je moguća komplikacija iako nije potvrđena na značajnom uzorku. Najčešći od svega su zapravo problemi u ponašanju i socijalnoj prilagodbi. Daljnja istraživanja u ovom području trebala bi pomoći prije svega dijagnostici ovog poremećaja. Treba raditi na široj edukaciji posebno doktora koji nisu normalno u kontaktu s metaboličkim bolestima. Također budućnost bi trebala donijeti i mogućnost novorođenačkog probira ove bolesti. Trenutno se probir ne provodi jer mjerenje metionina u suhoj kapi krvi nije dalo zadovoljavajuće rezultate samo su jer manji broj ispitivanih slučaja nedostatne aktivnosti SAHH bio pozitivan na probir. Probir na povišenu vrijednost CK je druga, izglednija mogućnost za probir u budućnosti jer je CK bio povišen kod svih opisanih slučajeva.

Zahvale

Najveće hvala roditeljima na podršci u svakom pogledu, posebno hvala mami na upornosti, napravila je za mene i moguće i nemoguće.

Hvala bratu i djedu Miji što sam upisala fakultet u Zagrebu.

Hvala Maci, Sari i Sari što su uvijek tu.

Hvala Luki što je u ove nepune dvije godine stalna inspiracija.

Hvala prijateljima koje sam stekla na fakultetu, posebno Martini i Dariji, koji su vrijeme provedeno na nastavi učinili boljim i lakšim.

Veliko hvala cijeloj obitelji, baki Josipi i Veri, sestričnama Paoli i Ines, teti Višnji i bratićima Karlu i Marinu i svim prijateljima, za podršku i ljubav tijekom svih ovih godina.

Hvala i djedu Ivi, nadam se da je od gore negdje ponosan.

Svaki od vas pomogao je da danas budem ono što jesam.

Hvala i metoru dr.sc Mariju Ćuku, dr. med na literaturi i vremenu.

Odabrana literatura

1. Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969-1996. Pediatrics. 2000;105(1):e10.

2.Sanderson S, Green A, Preece MA, Burton H. The incidence of inherited metabolic disorders in the West Midlands, UK., Arch Dis Child. 2006;91(11):896. Epub 2006 May 11.

3. Barić I. Nasljedne i metaboličke bolesti. u: Duško Mardešić, Pedijatrija Školska knjiga 2003. 7. Dopunjeno izd. Str.130-131.

4. Baric I, Fumic K, Glenn B, Cuk M, Schulze A, Finkelstein JD, James SJ, Mejaski-Bosnjak V, Pazanin L, Pogribny IP i suradnici. S-adenosylhomocysteine hydrolase deficiency in a human: a genetic disorder of methionine metabolism. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Mar 23; 101(12):4234-9. Epub 2004 Mar 15

5. Ćuk M. Utjecaj nedostatne aktivnosti S-adenozilhomocistein hidrolaze na metilaciju proteina (dizertacija). Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet 2013.

6. http://www.e-hod.org/file/4145/methylation_EN_final.pdf

7. Clarke S, Banfield K. S-Adenosylmethionine-dependent methyltransferases, U: Carmel R, Jacobsen DW, ur. Homocysteine in health and disease, Cambridge: Cambridge University Press; 2001, str. 63-78.

8. Waite KA, Cabillo NR, Vance DE. Choline deficiency-induced liver damage is reversible in Pemt(-/-) mice. J. Nutr. 2002;132, 68–71.

9. Walkey CJ, Yu L, Agellon LB, Vance DE. Biochemical and evolutionary significance of phospholipid methylation. J. Biol. Chem 1998;273, 27043–27046

10. Schulze A. Creatine deficiency syndromes. Mol. Cell. Biochem. 2003;244, 143–150.

11. Stöckler S, Holzbach U, Hanefeld F, Marquardt I, Helms G, Requart M, Hänicke W, Frahm Creatine deficiency in the brain: a new, treatable inborn error of metabolism. J. Pediatr. Res. 1994;36, 409–413.

12. Cheillan D, Cognat S, Vandenberghe N, Des Portes V, Vianey-Saban C. Creatine deficiency syndromes. Rev Neurol (Paris) 2005 Mar;161(3):284-9.

13. Miller MW, Duhl DMJ, Winkes BM, i sur. The mouse lethal nonagouti (ax) mutation deletes the S-adenosylhomocysteine hydrolase (Ahcy) gene. EMBO J 1994; 13:1806-16

14. Rocha PS, Sheikh M, Melchiorre R, Fagard M, Boutet S, Loach R i sur. The Arabidopsis homology-dependent gene silencing1 gene codes for an S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase required for DNA methylation-dependent gene silencing. Plant Cell 2005; 17: 404-17

15. Ohmori O, Hirano H, Ono T, Abe K, Mita T. Down-regulation of S-adenosylhomocysteine hydrolase in the active methyl transfer system in the brain of genetically epileptic El mice. Neurochem Res 1996;21:1173-80

16. Mull L, Ebbs ML, Bender J, A histone methylation-dependent DNA methylation pathway is uniquely impaired by deficiency in Arabidopsis S-adenosylhomocysteine hydrolase. Genetics 2006 Nov;174:1161-71

17. Selhub J, Miller JW. The pathogenesis of homocysteinemia: interruption of the coordinate regulation by S-adenosylmethionine of the remethylation and transsulfuration of homocysteine. Am J Clin Nutr. 1992 Jan;55:131-8.

18. Loehrer FM, Angst CP, Brunner FP, Haefeli WE, Fowler B. Evidence for disturbed S-adenosylmethionine: S-adenosylhomocysteine ratio in patients with end-stage renal failure: a cause for disturbed methylation reactions? Nephrol Dial Transplant. 1998 Mar;13:656-61.

19. Yi P, Melnyk S, Pogribna M, Pogribny IP, Hine RJ, James SJ. Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation. J Biol Chem 2000 Sep 22;275:29318-23.

20. Huemer M, Kožich V, Rinaldo P, Baumgartner MR, Merinero B, Pasquini E, Ribes A, Blom HJ. Newborn screening for homocystinurias and methylation disorders: systematic review and proposed guidelines. J Inherit Metab Dis. 2015; 38(6): 1007–1019. Published online 2015 Mar 12. doi: 10.1007/s10545-015-9830-z

21. Barić I, Ćuk M, Fumić K, Vugrek O, Allen RH, Glenn B i sur. S-Adenosylhomocysteine hydrolase deficiency: a second patient, the younger brother of the index patient, and outcomes during therapy. J Inherit Metab Dis. 2005;28(6):885-902.

22. Buist NRM, Glenn B, Vugrek O, Wagner C, Stabler S i sur. *S*-Adenosylhomocysteine hydrolase deficiency in a 26-year-old man. J Inherit Metab Dis 2006; 29: 538. doi:10.1007/s10545-006-0240-0

23. Barić I, Staufner C, Augoustides-Savvopoulou P, Chien YH, Dobbelaere D, Grünert SC i sur. Consensus recommendations for the diagnosis, treatment and follow-up of inherited methylation disorders. J Inherit Metab Dis (2017) 40: 5. doi:10.1007/s10545-016-9972-7

24. Calvo M, Artuch R, MaciaE, Luaces C, Vilaseca MA, Pou J, Pineada M. Diagnostic approach to inborn errors of metabolism in an emergency unit, Pediatr Emerg Care. 2000;16(6):405

25. Stender S, Chakrabarti RS, Xing C, Gotway G, Cohen JC, Hobbs HH. Adult-onset liver disease and hepatocellular carcinoma in S-adenosylhomocysteine hydrolase deficiency. Mol Genet Metab 2015;116:269–274

26. Mudd SH, Cerone R, Schiaffino MC, Fantasia AR, Minniti G, Caruso U i sur. Glycine N-methyltransferase deficiency: a novel inborn error causing persistent isolated hypermethioninaemia. J Inherit Metab Dis. 2001 Aug;24(4):448-64.

Životopis

Ime i prezime: Iva Golubić

Datum rođenja: 20.11.1991.

Mjesto rođenja: Zagreb

OBRAZOVANJE:

2011.- 2017. Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

2010. – 2011. Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

2007. - 2010. Gimnazija Lucijana Vranjanina, Zagreb

2006. – 2007. Gimnazija Antun Gustav Matoš, Zabok

1998. – 2006. Osnovna škola Krapinske toplice

Tijekom studija bila sam aktivna članica Studentske pedijatrijske sekcije. 2016. godine prisustvovala sam Hrvatskoj proljetnoj pedijatrijskoj školi koja se održavala u Splitu od 18. - 22. travnja. Od 2015. godine volontiram u Domu za djecu Nazorova. Aktivno se služim engleskim i njemačkim jezikom.