




Iskustva s galaktozemijom u Hrvatskoj

Experiences with galactosemia in Croatia

Ana Šmaguc¹, Danijela Petković Ramadža^{1,2}, Vladimir Sarnavka^{2†}, Vjekoslav Krželj^{3,4,5}, Bernarda Lozić^{3,4}, Silvija Pušelj^{6,7}, Valentina Rahelić⁸, Nikola Mesarić⁸, Marina Grubić², Ana Bogdanić², Anita Špehar Uroić², Tamara Žigman^{1,2}, Ruža Grizelj^{1,2}, Jurica Vuković^{1,2}, Duško Mardešić^{1,2}, Ildiko Szatmari⁹, Isabel Rivera^{10,11}, Ksenija Fumić¹², Ivo Barić^{1,2} 

¹ Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

² Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb

³ Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Split

⁴ Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

⁵ Sveučilišni odjel zdravstvenih studija, Sveučilište u Splitu

⁶ Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Osijek

⁷ Medicinski fakultet, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

⁸ Služba za prehranu i dijetetiku, Klinički bolnički centar Zagreb

⁹ SE I. sz. Gyermekgyógyászati Klinika, Anyagcsere Szűrő és Diagnosztikai Központ, Budapest, Hungary

¹⁰ Metabolism & Genetics Group, Research Institute for Medicines (iMed.Ulisboa), Faculty of Pharmacy, Universidade de Lisboa, Portugal

¹¹ Department of Biochemistry and Human Biology, Faculty of Pharmacy, Universidade de Lisboa, Portugal

¹² Klinički zavod za laboratorijsku dijagnostiku, Klinički bolnički centar Zagreb

Deskriptori

GALAKTOZEMIJA – dijagnoza, genetika, komplikacije;
GALAKTOZA – u krvi; GALAKTOZA-1-FOSFAT URIDIL
TRANSFERAZA – genetika, nedostatak;
URIDIN DIFOSFAT GALAKTOZA 4-EPIMERAZA
– genetika, nedostatak;
GALAKTOKINAZA – genetika, nedostatak; MUTACIJA;
FENOTIP; NOVOROĐENAČKI PROBIR; HRVATSKA

Descriptors

GALACTOSEMIAS – complications, diagnosis, genetics;
GALACTOSE – blood; UTP-HEXOSE-1-PHOSPHATE
URIDYLTRANSFERASE – deficiency, genetics;
UDP GLUCOSE 4-EPIMERASE – deficiency, genetics;
GALACTOKINASE – deficiency, genetics; MUTATION;
PHENOTYPE; NEONATAL SCREENING; CROATIA

Adresa za dopisivanje:

Prof. dr. sc. Ivo Barić, dr. med.,
<https://orcid.org/0000-0002-5119-9174>
Klinika za pedijatriju, Klinički bolnički centar Zagreb,
Kišpatičeva 12, 10000 Zagreb;
e-pošta: ibaric@kbc-zagreb.hr
Primljeno 21. ožujka 2022.,
prihvaćeno 1. srpnja 2022.

SAŽETAK. Cilj našeg rada bio je opis osobitosti bolesnika s klasičnom galaktozemijom iz Hrvatske uz prikaz bolesnika s manjkom galaktokinaze i bolesnika koji je dvostruki heterozigot za mutacije gena galaktoza-1-fosfat-uridiltransferaze (*GALT*) i galaktoza-4'-epimeraze (*GALE*). Istraživanje je obuhvatilo 24 bolesnika s dijagnozom klasične galaktozemije postavljenom u razdoblju od 1977. do 2020. godine. Dijagnoza je postavljena na temelju kliničke slike, koncentracije galaktoze u krvi i urinu, a potvrđivana mjerenjem aktivnost galaktoza-1-fosfat-uridil-transferaze i/ili analizom gena *GALT*. Simptome u novorođenačkom razdoblju razvilo je 87% bolesnika, a jedan bolesnik je umro. Medijan dobi pri pojavi prvih simptoma bio je četiri dana, a pri početku dijete jedanaest i pol dana. Barem jednu dugoročnu komplikaciju razvilo je 78,3% bolesnika. Među njima su bili poremećaji psihomotoričkog razvoja (68,2%), ponašanja (31,8%) i govora (55,6%), smanjene intelektualne sposobnosti (46,2%), druge neurološke komplikacije (40,9%), katarakta (18,2%) i smanjena mineralna gustoća kostiju (27,8%). Zatajenje jajnika razvilo je 66,7% bolesnica starijih od 10 godina. Uspoređujući bolesnike iz iste obitelji, iako je početak liječenja u drugorođenih bio raniji, čini se da dugoročne komplikacije nisu bile povezane s redoslijedom rođenja. Ova studija pokazuje da većina bolesnika s klasičnom galaktozemijom razvije simptome u novorođenačkom razdoblju i, unatoč strogo pridržavanju dijete, dugoročne komplikacije. Mnogi su još nepoznati čimbenici koji utječu na patogenezu i klinički tijek bolesti, zbog čega su potrebna daljnja istraživanja klasične galaktozemije.

SUMMARY. The aim of our study was to describe the characteristics of patients with classical galactosemia in Croatia, with the description of patients with galactokinase deficiency and a patient who was a double heterozygote for mutations of the galactose-1-phosphate uridyl transferase (*GALT*), and galactose-4'-epimerase (*GALE*) genes. The study included 24 patients who were diagnosed with classic galactosemia from 1977 to 2020. Diagnosis was based on clinical presentation and galactose concentrations in blood and urine, and confirmed by measuring galactose-1-phosphate-uridyl-transferase activity and/or *GALT* gene analysis. Acute manifestations of the disease developed in 87% of patients in the newborn period, and one patient died. The median age at the onset of first symptoms was four days and for onset of therapy 11.5 days. At least one long-term complication occurred in 78.3% of patients, including developmental disorders (68.2%), behavioral disorders (31.8%), speech disorders (55.6%), impaired intellectual abilities (46.2%), other neurological complications (40.9%), cataract (18.2%), and decreased bone mineral density (27.8%). Ovarian insufficiency occurred in 66.7% of female patients older than 10 years. When comparing siblings, although a galactose-free diet was started earlier in the second-born children with classical galactosemia, the incidence of long-term outcomes did not appear to be related to birth order. In conclusion, this study shows that the vast majority of patients develop symptoms in the neonatal period, as well as long-term complications, despite strict adherence to a galactose-free diet. Many factors that affect the pathogenesis and clinical course of the disease are still unknown, which is why further research into classical galactosemia is needed.

Galaktozemija je skupina autosomno recesivno nasljednih poremećaja enzima koji sudjeluju u metabolizmu galaktoze, a zajedničko im je obilježje povišena koncentracija galaktoze u krvi. Galaktozemija može biti uzrokovana mutacijama gena *GALM*, *GALK1*, *GALT* i *GALE* koji kodiraju enzime galaktoza-mutazinu (*GALM*), galaktokinazu (*GALK*), galaktoza-1-fosfat-uridil-transferazu (*GALT*) odnosno galaktoza-4'-epimerazu (*GALE*).^{1,2}

Galaktozemija tipa I (klasična galaktozemija) najčešća je vrsta galaktozemije s incidencijom od 1 : 30.000 do 1 : 1.000.000 živorođenih.^{3,4} Zbog nedostatne aktivnosti enzima *GALT* dolazi do nakupljanja galaktoza-1-fosfata koji je u novorođenačkoj i dojenačkoj dobi toksičan ponajprije za jetru, ali i za bubrege i mozak. Nakuplja se i galaktitol, što uzrokuje stvaranje katarakte. Ako novorođenče u hrani prima laktozu, koja se u crijevu razgrađuje u glukozu i galaktozu, bolest se klinički očituje najčešće već u novorođenačkom razdoblju. Novorođenčad odbija hranu, ne napreduje ili gubi na tjelesnoj masi, povraća, ima u različitim kombinacijama, ovisno i o uznapređovalosti bolesti, proljev, žuticu, ascites, edeme, hepatomegaliju, kataraktu, letargična je i hipotonična. Česta je sklonost infekcijama, osobito sepsi uzrokovanoj *E. coli*. Rjeđe se javlja pseudotumor mozga. Ako se pravodobno ne liječi, može doći do smrti.^{5,6} Dijeta bez laktoze sprječava razvoj simptoma, odnosno ako je započeta nakon što su se oni pojavili i ako bolest nije ušla u stadij ireverzibilnosti dovodi do njihovog povlačenja uz potpuni oporavak funkcije jetre. Zbog značajne endogene sinteze galaktoze, bezmliječna dijeta ne rezultira normalizacijom galaktoza-1-fosfata i to je jedan od mogućih uzroka dugoročnih komplikacija ove bolesti.⁷ Najčešće dugoročne komplikacije jesu poremećaji rasta, psihomotoričkog razvoja, govora, kognitivnih i drugih neuroloških funkcija, smanjena mineralna gustoća kostiju i katarakta, a u žena zatajenje jajnika.⁸ Stoga se, uz ublažavanje dijete u odrasloj dobi,^{9,10} istražuju novi terapijski pristupi poput inhibitora galaktokinaze,¹¹ antioksidansa,¹² molekula pratitelja,¹³ glasničke RNK¹⁴ i terapija protusmjernim (od engl. *antisense*) oligonukleotidima¹⁵. U nekim populacijama je razmjerno česta, do oko 1 : 4.000 živorođenih, biokemijska ili varijanta Duarte koja je povezana s mutacijom c.940A>G (p.N314D).^{16,17} Osobe s varijantom Duarte zbog ostatne aktivnosti enzima nemaju simptome u novorođenačkom razdoblju niti dugoročne komplikacije.^{18–20}

Manjak *GALK*-a (galaktozemija tipa II), rjeđi je od klasične galaktozemije, s incidencijom od 1 : 150.000 do 1 : 1.000.000 živorođenih.²¹ Češći je u romskoj populaciji. Glavno je kliničko obilježje pojava obostrane katarakte. Rjeđe se opisuje pseudotumor mozga. Čini se da su u novorođenačkoj dobi češći nego u zdravoj populaciji encefalopatija, hemoragijska dijateza i povišenje aminotransferaza, a upitno je je li to slučaj s ko-

gnitivnim i motoričkim razvojem.^{22–24} Pravodobno započeta bezmliječna dijeta omogućuje sprječavanje, a često i regresiju katarakte.²³

Nedostatna aktivnost enzima *GALE* (galaktozemija tipa III) kontinuum je triju oblika bolesti: perifernog, intermedijarnog i generaliziranog.²⁵ Incidencija perifernog i intermedijarnog oblika jest 1 : 70.000, dok je generalizirani iznimno rijedak. U perifernom obliku aktivnost enzima nedostatna je u eritrocitima i cirkulirajućim leukocitima. Bolesnici su uz prehranu mlijekom bez simptoma. Intermedijarni oblik ima smanjenu aktivnost i u ostalim tkivima, ali veću od 50% normalne. Novorođenčad je uz prehranu mlijekom bez simptoma. Čini se da bezmliječna dijeta u novorođenačkom razdoblju sprječava nastanak kasnijih komplikacija poput poremećaja u psihomotoričkom razvoju. Aktivnost enzima je u generaliziranom obliku znatno smanjena u svim tkivima. Simptomi i znakovi u novorođenačkom razdoblju nalikuju onima u klasičnoj galaktozemiji, a također se sprječavaju i liječe dijetom bez galaktoze. Opisane su dugoročne komplikacije poput poremećaja psihomotoričkog razvoja i učenja, zamjedbenog gubitka sluha i kardiomiopatije.^{26,27}

Galaktozemija tipa IV uzrokovana je nedostatnom aktivnosti enzima *GALM*.² Procijenjena incidencija široko varira od 1 : 10.000 do 1 : 1.700.000.²⁸ Glavno je obilježje obostrana katarakta koja se sprječava, a često i povlači dijetom bez galaktoze. Procjena prirodnog tijeka bolesti i razvoja dugoročnih komplikacija jest nepotpuna.²

Povišenu koncentraciju galaktoze u krvi mogu uzrokovati i portosistemske šantove, portalna hipoplazija, otvoreni venozni duktus, tumori jetre, jetrena hemanjiomatoza, hepatitis, manjak citrina i Fanconi-Bickelov sindrom. Prolazna novorođenačka hipergalaktozemija često je nepoznate etiologije, a može biti uzrokovana odgođenim zatvaranjem venoznog duktusa te se može razviti u heterozigotnih nosilaca mutacija gena *GALT*, *GALK1*, *GALE* i *GALM*.^{27,29,30}

Dijagnostički postupak kod svih poremećaja metabolizma galaktoze temelji se na kliničkom prepoznavanju simptoma i tijeka bolesti, što uključuje prepoznavanje perioda latencije prije pojave prvih simptoma i znakova bolesti. Biokemijski, dijagnozu podupiru pozitivne reduktivne tvari u urinu, što nije specifičan nalaz, i povišena koncentracija galaktoze u krvi i urinu. U Hrvatskoj se trenutno ne mjere galaktitol, koji je povišen kod svih poremećaja metabolizma galaktoze, i galaktoza-1-fosfat, koji je povišen u krvi bolesnika s nedostatnom aktivnosti enzima *GALT* i *GALE*. Za potvrdu dijagnoze mjeri se aktivnost enzima u eritrocitima i provodi genska analiza.³¹ Za razlikovanje tipa poremećaja enzima *GALE* moguće je dodatno mjerenje aktivnosti enzima u fibroblastima ili limfocitima.²⁷ Ako je galaktozemija uključena u program novorođe-

TABLICA 1. GENSKA OSNOVA I AKTIVNOST ENZIMA GALT U BOLESNIKA S KLASIČNOM GALAKTOZEMIJOM^a
 TABLE 1. GENETIC BASIS AND ACTIVITY OF GALT ENZYME IN PATIENTS WITH CLASSICAL GALACTOSEMIA^a

Mutacije gena GALT / Mutations of GALT gene (20/24) ^b	Postotak i udio pojedinih mutacija u ukupnom broju analiziranih alela / Percentage and proportion of single mutations in the total number of analyzed alleles	
c.855G>T (p.K285N)	40% (16/40)	
c.563A>G (p.Q188R)	40% (16/40)	
c.367C>T (p.R123X)	17,5% (7/40)	
c.812G>C (p.E271D)	2,5% (1/40)	
Genotipovi / Genotypes (20/24) ^b	Postotak i udio pojedinih genotipova u ukupnom broju genotipova / Percentage and proportion of single genotypes in the total number of genotypes	Aktivnost enzima GALT / Activity of GALT enzyme (15/24) ^b
c.563A>G / c.855G>T	25% (5/20)	N (1/15), 0,25 μ kat/gHb ^c (1/15), 2% (1/15)
c.563A>G / c.563A>G	20% (4/20)	N (1/15), 2,15 ^d (1/15)
c.855G>T / c.855G>T	20% (4/20)	N (3/15)
c.367C>T / c.563A>G	15% (3/20)	0,13 – 0,14 U/gHb ^e (2/15)
c.367C>T / c.855G>T	10% (2/20)	0,0 – 0,83 U/gHb ^e (2/15)
c.367C>T / c.367C>T	5% (1/20)	Nepoznatno / Unknown
c.855G>T / c.812G>C	5% (1/20)	N (1/15)

^aDio rezultata analize gena GALT u naših bolesnika već su opisali Petković Ramadža i suradnici. / Results of GALT gene analysis have partly been already published by Petković Ramadža et al.³⁵; ^bBroj ispitanika za koje su podatci bili poznati / number of patients for whom the data were known; U zdravoj populaciji / in healthy population: ^c > 0,3 μ kat/gHb, ^d > 4, ^e 2,3 – 25 U/gHb, N – nemjerljivo / immeasurable

načkog probira, na pozitivan rezultat probira upućuje povišena koncentracija galaktoze i/ili galaktoza-1-fosfata ili snižena aktivnost GALT-a u uzorku suhe kapi krvi na filtarskom papiru. Novorođenčad s klasičnom galaktozemijom ima povišene koncentracije galaktoze i navedenih metabolita te potpuni ili skoro potpuni nedostatak aktivnosti enzima GALT, dok novorođenčad s varijantom Duarte ima značajnu ostatnu aktivnost enzima.³²

Cilj rada bio je opis osobitosti bolesnika iz Hrvatske s klasičnom galaktozemijom uz prikaz bolesnika s manjkom galaktokinaze i bolesnika koji kao dvostruki heterozigot za mutacije gena GALT i GALE ilustrira dio mogućih dvojb u dijagnostici dojenčadi s bolesti jetre i hipergalaktozemijom.

Bolesnici i metode

Studija je uključila 24 bolesnika s dijagnozom klasične galaktozemije postavljenom u razdoblju od 1977. do 2020. godine koji su obrađivani, praćeni ili liječeni u Zavodu za genetiku i bolesti metabolizma i/ili u Metaboličkoj ambulanti Klinike za pedijatriju Kliničkoga bolničkog centra Zagreb. Kao izvori podataka pregledani su bolnička arhiva, bolnički informacijski sustav i ambulantne povijesti bolesti. Podatci su prikupljeni s osvrtom na dob pri razvoju simptoma, postavljanju dijagnoze i početku terapije, način postavljanja dijagnoze, kliničku sliku u novorođenačkoj dobi, laboratorijske nalaze pri početnom kliničkom pogoršanju,

gensku analizu, dugoročne komplikacije, liječenje i redovitost kontrole. Zatajenje jetre definiralo se prema kriterijima PALF (od engl. *pediatric acute liver failure*).³³ Kada podatci o protrombinskom vremenu ili INR-u nisu bili poznati, kao zamjenski kriterij koristio se protrombinski indeks manji od 0,7. Dijagnoza osteoporoze, prema preporukama ISCD-a (od engl. *International Society for Clinical Densitometry*) za djecu, temeljila se na podacima o značajnim prijelomima kostiju te Z-vrijednostima mineralne gustoće kostiju $\leq -2,0$.³⁴ Dijagnoza osteoporoze u naših se bolesnika nije koristila budući da nisu zabilježeni podatci o klinički značajnim frakturama. Stoga su, što se tiče smanjene mineralne gustoće kostiju, statistički prikazani samo oni bolesnici koji su imali Z-vrijednosti od $\leq -2,0$. Za detekciju smanjene tjelesne mase i visine uzeti su podatci u trećoj i četvrtoj godini života kako bi prošlo dovoljno vremena za oporavak bolesnika u slučaju da su gubili na tjelesnoj masi ili nisu napredovali zbog bolesti u novorođenačkom razdoblju. Za analizu podataka korištene su metode deskriptivne statistike (medijan, raspon) u programu *Excel 2007 – Microsoft*[®].

Rezultati

Ispitanika muškog spola bilo je 54,2% (13/24), a ženskog 45,8% (11/24). Medijan sadašnje dobi bio je 16,6 godina s rasponom od šest mjeseci do 42 godine.

Genska osnova ispitanika i aktivnost enzima GALT za određeni genotip prikazane su u tablici 1. Dio rezul-

TABLICA 2. OBILJEŽJA KLINIČKE SLIKE U NOVOROĐENAČKOM RAZDOBLJU U BOLESNIKA BEZ POZITIVNE OBITELJSKE ANAMNEZE (N = 18)

TABLE 2. CHARACTERISTICS OF CLINICAL PRESENTATION IN NEONATAL PERIOD IN PATIENTS WITHOUT A POSITIVE FAMILY HISTORY (N = 18)

Simptomi i znakovi bolesti / Signs and symptoms	Postotak i udio simptoma i znakova / Proportion and percentage of symptoms and signs
Zatajenje jetre i/ili hepatopatija / Liver failure and/or hepatopathy	100% (18/18)
Poremećeno opće stanje / Disturbed general condition	83,3% (15/18)
Koagulopatija / Coagulopathy	66,7% (12/18)
Žutica / Jaundice	61,1% (11/18)
Infekcije uzročnicima koji nisu <i>E. coli</i> / Infections with microbes other than <i>E. coli</i>	55,6% (10/18)
Hipotonija / Hypotonia	50% (9/18)
Gubitak na tjelesnoj masi i/ili nenapredovanje / Weight loss and/or failure to thrive	50% (9/18)
Infekcija uzrokovana <i>E. coli</i> / <i>E. coli</i> infection	44,4% (8/18)
Poremećaj svijesti (somnolencija) / Disturbed consciousness (somnolence)	38,9% (7/18)
Sepsa / Sepsis – <i>E. coli</i> sepsa / <i>E. coli</i> sepsis	38,9% (7/18) 71,4% (5/7)
Povraćanje i/ili pojačano bljućkanje / Vomiting and/or increased regurgitation	33,3% (6/18)
Katarakta / Cataract	33,3% (6/18)
Smanjena spontana motorika / Reduced spontaneous movements	22,2% (4/18)
Povećan opseg glave ^a / Increased head circumference ^a	16,7% (3/18)
Ascites / Ascites	11,1% (2/18)
Odbijanje hrane / Food refusal	11,1% (2/18)
Opistotonus / Opisthotonus	11,1% (2/18)
Distonija / Dystonia	11,1% (2/18)
Cerebralni napadaji / Seizures	5,6% (1/18)

^a iznad 97. percentile za dob / above the 97th percentile for age

tata analize gena *GALT* u naših bolesnika već su opisali Petković Ramadža i suradnici.³⁵ Aktivnost enzima *GALT* mjerena je u 62,5% (15/24) ispitanika, od čega je u 60% (9/15) bila nemjerljiva. Za dva ispitanika s nemjerljivom aktivnošću enzima genotip nije bio poznat.

Simptomi u novorođenačkom razdoblju bili su poznati za 95,8% (23/24) ispitanika. Za jednu bolesnicu, koja je imala pozitivnu obiteljsku anamnezu, kao izvor podataka postoji samo jedan ambulantski nalaz u dobi

od sedam i pol godina, zbog čega za nju nisu obrađeni podatci o novorođenačkom razdoblju. Jednom ispitaniku koji je liječen u inozemstvu dijagnoza je postavljena i dijeta započeta u dojenačkoj dobi s nepoznatom točnom dobi. Simptome nije imalo 13% (3/23) ispitanika koji su svi imali pozitivnu obiteljsku anamnezu. Dvije bolesnice koje su imale pozitivnu obiteljsku anamnezu imale su simptome u novorođenačkom razdoblju. Jedan bolesnik je umro u dobi od šest tjedana.

Medijan dobi pri razvoju prvih simptoma u ispitanika za koje su ti podatci bili poznati (n = 19) bio je četiri dana s rasponom 2 – 42 dana.

Medijan dobi pri postavljanju dijagnoze za ispitanike bez pozitivne obiteljske anamneze (94,4%, 17/18) bio je 14 dana s rasponom do 150 dana. Dijagnoza u pacijenata s pozitivnom obiteljskom anamnezom (83,3%, 5/6) postavljena je ubrzo nakon rođenja, s izuzetkom jedne pacijentice kojoj je dijagnoza postavljena 53. dana života.

Medijan dobi pri početku dijete bez galaktoze za ispitanike bez pozitivne obiteljske anamneze (94,4%, 17/18) bio je 14 dana s rasponom do 150 dana. Medijan dobi pri početku dijete bez galaktoze za ispitanike s pozitivnom obiteljskom anamnezom (83,3%, 5/6) bio je 0 dana s rasponom do 53 dana.

Način postavljanja dijagnoze bio je poznat za sve ispitanike. Obiteljska anamneza bila je pozitivna u 25% (6/24), klinička slika karakteristična za klasičnu galaktozemiju u 83,3% (20/24), a koncentracije galaktoze u krvi i/ili urinu indikativne za klasičnu galaktozemiju u 62,5% (15/24) ispitanika. Pokusni obrok galaktoze proveo se u 20,8% (5/24), mjerenje aktivnosti enzima *GALT* u eritrocitima u 62,5% (15/24), a genska analiza u 83,3% (20/24) ispitanika.

Dijeta bez galaktoze bila je uvedena svim ispitanicima pri sumnji na klasičnu galaktozemiju.

Obilježja kliničke slike u novorođenačkom razdoblju u bolesnika bez pozitivne obiteljske anamneze navedena su u tablici 2. Dvije bolesnice koje su imale simptome, a imale su pozitivnu obiteljsku anamnezu, u kliničkoj slici imale su: poremećeno opće stanje, povraćanje, nenapredovanje na tjelesnoj masi, odbijanje hrane, žuticu, ascites, hepatomegaliju, koagulopatiju, somnolenciju, hipotoniju, cerebralne napadaje, infekcije uzrokovane *E. coli* i drugim uzročnicima. Biokemijske nalaze simptomatskih bolesnika pri početnom kliničkom pogoršanju prikazuje tablica 3.

Pokusni obrok galaktoze provodio se u kontroliranim uvjetima u ispitanika dobrog općeg stanja. Nakon jednog ili dva mliječna obroka mjerila se koncentracija galaktoze u serumu i/ili urinu. Povišene koncentracije (galaktoza u krvi > 300 $\mu\text{mol/L}$, a u urinu > 1665 $\mu\text{mol/L}$) podupirale su sumnju na galaktozemiju. Raspon koncentracija galaktoze u krvi nakon pokusnog obroka u naših bolesnika bio je 303 – 2880 $\mu\text{mol/L}$, a u urinu 550 – 8126 $\mu\text{mol/L}$.

TABLICA 3. BIOKEMIJSKI NALAZI PRI POČETNOM KLINIČKOM POGORŠANJU SIMPTOMATSKIH BOLESNIKA BEZ (– OA) I S (+ OA) POZITIVNOM OBITELJSKOM ANAMNEZOM

TABLE 3. BIOCHEMICAL FINDINGS IN THE INITIAL CLINICAL DETERIORATION OF SYMPTOMATIC PATIENTS WITHOUT (– OA) AND WITH (+ OA) POSITIVE FAMILY HISTORY

Analit / Analyte (Referentne vrijednosti su u zagradama / Reference values are in parentheses)	Obiteljska anamneza / Family history	Medijan / Median	Raspon / Range	Postotak bolesnika s nalazom izvan referentnog raspona / Percentage of patients with findings outside reference range
Galaktoza u krvi / Blood galactose ($< 300 \mu\text{mol/L}$)	– OA	2295	323,4 – 9597	100% (9/9)
	+ OA	508	243 – 773	50% (1/2)
Galaktoza u urinu / Urine galactose ($< 1665 \mu\text{mol/L}$)	– OA	5778	334 – 49733	85,7% (6/7)
	+ OA	437	101 – 773	0% (0/2)
Protrombinski indeks / Prothrombin index ($> 0,7$)	– OA	0,14	0,05 – 0,5	100% (10/10)
	+ OA	0,50	0,50	100% (1/1)
PV INR / PT INR ($< 1,1$)	– OA	3,74	1,5 – 5,18	100% (4/4)
	+ OA	/	/	/
APTV / APPT ($< 59 \text{ s}$)	– OA	113,9	83,6 – 124,6	100% (6/6)
	+ OA	/	/	/
Fibrinogen (1,25 – 3 g/L)	– OA	0,8	0,49 – 1,5	85,7% (6/7)
	+ OA	/	/	/
Glukoza u krvi, najniže vrijednosti / Blood glucose, lowest values (2,8 – 5 mmol/L)	– OA	2,9	1,8 – 4,1	44,4% (4/9)
	+ OA	/	/	/
AST (26 – 75 U/L)	– OA	130	59 – 660	92,3% (12/13)
	+ OA	119	57 – 181	50% (1/2)
ALT (11 – 46 U/L)	– OA	78	27 – 225	84,6% (11/13)
	+ OA	53	30 – 76	50% (1/2)
GGT (13 – 147 U/L)	– OA	87	14,8 – 208	45,5% (5/11)
	+ OA	8	6 – 10	0% (0/2)
Bilirubin, ukupni / Total bilirubin (11,7 – 205 $\mu\text{mol/L}$)	– OA	340,8	90,6 – 616	76,9% (10/13)
	+ OA	179,2	80,4 – 278	50% (1/2)
Bilirubin, konjugirani / Conjugated bilirubin ($< 35 \mu\text{mol/L}$)	– OA	59	11 – 134	88,9% (8/9)
	+ OA	/	/	/
Omjer konjugiranog i ukupnog bilirubina / Conjugated to total bilirubin ratio ($< 0,2$)	– OA	0,27	0,06 – 0,5	55,6% (5/9)
	+ OA	/	/	/
Fosfor / Phosphorus (1,4 – 3 mmol/L)	– OA	1,34	1,1 – 1,73	62,5% (5/8)
	+ OA	/	/	/
Alkalna fosfataza / Alkaline phosphatase (25* – 500 U/L)	– OA	631	260 – 1101	75% (9/12)
	+ OA	37	37	0% (0/1)
Pozitivne reduktivne tvari u urinu / Positive reducing substances in urine	– OA			80% (8/10)
	+ OA			100% (2/2)

/ – nepoznato / unknown, * najniža od različitih donjih granica referentnog raspona / * the lowest of different lower limits of reference ranges

TABLICA 4. DUGOROČNE KOMPLIKACIJE U ISPITANIKAMA S KLASIČNOM GALAKTOZEMIJOM
TABLE 4. LONG-TERM COMPLICATIONS IN PATIENTS WITH CLASSICAL GALACTOSEMIA

Poremećaji psihomotoričkog razvoja / Developmental disorders	68,2% (15/22) ^a
Poremećaji ponašanja i socijalne prilagodbe / Behavioral and social disorders	31,8% (7/22) ^a
Smanjene intelektualne sposobnosti / Decreased intellectual abilities ^b	46,2% (6/13) ^a
Poteškoće u školovanju / Educational difficulties ^c	73,3% (11/15) ^a
Poremećaji govora / Speech disorders ^d	55,6% (10/18) ^a
Druge neurološke komplikacije / Other neurological complications ^e	40,9% (9/22) ^a
Katarakta / Cataract	18,2% (4/22) ^a
Zatajenje jajnika / Ovarian insufficiency ^f	66,7% (4/6) ^a
Smanjena mineralna gustoća kostiju / Reduced mineral bone density ^g	27,8% (5/18) ^a

^a broj ispitanika za koje su podatci bili poznati / number of patients for whom the data were known, ^b za starije od 2,5 godine / for those older than 2.5 years, ^c za starije od 6 godina / for those older than 6 years, ^d za starije od jedne godine / for those older than 1 year, ^e u tekstu se navodi o kojim je komplikacijama riječ / involved complications are stated in the text, ^f za djevojke starije od 10 godina / for girls older than 10 years, ^g za starije od tri godine / for those older than 3 years

Kao ilustraciju mogućih teškoća u postavljanju dijagnoze klasične galaktozemije navodimo primjer našeg bolesnika upućenog u Klinik u dobi od mjesec dana zbog konjugirane žutice opažene četiri dana prije primitka, hepatocelularne lezije i zatajenja sintetske funkcije jetre. Obradom je nađena višestruko povišena koncentracija galaktoze u krvi i urinu. Aktivnost GALT-a nije dala jednoznačne rezultate (75% od normalne aktivnosti u prvom i 10% u ponovljenom mjerenju). Zato su učinjene analize gena *GALT* (nađena je varijanta Duarte 2 u heterozigotnom obliku p.N314D + c.-119_-116del GTCA + c.378-27G>C + c.508-24C>A) i gena *GALE* (intronska varijanta c.873+13G>A nepoznate patogenosti) kojima nisu nađene patogene varijante na oba alela istog gena. Sekvenciranje cijelog egzoma također nije otkrilo uzrok bolesti. Zbog progresije bolesti usprkos dijati bez galaktoze i drugih mjera liječenja dječaku je transplantirana jetra. Ostalo je otvoreno pitanje može li i, ako može, u kojoj mjeri istovremeno postojanje dviju varijanti koje svaka za sebe mijenjaju ili potencijalno mijenjaju aktivnosti dvaju enzima u razgradnji galaktoze pridonijeti bolesti jetre.

Tablica 4 prikazuje dugoročne komplikacije u naših bolesnika. Pri tumačenju njihove učestalosti u obzir treba uzeti dob bolesnika pri zadnjoj kontroli. Troje bolesnika je tada bilo mlađe od godine dana, još troje mlađe od pet godina i još petero mlađe od deset godina.

Poremećaji psihomotoričkog razvoja bili su: hipertoničnost (27,3%, 6/22), usporen psihomotorički razvoj (18,2%, 4/22), poremećaji percepcije (13,6%, 3/22) te sporije reakcije, hipotonija, distonija i opistotonus (4,5%, 1/22). Vježbe razvojne gimnastike trebalo je 36,4% (8/22) ispitanika.

Poremećaji ponašanja i socijalne prilagodbe bili su: emocionalna nezrelost (18,2%, 4/22), poremećaji pažnje (13,6%, 3/22), labilnost i negativizam (9,1%, 2/22) te poremećaj pažnje s hiperaktivnošću, anksioznost, poremećaji reakcija i afekta, poremećaji komunikacije, stereotipije i potreba za potporom u socijalnom funkcioniranju (4,5%, 1/22).

Od šestoro bolesnika s intelektualnom onesposobljenošću, tešku intelektualnu onesposobljenost imalo je 66,7% (4/6), umjerenu intelektualnu onesposobljenost 16,7% (1/6) i laku intelektualnu onesposobljenost 16,7% (1/6) bolesnika. Jedan bolesnik s teškom intelektualnom onesposobljenošću u novorođenačkom je razdoblju prebolio meningitis uzrokovan s *E. coli*. Sedam ispitanika bilo je u skupini normalnih intelektualnih sposobnosti. Ispitanici su testirani od 3. do 19. godine života.

Poteškoće u školovanju bile su: poremećaji grafo-motorike, potrebna pomoć u nastavi, školovanje po prilagođenom programu, teškoće učenja i računanja (33,3%, 5/15) te teškoće čitanja i poremećaji pamćenja (13,3%, 2/15).

Poremećaji govora bili su: sporiji i/ili slabiji razvoj govora (50%, 9/18), dislalija i otežano razumljiv govor (22,2%, 4/18), oskudnost govora i/ili vokabulara (16,7%, 3/18), usporen govor i poremećaji gramatičkog razvoja (11,1%, 2/18), disartrija (5,6%, 1/18). Logopedске vježbe polazilo je 38,9% (7/18) ispitanika.

Druge neurološke komplikacije bile su: cerebralni napadaji (22,7%, 5/22), poremećaji ravnoteže i tremor (18,2%, 4/22), dismetrija i ataksija (13,6%, 3/22), disdijadahokineza (9,1%, 2/22). Jedna bolesnica imala je i diskineziju, hemiparezu, neuropatiju očnog živca i polineuropatiju. Smanjena mijelinizacija na magnet-skoj rezonanciji ili kompjutoriziranoj tomografiji bila je u 13,6% (3/22) ispitanika.

Od devet bolesnica generativne dobi prilikom uključivanja u studiju podatci o pubertetskom razvoju dostupni su za njih šest. Dvije su djevojčice imale spontani pubertetski razvoj sa spontanom pojavom menarhe (33,3%, 2/6), dok su četiri razvile primarno zatajenje jajnika koje se očitivalo primarnom amenorejom (66,7% 4/6). Hormonsku nadomjesnu terapiju primale su sve djevojke sa zatajenjem jajnika.

Najranija denzitometrija rađena je u četvrtoj godini života. Smanjena mineralna gustoća kostiju najranije je otkrivena u 12. godini života. Svi ispitanici sa smanjenom mineralnom gustoćom kostiju imali su normalne koncentracije kalcija, fosfora i aktivnosti alkal-

ne fosfataze u serumu. U naših ispitanika podatci o patološkim frakturama nisu zabilježeni.

Podatci o tjelesnoj masi i visini u trećoj i četvrtoj godini života bili su poznati za šest djevojčica i pet dječaka. Nitko od njih nije bilo tjelesne visine manje od 3. percentile za dob. Svi su imali uredan indeks tjelesne mase za dob.

Svi su se ispitanici koji su preživjeli početne komplikacije bolesti i za koje su postojali podatci ($n = 21$) pridržavali bezmliječne dijetete. Nakon treće godine života 42,9% (9/21) ispitanika primalo je dodatke prehrani, uključujući željezo (9,5%, 2/21), kalcij (38,1%, 8/21) i vitamin D (28,6%, 6/21).

Medijan dobi pri zadnjoj kontroli za 91,3% (21/23) ispitanika bio je 7,6 godina s rasponom od dva mjeseca do 23,5 godine. Većina bolesnika (58,8%, 10/17) bila je hospitalizirana u KBC-u Zagreb samo jednom i kontrolirala se u Ambulanti za bolesti metabolizma Klinike za pedijatriju KBC-a Zagreb, u početku svakih šest mjeseci, a kasnije svakih godinu dana. Deset ispitanika mlađih od 18 godina nije bilo na kontroli dulje od dvije godine.

Studija je obuhvatila četiri para braće i sestara. Medijan dobi pri zadnjoj kontroli prvorođenih s klasičnom galaktozemijom bio je 7 godina (7 mjeseci – 23 godine), a drugorođenih s klasičnom galaktozemijom 5,5 godina (6 mjeseci – 20 godina). Medijan dobi pri početku terapije prvorođenih bio je 27,5 dana (10 – 120 dana), a drugorođenih 0 dana (0 – 53 dana). Svi prvorođeni imali su simptome u novorođenačkom razdoblju. Jedan bolesnik je umro u dobi od šest tjedana. U skupini drugorođenih jedna je bolesnica, kojoj je dijagnoza postavljena u dobi od 53 dana, imala simptome u novorođenačkom razdoblju. Za jednu bolesnicu nije bilo podataka o simptomima u novorođenačkoj dobi. Ostale dvije bolesnice u skupini drugorođenih bile su bez simptoma u novorođenačkom razdoblju i pri zadnjoj kontroli nisu zabilježene dugoročne komplikacije. U svih ostalih prvorođenih i drugorođenih razvila se barem jedna dugoročna komplikacija. Braća i sestre preostalih dvaju bolesnika s pozitivnom obiteljskom anamnezom nisu uključeni u ovu studiju. Za jednog bolesnika s pozitivnom obiteljskom anamnezom poznato je da je četvrto dijete roditelja koji su oboje heterozigotni nositelji mutacije gena *GALT*. Prethodno su imali dvije kćeri. Jedna je umrla u dobi od tri i pol mjeseca, a druga u dobi od 15 dana. Taj bolesnik bio je bez simptoma u novorođenačkom razdoblju, ali su u njega kasnije zabilježene dugoročne komplikacije. Za drugu bolesnicu s pozitivnom obiteljskom anamnezom poznato je da je treće dijete u obitelji. Prvi su bili blizanci koji su preminuli od galaktozemije u nepoznatoj dobi. Ta je bolesnica unatoč ranom početku dijetete imala simptome u novorođenačkom razdoblju, a kasnije je razvila brojne dugoročne komplikacije.

Bolesnici s manjkom GALK-a u ovom prikazu su brat i sestra romskog podrijetla. Iz obiteljske anamneze izdvaja se da je kći bakinog brata slabovidna zbog katarakte. Žensko dijete rođeno je iz trudnoće komplicirane polihidramnijem. Po porodu je postavljena dijagnoza dijafragmalne hernije, zbog čega je i operirana. U dobi od 7,5 mjeseci, za vrijeme enteritisa, izmjerene su lažno povišene koncentracije glukoze iz kapilarne krvi glukometrom koji može dati lažno povišen nalaz zbog interferencije s galaktozom. Tada je obradom ustanovljeno da djevojčica ima visoku koncentraciju galaktoze u krvi i urinu nakon mliječnog obroka, a pregledom oka našlo se zamućenje leće u stražnjem korteksu. Po postavljanju dijagnoze galaktozemije stavljena je na bezmliječnu dijetetu. Naknadno su izmjereni normalna koncentracija galaktoza-1-fosfata i aktivnost GALT-a pa je postavljena dijagnoza manjka GALK-a. Kontrolni oftalmološki pregled u dobi od dvije godine pokazao je progresiju mrežne te je učinjena kapsulotomija oba oka. Na zadnjem kontrolnom pregledu u dobi od 4,5 godine bila je bez tegoba, psihološka procjena je ukazala na blago psihomotoričko zaostajanje, provodila se dijeteta bez galaktoze uz dodatak kalcija i vitamina D. Muško dijete je od rođenja na dijeteti bez galaktoze s obzirom na postavljenu dijagnozu u starije sestre. U dobi od dva tjedna učinjen je test opterećenja galaktozom kojim je potvrđena dijagnoza galaktozemije. Genskom analizom dokazano je da su oboje nositelji homozigotne mutacije c.82C>A (p.P28T) gena *GALK*, koja je učestala u romskoj populaciji. Oba bolesnika izgubljena su iz daljnjeg praćenja.

Rasprava

Klinička slika klasične galaktozemije, kako početna tako i u kasnijem tijeku, vrlo je raznolika i ovisi o rezidualnoj aktivnosti enzima, koja pak ovisi o vrsti mutacija gena *GALT* i njihovim brojnim kombinacijama.³⁶ Značajna raznolikost biokemijskih i kliničkih fenotipova moguća je čak i unutar iste obitelji, odnosno u osoba s istim genotipom. U pregledu literature Varela-Leme i suradnika učestalost varijante Duarte bila je 2 – 15%³⁷, dok je u naših bolesnika nije bilo, što se može objasniti nepostojanjem novorođenačkog probira u Hrvatskoj kojim se otkriva ova asimptomatska varijanta. Rezultati genske analize većine naših ispitanika u članku Petković Ramadžić i suradnika pokazuju da je spektar mutacija klasične galaktozemije u Hrvatskoj ograničen na četiri mutacije, što bi se moglo iskoristiti za smišljanje prikladne strategije brze molekularne dijagnostike u novorođenčadi, osobito ako se uvede novorođenački probir na galaktozemiju.³⁵ Sve mutacije u naših ispitanika otprije su opisane i povezane s teškom kliničkom slikom. Dvije najčešće mutacije, c.563A>G i c.855G>T, udružene su s potpunim gubitkom aktivnosti enzima *GALT*.⁵ Mutacija c.367C>T jedina je besmislena mutacija i kao takva uzrokuje pre-

rani prekid sinteze proteina i tešku kliničku sliku.³⁸ Varijanta c.812G>C opisana je dosad u samo jednog bolesnika i povezuje se s teškim manjkom enzima.³⁹ Svi naši ispitanici za koje je genska osnova bila poznata imali su simptome u novorođenačkom razdoblju, osim jedne bolesnice s pozitivnom obiteljskom anamnezom. Svi naši ispitanici s istim genotipom nisu imali jednako razvijene dugoročne komplikacije, ali se u obzir mora uzeti i dob pri zadnjoj kontroli. To bi moglo upućivati da na razvoj komplikacija bolesti utječu i drugi čimbenici osim genotipa, poput dobi pri početku dijete i pridržavanje dijete, te da veza između genotipa i fenotipa nije u potpunosti jasna.

Rezultati mjerenja aktivnosti enzima GALT često su, ovisno o korištenim metodama, neprecizni.³¹ Zbog toga nerijetko služe samo kao pomoćno dijagnostičko sredstvo za orijentaciju u postavljanju dijagnoze klasične galaktozemije. Primjer toga jest jedan naš ispitanik čija je aktivnost enzima GALT bila skoro jednaka onoj u zdravoj populaciji (0,25 μ kat/gHb naspram >3 μ kat/gHb).

Novorođenački probir omogućuje ranije postavljanje dijagnoze i raniji početak dijete te posljedično rjeđu pojavu simptoma.⁴⁰ Tomu u prilog govori podatak da je u Estoniji, gdje se provodi novorođenački probir na klasičnu galaktozemiju, prosječna dob pri hospitalizaciji i pri potvrđivanju dijagnoze bila ranija nego u naših ispitanika.⁴¹ Nadalje, u GalNet-ovoj studiji, koja je uključila i sedam naših ispitanika, gotovo je polovica ispitanika bila otkrivena novorođenačkim probirom te je u njih bezmliječna dijeta započeta unutar prvog tjedna života,⁴² dok je naših ispitanika bez pozitivne obiteljske anamneze u kojih je dijeta započeta u prvih sedam dana života bilo samo 11,1% (2/18). U skupini američkih bolesnika otkrivenih novorođenačkim probirom učestalost simptoma bila je oko 50%,⁴³ što je manje nego u naših ispitanika bez pozitivne obiteljske anamneze koji su u novorođenačkom razdoblju svi imali simptome. O ograničenoj koristi novorođenačkog probira govore studije u Mađarskoj i Italiji gdje je više od 90% novorođenčadi bilo simptomatsko prije rezultata novorođenačkog probira, a čak njih 72,7% imalo je tešku kliničku sliku.^{44,45}

Osim konjugirane žutice, u sklopu klasične galaktozemije može se javiti i teška novorođenačka žutica pretežno nekonjugiranog tipa koja može dovesti do akutne bilirubinske encefalopatije i kernikterusa s dugoročnim komplikacijama.⁴⁶ Patološku nekonjugiranu žuticu s udjelom konjugiranog bilirubina manjim od 20% koncentracije ukupnog bilirubina imalo je 44,4% (4/9) naših ispitanika. U jednog je bolesnika bila pripisana Rh-senzibilizaciji. Navedeno upućuje na potrebu uključivanja galaktozemije u diferencijalnu dijagnozu i nekonjugirane novorođenačke žutice.

Unatoč pridržavanju bezmliječne dijete, 78,3% naših bolesnika razvilo je barem jednu dugoročnu

komplikaciju. U usporedbi između naše i drugih skupina javljaju se različite učestalosti, ali isti spektar komplikacija.^{8,42,43} Razlike u učestalosti simptoma najvjerojatnije su posljedica postojanja novorođenačkog probira u nekim državama s posljedično ranijim postavljanjem dijagnoze i početkom dijete, ali i razlika u prosječnoj dobi skupina ispitanika, pridržavanju dijete, razlika u genskoj podlozi i drugih još nepoznatih čimbenika.

Logopedске vježbe pohađalo je 70% naših ispitanika s poremećajem govora, što je usporedivo sa 65% u studiji Waggonera i suradnika.⁸ Samo u jednoga našeg ispitanika postavljena je dijagnoza disartrije, a verbalne dispraksije nije bilo iako su kod nekih postojali elementi za tu dijagnozu. Tri od četiri naša ispitanika s poremećajem govora koji su bili stariji od šest godina i imali prosječne intelektualne sposobnosti trebalo je neki oblik pomoći u nastavi ili imalo poteškoće s čitanjem. Češćim procjenama od strane logopeda omogućilo bi se pravodobno postavljanje točne dijagnoze, logopedsko liječenje i veća šansa za poboljšanjem govora, razvoja i obrazovnih postignuća.

Podatci o učestalosti poremećaja ponašanja i psihičkih tegoba u bolesnika s klasičnom galaktozemijom oprečni su. Jedna studija navodi veću učestalost anksioznosti u odrasloj populaciji bolesnika s klasičnom galaktozemijom u odnosu na zdravu populaciju.⁴⁷ Druge studije nisu zabilježile razliku u učestalosti psihičkih tegoba između bolesnika s klasičnom galaktozemijom i zdrave populacije.^{42,43} U jednoga našeg bolesnika zabilježeni su elementi hiperaktivnosti s manjkom pažnje, u jednog anksioznost, a u njih troje poremećaji pažnje. Jedan naš bolesnik trebao je psihijatrijsku skrb. Bolesnici s klasičnom galaktozemijom trebali bi se zbog prirode bolesti upućivati psihologu na pregled i redovitu procjenu.

Na slikovnim prikazima mozga u osoba s klasičnom galaktozemijom mogu se vidjeti različite promjene.⁴⁸ U naših ispitanika, ne uključujući bolesnika koji je u novorođenačkom razdoblju prebolio meningitis, zabilježene su leukoencefalopatija, zakašnjela mijelinizacija, leukomalacija, prošireni subarahnoidni prostor i difuzna atrofija mozga s proširenim ventrikularnim sustavom. Svi ispitanici s promjenama na slikovnim pretragama mozga imali su neki razvojni poremećaj i/ili neurološku komplikaciju. Promjene bijele i sive tvari mozga mogu biti značajne za sporiju obradu informacija, memoriju, izvršno funkcioniranje, motoriku, govor i više kognitivne funkcije.^{48–50} Iako bi vrsta promjena u središnjem živčanom sustavu mogla upućivati na vrstu poremećaja i možda omogućiti poduzimanje nekih preventivnih mjera, međunarodne smjernice za klasičnu galaktozemiju ne preporučuju rutinsku slikovnu dijagnostiku.⁵¹

Galaktozemiju je važno na vrijeme prepoznati jer se na vrijeme započetom djetetom bez galaktoze nastanak

katarakte može spriječiti, a već postojeće katarakte mogu regredirati. Time se može smanjiti učestalost potrebe i komplikacija operacijskog liječenja katarakte. Nakon uvođenja dijete, katarakta iz novorođenačkog razdoblja nestala je u gotovo svih (4/5) naših ispitanika, što je u skladu s podacima iz literature.⁴² Katarakta nakon novorođenačkog razdoblja mogla bi biti posljedica nepridržavanja dijete. Protiv te hipoteze govori podatak da se katarakta nakon uvođenja dijete razvila u dva naša ispitanika koji su se navodno pridržavali dijete. U Waggonerovoj kohorti operirano je zbog katarakte ukupno osam bolesnika (8%)⁸, a u našoj jedan.

Zatajenje jajnika u klasičnoj galaktozemiji posljedica je složenih patogenetskih mehanizama koji uključuju toksično djelovanje galaktoze i njenih metabolita, poremećaje glikozilacije, signalnih puteva i ekspresije gena. Pokazalo se da su navedeni procesi neovisni o dijetetskom režimu tijekom života. Postoje pokazatelji da oštećenje jajnika može započeti već prenatalno.⁵² Navedeno rezultira poremećajem funkcije jajnika, utječući na procese folikulogeneze i sinteze spolnih hormona.⁵³ Zatajenje jajnika razvija više od 90% bolesnica s klasičnom galaktozemijom,⁵² što je nešto više nego u našoj studiji (66,7%). Razlika je najvjerojatnije posljedica malog broja bolesnica generativne dobi i relativno kratkog praćenja u našem istraživanju. Naime, dio bolesnica zatajenje jajnika razvija rano u dječjoj dobi te u njih izostaje spontani pubertetski razvoj, no dio zatajenje jajnika razvija kasnije, nakon sponatnoga pubertetskog razvoja ili čak menarhe, pa te djevojke često imaju smanjenu plodnost ili razvijaju preuranjenu menopauzu. U naših bolesnica koje su razvile zatajenje jajnika koncentracije gonadotropina bile su povišene i prije dobi očekivanoga pubertetskog razvoja, u jedne bolesnice već u dobi od osam godina, što je u skladu s postojećom literaturom.⁵⁴ U naših muških ispitanika nisu uočeni poremećaji spolnog ni pubertetskog razvoja, što je u skladu s dosadašnjim saznanjima o bolesti.⁴²

Pripravke kalcija i/ili vitamina D uzimali su svi naši bolesnici sa smanjenom mineralnom gustoćom kostiju. U troje bolesnika s barem jednom kontrolnom denzitometrijom bilo je uočeno poboljšanje nakon suplementacije kalcijem i vitaminom D, od čega u dvoje samo djelomično. Koncentracije kalcija i fosfora i aktivnost alkalne fosfataze bile su normalne u gotovo svih naših ispitanika sa smanjenom mineralnom gustoćom kostiju, što je u skladu s literaturom.⁵⁵ Koncentracija 25-OH-D3 izmjerena je samo u jednoga našeg bolesnika, što je slično literaturnim podacima koji govore o rijetkom mjerenju 25-OH-D3 u bolesnika s galaktozemijom⁵⁶, iako smjernice naglašavaju potrebu navedenog⁵¹. Međunarodne smjernice za klasičnu galaktozemiju preporučuju probir za smanjenu mineralnu gustoću kostiju u dobi od osam do deset godina.⁵¹ Medijan dobi u naših ispitanika pri prvoj denzitome-

triji bio je u 14. godini s rasponom od četvrte do 23. godine, što sugerira da se procjena mineralne gustoće kostiju u nekih radi prekasno.

U većine naših ispitanika smanjena tjelesna masa i tjelesna duljina/visina zabilježene su unutar dojenčakog razdoblja, po svemu uslijed kliničkog očitovanja bolesti u novorođenačkom razdoblju. Kasnije se uočava ubrzan prirast tjelesne mase i duljine/visine. U ispitanika iz studije Waggonera i suradnika rast je bio značajno usporen tijekom djetinjstva i ranog puberteta, a poboljšao se tek u kasnom pubertetu uz normalnu konačnu visinu.⁸

Razumljivo je da spoznaja o klasičnoj galaktozemiji u braće ili sestara omogućuje značajno ubrzanje postavljanja dijagnoze i izbjegavanje lošeg ishoda u novorođenačkom razdoblju, osobito u zemljama kao što je Hrvatska u kojima klasična galaktozemija nije uključena u program novorođenačkog probira. Zato je i u naših ispitanika učestalost simptoma u novorođenačkom razdoblju bila manja u drugorođenih s klasičnom galaktozemijom nego u prvorođenih. Usporedba prvorođenih i drugorođenih s klasičnom galaktozemijom iz iste obitelji otvara mogućnost da se prepoznaju čimbenici koji mimo genotipa utječu na dugoročni tijek bolesti. Iako je mali broj parova ispitanika iz istih obitelji, čini se da redosljed rođenja nije toliko utjecao na razvoj dugoročnih komplikacija jer su se one pojavile u objema skupinama. To je u skladu s rezultatima Waggonerove studije prema kojima nije bilo statistički značajne razlike u kvocijentu inteligencije, učestalosti poremećaja govora i funkcije jajnika među prvorođenima i drugorođenima s klasičnom galaktozemijom, što također govori da tijek i ishod u novorođenačkoj dobi ne određuju ili barem ne određuju potpuno dugoročni tijek bolesti.⁸

Iako je naša studija obuhvatila većinu bolesnika s klasičnom galaktozemijom u Hrvatskoj, ona ima određena ograničenja. Riječ je o razmjerno malom broju ispitanika koji su obrađeni retrospektivno. Svi bolesnici nisu bili praćeni na isti standardizirani način, što otežava uniformno obrađivanje i uspoređivanje podataka. Neki su podaci bili nedostupni. Većina ispitanika nakon punoljetnosti, a neki i ranije, prestali su s praćenjem kod pedijatra čime je otežano longitudinalno praćenje, osobito dugoročnih komplikacija.

Zaključak

Naša studija pokazuje da u Hrvatskoj velika većina djece s klasičnom galaktozemijom prebrodi jetrenu bolest u novorođenačkom razdoblju, iako se dijagnoza često postavlja dosta kasno. Zbog toga je, osobito u okolnostima dok u Hrvatskoj nema novorođenačkog probira na galaktozemiju, nužno povećati svijest o galaktozemiji u svih pedijatara, poglavito neonatologa. Dugoročne, patogenetski još nerazjašnjene komplikacije česte su kao i u drugim populacijama. Daljnja

istraživanja, osobito prospektivnog tipa s većim uzorkom, potrebna su kako bi se rasvijetlila složena patogeneza ove bolesti, definirala važnost pojedinih prediktivnih čimbenika za razvoj dugoročnih komplikacija te omogućila primjerena intervencija za dobrobit bolesnika.

ZAHVALA

Autori zahvaljuju svim bolesnicima i njihovim roditeljima koji su pridonijeli ovom istraživanju i svim kolegama i drugom zdravstvenom osoblju koji su sudjelovali u skrbi o ovim bolesnicima. Danijela Petković Ramadža, Tamara Žigman, Ksenija Fumić i Ivo Barić članovi su Europske mreže referentnih centara za rijetke nasljedne metaboličke bolesti (European Reference Network for Rare Hereditary Metabolic Disorders –MetabERN –Project ID #739543). Jurica Vuković član je Europske mreže referentnih centara za rijetke bolesti jetre (ERN Rare Liver).

INFORMACIJA O SUKOBU INTERESA

Autori nisu deklarirali sukob interesa relevantan za ovaj rad.

INFORMACIJA O FINANCIRANJU

Za ovaj članak nisu primljena financijska sredstva.

DOPRINOS AUTORA

KONCEPCIJA ILI NACRT RADA: IB, AŠ, DPR

PRIKUPLJANJE, ANALIZA I INTERPRETACIJA PODATAKA:

IB, IS, IR, AŠ, DPR, KF, VK, BL, SP, VR, NM, MG, AB, AŠU, TŽ, RG, JV, DM

PISANJE PRVE VERZIJE RADA: AŠ, DPR

KRITIČKA REVIZIJA: AŠ, DPR, KF, AŠU

LITERATURA

- Segal S BG. Disorders of Galactose Metabolism. U: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, ur. The metabolic and molecular basis of inherited disease. New York: McGraw-Hill Professional; 2001, str. 1553–89.
- Wada Y, Kikuchi A, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Takezawa Y, Iwasawa S i sur. Biallelic GALM pathogenic variants cause a novel type of galactosemia. *Genet Med.* 2020;22:1281.
- Murphy M, Mchugh B, Tighe O, Mayne P, O'Neill C, Naughten E i sur. Genetic basis of transferase-deficient galactosaemia in Ireland and the population history of the Irish Travellers. *Eur J Hum Genet.* 1999;7:549–54.
- Hirokawa H, Okano Y, Asada M, Fujimoto A, Suyama I, Ishiki G. Molecular basis for phenotypic heterogeneity in galactosaemia: prediction of clinical phenotype from genotype in Japanese patients. *Eur J Hum Genet.* 1999;7:757–64.
- Berry GT. Classic galactosemia and clinical variant galactosemia. U: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K i sur., ur. GeneReviews® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington; 1993–2022.
- Martinelli D, Bernardi B, Napolitano A, Colafati GS, Dionisi-Vici C. Teaching neuroImages: Galactitol peak and fatal cerebral edema in classic galactosemia: Too much sugar in the brain. *Neurology.* 2016;86:32–3.
- Schadewaldt P, Kamalanathan L, Hammen HW, Wendel U. Age dependence of endogenous galactose formation in Q188R homozygous galactosemic patients. *Mol Genet Metab.* 2004;81:31–44.
- Waggoner DD, Buist NRM, Donnell GN. Long-term prognosis in galactosaemia: Results of a survey of 350 cases. *J Inheret Metab Dis.* 1990;13:802–18.
- Coss KP, Byrne JC, Coman DJ, Adamczyk B, Abrahams JL, Saldova R i sur. IgG N-glycans as potential biomarkers for determining galactose tolerance in classical galactosaemia. *Mol Genet Metab.* 2012;105:212–20.
- Knerr I, Coss KP, Kratzsch J, Crushell E, Clark A, Doran P i sur. Effects of temporary low-dose galactose supplements in children aged 5–12 y with classical galactosemia: A pilot study. *Pediatr Res.* 2015;78:272–9.
- Tang M, Odejinmi SI, Vankayalapati H, Wierenga KJ, Lai K. Innovative therapy for classic galactosemia – Tale of two HTS. *Mol Genet Metab.* 2012;105:44–55.
- Jumbo-Lucioni PP, Ryan EL, Hopson ML, Bishop HM, Weitner T, Tovmasyan A i sur. Manganese-based superoxide dismutase mimics modify both acute and long-term outcome severity in a *Drosophila melanogaster* model of classic galactosemia. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20:2361–71.
- Coelho AI, Trabuco M, Ramos R, Silva MJ, Tavares de Almeida I, Leandro P i sur. Functional and structural impact of the most prevalent missense mutations in classic galactosemia. *Mol Genet Genomic Med.* 2014;2:484–96.
- Balakrishnan B, An D, Nguyen V, DeAntonis C, Martini PGV, Lai K. Novel mRNA-based therapy reduces toxic galactose metabolites and overcomes galactose sensitivity in a mouse model of classic galactosemia. *Mol Ther.* 2020;28:304–312.
- Coelho AI, Lourenço S, Trabuco M, Silva MJ, Oliveira A, Gaspar A i sur. Functional correction by antisense therapy of a splicing mutation in the GALT gene. *Eur J Hum Genet.* 2015; 23:500–6.
- Carney AE, Sanders RD, Garza KR, McGaha LA, Bean LJH, Coffee BW i sur. Origins, distribution and expression of the Duarte-2 (D2) allele of galactose-1-phosphate uridylyltransferase. *Hum Mol Genet.* 2009;18:1624–32.
- Elsas LJ, Lai K, Saunders CJ, Langley SD. Functional analysis of the human galactose-1-phosphate uridylyltransferase promoter in Duarte and LA variant galactosemia. *Mol Genet Metab.* 2001;72:297–305.
- Fridovich-Keil JL, Gambello MJ, Singh RH, Sharer JD. Duarte variant galactosemia. U: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K i sur., ur. GeneReviews® [Internet]. Seattle: University of Washington; 1993–2022.
- Ficicioglu C, Thomas N, Yager C, Gallagher PR, Hussa C, Mattie A i sur. Duarte (DG) galactosemia: A pilot study of biochemical and neurodevelopmental assessment in children detected by newborn screening. *Mol Genet Metab.* 2008;95: 206–12.
- Carlock G, Fischer ST, Lynch ME, Potter NL, Coles CD, Epstein MP i sur. Developmental outcomes in Duarte galactosemia. *Pediatr.* 2019;143:20182516.
- Stroek K, Bouva MJ, Schielen PCJI, Vaz FM, Heijboer AC, de Jonge R i sur. Recommendations for newborn screening for galactokinase deficiency: A systematic review and evaluation

- of Dutch newborn screening data. *Mol Genet Metab.* 2018; 124:50–56.
22. Bosch AM, Bakker HD, van Gennip AH, van Kempen J v., Wanders RJA, Wijburg FA. Clinical features of galactokinase deficiency: A review of the literature. *J Inherit Metab Dis.* 2002;25:629–34.
 23. Hennermann JB, Schadewaldt P, Vetter B, Shin YS, Mönch E, Klein J. Features and outcome of galactokinase deficiency in children diagnosed by newborn screening. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34:399–407.
 24. Rubio-Gozalbo ME, Derks B, Das AM, Meyer U, Möslinger D, Couce ML i sur. Galactokinase deficiency: lessons from the GalNet registry. *Genet Med.* 2021;23:202–210.
 25. Openo KK, Schulz JM, Vargas CA, Orton CS, Epstein MP, Schnur RE i sur. Epimerase-deficiency galactosemia is not a binary condition. *Am J Hum Genet.* 2006;78:89–102.
 26. Dias Costa F, Ferdinandusse S, Pinto C, Dias A, Keldermans L, Quelhas D i sur. Galactose epimerase deficiency: Expanding the phenotype. *J Inherit Metab Dis Rep.* 2017;37:19–25.
 27. Fridovich-Keil J, Bean L, He M, Schroer R. Epimerase deficiency galactosemia. U: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K i sur, ur. *GeneReviews*® [Internet]. Seattle: University of Washington; 1993–2022.
 28. Iwasawa S, Kikuchi A, Wada Y, Arai-Ichinoi N, Sakamoto O, Tamiya G i sur. The prevalence of GALM mutations that cause galactosemia: A database of functionally evaluated variants. *Mol Genet Metab.* 2019;126:362–367.
 29. Kono T, Hiki T, Kuwashima S, Hashimoto T, Kaji Y. Hypergalactosemia in early infancy: Diagnostic strategy with an emphasis on imaging. *Pediatr Int.* 2009;51:276–82.
 30. Nishimura Y, Tajima G, Bahagia AD, Sakamoto A, Ono H, Sakura N i sur. Differential diagnosis of neonatal mild hypergalactosaemia detected by mass screening: Clinical significance of portal vein imaging. *J Inherit Metab Dis.* 2004;27:11–8.
 31. Pasquali M, Yu C, Coffee B. Laboratory diagnosis of galactosemia: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2018; 20:3–11.
 32. Kotb MA, Mansour L, Shamma RA. Screening for galactosemia: Is there a place for it? *Int J Gen Med.* 2019;12:193–205.
 33. Squires RH, Shneider BL, Bucuvalas J, Alonso E, Sokol RJ, Narkewicz MR i sur. Acute liver failure in children: The first 348 patients in the pediatric acute liver failure study group. *J Pediatr.* 2006;148:652–658.
 34. Baim S, Leonard MB, Bianchi ML, Hans DB, Kalkwarf HJ, Langman CB i sur. Official positions of the international society for clinical densitometry and executive summary of the 2007 ISCD Pediatric position development conference. *J Clin Densitom.* 2008;11:6–21.
 35. Ramadža DP, Sarnavka V, Vuković J, Fumić K, Krželj V, Lozić B i sur. Molecular basis and clinical presentation of classic galactosemia in a Croatian population. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2018;31:71–5.
 36. Riehman K, Crews C, Fridovich-Keil JL. Relationship between genotype, activity, and galactose sensitivity in yeast expressing patient alleles of human galactose-1-phosphate uridylyltransferase. *J Biol Chem.* 2001;276:10634–40.
 37. Varela-Lema L, Paz-Valinas L, Atienza-Merino G, Zubizarreta-Alberdi R, Villares RV, López-García M. Appropriateness of newborn screening for classic galactosaemia: a systematic review. *J Inherit Metab Dis.* 2016;39:633–649.
 38. Boutron A, Marabotti A, Facchiano A, Cheillan D, Zater M, Oliveira C i sur. Mutation spectrum in the French cohort of galactosemic patients and structural simulation of 27 novel missense variations. *Mol Genet Metab.* 2012;107:438–47.
 39. Calderon FRO, Phansalkar AR, Crockett DK, Miller M, Mao R. Mutation database for the galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GALT) gene. *Hum Mutat.* 2007;28:939–43.
 40. Porta F, Pagliardini S, Pagliardini V, Ponzzone A, Spada M. Newborn screening for galactosemia: a 30-year single center experience. *World J Pediatr.* 2015;11:160–4.
 41. Öunap K, Joost K, Temberg T, Krabbi K, Tönisson N. Classical galactosemia in Estonia: selective neonatal screening, incidence, and genotype/phenotype data of diagnosed patients. *J Inherit Metab Dis.* 2010;33:175–6.
 42. Rubio-Gozalbo ME, Haskovic M, Bosch AM, Burnyte B, Coelho AI, Cassiman D i sur. The natural history of classic galactosemia: Lessons from the GalNet registry. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14:86.
 43. Yuzyuk T, Viau K, Andrews A, Pasquali M, Longo N. Biochemical changes and clinical outcomes in 34 patients with classic galactosemia. *J Inherit Metab Dis.* 2018;41:197–208.
 44. Milánkovics I, Schuler Á, Kámory E, Csókay B, Fodor F, Somogyi C i sur. Molecular and clinical analysis of patients with classic and Duarte galactosemia in western Hungary. *Wien Klin Wochenschr.* 2010;122:95–102.
 45. Viggiano E, Marabotti A, Burlina AP, Cazzorla C, D'Apice MR, Giordano L i sur. Clinical and molecular spectra in galactosemic patients from neonatal screening in northeastern Italy: Structural and functional characterization of new variations in the galactose-1-phosphate uridylyltransferase (GALT) gene. *Gene.* 2015;559:112–8.
 46. Bech LF, Donneborg ML, Lund AM, Ebbesen F. Extreme neonatal hyperbilirubinemia, acute bilirubin encephalopathy, and kernicterus spectrum disorder in children with galactosemia. *Pediatr Res.* 2018;84:228–32.
 47. Waisbren SE, Potter NL, Gordon CM, Green RC, Greenstein P, Gubbels CS i sur. The adult galactosemic phenotype. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35:279–86.
 48. Timmers I, van der Korput LD, Jansma BM, Rubio-Gozalbo ME. Grey matter density decreases as well as increases in patients with classic galactosemia: A voxel-based morphometry study. *Brain Res.* 2016;1648:339–344.
 49. Hermans ME, Welsink-Karssies MM, Bosch AM, Oostrom KJ, Geurtsen GJ. Cognitive functioning in patients with classical galactosemia: A systematic review. *Orphanet J Rare Dis.* 2019;14:226.
 50. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29:516–25.
 51. Welling L, Bernstein LE, Berry GT, Burlina AB, Eyskens F, Gautschi M i sur. International clinical guideline for the management of classical galactosemia: diagnosis, treatment, and follow-up. *J Inherit Metab Dis.* 2017;40:171–6.
 52. Thakur M, Feldman G, Puscheck EE. Primary ovarian insufficiency in classic galactosemia: current understanding and future research opportunities. *J Assist Reprod Genet.* 2018;35: 3–16.
 53. Fridovich-Keil JL, Gubbels CS, Spencer JB, Sanders RD, Land JA, Rubio-Gozalbo E. Ovarian function in girls and women with GALT-deficiency galactosemia. *J Inherit Metab Dis.* 2011;34:357–66.
 54. Kaufman FR, Kogut MD, Donnell GN, Goebelsmann U, March C, Koch R. Hypergonadotropic hypogonadism in female patients with galactosemia. *N Engl J Med.* 1981;304:994–8.
 55. Erven B, Welling L, Calcar SC, Doulgeraki A, Eyskens F, Gribben J i sur. Bone health in classic galactosemia: Systematic review and meta-analysis. *J Inherit Metab Disord Rep.* 2017;35:87–96.
 56. Rubio-Gozalbo ME. Bone mineral density in patients with classic galactosaemia. *Arch Dis Child.* 2002;87:57–60.