

# Analiza sastava masnih kiselina u dijagnostici i praćenju nasljednih poremećaja

Ivančica Delaš<sup>1</sup>, Danijela Petković Ramadža<sup>2</sup>, Vladimir Sarnavka<sup>2</sup>, Marija Delaš<sup>3</sup>, Ivo Barić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Zavod za kemiju i biokemiju, Medicinski fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb

<sup>2</sup>Zavod za bolesti metabolizma, Klinika za pedijatriju, KBC Rebro, Zagreb

<sup>3</sup>Služba za promicanje zdravlja, Hrvatski zavod za javno zdravstvo, Zagreb

u suradnji s InNerMeD Information Network

## UVOD

Prema Europskoj komisiji za javno zdravstvo "rjetke bolesti su po život opasne ili kronično iscrpljujuće bolesti niske prevalencije koje zahtijevaju posebne zajedničke napore za njihovo rješavanje". Iako se prevalencija može razlikovati ovisno o području i ispitivanoj skupini, generalno se smatra da rjetke bolesti zahvaćaju 1 od 2000 osoba. U ovu skupinu uključene su i "zanemarene bolesti" (npr. tuberkuloza, malarija, kolera) čija je prevalencija niska u razvijenim zemljama, ali još uvijek predstavljaju zdravstveni problem u nerazvijenim zemljama.

Iako su u razvijenim zemljama u primjeni metode prenatalne ili rane presimptomatske dijagnostike za veliki broj metaboličkih bolesti, s ciljem pravovremenog otkrivanja bolesti i sprječavanja neželjenih posljedica, kod nas one još nisu uvrštene u prošireni novorođenački probir. Također, nakon postavljanja dijagnoze potrebno je kontinuirano praćenje stanja bolesnika i učinkovitosti terapije odgovarajućim metodama.

## ISPITANICI

Ispitanici su pacijenti Zavoda za bolesti metabolizma, Klinike za pedijatriju KBC Rebro, Zagreb. Uzorci seruma prikupljeni su tijekom redovitih kontrola na odjelu. Za prikaz su izabrana dva bolesnika (PT, rođ. 2010. i IL, rođ. 2009.) kod kojih je enzimskom analizom utvrđen manjak 3-hidroksi-acil-CoA-dehidrogenaze dugih lanaca i manjak mitohondrijskog trifunkcionalnog proteina. Pacijent IL je u drugom danu života razvio metaboličku krizu koja se očitovala hipoglikemijom, hipotonijom, cijanozom i cirkulatornim kolapsom. Pacijent PT zaprimljen je prvi puta u dobi od 5,5 mjeseci kada je nakon akutne respiratorne infekcije razvio hipoglikemiju, hipotoniju, bradikardiju i poremećaj svijesti praćen zatajenjem disanja. U oba djeteta je po postavljanju dijagnoze započet dijetetski režim koji uključuje redovite obroke, odgovarajući energetski unos i ograničen unos masti.

## METODE

Ekstrakcija ukupnih lipida iz seruma ispitanika provedena je smjesom kloroform : metanol = 2:1 v/v, koja sadrži butil-hidroksitoluen (BHT) kao antioksidans ( $c = 0,01\%$ ). Trans-esterifikacijom uz metanolnu HCl masne kiseline prevedene su u metilne estere i analizirane preporučenom metodom ISO 5508:1990 (E) na plinskom kromatografu SRI 8610 (SRI Instruments, Torrance, CA, USA) opremljenom plameno-ionizacijskim detektorom (FID). Temperatura injektora iznosila je 150 °C, a detektora 240 °C. Kromatografija je vršena na kapilarnoj koloni DB-23 (Agilent J&W), duljina kolone 60 m, unutarnji promjer kolone 0,25 mm, debljina aktivnog sloja 0,25 µm. Metilni esteri masnih kiselina identificirani su usporedbom njihovih vremena retencije s onima za poznate referentne standarde (Supelco, Bellefonte Inc, PA, USA). Prikupljanje i obrada rezultata provedeni su pomoću računalnog programa Peak 3D. Razmjena podataka s drugim centrima omogućena je putem međunarodne informativne mreže InNerMeD (Inherited Neurometabolic Diseases Information Network).

## REZULTATI

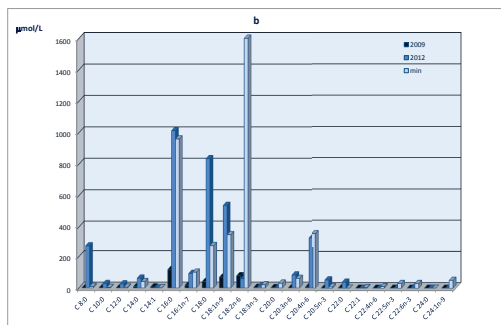
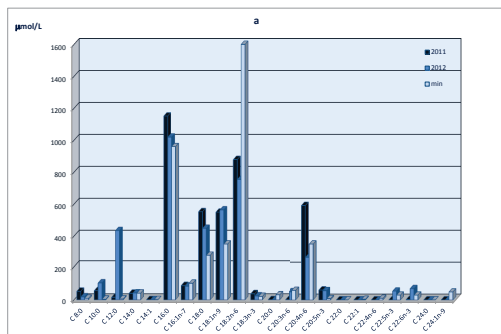
Nasljedni poremećaji u metabolizmu masti rezultiraju promjenama u sastavu masnih kiselina (Slika 1). Analiza sastava masnih kiselina seruma ispitanika koji boluju od poremećaja razgradnje masnih kiselina dugih lanaca pokazuje značajno odstupanje od očekivanih vrijednosti. Primjena djetetske terapije koja uključuje primjenu MCT ulja (sadrže masne kiseline srednje duljine lanca, C 8-12) uz istovremeno ograničavanje masnoća s dugolančanim masnim kiselinama, očituje se u porastu koncentracije srednjelančanih masnih kiselina u serumu. Dodatak dokozaheksaenske kiseline (DHA, C 22:6n-3) u prehranu omogućuje normalizaciju esencijalnih višestruko nezasićenih masnih kiselina.

## ZAKLJUČAK

Analiza sastava masnih kiselina u serumu pruža značajne informacije u postupku postavljanja dijagnoze metaboličkih i omogućuje praćenje učinka primijenjene terapije.

Podaci dobiveni dugoročnim praćenjem pacijenata osnova su za planiranje daljnje terapije i donošenje preporuka u pacijenata s metaboličkim bolestima. Međunarodna informativna mreža InNerMeD (Inherited Neurometabolic Diseases Information Network) osigurava dostupnost podataka za veći broj pacijenata iz drugih zemalja, što je posebno važno kad su u pitanju rjetke bolesti i mali broj pacijenata.

Slika 1



Sadržaj masnih kiselina u serumu pacijenata PT (a) i IL (b) na početku bolesti i nakon primjene dijetetskog režima. Podaci su uspoređeni s donjom granicom referentnih vrijednosti (min) Mayo klinike.