

NEDOSTATNA AKTIVNOST GLUKOZA-6-FOSFAT DEHIDROGENAZE KAO UZROK NOVOROĐENAČKE ŽUTICE

MARIJANA DRAŽIĆ, NAĐA STOJKIĆ, VJEKOSLAV KRŽELJ*

Procjenjuje se da vjerojatno oko 400 milijuna ljudi ima deficit G6PD s oko 140 varijanti mutacija gena. Većina ljudi ne znaju za svoj deficit, jer nemaju nikakvih kliničkih smetnji. Najčešće kliničke manifestacije deficita G6PD su akutna stečena hemolizna anemija, kronična urođena hemolizna anemija, favizam i novorođenačka hiperbilirubinemija. Teški oblik novorođenačke žutice je česti oblik manifestacije deficita G6PD. Klinička manifestacija novorođenačke hiperbilirubinemije varira od blagih slučajeva žutice bez potrebe za terapijom do kliničke slike kernikerusa i ugroženosti života. Težina žutice nije povezana sa stupnjem aktivnosti enzima. Novorođenčad ženskog spola su u istoj mjeri izložena riziku kao i muška.

Deskriptori: GLUKOZA-6-FOSFAT DEHIDROGENAZA, NOVOROĐENAČKA ŽUTICA

Uvod

Dehidrogenaze su enzimi iz skupine oksidoreduktaza, a kataliziraju oslobađanje atoma vodika. Warburg i Christian su 1931. godine otkrili i opisali enzim glukoza-6-fosfat dehidrogenazu (G6PD). G6PD katalizira prijelaz glukoza-6-fosfata u 6-fosfoglukonat, što je prva reakcija u pentoza - fosfatnom putu metabolizma glukoze. Pri tom se glukoza-6-fosfat oksidira, a nikotinamid-adenin-dinukletid-fosfat (NADP) reducira i prelazi u NADPH.

NADPH služi kao donator vodika potrebnog kod biosinteze. Biološka važnost

G6PD je vidljiva i po tome što je enzim prisutan u mnogih organizama u biljnom i životinjskom svijetu. Slijed aminokiselina u enzimu je opisan u 24 različite vrste živih bića pri čemu se uočavaju brojne sličnosti u građi.

G6PD je prisutna u većoj ili manjoj mjeri u svim stanicama čovječjeg organizma (1). Izolirana je u suprarenalnoj žlijezdi, masnom tkivu, krvnim stanicama, jetri, gušterači, plućima, bubregu, mozgu, miokardu, skeletnim mišićima, dojci za vrijeme laktacije, a sadrži je i maligno tkivo.

Količina G6PD i njena aktivnost je različita u različitim tkivima. Posebno je aktivna u tkivima gdje je prisutna značajna lipogeneza, kao što su kora nadbubrežne žlijezde, mliječna žlijezda u vrijeme laktacije i masno tkivo. U jetri se 30% glukoze razgradi pentoza fosfatnim putem. NADPH je potreban u hepatocitima i dru-

*Klinika za dječje bolesti, KBC Split

Adresa za dopisivanje:
Marijana Dražić
Klinika za dječje bolesti, KBC Split
21000 Split, Spinčićeva 1
E-mail: marijanadrazic@live.com

gim stanicama koje proizvode steroide kao kofaktor za hydroxymethylglutaryl (HMG) - CoA reduktazu, enzim koji regulira stupanj biosinteze kolesterola (2).

U eritrocitima nije moguć ciklus limumske kiseline koji se odvija u mitohondrijima pa se oko 90% glukoze razgradi anaerobnom glukolizom (Embden-Meyeroferov put). Takvim načinom korištenja glukoze oslobađa se manje energije, ali je zato smanjena mogućnost utroška transportiranog kisika, što povećava efikasnost osnovne službe eritrocita.

U fiziološkim uvjetima se oko 10% glukoze u eritrocitu razgradi oksidacijski - pentoza fosfatnim putem. G6PD katalizira prvu reakciju u ovom biokemijskom procesu. Pentoza fosfatni put je značajan za sintezu nukleinskih kiselina jer stvara riboza-5-fosfat, te za stvaranje reduciranog NADPH-a. Pentoza fosfatni put metabolizma glukoze je jedini način proizvodnje NADPH-a u eritrocitima.

NADPH omogućava redukcijske reakcije u eritrocitima koje štite stanicu od oksidacijskih ozljeda kojima je eritrocit stalno izložen zbog raznih razloga, uključivši i veliku količinu kisika koju prenosi. Zaštitni enzimski mehanizmi eritrocita za očuvanje integriteta stanice od oksidacijskih oštećenja su: redukcija methemoglobina, održavanje reduciranog glutatona, redukcija oksidacijskih tvari i lijekova, sinteza lipida stanične membrane.

Nedostatak NADPH je najznačajnija posljedica deficita aktivnosti G6PD. Blaga oksidacijska opterećenja eritrocita snižuju koncentraciju reduciranog glutatona, a kod umjerenih nastupi pojačano stvaranje methemoglobina. Pomoću zaštitnih sustava, za koje je potreban NADPH, ove se reverzibilne pojave popravljaju. Ako je zaštita eritrocita iscrpljena, dolazi do stvaranja sulfhemoglobina i potom denaturacija hemoglobina s taloženjem u obliku kuglastih inkluzija nazvanih Heinzova

tjelešca. To je krajnji stupanj oksidacijskog oštećenja hemoglobina. Takvi su eritrociti podložni hemolizi. Hemoliza eritrocita nastupa i zbog drugih razloga, a jedan od osnovnih je oštećenje stanične membrane. Destrukcija hemoglobina dodatno slabi funkcije membrane. Javlja se slični procesi u sastavnim elementima membrane kao što su sulfhidrilne skupine, bjelančevine i lipidi, što dovodi do dezintegracije membrane.

Kliničke manifestacije deficita G6PD

Procjenjuje se da vjerojatno oko 400 milijuna ljudi ima deficit G6PD s opisanih oko 140 varijanti mutacija gena (3). Većina ljudi ne znaju za svoj deficit, jer nemaju nikakvih kliničkih smetnji. Zemljopisna rasprostranjenost varijanti enzima i incidencije malarije sugeriraju da je deficit G6PD udružen s nekim stupnjem otpornosti eritrocita prema malariji.

Deficit enzima je prisutan širom svijeta, ali u pojedinim populacijama pokazuje značajne razlike u učestalosti. Najveća incidencija opisana je među muškarcima Židovima u Kurdistanu i to čak 70%. U Židova iz Istočne Europe i Sjeverne Afrike deficit je veoma rijedak U Bantu crnaca incidencija iznosi 20%, američkih crnaca 11%, a crnaca u Brazilu 8%. U Grčkoj postoje velike razlike u pojedinim krajevima, te se učestalost deficita kreće od 0,6% do 10%. Na Sardiniji je zastupljenost deficita 18,8%, a u Sjevernoj Italiji samo 0,1%. U Makedoniji je učestalost među Romima 6%, a u Makedonaca 1%. U Dalmaciji dijagnosticirana učestalost deficita u populaciji je 0,44% i to 0,75% u muškaraca i 0,14% u žena (4).

Iako je G6PD prisutna u svim tkivima, efekt deficita enzima je najviše izražen u eritrocitima, te je hemolizna anemija najčešća klinička manifestacija. Najčešće kliničke manifestacije deficita G6PD su

akutna stečena hemolizna anemija, kronična urođena hemolizna anemija, favizam i novorođenačka hiperbilirubinemija.

Akutna stečena hemolizna anemija

Raznoliki agensi koji izazivaju hemolizu dovode eritrocit u stanje povećanog oksidacijskog opterećenja koje on nije u mogućnosti prevladati zbog deficita G6PD. U normalnim uvjetima u ovih varijanti nema anemije, a eritrociti su urednog oblika i svojstava, osim nešto kraćeg životnog vijeka. Hemolizne krize mogu biti veoma teške i opasne po život što ovisi o varijanti enzima i količini, te snazi potencijalnog oksidansa. Akutna hemoliza može biti izazvana lijekovima, infekcijom ili nekim rijetkim stanjima poput dijabetičke ketoacidoze (5). Lijekovi koji induciraju hemolizu su spojevi, koji in vivo produciraju vodikov peroksid, ili su izravni oksidansi. Infekcija je daleko najčešći uzrok akutne hemolize kod deficita enzima. Mnogi su lijekovi bili neopravdano optuženi za induciranje hemolize zbog koincidencije s infekcijom.

Kongenitalna hemolizna anemija

U nazivu ove anemije u literaturi je često pridjev - nesferocitna. Time se želi naglasiti razlika od drugih anemija koje imaju sferocitni oblik eritrocita. Deficit enzima je tako velik da eritrociti ne mogu podnijeti niti uobičajene stresove u cirkulaciji. Učestalost ovih varijanti je rijetka i opisani su kao sporadični slučajevi (5). Klinička slika je često ispoljena već u novorođenačkom razdoblju kada hemoliza može biti teška. Poslije dojenačkog razdoblja znaci i simptomi hemolizne bolesti su diskretni i nestalni, anemija može biti kompenzirana, ali je uvijek prisutna u većoj ili manjoj mjeri. Tijekom života moguće su aplastičke krize s naglim padom eritrocita.

Favizam

Favizam je bolest karakterizirana teškom hemoliznom anemijom nakon ingestije boba (*Vicia faba*) u osoba koje imaju deficit G6PD. Favizam je najčešći u mediteranskoj regiji, u kojoj se bob često uzgaja i konzumira. Izražen je obično u varijanti enzima s teškim deficitom aktivnosti koja se naziva G6PD Mediteran (6). Favizam je opisan i u brojnim drugim mutacijama s teškim i umjerenim deficitom G6PD. Opisan je slučaj favizma dojenčeta koje je hranjeno mlijekom koze koja je pasla bob. U Kini je opisan slučaj hidropsa fetusa koji je bolovao od favizma, a čija je majka jela bob. Učestalost pojave oboljenja je veća u dobi od prve do pete godine. Simptomi akutne hemolize se javljaju od pet do dvadeset i četiri sata nakon ingestije boba. Prije primjene transfuzija mortalitet je iznosio 8%. Sastojci boba divicin i izouramil su kao jaki oksidansi odgovorni za toksične pojave u favizmu. Nadalje je opaženo da su u eritrocitima u favizmu promijenjeni neki od elektrolita pa je povišena koncentracija kalcija, snižen kalij, a snižena je i aktivnost Ca-ATP-e aktivnost što doprinosi hemolizi.

Novorođenačka hiperbilirubinemija

Teški oblik novorođenačke žutice je česti oblik manifestacije deficita G6PD. Mnogi autori ističu da postoji značajno veći broj hiperbilirubinemije kod novorođenčadi s nedostatkom G6PD nego u kontrolnoj skupini (7). Novorođenačka hiperbilirubinemija je opisana u različitim varijantama G6PD, ali je najrasprostranjenija u varijanti Mediteran.

Hiperbilirubinemija je posljedica veće ponude bilirubina zbog umjerene hemolize eritrocita i smanjenje konjugacije bilirubina u novorođenčadi s deficitom G6PD.

Razgradnjom hema nastaje i ugljik monoksid koji se veže uz hemoglobin te tvori karboksihemoglobin (COHb). Koncentracijom COHb u krvi novorođenčadi može se mjeriti stupanj hemolize. Razina COHb u novorođenčadi s deficitom G6PD i izraženim ikterusom je viša nego li u novorođenčadi s ikterusom bez deficita enzima.

Hemolizu novorođenčadi s deficitom G6PD mogu poticati lijekovi, kemikalije, infekcije, hipoksična stanja u perinatalnom razdoblju, bob te razni utjecaji iz okoline. Zabilježen je slučaj pojave hemolize potaknuta naftalenom koji je korišten za pohranjivanje novorođenačke odjeće, također injekcije vitamina K3 koje se koriste za prevenciju hemoragijske bolesti novorođenčadi mogu biti "trigger" za nastanak hemolize. Istraživanjima je dokazano da čaj odnosno njegove aktivne supstanace značajno mijenjaju oksidativni status G6PD deficitarnih eritrocita in vitro. Dolazi do pada razine reduciranog glutatona (GSG) i rasta razine disulfidnog oblika glutatona (GSSH), methemoglobina i hemoglobina u plazmi (8).

Međutim danas se poremećaj konjugacije bilirubina smatra osnovnim patogenetskim mehanizmom novorođenačke hiperbilirubinemije kod deficita G6PD. U jetri se 30% glukoze razgrađuje pentoza fosfatnim putem te je pri deficitu G6PD smanjena proizvodnja NADPH što izaziva poremećaje u međusobno ovisnim metaboličkim procesima u jetri. Konjugirani bilirubin se sastoji od dvije frakcije - monoglukuronske i diglukuronske. U novorođenčadi s deficitom G6PD smanjena je diglukuronska frakcija te je snižena razina konjugiranog bilirubina u serumu u odnosu na hiperbilirubinemičnu novorođenčad s normalnom aktivnošću G6PD (9). Naime zbog nepostojanja testova kojim bi se točno mogla mjeriti konjugacija bilirubina u jetri, za procjenu procesa konjugacije koristi se razina konjugiranog bilirubina u serumu. Smatra se da tijekom metabolizma biliru-

bina u jetri dolazi do refluksa male količine konjugiranog bilirubina iz hepatocita u serum, te upravo taj serumski konjugirani bilirubin odražava konjugaciju bilirubina unutar hepatocita (9).

Klinička manifestacija novorođenačke hiperbilirubinemije varira od blagih slučajeva žutice bez potrebe za terapijom do kliničke slike kernikterusa i ugroženosti života. Težina žutice nije povezana sa stupnjem aktivnosti enzima. Novorođenčad ženskog spola su u istoj mjeri izložena riziku kao i muška.

Istraživanje muške novorođenčadi s hiperbilirubinemijom provedeno u Dalmaciji je pokazalo učestalost deficita G6PD od 3,9% što je značajno više ($p < 0,001$) u odnosu na učestalost deficita od 0,75% u općoj populaciji muškaraca. Novorođenčad s hiperbilirubinemijom i deficitom G6PD su statistički značajno dulje boravila u bolnici nego li novorođenčad bez deficita (10).

ZDRAVSTVENA NJEGA DJETETA S NOVOROĐENAČKOM ŽUTICOM

Zdravstvena njega djeteta s novorođenačkom žuticom sastoji se od:

- provedbi laboratorijskih pretraga;
- praćenju izgleda kože;
- praćenja stanja djeteta;
- primjeni terapijskih postupaka u svrhu snižavanja bilirubina (TIV, fototerapija, eksangvinotransfuzija);
- edukacija majke.

FOTOTERAPIJA

Istraživanja su pokazala da plava svjetlost valne duljina između 425-475 valne duljine pretvara nekonjugirani bilirubin u koži i kožnim kapilarama u nestabilne izomere bilirubina tzv. fotobilirubine. Oni iz kože cirkulacijom dođu u jetrene stanice

i odatle za razliku od stabilnog bilirubina nekonjugirani, dakle neovisno o kapacitetu enzima glukuronil transferaze izluče u žuč. Indikacije za fototerapiju:

- koncentracija bilirubina od 15-18 mg/dl-dob od 24-48h
- koncentracija bilirubina od 18-20 mg/dl-dob 48-72h
- koncentracija bilirubina 20 mg/dl-dob poslije 72h

Fototerapija se izvodi tako da se dijete razodjene tijekom 12-24h i prekrivenih očiju obasjava fluorescentnom svjetiljkom.

Komplikacije fototerapije: -povećanje tjelesne temperature, dehidracija.

EKSANGVINOTRANSFUZIJA

Eksangvinotransfuzija je indicirana kod teške hiperbilirunemije. Kroz kateter uveden u umbilikalnu venu izmjenjuju se male količine krvi čime se odstranjuju dijelom hemolizirani i protutijelima obloženi eritrociti. Ako razine bilirubina ostaju visoke eksangvinotransfuzije se mogu i ponavljati. Ovi postupci su praćeni opasnostima i komplikacijama pa je uspješnost fototerapije uvelike smanjila učestalost izvođenja iste. Eksangvinotransfuzija je invazivan oblik terapije te se provodi u uvjetima asepsa. Zadatci medicinske sestre pri primjeni fototerapije:

- za vrijeme primjene fototerapije dijete se razodjene, smjesti u krevetić u sobi za; fototerapiju, oči treba zaštititi i lampa se namjesti 60 cm iznad krevetića;
- treba pratiti temperaturu da se dijete ne pregrije;
- za vrijeme fototerapije prima i TIV;
- cijelo vrijeme dok prima fototerapiju majka može biti uz dijete (11).

LITERATURA

1. Vulliamy T, Mason P, Luzzato L. The molecular basis of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Trends* 1992; 8: 138-43.
2. Muntoni S, Batetta B, Dessi S, et al. Serum lipoprotein profile in the Mediterranean variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Eur J Epidemiol* 1992; 8 (Suppl 1): 48-53.
3. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2008; 371: 64-74.
4. Krželj V, Zlodre S, Terzić J, et al. Prevalence of G-6-PD deficiency in the Croatian Adriatic Coast population. *Arch Med Res.* 2001; 32: 454-7.
5. Beutler E. G6PD: Population genetics and clinical manifestations. *Blood reviews* 1996; 10: 45-52.
6. Gaetani GF, Rolfo M, Arena S, et al. Active involvement of catalase during hemolytic crises of favism. *Blood* 1996; 88: 1084-88.
7. Weng YH, Chou YH, Lien RI. Hyperbilirubinemia in healthy neonates with G6PD deficiency. *Early Human Development.* 2003; 71: 129-36.
8. Ko CH, Li K, Ng PC, et al. Pro-oxidative effects of tea and polyphenols, epigallocatechin-3-gallate and epigallocatechin on G-6-PD-deficient erythrocytes in vitro. *Int J Mol Med.* 2006; 18 (5): 987-94.
9. Kaplan M, Muraca M, Hammerman C, Vilei T. Bilirubina Conjugation, Reflected by Conjugated Fractions, in G-6-PD- deficient Neonates: A Determining Factor in the Pathogenesis of Hyperbilirubinemia. *Pediatrics* 1998; 37: 102.
10. Glavinić R, Marušić E, Krželj V, et al. Influence of the inherited glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency on the appearance and the course of neonatal hyperbilirubinemia. *Paediatr Croat* 2009; 53 (Supl 3): 49.
11. Hbazin I. Zdravstvena njega majke i novorođenčeta. 2008.

Summary

M. Dražić, N. Stojkić, V. Krželj

About 400 million people has deficit of G6PD with about 140 described gene mutation variants. Most of the people are not aware of their deficit, because they are not having any clinical disorders. The most common clinical manifestation of the deficit of G6PD are acute guined hemolytic anemia, chronic congenital hemolytic anemia, favisam and neonatal hyperbilirubinemia. Severe neonatal jaundice is a common form of G6PD deficit manifestation. Neonatal hyperbilirubinemia varies from mild cases of jaundice with no need for therapy to clinical picture of kernicterus end life threat. Severity of jaundice is not related to the level of enzyme activity. Female newborns are just like male under the same risk from that disease.

Descriptors: GLUKOSE-6-PSOSPATE DEHIDROGENASE, NEONATAL JAUNDICE