

Ενζυμοπενικές Αναιμίες

Αντωνία Βλάχου,¹ Αντώνης Καττάμης²

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Μεταλλάξεις που οδηγούν σε ενζυμικές ανεπάρκειες των ερυθροκυττάρων μπορούν να συσχετισθούν με ποικίλους φαινοτύπους, όπως η αιμολυτική αναιμία, η μεθαιμοσφαιριναιμία, η πολυκυτταραιμία και ποικίλες νευροαναπτυξιολογικές διαταραχές. Η ανεπάρκεια της αφυδρογονάσης της 6- φωσφορικής γλυκόζης (G-6-PD) αποτελεί τη συχνότερη ενζυμική διαταραχή και προβάλλει κατά κανόνα με επεισόδια αιμόλυσης. Η ανεπάρκεια της πυρουβικής κινάσης (PK) είναι η πιο συχνή και πιο καλά μελετημένη ενζυμοπάθεια του κύκλου του Embden-Meyerhof. Παρουσιάζει κλινική ανομοιογένεια, με προεξάρχουσα, ωστόσο, εκδήλωση τη χρόνια αιμολυτική αναιμία. Σπανιότερες ενζυμοπάθειες των ερυθροκυττάρων έχουν σποραδική επίπτωση και παρόμοια κλινική εκδήλωση. Τα τελευταία χρόνια ολοένα και περισσότερες μελέτες αναδεικνύουν τις μη ενζυμικές δράσεις των ενζύμων των ερυθροκυττάρων και το ρόλο που τα ένζυμα αυτά διαδραματίζουν στην κυτταρική μετανάστευση και την απόπτωση.

Haema 2013; 4(1): 66-77 Copyright EAE

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ο όρος ενζυμοπενικές αναιμίες ή ενζυμοπάθειες του γλυκολυτικού κύκλου των ερυθροκυττάρων χρησιμοποιείται για τον καθορισμό ομάδας χρονίων αιμολυτικών αναιμιών, οφειλόμενων σε κληρονομικές διαταραχές ενζύμων του ερυθρού αιμοσφαιρίου που συμμετέχουν κυρίως στο μεταβολισμό της γλυκόζης.

Το ώριμο ερυθροκύτταρο στερείται πυρήνα, μιτοχονδρίων και ριβοσωμάτων και αδυνατεί να συνθέσει πρωτεΐνες και λίπη και να δραστηριοποιήσει την οξειδωτική φωσφορυλίωση. Το ερυθρό αντλεί την ενέργεια που χρειάζεται για να διατηρήσει την ακεραιότητα της κυτταρικής του μεμβράνης και της αιμοσφαιρίνης αποκλειστικά από το μεταβολισμό της γλυκόζης, ο οποίος γίνεται με τρεις οδούς (κύκλους) (Σχήμα 1):

α) Το γλυκολυτικό κύκλο του Embden-Meyerhof ή την αερόβια οδό. Με την οδό αυτή καλύπτονται τα 90-95% του μεταβολισμού. Η γλυκόζη μεταβολίζεται προς πυροσταφυλικό και γαλακτικό οξύ με σειρά αντιδράσεων και συμμετοχή μεγάλου αριθμού ενζύμων. Με τον

κύκλο αυτό εξοικονομείται ενέργεια υπό τη μορφή ATP, που χρησιμοποιείται για τις βασικές λειτουργίες του ερυθροκυττάρου, όπως η διατήρηση της ακεραιότητας της μεμβράνης και η λειτουργία της αντλίας νατρίου και ασβεστίου. Επιπλέον το ATP δρα σαν υποκατάστατο του 2-3 διφωσφογλυκερικού οξέος (2-3-DPG) για τη διατήρηση σε φυσιολογικά επίπεδα της καμπύλης αποδέσμευσης οξυγόνου.

β) Την οδό της αναερόβιας γλυκόλυσης ή την παράπλευρη οδό της φωσφορικής πεντόζης. Η παράπλευρη αυτή οδός του μεταβολισμού χρησιμεύει για την εξουδετέρωση οξειδωτικών παραγόντων. Καλύπτει το 5-10% του μεταβολισμού της γλυκόζης.

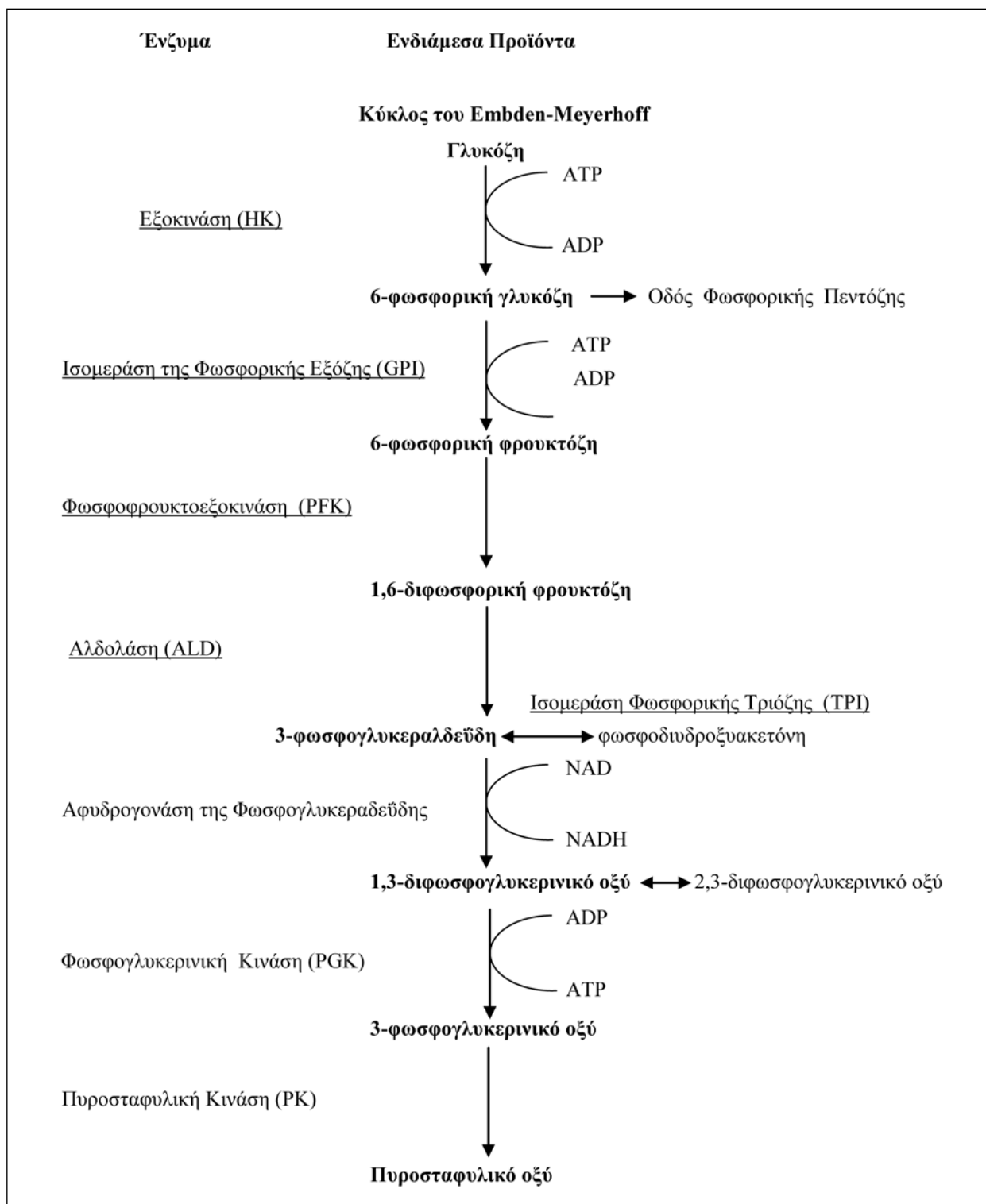
γ) Τον κύκλο των Rapaport-Luebering. Στον κύκλο αυτό δεν παράγεται ενέργεια, αλλά 2-3-DPG, που δεσμεύεται από τη δεσοξυαιμοσφαιρίνη, με αποτέλεσμα την ελάττωση της δεσμευτικής της ικανότητας σε οξυγόνο.

Το ερυθροκύτταρο προστατεύεται από οξειδωτικούς παράγοντες, όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου, από τα πλούσια αποθέματα αναχθείσης γλουταθειόνης που διαθέτει. Υπό την επίδραση οξειδωτικών παραγόντων, η αναχθείσα γλουταθειόνη οξειδώνεται. Επανέρχεται δε στην αναχθείσα μορφή με τη δράση της γλουταθειονικής αναγωγάσης και παρουσία NADPH, που οξειδούται σε NADP (Σχήμα 1Α). Σε περίπτωση μείωσης του NADP, ενεργοποιείται ο κύκλος της αναερόβιας γλυκόλυσης, όπου με τη βοήθεια της αφυδρογονάσης της 6-φωσφορικής γλυκόζης, η 6-φωσφορική γλυκόζη μεταβολίζει-

¹Παιδίατρος

²Αναπληρωτής Καθηγητής Παιδιατρικής Αιματολογίας – Ογκολογίας, Α΄ Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παίδων ‘Η Αγία Σοφία’, Αθήνα

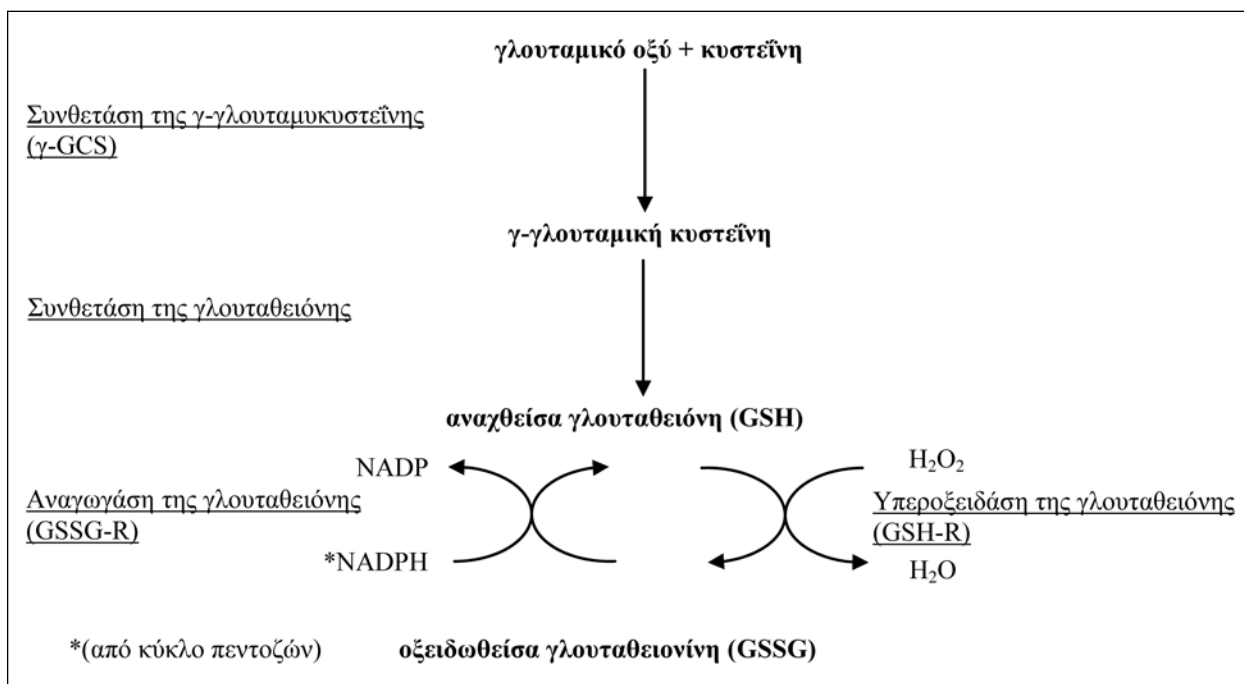
Διεύθυνση αλληλογραφίας: Αντώνης Καττάμης, Α΄ Παιδιατρική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών, Νοσοκομείο Παίδων ‘Η Αγία Σοφία’, Θηβών και Λεβαδίας, Γουδί 115 27, Τηλ: 2107467129, Fax: 2107759167, e-mail: ankatt@med.uoa.gr



Σχήμα 1. Μεταβολισμός της γλυκόζης στο ερυθροκύτταρο. (Υπογραμμισμένα φαίνονται τα ένζυμα των οποίων μεταλλάξεις προκαλούν κλινικές εκδηλώσεις)

ται σε 6 φωσφογλυκονικό οξύ, ενώ παράλληλα ανάγεται το NADP σε NADPH. Σε περιπτώσεις επίδρασης ισχυρών

οξειδωτικών παραγόντων, όπως η λήψη τοξικών ουσιών, μεταβολικών διαταραχών και λοιμώξεων, ο οργανισμός



Σχήμα 1Α. (Υπογραμμισμένα φαίνονται τα ένζυμα των οποίων μεταλλάξεις προκαλούν κλινικές εκδηλώσεις)

αυξάνει τις δυνατότητες εξουδετέρωσης των ουσιών με ενεργοποίηση της αναερόβιας γλυκόλυσης.

Δεδομένου ότι στο μεταβολισμό της γλυκόζης συμμετέχει ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων, ένδεια οιοδήποτε ενζύμου, κυρίως της αερόβιας οδού, μπορεί να προκαλέσει διαταραχές. Οι πιο συχνές ενζυμοπάθειες είναι της αφυδρογονάσης της 6-φωσφορικής γλυκόζης (G-6-PD) και της πυροσταφυλικής κινάσης.

1. ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΑΦΥΔΡΟΓΕΝΑΣΗΣ ΤΗΣ 6-ΦΩΣΦΟΡΙΚΗΣ ΓΛΥΚΟΖΗΣ (G-6-PD)

1.1. Επιδημιολογία

Η ανεπάρκεια της G-6-PD είναι η συχνότερη ενζυμική ανεπάρκεια με εκτιμώμενο αριθμό πασχόντων περί τα 400 εκατομμύρια ανά τον κόσμο¹. Θεωρείται το πιο διεδεδομένο μεταλλαγμένο γονίδιο με κλινική σημασία^{2,3}.

Είναι συχνή στην Αφρική, στις χώρες της Μεσογείου και της Μέσης Ανατολής, στην Ινδία, στην Κίνα και στις χώρες της Νοτιοανατολικής Ασίας. Αντίθετα είναι σχεδόν άγνωστη στους πληθυσμούς της Δυτικής, Κεντρικής και Βόρειας Ευρώπης⁴.

Εκτός από τις μεταλλάξεις που οδηγούν σε ενζυμική ανεπάρκεια, έχουν επίσης ταυτοποιηθεί αρκετοί πολυμορφισμοί οι οποίοι χρησίμευσαν στην αναγνώριση G-6-PD απλότυπων. Οι απλότυποι αυτοί χρησιμοποιούνται σε μια προσπάθεια κατανόησης της εξελικτικής ιστορίας

του γονιδίου της G-6-PD. Μελετώντας τη σχέση ανάμεσα στους διαφόρους απλότυπους, κωδικοποιώντας τις γενετικές αλληλουχίες των πολυμορφισμών και χρονολογώντας τις συνηθέστερες μεταλλάξεις γίνεται προσπάθεια χρονικής συσχέτισης ανάμεσα στην επίπτωση έλλειψης του ενζύμου και της ελονοσίας σε κάθε περιοχή⁵.

Μικροτοπικές πληθυσμιακές και εκτεταμένες επιδημιολογικές μελέτες σε διάφορους πληθυσμούς, καθώς και πειραματικές εργασίες έδειξαν ότι οι φορείς της ανεπάρκειας της G-6-PD έχουν προστασία έναντι της ελονοσίας και πιθανότατα το υψηλό ποσοστό φορείας να οφείλεται και σε φυσική επιλογή έναντι της ελονοσίας⁶⁻⁹.

Εκτεταμένες επιδημιολογικές έρευνες στην Ελλάδα κατέδειξαν μεγάλη ετερογένεια στην γεωγραφική κατανομή της ανεπάρκειας της G-6-PD (από <2% έως και >15%) και συχνότητα γόνου γύρω στο 4,5%^{10,11}.

1.2. Βιοχημεία

Το ένζυμο είναι ενεργό ως τετραμερές ή ως διμερές ανάλογα με το pH. Το κάθε μονομερές αποτελείται από δύο τομείς: το N-τελικό τομέα (αμινοξέα 27-200) και έναν μεγαλύτερο β+α τομέα. Οι δύο τομείς συνδέονται με μια α έλικα (αμινοξέα 198-206)¹². Η κρυσταλλική δομή της G-6-PD έχει πλέον αποτυπωθεί με λεπτομέρεια¹³. Η G-6-PD βρίσκεται σε όλα τα ανθρώπινα κύτταρα αλλά η ενζυμική της δραστηριότητα ποικίλλει από ιστό σε ιστό. Καταλύει την πρώτη αντίδραση της οδού της αναερόβι-

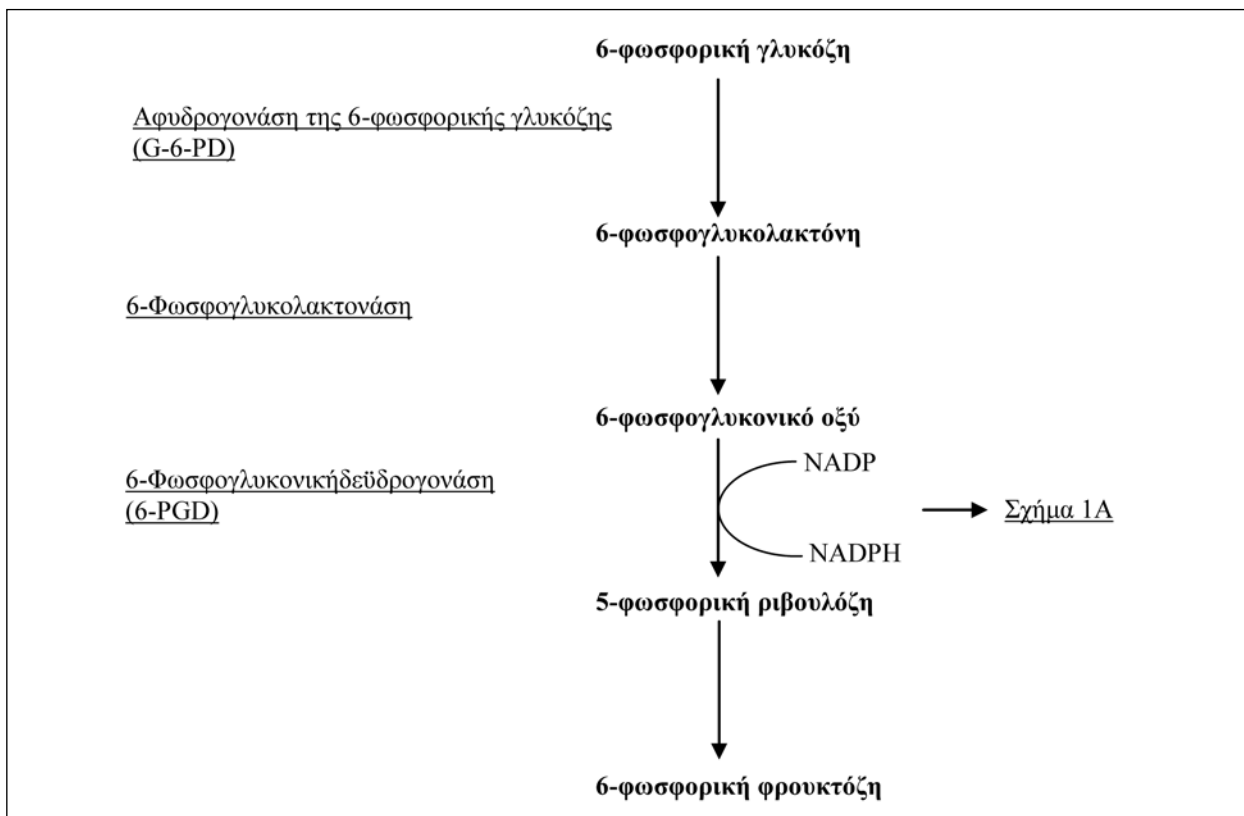
ας γλυκόλυσης, της φωσφορικής πεντόζης και επιτρέπει τη μεταβολή της 6-φωσφορικής γλυκόζης σε 6-φωσφο-γλυκονικό οξύ, με παράλληλη αναγωγή του NADP σε NADPH (Σχήμα 1B). Το παραγόμενο NADPH είναι ο κύριος δότης ιόντων υδρογόνου για πολλές ενζυμικές αντιδράσεις, συμπεριλαμβανομένων και των αντιδράσεων που προστατεύουν τα κύτταρα από οξειδωτικές επιδράσεις και κυρίως για την αναγωγή της γλουταθειόνης.

Η αναχθείσα μορφή της γλουταθειόνης είναι απαραίτητη για την αναγωγή του υπεροξειδίου του υδρογόνου και των ελευθέρων ριζών του οξυγόνου και για τη διατήρηση της αιμοσφαιρίνης και των υπολοίπων πρωτεϊνών του ερυθροκυττάρου στην αναχθείσα τους μορφή. Καθώς τα ερυθρά αιμοσφαίρια δε διαθέτουν μιτοχόνδρια, η οδός της φωσφορικής πεντόζης αποτελεί τη μοναδική πηγή NADPH. Για το λόγο αυτό, η άμυνα του ερυθροκυττάρου έναντι στις οξειδωτικές βλάβες εξαρτάται από την G-6-PD¹⁴. Μειωμένη συγκέντρωση αναχθείσας γλουταθειόνης επιτρέπει άθροιση υπεροξειδίου του υδρογόνου και ελευθέρων ριζών, οδηγώντας σε παραγωγή μεθαιμοσφαιρίνης, ενδοκυττάρια κατακρήμνιση της αιμοσφαιρίνης και σχηματισμό σωματιδίων Heinz, που προσκολλώνται στη μεμβράνη του ερυθροκυττάρου. Η προσκόλληση αυτή επιφέρει διαταραχή στη λειτουργία

της μεμβράνης, ασκεί οξειδωτική δράση στη σπεκτρίνη της μεμβράνης, μειώνει την πλαστικότητα του ερυθροκυττάρου και διευκολύνει την παγίδευση και καταστροφή του στο σπλήνα⁶.

Με βάση τις βιοχημικές και ηλεκτροφορητικές ιδιότητες έχουν περιγραφεί πάνω από 300 παραλλαγές του ενζύμου, οι περισσότερες χωρίς ιδιαίτερη κλινική σημασία^{15,16}. Από κλινικής και βιοχημικής απόψεως οι παραλλαγές της G-6-PD διαχωρίζονται σε 5 ομάδες (Πίνακας 1). Το φυσιολογικό ένζυμο περιγράφεται ως G-6-PD B(+), αντιπροσωπεύει το συχνότερο τύπο του ενζύμου και απαντάται σε όλους τους πληθυσμούς. Στην Αφρική είναι συχνός και ένας άλλος τύπος φυσιολογικού ενζύμου, ο G-6-PD A(+), που ανευρίσκεται στο 16% του πληθυσμού. Ο τύπος αυτός έχει ταχύτερη ηλεκτροφορητική κινητικότητα από τον B(+), συνοδεύεται από ελαφρά χαμηλότερη ενζυμική δραστηριότητα, και στη δομή του υπάρχει αντικατάσταση ενός αμινοξέος στην θέση 126 (126: Asn->Asp)¹⁷.

Οι παραλλαγές οφείλονται σε μονήρεις σημειακές μεταλλάξεις ή σε μικρά ελλείμματα 3, 6 ή 9 βάσεων στη δομή του γονιδίου της G-6-PD, που εδράζεται στο τελομερίδιο του χρωμοσώματος X, στη ζώνη Xq28¹⁷⁻¹⁹. Σπανιότερα, υπάρχει και δεύτερη μετάλλαξη σε θέση cis^{20,21}.



Σχήμα 1B. Παράπλευρος οδός της φωσφορικής πεντόζης. (Υπογραμμισμένα φαίνονται τα ένζυμα των οποίων μεταλλάξεις προκαλούν κλινικές εκδηλώσεις).

Πίνακας 1. Πολυμορφισμός της G-6-PD

Ομάδα	Κλινική Εικόνα	Ενζυμική Δραστικότητα	Αριθμός Παραλλαγών
I	Βαριά (ΣΜΣΑΑ)	<20%	94
II	Ήπια	<10%	114
III	Ήπια	10-60%	110
IV	Φυσιολογική	100%	52
V	Φυσιολογική	>100%	2
		επί του φυσιολογικού	επί συνόλου: 372

ΣΜΣΑΑ: Συγγενής Μη Σφαιροκυτταρική Αιμολυτική Αναιμία

Κληρονομείται σαν φυλοσύνδετος υπολειπόμενος χαρακτηρισ. Στα αγόρια υπάρχει πλήρης έκφραση της ενζυμικής ανεπάρκειας, ενώ στα ετερόζυγα κορίτσια υπάρχουν δύο υποομάδες κυττάρων με πλήρη ανεπάρκεια ή φυσιολογική έκφραση του ενζύμου λόγω της αδρανοποίησης ενός από τα δύο Χ χρωμοσώματα, σύμφωνα με την θεωρία της Lyon. Παρόλο που τα ετερόζυγα κορίτσια, κατά μέσο όρο, έχουν ηπιότερη κλινική συμπτωματολογία από τα αγόρια με έλλειψη G-6-PD, κάποια αναπτύσσουν βαρεία οξεία αιμολυτική αναιμία²².

Οι μεταλλάξεις προκαλούν κυρίως ποιοτικές και όχι ποσοτικές διαταραχές στη σύνθεση του ενζύμου. Απόλυτη ποσοτική ένδεια -σε αντίθεση με ποιοτική πλήρη ανεπάρκεια- του ενζύμου δεν έχει περιγραφεί.

Ο μεσογειακός τύπος B(-) απαντάται κυρίως στις μεσογειακές χώρες, στη Μέση Ανατολή και στην Ινδία και οφείλεται σε μετάλλαξη στο κωδικόνιο 563 (C->T), που προκαλεί αντικατάσταση ενός αμινοξέος στη θέση 188 (Ser->Phe). Ο μεσογειακός τύπος συνοδεύεται από πλήρη σχεδόν ανεπάρκεια, και είναι ο πιο συχνός στην Ελλάδα²³. Ο τύπος A(-), που απαντάται σε άτομα αφρικανικής προέλευσης (σε ποσοστό έως και 20%) καθώς και σε μεσογειακούς πληθυσμούς, οφείλεται σε επιρροή μεταλλάξης του φυσιολογικού τύπου A, και παρουσιάζει μερική δραστικότητα της τάξεως του 5-15% του φυσιολογικού¹⁹. Σε πολλά κράτη με υψηλή συχνότητα φορέων ανεπάρκειας του ενζύμου, όπως και στην Ελλάδα, γίνεται μαζικός έλεγχος των νεογνών¹⁸.

1.3. Κλινική Εικόνα

Η πλειονότητα των ατόμων με ανεπάρκεια της G-6-PD δεν εμφανίζει κλινικές εκδηλώσεις, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για παραλλαγές του ενζύμου του τύπου των ομάδων IV-V. Άτομα με βαριά ανεπάρκεια ομάδας II, εμφανίζουν κλινικά συμπτώματα οξείας αιμόλυσης, όταν συνυπάρχουν ειδικές συνθήκες, όπως η νεογνική ηλικία, η χορήγηση ορισμένων φαρμάκων και τοξικών ουσιών, οι λοιμώξεις, η οξέωση ή άλλες μεταβολικές διαταραχές.

Κατά κανόνα η αιμόλυση αντιρροπείται και συχνά παρέχεται απαρατήρητη. Οι κλινικές εκδηλώσεις της ανεπάρκειας της G-6-PD είναι:

1.3.1 Οξεία αιμολυτική αναιμία

Η πιο συχνή εκδήλωση της ανεπάρκειας της G-6-PD είναι η εμφάνιση οξείας αιμόλυσης σε περιπτώσεις επίδρασης οξειδωτικών για το ερυθροκύτταρο παραγόντων, όπως η έκθεση σε διάφορους εξωγενείς παράγοντες και κυρίως λήψη ορισμένων φαρμάκων, βρώση κουκιών (κυαμισμός), καθώς και ορισμένες λοιμώξεις.

Σημειώνονται ότι πολλά φάρμακα που είχαν αρχικά ενοχοποιηθεί ως δυνητικά αίτια αιμόλυσης αποδείχθηκε τελικά πως είναι τελείως αθώα και μπορούν να χρησιμοποιούνται. Τα κυριότερα φάρμακα και οι ουσίες που δυνητικά μπορούν να προκαλέσουν αιμόλυση σε άτομα με ανεπάρκεια G-6-PD αναφέρονται στον πίνακα 2⁶.

Είναι πλέον κοινή πεποίθηση ότι ο κυαμισμός συνδέεται συχνότερα με το Μεσογειακό τύπο έλλειψης G-6-PD. Κυαμισμό δεν θα αναπτύξουν όλοι οι ασθενείς με έλλει-

Πίνακας 2. Τα κυριότερα φάρμακα που αποδεδειγμένα προκαλούν αιμόλυση σε ασθενείς με ανεπάρκεια G-6-PD.

Acetanilid
Isobutyl nitrite
Methylene blue
Naphthalene
Nitrofurantoin (Furadantin)
Phenazopyridine (Pyridium)
Phenylhydrazine
Primaquine
Sulfacetamide
Sulfamethoxazole (Gantanol)
Sulfanilamide
Sulfapyridine

ψη G-6-PD μετά από βρώση κυάμων. Ακόμα και το ίδιο άτομο μπορεί να αντιδράσει απρόβλεπτα, κάτι που υποδηλώνει την ύπαρξη και άλλων παραγόντων που συμβάλλουν στην ανάπτυξη αυτής της διαταραχής. Ανάμεσα σε αυτούς τους παράγοντες περιλαμβάνονται η κατάσταση της υγείας του ασθενούς και η ποσότητα των κουκιών που καταναλώθηκαν. Ο κυαμισμός μπορεί να εκδηλωθεί μετά από βρώση ξηρών ή κατεψυγμένων κουκιών, αλλά συνηθέστερα παρουσιάζεται μετά από κατανάλωση φρέσκων κυάμων. Επίσης, θηλάζοντα βρέφη των οποίων οι μητέρες κατανάλωσαν κουκιά αντιμετωπίζουν κίνδυνο αιμόλυσης. Η διαταραχή αυτή είναι συχνότερη κατά την περίοδο της συγκομιδής των κυάμων.

Η ντιβικήνη, η ισουμαρίλη και η κονβικήνη θεωρείται πως είναι τοξικά συστατικά των κουκιών. Οι ουσίες αυτές αυξάνουν τη δράση της παράκαμψης της μονοφωσφορικής εξόξης, προκαλώντας αιμόλυση σε άτομα με έλλειψη G-6-PD²⁴.

Οι λοιμώξεις αποτελούν τυπική αιτία αιμόλυσης στα άτομα με έλλειψη G-6-PD. Συχνότερα ενοχοποιούνται οι ιοί της ηπατίτιδας Α και Β, ο κυτταρομεγαλοϊός²⁵, ο πνευμονιόκοκκος και ο τυφοειδής πυρετός. Η βαρύτητα της αιμόλυσης εξαρτάται από πολλούς παραγοντες, συμπεριλαμβανομένης της φαρμακευτικής αγωγής του ασθενούς, της ηπατικής του λειτουργίας και της ηλικίας²⁴.

Ο ακριβής μηχανισμός βάσει του οποίου η αυξημένη ευαισθησία στο οξειδωτικό στρες οδηγεί σε αιμόλυση δεν είναι απόλυτα κατανοητός. Επιπρόσθετα, δεν είναι γνωστή η ακριβής αλληλουχία των γεγονότων από την έκθεση στον εξωγενή στρεσογόνο παράγοντα μέχρι την αιμόλυση²⁶.

Συνυδά συμπτώματα της αιμόλυσης είναι η ωχρότητα, η ανησυχία, η κατάπωση, ο λήθαργος, το ελαφρό πυρέτιο, τα κοιλιακά άλγη, και οι γαστρεντερικές διαταραχές. Σε βαριά αιμόλυση παρατηρείται μακροσκοπική αιμοσφαιρινουρία και ίκτερος, που αποτελεί και το κύριο αίτιο προσαγωγής στο νοσοκομείο. Σπάνια και σε πολύ βαριές καταστάσεις ο ασθενής μπορεί να καταλήξει από ολιγαϊμικό σοκ. Νεφρική ανεπάρκεια από την θρόα αιμοσφαιρινουρία είναι ιδιαίτερα σπάνια στα παιδιά. Η αιμόλυση αυτοπεριορίζεται και υποχωρεί αυτόματα μετά την άρση του ενοχοποιητικού παράγοντα, ενώ η αιματολογική εικόνα του ασθενούς επανέρχεται στο φυσιολογικό χωρίς μεταγίσεις, μετά από 3-6 εβδομάδες.

Η διάγνωση υποδεικνύεται από το ιστορικό της πρόσφατης έκθεσης σε οξειδωτικούς παράγοντες. Από τα εργαστηριακά ευρήματα σημειώνονται: αναιμία, δικτυοερυθροκυττάρωση, υπερχολερυθριναιμία (εμμέσου τύπου), χαμηλή συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης στον ορό και αιμοσφαιρινουρία. Η μορφολογία των ερυθροκυττάρων είναι συχνά εντυπωσιακή με ανισοκυττάρωση, ποικιλοκυττάρωση, πολυχρωματοφιλία, σωματία Heinz, και κύτταρα με άνηση συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης στο ήμισυ του κυττάρου και στενή σύνδεση της με τη μεμ-

βράνη με αποτέλεσμα να εμφανίζονται ως «εκκεντροκύτταρα», «ημι-φαντάσματα», «δίχρωμα». Η αντιμετώπιση της οξείας αιμόλυσης εξατομικεύεται. Εφόσον είναι δυνατόν απομακρύνεται ο επιβαρυντικός παράγοντας. Ραγδαία ή σημαντική πτώση της αιμοσφαιρίνης και αιμοδυναμικά επηρεασμένη κλινική κατάσταση απαιτεί μετάγγιση αίματος.

1.3.2 Νεογνικός Ίκτερος

Δεδομένα από μια σειρά μελετών δείχνουν ότι το ένα τρίτο των άρρενων βρεφών με σοβαρό νεογνικό ίκτερο έχουν έλλειψη G-6-PD. Η έλλειψη είναι λιγότερο συχνή σε θήλα νεογνά με ίκτερο²⁷. Ο ίκτερος παρουσιάζεται το 1^ο με 4^ο εικοσιτετράωρο ζωής, παρόμοια με το φυσιολογικό νεογνικό ίκτερο, αλλά αργότερα χρονικά από τον ίκτερο λόγω ασυμβατότητας ABO ή rhesus. Ο κερνίκτερος, αν και σπάνιος, μπορεί να οδηγήσει σε μόνιμες νευρολογικές βλάβες αν δεν αντιμετωπιστεί εγκαίρως^{28,29}.

Η συχνότερη εμφάνιση νεογνικού ικτέρου συσχετίστηκε με την παρουσία του μεσογειακού τύπου της ανεπάρκειας και έχει περιγραφεί κυρίως στην Ελλάδα, Σαρδηνία, Τουρκία και ΝΑ Ασία^{30,31}. Επιβαρυντικό ρόλο στην εμφάνιση νεογνικού ικτέρου παίζουν η ανοξία, η οξέωση, οι λοιμώξεις και διάφοροι εξωγενείς παράγοντες, όπως η έκθεση του νεογνού σε ναφθαλίνη και η λήψη σουλφαναμιδών από τη μητέρα. Ο ίκτερος, στις περισσότερες περιπτώσεις, φαίνεται να οφείλεται περισσότερο σε ηπατική δυσλειτουργία και λιγότερο στην καταστροφή των ερυθροκυττάρων. Είναι πλέον γνωστό ότι τα επίπεδα αιμοσφαιρίνης και ο αριθμός των δικτυοερυθροκυττάρων των νεογνών αυτών είναι γενικά φυσιολογικά. Χρησιμοποιώντας σύγχρονες τεχνικές έχει αποδειχτεί πως υπάρχει μόνο μια μικρή, άνευ σημασίας ελάττωση του χρόνου ζωής των ερυθροκυττάρων η οποία μπορεί να συμβάλει μόνο σε μικρό ποσοστό στην ανάπτυξη του ικτέρου³².

Επισημαίνεται ότι ο έλεγχος της δραστηριότητας της G-6-PD σε νεογνικά προγράμματα δεν έχει πρακτικό αποτέλεσμα στην πρόληψη του νεογνικού ικτέρου. Ο νεογνικός ίκτερος αντιμετωπίζεται όπως και η υπερχολερυθριναιμία από ασυμβατότητα Rhesus και ABO για αποφυγή εγκεφαλικής βλάβης με φωτοθεραπεία ή/και αφαιμαξομεταγίσεις.

1.3.3 Συγγενής μη σφαιροκυτταρική αιμολυτική αναιμία

Η κλινική αυτή συνδρομή συνδυάζεται με ορισμένους σπάνιους τύπους ανεπάρκειας της ομάδας I. Περιστασιακά συνδυάζεται με τον κλασικό μεσογειακό τύπο B(-), αλλά στις περιπτώσεις αυτές πιθανολογείται η συνύπαρξη και άλλης διαταραχής. Η ομάδα αυτή μοιάζει ως προς τις κλινικές εκδηλώσεις με αυτή των ενζυμικών διαταραχών της αερόβιας γλυκόλυσης. Μπορεί να εμφανιστεί με αναιμία και ίκτερο από τη νεογνική περίοδο. Οι

ασθενείς παρουσιάζουν χρόνια αιμολυτική αναιμία που είναι κατά κανόνα ήπια. Η αιμόλυση δύναται να επιδεινωθεί κατά την διάρκεια λοιμώξεων. Απλαστική κρίση και σοβαρή αναιμία μπορεί να εμφανιστεί μετά από λοίμωξη με παρβοϊό B19 ή και άλλους ιούς. Συχνά, ακόμα, παρατηρείται διόγκωση του σπλήνα και υπερσπληνισμός.

Η αντιμετώπιση των ασθενών με συγγενή μη σφαιροκυτταρική αιμολυτική αναιμία ποικίλλει ανάλογα με την βαρύτητα της αναιμίας. Σε βαριά αναιμία οι συχνές μεταγγίσεις αίματος είναι απαραίτητες. Σε ηπιότερες καταστάσεις, αρκεί η συχνή παρακολούθηση και χορήγηση φυλικού οξέος, και περιστασιακές μεταγγίσεις σε περιπτώσεις απλαστικών ή αιμολυτικών κρίσεων. Ανέκδοτες εμπειρίες υποστηρίζουν ότι η σπληνεκτομή μπορεί να βοηθήσει ασθενείς με βαριά αναιμία ή υπερσπληνισμό, αλλά εκτεταμένες μελέτες λείπουν.

1.4. Διάγνωση

Στην οξεία φάση, η ανεπάρκεια της G-6-PD πιθανολογείται με τον αποκλεισμό άλλων αιτιών αιμολυτικής αναιμίας και τη χρονική συσχέτιση με την έκθεση στον επιβαρυντικό παράγοντα. Μορφολογικά, ιδίως σε φάση αιμόλυσης, τα ερυθροκύτταρα μπορεί να εμφανίζουν σωματίδια Heinz και ανώμαλο περίγραμμα και ευρεία ανώμαλη εσοχή, σαν να έχει αποκοπεί ένα κομμάτι του κυττάρου (bite-cells). Επιβεβαιώνεται με τον ποσοτικό προσδιορισμό της ενζυμικής δραστηριότητας.

Μια σειρά τεχνικών χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της δραστηριότητας του ενζύμου *in vitro*. Οι τεχνικές που συνδυάζουν την αναγωγή του NADP με φασματομετρική μέτρηση, μετά από φυγοκέντρηση του δείγματος για το διαχωρισμό των νέων από τα γερασμένα κύτταρα, είναι και οι πιο ευαίσθητες και ειδικές. Η οριστική διάγνωση βασίζεται στον υπολογισμό της ενζυμικής δραστηριότητας μέσω ποσοτικής φασματοφωτομετρικής ανάλυσης του ρυθμού παραγωγής NADPH από NADP³³. Απλές και γρήγορες ημιποσοτικές τεχνικές, που χρησιμοποιούνται σαν ανιχνευτικές μέθοδοι (screening), στηρίζονται στην ανίχνευση της παραγωγής NADPH με φθορισμό του NADPH ή με χρωστική ή με ενδοερυθροκυτταρικά στοιχεία, ή στην πρόληψη καταστροφής των κυττάρων και παραγωγής προϊόντων αποδόμησης³³⁻³⁶. Διάφορες άλλες ημιποσοτικές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί, απαιτείται όμως επανέλεγχος με μια από τις ποσοτικές μεθόδους προς επιβεβαίωση ενός παθολογικού αποτελέσματος^{37,38}. Στην αξιολόγηση των αποτελεσμάτων πρέπει να συνυπολογίζονται διάφοροι παράγοντες που μπορεί να δώσουν ψευδή αποτελέσματα, και κύρια η ηλικία των ερυθροκυττάρων, μια και είναι γνωστό ότι η δραστηριότητα του ενζύμου μειώνεται με την ηλικία του κυττάρου.

Η μελέτη των ετεροζυγωτών με ποσοτικές τεχνικές είναι εφικτή και δίνει αποτελέσματα στο 80-90% των πε-

ριπτώσεων μεταξύ των τιμών των φυσιολογικών και των πασχόντων. Η μελέτη των φορέων με κυτταροχημικές μεθόδους (όπως με την μέθοδο του τετραζολίου) μπορεί να ανιχνεύσει ακόμα και ένα μικρό ποσοστό (ως και 5%) ερυθροκυττάρων με ανεπάρκεια της G-6-PD.

Η ανάπτυξη απλών μοριακών διαγνωστικών μεθόδων (PCR, άμεσο sequencing, denaturing gradient gel electrophoresis), επιτρέπει την αναγνώριση συγκεκριμένων μεταλλάξεων. Αυτό διευκολύνει το μαζικό έλεγχο πληθυσμών (screening), την μελέτη οικογενειών και σπάνια σε πολύ βαρεία νόσο, την προγεννητική διάγνωση³⁹. Οι συχνότερες μεταλλάξεις (Μεσογειακή, Α-, Seattle, Union) μπορούν γρήγορα να ανιχνευθούν με ενζυμική ανάλυση μετά από ενίσχυση με PCR των κατάλληλων εξονίων της G-6-PD⁴⁰.

Στην πράξη, θα πρέπει να γίνεται έλεγχος για έλλειψη G-6-PD όταν μια οξεία αιμόλυση πυροδοτείται από έκθεση σε γνωστό φάρμακο, λοίμωξη ή βρώση κύμαων τόσο σε παιδιά όσο και σε ενήλικες, ιδίως εάν προέρχονται από την Αφρική, τη Μεσόγειο ή την Ασία. Επιπρόσθετα, θα πρέπει να ελέγχονται μέλη (ιδίως άρρενα) οικογενειών στις οποίες παρατηρούνται συχνά επεισόδια ικτέρου, σπληνομεγαλίας ή χολολιθίασης. Νεογνά με βαρύ νεογνικό ίκτερο, ιδίως αν έχουν Αφρικανική καταγωγή ή προέρχονται από χώρες της Μεσογείου, είναι πολύ πιθανό να έχουν έλλειψη G-6-PD⁴¹.

2. ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΠΥΡΟΣΤΑΦΥΛΙΚΗΣ ΚΙΝΑΣΗΣ (PK)

Η ανεπάρκεια της PK είναι η πιο συχνή και πιο καλά μελετημένη ενζυμοπάθεια του κύκλου του Embden-Meyerhof. Η νόσος έχει παγκόσμια αλλά ανομοιογενή κατανομή. Παρουσιάζει επίπτωση 1:20.000 γενικά στη λευκή φυλή⁴².

Στον άνθρωπο έχουν περιγραφεί τέσσερα ισοένζυμα με διαφορετικές ηλεκτροφορητικές, ανοσολογικές και βιοχημικές ιδιότητες που εκφράζονται σε διάφορους ιστούς και παράγονται από 2 διαφορετικά γονίδια (PK LR και PK M). Ο τύπος L-PK, που βρίσκεται στο ήπαρ και ο τύπος R-PK των ερυθροκυττάρων, παράγονται από το ίδιο γονίδιο, που εδράζεται στο χρωμόσωμα 15q22. Ο τύπος L-PK αποτελείται από τέσσερις L-υποομάδες, ενώ ο τύπος R-PK από δύο L-υποομάδες και δύο L-υποομάδες που έχουν υποστεί πρωτεόλυση κατά την διαφοροποίηση των ερυθροκυττάρων (L'). Η PK καταλύει την αντίδραση: φωσφοενολυπυρουβικό οξύ + ADP ή πυρουβικό οξύ + ATP.

Η ανεπάρκεια της PK κληρονομείται με σωματικό υπολειπόμενο τρόπο και έχουν περιγραφεί πάνω από 100 μεταλλάξεις στο γονίδιο, που περιλαμβάνουν ελλείμματα γόνου και σημειακές μεταλλάξεις, που οδηγούν είτε σε διαταραχές της μετάφρασης του γονιδίου είτε στην παραγωγή υποομάδων, που είναι ευάλωτες σε πρωτεόλυ-

ση ή που είναι ασταθείς και καταστρέφονται εύκολα^{43,44}.

Μέχρι στιγμής δεν έχει σαφώς αποδειχτεί η κλινική συσχέτιση ανάμεσα στο είδος της μετάλλαξης και τη βαρύτητα της αιμόλυσης^{45,46}. Παρόλα αυτά, η πρόσφατη παραγωγή ανασυνδυασμένης μεταλλαγμένης πρωτεΐνης της ανθρώπινης R-PK έχει βοηθήσει στην κατανόηση της επίδρασης που επιφέρουν οι αλλαγές θέσεων των αμινοξέων στις μοριακές ιδιότητες του ενζύμου, καθώς και στη συσχέτιση του γονότυπου με τον κλινικό φαινότυπο^{47,48}.

Ανάμεσα στις μεταλλάξεις που έχουν περιγραφεί έως τώρα στο γονίδιο PK-LR gene,⁴⁹⁻⁵² η 1529A είναι η πιο συχνή στις ΗΠΑ και στη Βόρεια και Κεντρική Ευρώπη. Η μετάλλαξη 1456T κυριαρχεί στη Νότια Ευρώπη και η μετάλλαξη 1468T στην Ασία⁵³. Υπάρχουν ενδείξεις, από μοριακές μελέτες, ότι ένα βαρύ αιμολυτικό σύνδρομο συχνά σχετίζεται με διασπαστικές (disruptive) και παρερμηνεύσιμες (missense) μεταλλάξεις που σχετίζονται με το ενεργό τμήμα ή τη δομική σταθερότητα της πρωτεΐνης⁴⁹. Ανάμεσα στις βαριές παρερμηνεύσιμες μεταλλάξεις, η 994A (Gly332Ser) είναι μια από τις συνηθέστερες στην Καυκάσια φυλή και μπορεί να συσχετίζεται στην ομόζυγο μορφή της με ενδομήτριο θάνατο⁴⁶.

Η ανεπάρκεια της PK προκαλεί αυξημένες συγκεκριμένες σε ενδιάμεσα μεταβολικά προϊόντα. Πιο συγκεκριμένα, τα επίπεδα του 2,3-DPG είναι αυξημένα κατά 2-4 φορές και οδηγούν σε μετατόπιση της καμπύλης της συγγένειας της αιμοσφαιρίνης προς το οξυγόνο προς τα δεξιά, με αποτέλεσμα την αυξημένη παροχή οξυγόνου στους ιστούς⁶.

Κλινική συμπτωματολογία παρουσιάζουν οι ομοζυγότες και διπλοί ετεροζυγότες μεταλλάξεων της PK. Ο βαθμός της αιμόλυσης ποικίλει και κυμαίνεται από ήπιες ή πλήρως αντιρροπούμενες μορφές με αναιμία που διαγιγνώσκεται σε μεγάλη ηλικία, μέχρι και απειλητική για τη ζωή νεογνική αναιμία, που απαιτεί αφαίμαξομεταγγίσεις και εν συνεχεία συνεχή υποστήριξη με μεταγγίσεις⁵³. Σε σπάνιες περιπτώσεις έχουν περιγραφεί περιστατικά εμβρυικού ύδρωπα και νεογνικού θανάτου, ιδίως σε ασθενείς ομόζυγους για μηδενικές (null) μεταλλάξεις, που παρουσιάζουν πλήρη απουσία λειτουργικής πρωτεΐνης⁵⁴⁻⁵⁸.

Οι παραλλαγές του ενζύμου που προκαλούν ανεπάρκεια παρουσιάζουν ανώμαλη ηλεκτροφορητική κινητικότητα και βιοχημική κινητική συμπεριφορά. Οι ετεροζυγότες παρουσιάζουν ενζυμική δραστηριότητα 50-70% του φυσιολογικού, και κατά κανόνα έχουν φυσιολογικό κλινικό φαινότυπο, ενώ σπάνια μπορεί να παρουσιάσουν ήπια αιμολυτική αναιμία.

Τα επίπεδα της αιμοσφαιρίνης κυμαίνονται συνήθως μεταξύ 6 και 10 g/dl, αλλά η αναιμία είναι καλά ανεκτή, κυρίως λόγω της αυξημένης απόδοσης οξυγόνου στους ιστούς. Τα δικτυοερυθροκύτταρα κυμαίνονται από 5-10% μέχρι 30-90% στους σπληνεκτομηθέντες ασθενείς. Η μορφολογία των ερυθρών χαρακτηρίζεται από μακροκυττά-

ρωση, πολυχρωματοφιλία, παρουσία δακρυοκυττάρων. Μετά την σπληνεκτομή παρουσιάζονται εχινοκύτταρα, και επιτείνεται η πολυχρωματοφιλία.

Οι ασθενείς με αιμολυτική αναιμία που υποβάλλονται σε σπληνεκτομή παρουσιάζουν μείωση του βαθμού αιμόλυσης και βελτίωση της αναιμίας, ενώ όπως προαναφέρθηκε παρουσιάζουν υψηλότερα ποσοστά δικτυοερυθροκυττάρων (ΔΕΚ) από ότι είχαν πριν τη σπληνεκτομή. Η παρατήρηση αυτή υποδηλώνει ότι γνώση που έχουμε πάνω στη ρύθμιση της αιμοποίησης και στην κινητική των δικτυοερυθροκυττάρων παραμένει ελλιπής. Έχει προταθεί η υπόθεση ότι ο μικρός αριθμός μιτοχονδρίων που περιέχουν τα ΔΕΚ μπορούν να παράγουν μιτοχονδριακό ATP. Μόλις όμως η ικανότητα αυτή χαθεί, τα κύτταρα καταστρέφονται.

Οι μεταβολικές διαταραχές που παρατηρούνται στην έλλειψη PK επηρεάζουν τόσο την επιβίωση των ερυθροκυττάρων, όσο και την ωρίμανση των προγονικών ερυθροποιητικών κυττάρων που βρίσκονται στον σπλήνα. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τον πρώιμο κυτταρικό θάνατο μέσω απόπτωσης όπως έχει παρατηρηθεί σε σπληνεκτομηθέντα ασθενή με έλλειψη PK⁵⁹. Παραμένει να αποδειχτεί κατά πόσον απόπτωση παρατηρείται και στους ερυθροβλάστες του μυελού των οστών και κατά πόσον η παρατήρηση αυτή μπορεί να ερμηνεύσει την ανεξήγητη δικτυοερυθροκυττάρωση που παρατηρείται μετά από σπληνεκτομή, καθώς και το αν η δραστηριότητα της PK παίζει κάποιο ρόλο στη διαδικασία της απόπτωσης γενικότερα⁶⁰.

Οι περισσότεροι άρρωστοι δε χρειάζονται ιδιαίτερη αγωγή, εκτός από συχνή παρακολούθηση, αντιμετώπιση των απλαστικών κρίσεων και προληπτική χορήγηση φυλικού οξέος. Σπληνεκτομή συνιστάται στις βαριές περιπτώσεις που χρειάζονται μεταγγίσεις.

Μπορεί να χρειαστεί θεραπεία αποσιδήρωσης καθώς η υπερφόρτωση με σίδηρο είναι συχνή σε ασθενείς με έλλειψη PK, ακόμα και σε αυτούς που δεν μεταγγίζονται⁶¹. Έχει επίσης πραγματοποιηθεί με επιτυχία μεταμόσχευση μυελού των οστών σε ένα βαρέως πάσχον παιδί⁶². Οι Kanno και συνεργάτες, τέλος, έχουν περιγράψει ένα πρωτόκολλο γονιδιακής θεραπείας, σύμφωνα με το οποίο η στοχευμένη υπερέκφραση του ανθρώπινου γονιδίου PK στα ερυθροκύτταρα επιμύων με έλλειψη PK οδήγησε σε σημαντικά εντυπωσιακή μείωση της αιμόλυσης⁶³.

3. ΣΠΑΝΙΟΤΕΡΕΣ ΕΝΖΥΜΟΠΑΘΕΙΕΣ

Σπανιότερες ενζυμοπάθειες του γλυκολυτικού κύκλου των ερυθροκυττάρων (Πίνακας 3) έχουν σποραδική επίπτωση και παρόμοια κλινική προβολή που μπορεί να περιλαμβάνει τα κάτωθι:

α) Αναιμία. Η βαρύτητα της αιμολυτικής αναιμίας ποικίλλει από ήπια που διαγιγνώσκεται τυχαία μέχρι βαρεία που αντιμετωπίζεται με χρόνιες μεταγγίσεις. Η αιμόλυση

Πίνακας 3. Σπάνιες ενζυμοπάθειες

Ένζυμο	Κληρονομικότητα	Αιμολυτική	
		Αναιμία	Άλλα χαρακτηριστικά
Ένζυμο του κύκλου Embden-Meyerhof			
Αλδολάση (ALD)	Σ.Υ.	Ναι	
Διφωσφορική Μουτάση (DPGM) - Φωσφατάση (DPGP)	Σ.Υ.	Όχι	2 ενζυμικές δράσεις από 1 πρωτεΐνη. Ήπια ερυθραιμία, λόγω έλλειψης 2,3-DPG
Ενολάση (ENO)	Σ.Ε.?	Ναι	Μερική ανεπάρκεια με κλινική εικόνα σφαιροκυτταρικού ικτέρου
Γαλακτική Δεϋδρογονάση (LDH)	Σ.Υ.	Όχι	Έλλειψη της M-υποομάδας συχνά συνδυάζεται με μυοπάθεια
Ένζυμο της παραπλεύρου οδού της φωσφορικής πεντόζης			
Συνθετάση της γ-γλουταμυλκουστεΐνης (γ-GCS)	Σ.Υ.	Ναι	Νευρολογικές διαταραχές
6-φωσφογλυκολακτονάση	?	Ναι	Έχει περιγραφεί σε συνδυασμό με ανεπάρκεια της G-6-PD

Σ.Υ.: σωματικός υπολειπόμενος τρόπος, Σ.Ε.: σωματικός επικρατούν τρόπος

συχνά επιτείνεται κατά τη διαδρομή λοιμώξεων ή άλλων επιβαρυντικών καταστάσεων. Υποπλαστικές και απλαστικές κρίσεις μπορεί να εμφανιστούν, κυρίως κατά τη διαδρομή ιογενών λοιμώξεων με παρβοϊό B19.

β) Ίκτερος. Πολλοί ασθενείς έχουν υπίκτερο που μπορεί να επιταθεί σε περιόδους έξαρσης της αιμόλυσης. Νεογνικός ίκτερος ποικίλης βαρύτητας εμφανίζεται συχνά σε άτομα με ενζυμοπάθειες.

γ) Οργανομεγαλία. Παρατηρείται διαφόρου βαθμού διόγκωση ήπατος και σπληνός. Η διόγκωση σπληνός μπορεί να επιταθεί κατά την διάρκεια αιμολυτικής κρίσης.

Παρόλο τα κοινά τους σημεία, μερικές ενζυμοπάθειες μπορεί να εμφανίσουν αντί για αναιμία, ερυθραιμία, μεθαιμοσφαιριναιμία καθώς και μη αιματολογικές, κυρίως νευρολογικές, διαταραχές.

3.1 Ανεπάρκεια της 5' νουκλεοτιδάσης της πυριμιδίνης

Είναι η τρίτη πιο συχνή ανεπάρκεια μετά την ανεπάρκεια G-6-PD και PK που οδηγεί σε αιμόλυση. Η 5' νουκλεοτιδάση της πυριμιδίνης είναι μέλος μιας οικογένειας που περιλαμβάνει τουλάχιστον 7 γονίδια που κωδικοποιούν 5' νουκλεοτιδάσες⁶⁴.

Ανεπάρκεια του ενζύμου οδηγεί σε αυξημένη ενδοκυττάρια συγκέντρωση πυριμιδινών, που θεωρείται τοξική και προκαλεί αιμόλυση. Χαρακτηριστικά, τα ερυθροκύτταρα παρουσιάζουν έντονη βασεόφιλη στίξη. Κληρονομείται με τον αυτοσωματικό υπολειπόμενο τρόπο

και είναι η μοναδική συγγενής αιμολυτική αναιμία λόγω έλλειψης ενζύμου των ερυθροκυττάρων που παρουσιάζει συγκεκριμένη μορφολογική ανωμαλία.

Επίκτητη αναστολή του ενζύμου παρατηρείται σε δηλητηρίαση από μόλυβδο και τα επίπεδα μολύβδου θα πρέπει πάντα να μετρώνται όταν συνυπάρχουν αιμολυτική αναιμία, έλλειψη της 5' νουκλεοτιδάσης της πυριμιδίνης και βασεόφιλη στίξη. Η έλλειψη 5' νουκλεοτιδάσης της πυριμιδίνης που προκαλείται από δηλητηρίαση με μόλυβδο είναι θεραπεύσιμη, σε αντίθεση με τη συγγενή μορφή για την οποία δεν υπάρχει διαθέσιμη θεραπεία. Αρκετές μελέτες αναφέρουν την ταυτόχρονη κληρονομικότητα αιμοσφαιρίνης E και έλλειψης 5' νουκλεοτιδάσης της πυριμιδίνης που οδηγεί σε βαρεία αιμολυτική αναιμία υποδηλώνοντας ότι το ένζυμο αυτό είναι ιδιαίτερος ευαίσθητο στην οξειδωτική βλάβη που προκαλεί η αστάθεια της αιμοσφαιρίνης E⁶⁵.

Πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η ανεπάρκεια της 5' νουκλεοτιδάσης της πυριμιδίνης αντirroπείται εν μέρει in vivo από άλλες νουκλεοτιδάσες ή πιθανώς και από άλλες μεταβολικές οδούς των νουκλεοτιδίων⁶⁶.

3.2 Ανεπάρκεια της φωσφογλυκερικής κινάσης (PGK)

Είναι η μόνη ενζυμική ανεπάρκεια του κύκλου του Embden-Meyerhof, που κληρονομείται με υπολειπόμενο φυλοσύνδετο τρόπο. Άρρενες ασθενείς παρουσιάζουν χρόνια αιμολυτική αναιμία ποικίλης σοβαρότητας και νευ-

ρολογικές διαταραχές, που περιλαμβάνουν: πνευματική καθυστέρηση, συναισθηματικές διαταραχές, σπασμούς και προϊούσες εξωπυραμδικές διαταραχές. Ετερόζυγες γυναίκες μπορεί να παρουσιάσουν αιμολυτική αναιμία, χωρίς όμως νευρολογικές διαταραχές. Έχουν ακόμα περιγραφεί παραλλαγές του ενζύμου που προκαλούν εκδηλώσεις μόνο από το μυϊκό σύστημα⁶⁷.

4. ΜΗ ΕΝΖΥΜΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΕΝΖΥΜΩΝ ΤΩΝ ΕΡΥΘΡΟΚΥΤΤΑΡΩΝ

Ολοένα και περισσότερες μελέτες δείχνουν πως τα γλυκολυτικά ένζυμα έχουν ποικίλες μη ενζυμικές δράσεις, συμπεριλαμβανομένης της προώθησης της κυτταρικής κινητικότητας, του ελέγχου της απόπτωσης και της

αλληλεπίδρασης και τροποποίησης της δράσης των ογκογονιδίων. Μόλις πρόσφατα αναδείχτηκε ο ρόλος που διαδραματίζουν τα γλυκολυτικά ένζυμα στις μεταστάσεις των όγκων και την κυτταρική κινητικότητα. Η γλυκόζο-6 φωσφορική ισομεράση δρα ως ένας αυτοκρινής κινητικός παράγοντας (autocrine motility factor -AMF) στη μετανάστευση των κυττάρων. Η δράση αυτή του ενζύμου έχει μελετηθεί στο μελάνωμα και φαίνεται να παίζει σημαντικό ρόλο στη μεταστατική ικανότητα του καρκίνου. Άλλα γλυκολυτικά ένζυμα έχουν ρόλο στη ρύθμιση της απόπτωσης των κυττάρων. Η εξοκίνηση των μιτοχονδρίων φαίνεται να αναστέλλει την απόπτωση μέσω αλληλεπίδρασης με την αντιαποπτωτική πρωτεΐνη BAD, ενώ η φωσφορική αφυδρογονάση της γλυκεραλδεϋδης φαίνεται να προάγει την απόπτωση⁶⁸⁻⁷⁰.

Enzyme deficiencies anemias

by Antonia Vlachou,¹ Antonis Kattamis²

¹Pediatrician, ²First Department of Pediatrics, Athens University, St. Sophia's Children's Hospital, Athens, Greece

ABSTRACT: Mutations leading to red cell enzyme deficiencies can be associated with diverse phenotypes that range from hemolytic anemia, methemoglobinemia, polycythemia, neurological and developmental abnormalities. Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency is the most common human enzyme defect, usually presenting with episodes of hemolysis. Among the defects in the Embden-Meyerhof glycolytic pathway, red cell pyruvate kinase (PK) deficiency is the most common one. Its clinical phenotype is variable, with chronic hemolytic anemia being the most common presentation. Other red cell enzyme deficiencies are very rare, occur sporadically and have similar clinical presentation. Apart from their enzymatic action, there is growing recognition that many glycolytic enzymes have other functions, including cellular migration, and control of apoptosis.

Βιβλιογραφία

1. Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis.* 2009;42:267-278.
2. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and other red cell enzyme abnormalities. *Williams Hematology*, 6th ed. 2001:527-547.
3. Prchal JT, Gregg XT. Red cell enzymopathies. *Hematology: Basic Principles and Practice*, 4th ed. 2005:653-659.
4. Frank JE. Diagnosis and management of G-6-PD deficiency. *Am Fam Physician* 2005;72:1277-1282.
5. Luzzatto L. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: from genotype to phenotype. *Hematology* 2006; 2:63-68.
6. Prchal Jt, Gregg XT. Red cell enzymes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2005;19-23.
7. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a historical perspective. *Blood.* 2008;111:16-24.
8. López C, Saravia C, Gomez A, Hoebeke J, Patarroyo MA. Mechanisms of genetically-based resistance to malaria. *Gene.* 2010;467:1-12.
9. Missiou-Tsagaraki S. Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency as a preventive measure: Prevalence among 1,286,000 Greek newborn infants. *J Pediatr.* 1991; 119:293.
10. Stamatoyannopoulos G, Panayotopoulou A, Motulsky AG. The distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Greece. *Am J Hum Genet.* 1966;18:296.
11. Doxiadis SA, Karaklis A, Valaes T, Stavrakakis D. Risk of severe jaundice in glucose-6-phosphate-dehydrogenase deficiency on the newborn. *Lancet.* 1964;2:1210.
12. Au SWN, Gover S, Lam VMS, Adams MJ. Human glucose-6-phosphate dehydrogenase: the crystal structure reveals a structural NADP+ molecule and provides insights into enzyme deficiency. *Structure.* 2000;8:293-303.
13. Kotaka M, Gover S, Vandeputte-Rutten L, Au SW, Lam VM, Adams MJ. Structural studies of glucose-6-phosphate and

- NADP(+) binding to human glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*. 2005;61:495-504.
14. Luzzatto L, Metha A, Vulliamy T. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*, 8th edn. Columbus: McGraw-Hill, 2001:4517-4553.
 15. Kattamis CA, Tzortzatu F. The hemolytic process of viral hepatitis in children with normal or deficient glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *J Pediatr*. 1970;77:422.
 16. Weiming Xu, Beryl W, Bartsocas CS, Malcorra-Azpiazu JJ, Indrak K, Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations and haplotypes in various ethnic groups. *Blood*. 1995;85(1):257.
 17. Takizawa T, Yoneyama Y, Miwa S, Yoshida A. A single nucleotide base transition is the basis of the common human glucose-6-phosphate dehydrogenase variant A(+). *Genomics*. 1987;1:228.
 18. Missiou-Tsagaraki S. Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency as a preventive measure: Prevalence among 1,286,000 Greek newborn infants. *J Pediatr*. 1991;119:293.
 19. Hirono A, Beutler E. Molecular cloning and nucleotide sequence of cDNA for human glucose-6-phosphate dehydrogenase variant. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988;85:3951.
 20. Town M, Bautista JM, Mason PJ, Luzzatto L. Both mutations in G-6-PD A- are necessary to produce the G-6-PD deficient phenotype. *Hum Mol Genet*. 1992;1:171-174.
 21. Hirono A, Kawate K, Honda A, Fujii H, Miwa S. A single mutation 202G>A in the human glucose-6-phosphate dehydrogenase gene (G-6-PD) can cause acute hemolysis by itself. *Blood*. 2002;99:1498.
 22. Lim F, Vulliamy T, Abdalla SH. An Ashkenazi Jewish woman presenting with favism. *J Clin Pathol*. 2005;58:317-319.
 23. Menounos P, Zervas C, Garinis G, et al. Molecular heterogeneity of the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the Hellenic population. *Hum Hered*. 2000;50:237-241.
 24. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet*. 2008;371:64-74.
 25. Siddiqui T, Khan AH. Hepatitis A and cytomegalovirus infection precipitating acute hemolysis in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Mil Med*. 1998;163:434-435.
 26. Edwards CQ. Anemia and the liver. Hepatobiliary manifestations of anemia. *Clin Liver Dis*. 2002;6:891-907.
 27. Kaplan M, Hammerman C, Vreman HJ, Stevenson DK, Beutler E. Acute hemolysis and severe neonatal hyperbilirubinemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient heterozygotes. *J Pediatr*. 2001;139:137-140.
 28. Johnson LH, Bhutani VK. System-based approach to management of neonatal jaundice and prevention of kernicterus. *J Pediatr*. 2002;140:396-403.
 29. Sgro M, Campbell D, Shah V. Incidence and causes of severe neonatal hyperbilirubinemia in Canada. *CMAJ*. 2006;175:587-590.
 30. Fok T, Lau S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: A preventable cause of mental retardation. *BMJ*. 1986;292:829.
 31. Valaes T. Severe neonatal jaundice associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: Pathogenesis and global epidemiology. *Acta Paediatr*. 1994;83(suppl 394):58.
 32. Kaplan M, Hammerman C. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a hidden risk for kernicterus. *Semin Perinatol*. 2004;28:356-364.
 33. Beutler E. *Red cell metabolism: a manual of biochemical methods*, 1984, 3rd ed. New York: Grune and Stratton.
 34. Frederiks WM, van Marle J, van Oven C, Comin-Anduix B, Cascante M. Improved localization of glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in cells with 5-cyano-2,3-ditolyl-tetrazolium chloride as fluorescent redox dye reveals its cell cycle-dependent regulation. *J Histochem Cytochem*. 2006;54:47-52.
 35. Motulsky AG, Campbell-Kraut IM. Population genetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency of the red cell. In: Blumberg BS, ed. *Proceedings of the conference on genetic polymorphisms and geographic variations in disease*. New York: Grune and Stratton, 1961:159.
 36. Beutler E. A series of new screening procedures for pyruvate kinase deficiency, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, and glutathione reductase deficiency. *Blood* 1966; 28:553-562.
 37. Jalloh A, Tantular IS, Pusarawati S, et al. Rapid epidemiologic assessment of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in malaria-endemic areas in southeast Asia using a novel diagnostic kit. *Trop Med Int Health*. 2004;9:615-623.
 38. Tantular IS, Kawamoto F. An improved, simple screening method for detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Trop Med Int Health*. 2003;8:569-574.
 39. Mason PJ. New insights into G-6-PD deficiency. *Br J Haematol*. 1996;94:585-591.
 40. Martinez di Montemuros F, Dotti C, Tavazzi D, Fiorelli G, Cappellini MD. Molecular heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) variants in Italy. *Haematologica*. 1997;82:440-445.
 41. Fiorelli G, Martinez di Montemuros F, Cappellini MD. Chronic non-spherocytic haemolytic disorders associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase variants. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol*. 2000;13:39-55.
 42. Beutler E, Gelbart T. Estimating the prevalence of pyruvate kinase deficiency from the gene frequency in the general white population. *Blood*. 2000;95:3585-3588.
 43. Bianchi P, Zanella A. Hematologically important mutations: red cell pyruvate kinase (third update). *Blood Cells Mol Dis*. 2000;26:47-53.
 44. Valentini G, Chiarelli LR, Fortin R, et al. Structure and function of human erythrocyte pyruvate kinase. Molecular basis of nonspherocytic hemolytic anemia. *J Biol Chem*. 2002;277:23807-23814.
 45. Lenzner C, Nürnberg P, Jacobasch G, Gerth C, Thiele BJ. Molecular analysis of 29 pyruvate kinase-deficient patients from central Europe with hereditary hemolytic anemia. *Blood*. 1997;89(5):1793-1799.
 46. Zanella A, Fermo E, Bianchi P, Chiarelli LR, Valentini G. Pyruvate kinase deficiency: the genotype-phenotype as-

- sociation. *Blood Rev.* 2007;21:217-231.
47. Wang C, Chiarelli LR, Bianchi P, Abraham DJ, Galizzi A, Mattevi A. Human erythrocyte pyruvate kinase: characterization of the recombinant enzyme and a mutant form (R510Q) causing nonspherocytic hemolytic anemia. *Blood.* 2001;98:3113-3120.
 48. Climent F, Roset F, Repiso A, Pérez de la Ossa P. Red cell glycolytic enzyme disorders caused by mutations: an update. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2009;9:95-106.
 49. Zanella A, Fermo E, Bianchi P, Valentini G. Red cell pyruvate kinase deficiency: molecular and clinical aspects. *Br J Haematol.* 2005;130:11-25.
 50. Diez A, Gilsanz F, Martinez J, Perez-Benavente S, Meza NW, Bautista JM. Life-threatening nonspherocytic hemolytic anemia in a patient with a null mutation in the PKLR gene and no compensatory PKM gene expression. *Blood.* 2005;106:1851-1856.
 51. Pissard S, Max-Audit I, Skopinski L, et al. Pyruvate kinase deficiency in France: a 3-year study reveals 27 new mutations. *Br J Haematol.* 2006; 133:683-689.
 52. Gupta N, Bianchi P, Fermo E, et al. Prenatal diagnosis for a novel homozygous mutation in PKLR gene in an Indian family. *Prenat Diagn.* 2007; 27:117-118.
 53. Zanella A, Bianchi P. Red cell pyruvate kinase (PK) deficiency: from genetics to clinical manifestations. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol.* 2000; 13:57-82.
 54. Gilsanz F, Vega MA, Gómez-Castillo E, Ruiz-Balda JA, Omeñaca F. Fetal anaemia due to pyruvate kinase deficiency. *Arch Dis Child.* 1993;69:523-524.
 55. Ferreira P, Morais L, Costa R, et al. Hydrops fetalis associated with erythrocyte pyruvate kinase deficiency. *Eur J Pediatr.* 2000;159:481-482.
 56. Sedano IB, Rothlisberger B, Deleze G, et al. PK Aarau: first homozygous nonsense mutation causing pyruvate kinase deficiency. *Br J Haematol.* 2004;127:364-366.
 57. Fermo E, Bianchi P, Chiarelli LR, et al. Red cell pyruvate kinase deficiency: 17 new mutations of the PK-LR gene. *Br J Haematol.* 2005;129:839-846.
 58. Cotton F, Bianchi P, Zanella A, et al. A novel mutation causing pyruvate kinase deficiency responsible for a severe neonatal respiratory distress syndrome and jaundice. *Eur J Pediatr.* 2001;160:523-524.
 59. Aizawa S, Kohdera U, Hiramoto M, et al. Ineffective erythropoiesis in the spleen of a patient with pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol.* 2003;74:68-72.
 60. Shimizu T, Uehara T, Nomura Y. Possible involvement of pyruvate kinase in acquisition of tolerance to hypoxic stress in glial cells. *J Neurochem.* 2004;91:167-175.
 61. Zanella A, Bianchi P, Iurlo A, Boschetti C, Taioli E, Vercellati C. Iron status and HFE genotype in erythrocyte pyruvate kinase deficiency: study of Italian cases. *Blood Cells Mol Dis.* 2001;27:653-661.
 62. Tanphaichitr VS, Suvatve V, Issaragrisil S, Mahasandana C, Veerakul G, Chongkolwatana V. Successful bone marrow transplantation in a child with red blood cell pyruvate kinase deficiency. *Bone Marrow Transplant.* 2000; 26:689-690.
 63. Kanno H, Utsugisawa T, Aizawa S, Koizumi T, Aisaki K, Hamada T. Transgenic rescue of hemolytic anemia due to red blood cell pyruvate kinase deficiency. *Haematologica.* 2007; 92:731-737.
 64. Bianchi V, Spychala J. Mammalian 5'-nucleotidases. *J Biol Chem.* 2003;278:46195-46198.
 65. Escuredo E, Marinaki AM, Duley JA, et al. The genetic basis of the interaction between pyrimidine 5' nucleotidase I deficiency and hemoglobin E. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids.* 2004;23:1261-1263.
 66. Chiarelli LR, Bianchi P, Fermo E, et al. Functional analysis of pyrimidine 5'-nucleotidase mutants causing nonspherocytic hemolytic anemia. *Blood.* 2005;105:3340-3345.
 67. Beutler E. PGK deficiency. *Br J Haematol.* 2007;136(1):3-11.
 68. Kim J, Dang CV. Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends Biochem Sci.* 2005;30:142-150.
 69. Semenza GL. Intratumoral hypoxia, radiation resistance, and HIF-1. *Cancer Cell.* 2004;5:405-406.
 70. Mishra S, Raz A, Murphy LJ. Insulin-like growth factor binding protein-3 interacts with autocrine motility factor/phosphoglucose isomerase (AMF/PGI) and inhibits the AMF/PGI function. *Cancer Res.* 2004;64:2516-2522.
 71. Majewski N, Nogueira V, Bhaskar P, et al. Hexokinase-mitochondria interaction mediated by Akt is required to inhibit apoptosis in the presence or absence of Bax and Bak. *Mol Cell.* 2004;16:819-830.
 72. Xing C, LaPorte JR, Barbay JK, Myers AG. Identification of GAPDH as a protein target of the saframycin antiproliferative agents. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004;101:5862-5866.