

# Yenidoğanda Kordon Kanı Eritrosit Enzimleri

Asiye NUHOĞLU  
Orhan DEĞER  
Yusuf GEDİK  
Erol ERDURAN  
Adnan BARLAK

ERYTHROCYTE ENZYMES OF CORD  
BLOOD IN NEWBORN

KTÜ Tıp Fak. Çocuk Sağlığı ve Hast. Biyokimya Anabilim Dalları

Geliş Tarihi: 10.12.1988  
Cabul Tarihi: 29 Mart 1990

## Ö Z E T

Trabzon ve çevresinde yenidoğan 112 bebeğin kordon kanında (60 erkek, 52 kız) eritrosit enzim aktiviteleri incelendi. IU/g Hb cinsinden piruvat kinaz  $8.38 \pm 1.74$  (aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma), laktat dehidrogenaz  $201.4 \pm 45.3$ , glutatyon redüktaz (FAD'li)  $4.47 \pm 0.75$ , glutatyon redüktaz (FAD'siz)  $2.49 \pm 0.47$ , glutatyon peroksidaz  $5.25 \pm 1.44$  ve glukoz-6-fosfat dehidrogenaz  $8.24 \pm 1.55$  olarak bulundu. Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz ortalama düzeyi erkeklerde kızlardan önemli derecede daha yüksekti.

**Anahtar Kelimeler:** Kordon kanı, eritrositler, piruvat kinaz (PK), laktat dehidrogenaz (LDH), glutatyon redüktaz (GSSG-R), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD).

T Kİ Tıp Bil Araş Dergisi, C.8, S3,1990,228-232

## GİRİŞ

Eritrositlerdeki metabolik anormallikler hemolitik anemiyle sonuçlanabilir. Piruvat Kinaz (PK), glukoz-6-Fosfat dehidrogenaz (G6PD), glutatyon redüktaz (GSSG-R) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) eksikliklerinde eritrositler hemolize hassas hale gelirler (2,4,6).

Kordon kanı eritrositlerinde GSSG-R'nin aktif şeklinin normal erişkin kanı eritrositlerinkinden önemli derecede yüksek olduğu kaydedilmiştir (23). Ayrıca bu enzim FAD ile aktive edildiğinden

## SUMMARY

A study has been made of the levels of erythrocyte enzyme activities of cord bloods in 112 newborns (60 males, 52 females) in Trabzon and surroundings. In IU/g the enzymes (pyruvate kinase, lactate dehydrogenase, glutathione reductase (with FAD), glutathione reductase (without FAD), glutathione peroxidase, and glucose-6-phosphate dehydrogenase) were found as  $8.38 \pm 1.74$  (arithmetic mean  $\pm$  standard deviation),  $201.4 \pm 45.3$ ,  $4.47 \pm 0.75$ ,  $2.49 \pm 0.47$ ,  $5.25 \pm 1.44$ , and  $8.24 \pm 1.55$ , respectively. The mean level of glucose-6-phosphate dehydrogenase was significantly higher in male than in female newborns.

**Key Words:** Cord blood, the erythrocytes, pyruvate kinase (PK), lactate dehydrogenase (LDH), glutathione reductase (GSSG-R), glutathione peroxidase (GSH-Px), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD).

T J Research Med Sci, V.8, N.3,1990,228-232

yenidoğan bebeklerde ırklar ve bölgeler arasında enzim aktivitelerinde önemli farklar bulunmuştur (13). Bu farklılıklar beslenme statülerindeki farklılıklara atfedilmiştir.

Yukarıdaki bilgiler ışığında coğrafi yapısı, ak-raba evliliği sıklığı (21) ve beslenme özellikleri yönüyle dikkati çeken Karadeniz bölgesinde yenidoğan bebeklerde kordon kanı eritrosit metabolizmasında en önemli enzimler olan GSSG-R, GSH-Px, PK, G6PD ve LDH düzeylerini inceledik. Ayrıca neonatal sarılık üzerinde bu enzim aktivitelerinin etkisini araştırabilmek için de

Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri ARAŞTIRMA Dergisi C.8, S.3,1990  
Turkish Journal of RESEARCH in Medical Sciences V.8, N.3, 1990

Tablo 1. Yenidoğanda Kordon Kanı Eritrosit Enzimleri (Aritmatik Ortalama ve Standart Sapma) (IU/g Hb)

Cinsiyet		PK	LDH	GSSG-R (FAD'li)	GSSG-R (FAD'siz)	GSH-Px	G6PD
Erkek	60	552 ± 1.61	197.5 ± 43.9	4.43 ± 0.68	2.55 ± 0.46	5.16 ± 1.45	8.60 ± 1.33*
Kız	52	1.21 ± 1.92	206.2 ± 47.6	4.51 ± 0.85	2.41 ± 0.50	5.35 ± 1.47	7.81 ± 1.71
Toplam	12	5.38 ± 1.74	201.4 ± 45.3	4.47 ± 0.75	2.49 ± 0.47	5.25 ± 1.44	8.24 ± 1.55

\*) Kızlardan önemli derecede yüksek (P<0.01)

öncelikle yenidoğan bebeklerde bu enzimlerin norm değerlerini elde etmeyi amaçladık.

Nitekim Trabzon'da daha önce yapılan beslenme ile ilgili araştırmalarda, gebe kadınlarda total kalori alımı normal olduğu halde özellikle yüksek biyolojik değerli hayvansal protein alımının yetersiz olduğu saptanmıştır (16). Gebe annelerdeki dengesiz beslenmenin bebek gelişimini olumsuz yönde etkileyeceği muhakkaktır.

## MATERYAL ve METOD

Trabzon Doğum Hastanesinde normal doğumu gerçekleştirilen 60 erkek, 52 kız olmak üzere toplam 112 bebekten ACD antikoagulantı kullanılarak kordon kanları alındı. Bebeklerden 18'i 38 gebelik haftasında önce doğan prematüre, 94'ü ise miyadında doğan normal yenidoğan bebeklerdi. Kanlar üç kez +4°C de serum fizyolojik ile yıkandılar. Daha sonra, hazırlanan eritrosit süspansiyonundan değişik yöntemler ile hemolizat hazırlanarak enzim tayinleri yapıldı.

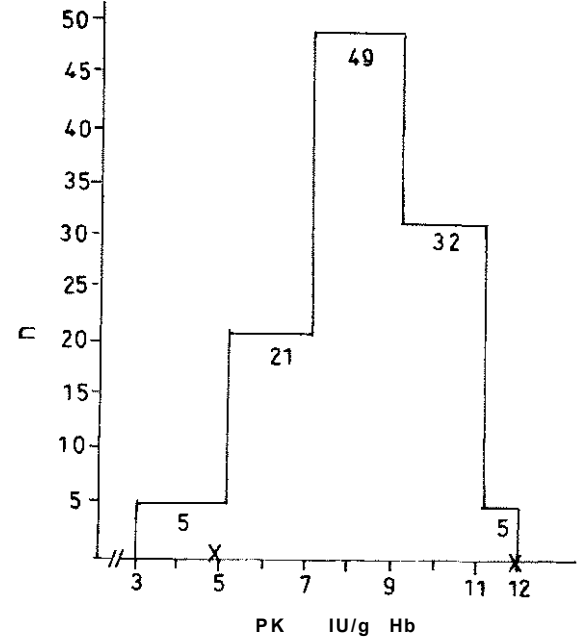
1:20 su ile hemolizatta G6PD, GSSG-R ve PK; 1:200 su ile yapılan hemolizatta LDH ve 1:20 siyanür-ferrisiyanür hemolizatta GSH-Px tayinleri Beutler (4) yöntemine göre yapıldı. Hemolizatlarda hemoglobin tayinleri yapılarak sonuçlar IU/g Hb cinsinden verildi.

## BULGULAR

60'ı erkek 52'si kız olan toplam 112 yenidoğan kordon kanı eritrositlerinde elde edilen ortalama enzim aktivitesi değerleri ve istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1'den görüldüğü gibi sadece G6PD enziminde cinsiyetler arasında fark bulunmuştur.

Şekil 1-5'te çalışmadaki parametrelerin dağılım histogramları verilmiştir. X ± 2SD değerleri incelendiğinde PK'da sadece 5(%4.5) (Şekil 1),

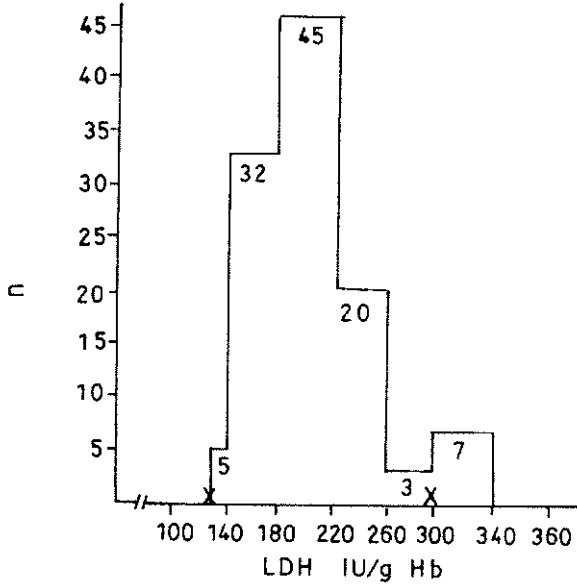


Şekil 1. Yenidoğanların eritrositlerinde PK düzeyleri dağılımı (X X: X ± 2SD sınırlarını göstermektedir, sütunların altındaki rakamlar vaka sayısıdır).

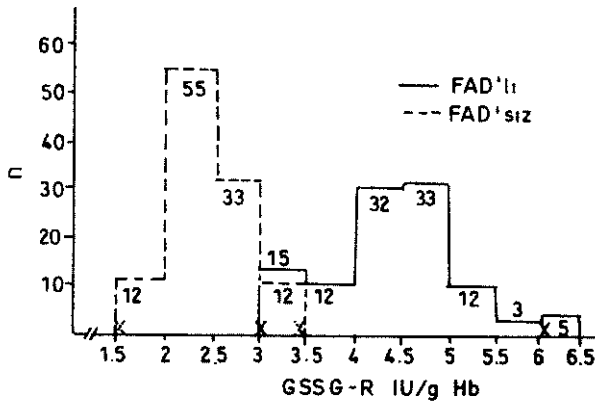
LDH'da (%6.2) (Şekil 2) ve GSSG-R'de 5 (%4.5) (Şekil 3) vakasının bu sınırlar dışında kaldığını; GSH-Px (Şekil 4) ve G6PD (Şekil 5) de ise bütün vakaların bu sınırlara uyduğunu bulduk. Bu sonuçlara göre elde ettiğimiz ortalama değerler bölgenin norm değerleri olarak kullanılabilir niteliktedir.

## TARTIŞMA

Bu çalışmada Trabzon ve çevresinde yenidoğanın enzimopatilerini değerlendirmek, genetik varyantları tesbit edebilmek amacıyla ileride yapılacak çalışmalara temel olması açısından glikolitik yolların temel enzimlerinin norm değerlerini araştırdık. Ayrıca glutatyon yolundaki enzimatik sistemler, GSH aracılıklı hücre detoksifikasyonunda ve hücrelerin sülfidril statüsü



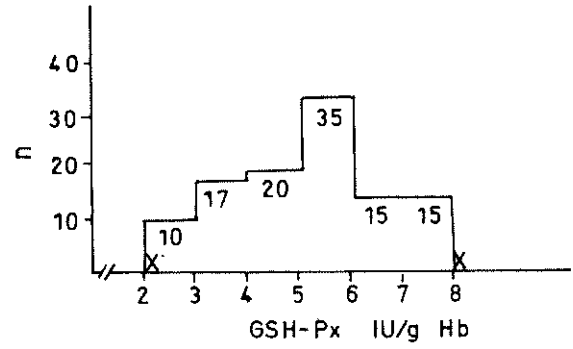
Şekil 2. Yenidoğanların eritrositlerinde LDH düzeyleri dağılımı.



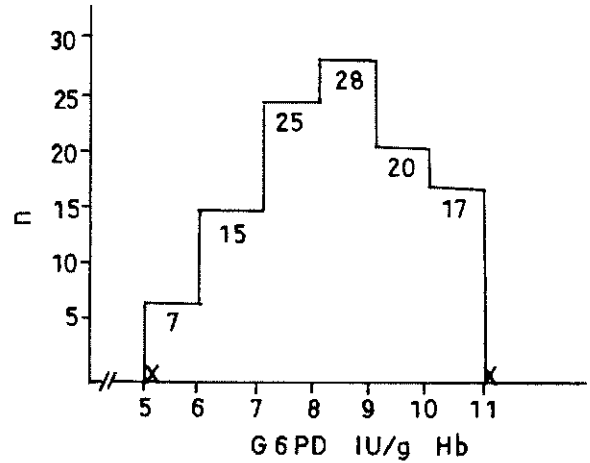
Şekil 3. Yenidoğanların eritrositlerinde GSSG-R düzeyleri dağılımı

bütünlüğünün korunmasında gerekli olduğundan bu yoldaki temel iki enzimi de çalışmaya dahil ettik.

G6PD aktivitesinin tayin edilmesi, bu aktivitede değişmeler gösteren hastalıkların teşhisine yardımcı olabileceği gibi, kalıtsal G6PD eksikliğinin ortaya çıkarılmasını da sağlar. Yurdumuzda bu konuda çalışmalar yapılmıştır (9). Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde G6PD nin kalıtsal eksikliği nispeti Say ve Tayşi (18) tarafından %11.4 olarak bildirilmiştir. G6PD nin Akdeniz tipinde yenidoğan sarılığı insidansı toplumdan topluma değişmektedir. Örneğin Atina'da doğan bebeklerde insidans %5 iken, Midilli adasında %34'tür (5). Yenidoğanda G6PD aktivitesi normal erişkin



Şekil 4. Yenidoğanların eritrositlerinde GSH-Px düzeyleri dağılımı.



Şekil 5. Yenidoğanların eritrositlerinde G6PD düzeyleri dağılımı.

kanındaki kadar daha yüksek bulunmuştur (10,19). Genellikle kordon kanı eritrositleriyle ilgili çalışmalarda G6PD aktivitesinin 7.8 U/g Hb'in üzerinde olduğu bildirilmiştir (4,20). Bizim çalışmamızda  $8.24 \pm 1.55$  U/g Hb değeri literatürle uyum içerisindedir. Cinsiyetler arasında G6PD aktivitesi yönünden önemli bir fark bulmamızı destekleyecek bir çalışmaya rastlayamadık. Bu farklılık örneklerin tesadüfi örnekleme yöntemiyle seçilmesinden ileri gelmiş olabilir.

GSSG-R ve GSH-Px enzimopatileriyle ilgili çeşitli kayıtlar vardır (8) ve GSH-Px düzeyi düşük olan bebeklerde ağır sarılığın gelişme ihtimali yüksek bulunmuştur (24).

Lie-Injo ve ark. (13), GSSG-R ve PK aktivitelerini yeni doğanlarda erişkinlerden daha yüksek bulurken, GSH-Px aktivitesini daha düşük bulmuşlardır. Bu farklılık Gross ve ark. (7) ile Yawata ve ark. (23) tarafından da gösterilmiştir. Çeşitli araştırmalarda (2,3,12,13) GSSG-R ak-

tivitesinin bölgelere ve ırklara göre farklılık gösterdiği kaydedilmiştir. Bunun nedeni riboflavin alımındaki farklılıklara bağlanmıştır. Eritrosit GSSG-R enzimi tayiniyle beslenmenin bir göstergesi olan riboflavin durumu değerlendirilebilmektedir (15,16). Hatta düşük GSSG-R aktivitesi olan annelere 1 hafta süreyle günde 5 mg riboflavin verilmesinin enzim aktivitesini önemli derecede artırdığı bulunmuştur (14). Çalışmamızda FAD ilave edilen ortamda ölçülen GSSG-Raktivitesi ile FAD'siz aktivite arasındaki büyük fark, Trabzon ve çevresinde beslenme sorununun büyük boyutlarda olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca kordon kanındaki FAD'li GSSG-R aktivitesi genellikle literatürdeki değerlerden (1,13,14,22) daha düşük

bulunmuştur. GSH-P1, PK ve LDH için bulduğumuz kordon kanı eritrositlerine ait ortalama aktivite ise diğer araştırmalarla (11,13) uygunluk içerisindedir.

Cinsiyetler arasında G6PD hariç hiç bir enzim için anlamlı bir fark bulamadık. Lie-Injo ve ark. (13) ise sadece PK ve GSH-Px için kızlardaki ortalama değeri erkeklerden yüksek bulmuşlardır.

Bu çalışma ile Karadeniz bölgesinde ilk defa bu enzimler yönünden bir çalışmayı başlattık, yöntemleri araştırdık. İleride daha geniş bir popülasyonda tarama çalışmaları ile birlikte, özellikle fetal kanda enzimopatileri doğumdan önce tesbit edebilecek yöntemleri geliştirmek istiyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Agar NS, M Gruca and JD Harley: Studies on glucose-6-phosphate dehydrogenase, glutathione reductase and regeneration of reduced glutathione in the red blood cells of various mammalian species. *Ajebak* 52: 607-614, 1974.
2. Beutler E: Glutathione reductase: Stimulation in normal subjects by riboflavin supplementotion. *Science* 165: 613-614,1969.
3. Beutler E: Red cell enzyme defects as nondiseases and as diseases. *Blood* 54: 1-7,1979.
4. Beutler E: Red Cell Metabolism, A Manual of Biochemical Methods. Grune and Stratton, New York, 1971, pp. 3-7, 56, 58,62, 64, 66.
5. Doxiadis SA, T Valaes, A Kaaklisand, D Stavrakakis: Risk of severe jaundice in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency of the newborn. *Lancet* ii:1210,1964.
6. Fairbanks VF and GG Klee: Biochemical Aspects of Hematology. Tietz NW, ed., Fundamentals of Clinical Chemistry, WB Saunders, Philadelphia, 1987, pp. 789-824.
7. Gross RT, R Bracci, N Rudolph, E Schroeder and JA Kochen: Hydrogen peroxide toxicity and detoxification in the erythrocytes of newborn infants. *Blood* 29: 481-484,1967.
8. Gupta A, MS Vaidya, JB Bapat, RS Pavri, AJ Baxi, and SH Advani: Associated red cell enzyme deficiencies and their significance in a case of congenital enzymopenic methemoglobinemia. *Acta Haemat* 64:285-288,1980.
9. Hiçsönmez G, Özsoylu Ş: A comparison of Erythrocyte G6PD levels of mothers and their Newborns. *Türk J Pediatr* 1045,1968.
10. Konrad PN, WN Valentine, and DE Paglia: Enzymatic activities and glutathione content of erythrocytes in the newborn: Comparison with red cells of older normal subjects and those with comparable reticulocytosis. *Acta Haemat* 48: 193-201,1972.
11. Lestas AN, CH Rodeck, and JM White: Normal activities of glycolytic enzymes in the fetal erythrocytes. *Br J Haematol* 50: 439-444,1982.
12. Lanksich PG, R Schroeter, L Lege, and W Wogt: Reduced glutathione and glutathione reductase: A comparative study of erythrocytes from various species. *Comp Biochem Physiol* 46B: 639-641,1973.
13. Lie-Injo LE, WP Wan, and T Ng: Reduced glutathione, glutathione reductase, glutathione peroxidase, and pyruvate kinase in erythrocytes of human newborns and adults in Malaysia. *Br J Haematol* 25: 577-584,1973.
14. Lie-Injo LE, T Ng, WP Wan, and J Ganesan: Stimulation of erythrocyte glutathione reductase activity by flavin adenine dinucleotide (FAD) in Malaysian adults and newborns and their parents. *Br J Haematol* 31: 337-342, 1975.
15. McCormick DB, and M Russell: Biochemical evaluation of the erythrocyte glutathione reductase test for riboflavin deficiency. *Comp Biochem Physiol* 5:113-1962.
16. Nuhoğlu A, Yenidoğan ve süt çocuklarında beslenme. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Basımevi, 1989.
17. Sauberlich HE, JH Judd, GE Nicholds, HP Broquist, and WJ Darby: Application of the erythrocyte glutathione reductase assay in evaluating riboflavin nutritional status in a high school student population. *Am J Clin Nutr* 25: 756-762,1972.
18. Say B ve K Tayşi: Tıbbi Genetik Hacettepe Uniö. Yay., Ankara 1978, s.52-54.
19. Smith EL, RL Hill, R Unman, RJJefkowitz, and P Handler: Principles of Biochemistry: Mammalian Biochemistry. McGraw Hill, Singapore, 1985, pp. 71-99.
20. Tietz NW: Clinical Guide to Laboratory Tests. WB Saunders, Philadelphia, 1983.

21. Ulusoy M ve E Tunçbilek: Türkiye'de akraba evlilikleri ve çocuk ölümlerine etkisi. Nüfusbilim Derg. 9:7-27,1987.
22. Yawata Y, and KR Tanaka: Activation of glutathione reductase by flavine adenine dinucleotide in human adult and cord red cells. Experientia 27: 781-782,1971.
23. Yawata Y, and KR Tanaka: Regulatory mechanism of glutathione reductase activity in human red cells. Blood 43: 99-109,1974.
24. Willoughby MEN: Pediatrik Hematoloji (Çev: Ulukutlu L, İ Yıldız). I.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yay., İstanbul, 1982, s.143-176.