

**Yenidoğulmuşlarda qlükoza-6-
fosfatdehidrogenaza ferment
çatışmazlığının biokimyəvi və molekulyar-
genetik öyrənilməsi**

Hüseynova L.S., Əliyeva K.A., Vəliyeva G.Ə.

Azərbaycan Tibb Universiteti

Bakı Dövlət Universiteti

Açar sözlər: *Qalaktozemiya, skrining, mutasiya, gen, mübadilə xəstəliyi, ekzon.*

Annotasiya

Qalaktozemiya xəstəliyi də mübadilə xəstəliklərinə aiddir. Son onillikdə tədqiqatların nəticəsi olaraq yüzlərlə yeni irsi mübadilə pozğunluqları aşkar edilmiş və bu qrup xəstəliklər daha da şaxələnməmişdir.

Qalaktozemiya xəstəliyi yenidoğulmuşlar arasında təsadüf olunmasına görə fenilketonuriyadan sonra ikinci yerdədir. Xəstəlik zamanı qalaktoza-1-fosfat-uridiltransferazanın defisiti müşahidə olunur. Qalaktozemiya homoziqot xəstələrin eritrositlərində qalaktoza-1-fosfat-uridiltransferazanın aktivliyi təyin edilmir. Heteroziqotlarda fermentin aktivliyi normal aktivliyin 50%-ni təşkil edir.

Azərbaycan Respublikasında ilk dəfə olaraq Bakı şəhərinin doğum evlərində və Elmi Tədqiqat Pediatriya İnstitutuna müraciət etmiş xəstələr arasında immunoferment analizi ilə Qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyinin genetik skriningi aparılmış, üç yenidoğulmuşda və iki xəstə uşaqda qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza ferment çatışmazlığı müəyyən olunmuşdur.

Giriş

İrsi maddələr mübadiləsinin pozğunluqlarını göstərən bir qrup əlamətlər mövcuddur: yenidoğulma zamanı və ya inkişafının sonrakı mərhələsində psixomotor inkişafın ləngiməsi, qıcolma sindromu, miopatiya, komatoz vəziyyətin təkrar olunması, dalaq və qaraciyərin böyüməsi, ataksiya, atetozlar, yeməkdən imtina və çəkinin progressiv itirilməsi, qusma, bədənə və sidikdən gələn spesifik qoxu, qidanın mədə bağırsaq sistemindən sorulmaması sindromu

(malabsorbsiya), skeletin anomaliyası, saçın və dərinin rənginin dəyişilməsi, katarakta, qəfləti ölüm sindromu, uzun müddətli sarılıq və s. müşahidə olunur. Maddələr mübadiləsi pozğunluğuna aid olan xəstəliklər sırasına Qalaktozemiya xəstəliyi də daxildir. Maddələrin metabolizmi və enerji – bütün canlı orqanizmlərin yaşaması üçün vacib olan, orqanizmə xaricdən qəbul olunan bioloji aktiv maddələrin kimyəvi parçalanmaları labüddür. Bu xəstəliklərin diaqnostikası və müalicəsi çox çətin və məsuliyyətlidir, həkim terapevt və həkim genetik tərəfindən birgə aparılır. İrsi xəstəliklərin skriningi – diaqnostikası xarici sağlam yenidoğulmuş uşaqlarda aparılır. Analizin nəticəsi yenidoğulmuşun 18-ci gününə kimi hazır olmalı və dərhal xəstəliyin müalicəsinə başlanmalıdır. Əks halda mübadilə pozğunluğu nəticəsində orqanizmin zəhərlənməsi başlayır. Xaricən sağlam yenidoğulmuş uşaqlarda təxminən 2-3 cü gün səhhətində pisləşmə - kəskin dəyişiklik müşahidə olunur(5).

İrsi maddələr mübadiləsinin pozğunluqlarını göstərən bir qrup əlamətlər mövcuddur: yenidoğulma zamanı və ya inkişafının sonrakı mərhələsində psixomotor inkişafın ləngiməsi, qıcolma sindromu, miopatiya, komatoz vəziyyətin təkrar olunması, dalaq və qaraciyərin böyüməsi, ataksiya, atetozlar, yeməkdən imtina və çəkinin progressiv itirilməsi, qusma, bədənə və sidikdən gələn spesifik qoxu, qidanın mədə bağırsaq sistemindən sorulmaması sindromu (malabsorbsiya), skeletin anomaliyası, saçın və dərinin rənginin dəyişilməsi, katarakta, qəfləti ölüm sindromu, uzun müddətli sarılıq, və s. müşahidə olunur (3,40).

Mübadilə yolunun birinci mərhələsində qaraciyər, beyin hüceyrələrində və eritrositlərdə qalaktoza fosforlaşaraq qalaktoza-1-fosfata çevrilir. Mübadilənin sonrakı mərhələsi üçün qalaktoza-1-fosfat-uridiltransferaza fermentinin iştirakı vacibdir. Fermentin defisiti zamanı qalaktoza-1-fosfatın UDF-qalaktozaya çevrilməsi mümkün deyil. Qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyinin hər üç genetik formasının irsiyyət tipi autosom-resessivdir. Qalaktozemiya geninin doqquz mutasiyası aşkar edilib identifikasiyası aparılmışdır: Q188R, S135L, K285N, T138M,

L195D, Y209C, İVS-2-2 (A-G), N314D və L218L. Bu mutasiyalar əsasən – 80% ağ dərilili insanlarda təsadüf olunur. Təxminən 20%-i digər etnik qruplarda müşahidə olunur. Bütün mutasiyaların penetrantlıq dərəcəsi 100%-dir(1,2,6).

Qalaktoza-1-fosfatın hüceyrələrdə bətdaxili inkişaf dövründə toplanması xəstəliyə səbəb olur. Qalaktozemiyanın klassik formasında xəstəliyin simptomlarının: anoreksiya, qusma, südü qəbul etməməsi, çəki artımının dayanmasına daha erkən təsadüf olunur (7,8,9).

Material və metodika

Tədqiq olunan material Azərbaycan Səhiyyə Nazirliyinin Elmi-Tədqiqat Pediatriya İnstitutuna müraciət etmiş xəstələr və Bakı şəhərinin doğum evlərində doğulmuş uşaqlardan götürülmüşdür. Analizlərin aparılması məqsədilə venoz qandan istifadə edilmişdir. Qan nümunəsi yenidoğulmuşların həyatının 24-72 saatı ərzində dabanından götürülür. Yenidoğulmuşun dabanı təmiz ilıq dəsmal ilə (40-41°C) silinir. Dabanın qan götürülən nahiyəsi 70%-li spirtlə silinir. Ehtiyatla iynənin köməkliyi ilə daban dəşilərək qan Vatman 903 kağızına hopdurulur. Kağıza hopdurulmuş qan damlasına toxunmaq olmaz. Qan ləkəsi otaq temperaturunda təxminən 3 saat ərzində qurudulur. Hər bir nümunə ayrıca zərfin içərisində saxlanılır. Saxlanma müddəti rütubət keçirməyən zərfin içərisində bir həftədir. Qanın keyfiyyəti dörd ay müddətində soyuducunun içərisində 4-8°C-də saxlanıldıqda itmir. Nümunəni uzun müddət saxlamaq üçün isə soyuducunun buzlaq hissəsindən istifadə olunur. Kontrol və standartların sabitliyinin saxlanılması məqsədilə xüsusi alüminium folqadan hazırlanmış zərfin içərisində qutuda saxlanılır. Analiz immunoferment analizi üsulu ilə aparılır. Diametri 5mm olan pasientin qan nümunəsi, kontrol və standart nümunələr ştativin yuvacıqlarına qoyulur. Hər bir nümunədən iki disk istifadə olunur. Ştativ 40 dəqiqə müddətinə 90-95°C su hamamının içərisinə qoyulur. Hər bir yuvacığın üzərinə qan diskini tamamilə örtmək şərti ilə həcmi 150 mkl bufer əlavə olunur. Ştativ xüsusi

qapaqla örtülüb mikserin üzərinə qoyulur. Düzgün halda məhlul şəffaf qalmalıdır. Yuvacıqlardan həcmi 100 mkl məhlul götürülərək digər mikroştativə əlavə olunur. 2,3 və 4 saylı reaktivlər eyni miqdarda qarışdırılır. Hazırlanmış məhlul 5 dəqiqə müddətində stabildir. Nümunə olan hər yuvacığa 2,3 və 4 saylı reaktivlərdən hazırlanmış məhluldan 150 mkl əlavə olunur. 60 dəqiqə müddətində üzəri qapaqla örtülüb şeykerin üzərinə qoyulur. Absorbsiya 490 nm aparılır. Qan zərdabında şəkər, bilirubin, qaraciyər fermentləri; alanilaminotransferaza (ALAT), qanilaminotransferaza (ASAT) və alfafetoprotein (AFP) ABŞ-ın Bekman firmasının istehsalı olan Becman Coulter UniCel DxС 600 aparatında aparılmışdır. Qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza (Q6FD) fermentinin aktivliyi ABŞ-ın Siqma firmasında hazırlanmış reaktivlərin köməkliyi ilə aparılmışdır.

Nəticə və müzakirəsi

276 xəstənin biokimyəvi analizi və genetik skriningi aparılmışdır. 3 yenidoğulmuşda və xəstədə Q6FD ferment çatışmazlığı müşahidə olunmuşdur. Yenidoğulmuşlardan ikisi oğlan, biri qız olmuşdur. Üç yenidoğulmuşdan ikisində fermentin qismən çatışmaması, yəni normanın 40-45%-li aktivliyi müəyyən olunub fermentin bu aktivlik dərəcəsi hər iki yenidoğulmuşda GALT fermentinin heteroziqot daşıyıcılıq tipinin olmasından asılıdır. Yenidoğulmuşun birində fermentin tam defisiti aşkar olunub. Fermentin aktivliyinin tam çatışmaması yenidoğulmuşda GALT geninin homoziqot formasını göstərir. Yenidoğulmuşların hər üçünün səhhətində narahatçılıq, bağırsağında köp müşahidə olunmuşdur. Hər 3 yenidoğulmuşun qan zərdabında şəkərin miqdarı normadan aşağı olub 4,1-5,9 mmol/l olmalı olduğu halda, 1,2-1,9 mmol/l-ə bərabər olmuşdur. Qlükoza-6-fosfatdehidrogenaza (Q6FD) fermentinin aktivliyi isə aşağı olub aktivlik normasının 10-30%-ni təşkil etmişdir. Qan zərdabında bilirubin və qaraciyər fermentlərinin miqdarı normada yüksək olmuşdur. Belə ki, alanilaminotransferaza-ALAT (61-78 IU/l, N-

10-70 IU/l), qanilaminotransferaza-ASAT (64-81 IU/l, N- 15-41 IU/l) olmuşdur.

Elmi Tədqiqat Pediatriya İnstitutunda müalicə olunan xəstələrin hər ikisində bu fermentin tam çatışmazlığı müəyyən olunub. Bu xəstələrin hər ikisi oğlandır. Onlardan biri 1 yaş 6 aylıq, digəri 1 yaş 9 aylıqdır. Ferment aktivliyinin tam çatışmaması hər iki xəstədə homoziqot formanın olması ilə əlaqədardır. Hər iki uşaqda həzm sistemində köp, qaraciyərdə sirroz müşahidə edilmişdir. Alfafetoprotein (AFP) miqdarı hər iki xəstədə normadan yüksək olmuşdur (13,9-16,8 IU/l). Xəstənin qan zərdabında şəkərin miqdarı normada aşağı (1,1-1,4mmol/l) olmuşdur. Q6FD fermentinin aktivliyi normal aktivliyin 10-20%-ni təşkil etmişdir. Qan zərdabında bilirubin və fraksiyalarının miqdarı 66-76mkmol/l, qaraciyər fermentləri isə normadan yüksək olmuşdur. Belə ki, alanilaminotransferazanın (ALAT) miqdarı normada 10-40 IU/l olmalı olduğu halda, 69-88 IU/l, qanilaminotransferazanın (ASAT) miqdarı isə normada 15-41 IU/l olmalı olduğu halda 74-87 IU/l-ə bərabər olmuşdur.

Nəticə

1.Qan zərdabında şəkərin miqdarının, Q6FD fermentinin aktivliyinin aşağı, qaraciyər fermentlərinin normadan yüksək olması yenidən doğulmuşların hər üçündə və xəstə uşaqların isə hər ikisində GALT fermentinin müxtəlif dərəcəli çatışmazlığının olmasını göstərir.

2. GALT geninin defisiti homoziqot, heteroziqot və kompaunt vəziyyətlərdə müəyyən olunmuşdur.

Ədəbiyyat

1. Berry GT. Galactosemia: when is it a newborn screening emergency? Mol. Genet. Metab. 2012 May; 106 (1):7-11.
2. Burton H, Sanderson S, Shortland G, Lee P. Needs assessment and review of services for people with inherited metabolic disease in the United Kingdom. J Inherit Metab. Dis 29:667-76, 2006

3. Bosch, A. M. Classical galactosaemia revisited. J. Inherit. Metab. Dis. 29: 516-525, 2006.

4. Carney, A. E., Sanders, R. D., Garza, K. R., McGaha, L. A., Bean, L. J. H., Coffee, B. W., Thomas, J. W., Cutler, D. J., Kurtkaya, N. L., Fridovich-Keil, J. L. Origins, distribution and expression of the Duarte-2 (D2) allele of galactose-1-phosphate

uridylyltransferase. Hum. Molec. Genet. 18: 1624-1632, 2009.

5.Feillet, F., Merten, M., Battaglia-Hsu, S.-F., Rabier, D., Kobayashi, K., Straczek, J., Brivet, M., Favre, E., Gueant, J.-L. Evidence of cataplerosis in a patient with neonatal classical galactosemia presenting as citrin deficiency. J. Hepatol. 48: 517-522, 2008.

6. Karadag N, Zenciroglu A, Eminoglu FT, Dilli D, Karagol BS, Kundak A, Dursun A, Hakan N, Okumus N. Literature review and outcome of classic galactosemia diagnosed in the neonatal period. Clin Lab. 2013; 59 (9-10):1139-46.

7.Segal S., Wehrli S., Yager C., Reynolds R. Pathways of galactose metabolism by galactosemic: evidence for galactose conversion to hepatic UDPglucose. Molec. Genet. Metab. 87: 92-101, 2006.

8.Suzuki, M., West, C., Beutler, E. Large-scale molecular screening for galactosemia alleles in a pan-ethnic population. Hum. Genet. 109: 210-215, 2001.

9.Webb, A. L., Singh, R. H., Kennedy, M. J., Elsas, L. J. Verbal dyspraxia and galactosemia. Pediat. Res. 53: 396-402, 2003.

SUMMARY

Biochemistry and molecular-genetic study of Glucose-6-phosphatehydrogenase enzyme deficiency in newborns

Huseynova L.S., Alieva K.A., Valieva G.A.

Azerbaijan Medical University.

Baku State University.

Keywords: *Galactosemia, screening, polymerase chain reaction, mutation, gene, metabolic disease, exon.*

For the first time, genetic screening of hereditary metabolic disease – galactosemia was conducted in maternity hospitals in Baku, Azerbaijan Republic. Using molecular genetic techniques two mutations of GALT gene were identified. It was confirmed heterozygous, and homozygous compound states for mutations identified. GALT gene frequency in the newborns was - 0.0072 and in affected children - 0.0526, in decimal quantity.

XÜLASƏ

**Yenidoğulmuşlarda qlükoza-6-
fosfatdehidrogenaza ferment
çatışmazlığının biokimyəvi və molekulyar-
genetik öyrənilməsi**

Hüseynova L.S., Əliyeva K.A., Vəliyeva G.Ə.

Azərbaycan Tibb Universiteti

Bakı Dövlət Universiteti

***Açar sözlər: Qalaktozemiya, skrining,
mutasiya, gen, mübadilə xəstəliyi, ekzon.***

Azərbaycan Respublikasının Bakı şəhərinin doğum evlərində ilk dəfə olaraq qalaktozemiya irsi mübadilə xəstəliyinin genetik skriningi aparılmışdır. Molekulyar genetik metodlardan istifadə etməklə GALT geninin iki mutasiyası identifikasiya edilib. Aşkar olmuş mutasiyaların heteroziqot, homoziqot və kompaund genetik vəziyyətləri müəyyən olunmuşdur. Yenidoğulmuşlarda GALT geninin mutasiyalarının təsadüf olunma tezliyi – 0,0072, 38 xəstə uşaqda – 0,0526 (vahid daxilində) olmuşdur.