



## **Slatentizzazione multifattoriale di deficit di G6PD**

Chiara Stefania Marinoni Vacacela, Alessandro Di Toro,  
Roberto Mereu, Irene Raso, Tiziano Perrone

*Clinica Medica II, Università degli Studi di Pavia, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, Italia*

---

### ***Slatentizzazione multifattoriale di deficit di G6PD***

Il deficit di G6PD è il difetto enzimatico più frequente al mondo, presentandosi in più di 400 milioni di persone al mondo. L'enzima G6PD catalizza la prima reazione della via dei pentoso fosfati, creando antiossidanti fondamentali per la protezione della cellula dagli stress ossidativi. Questa patologia geneticamente determinata è caratterizzata da un ampio spettro di manifestazioni cliniche, sia tra i diversi soggetti che nello stesso paziente; ciò sembra essere legato al cospicuo numero di alterazioni genetiche che possono determinare il deficit e alla molteplicità di fattori scatenanti che possono indurre le crisi emolitiche tipiche di questa patologia. Questa è la situazione che si è verificata nel caso che segue, soggetto consumatore di fave che non aveva mai associato la loro ingestione con malessere.

### ***Multifactorial induction of presentation of G6PD defect***

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency is the most common human enzyme defect, being present in more than 400 million people worldwide. The G6PD enzyme catalyzes the first step in the pentose phosphate pathway, leading to antioxidants that protect cells against oxidative damage. This genetic disease is characterized by a wide spectrum of clinical manifestations, both in different people and in the same patient. It seems to be due to the large number of genetic errors that can determine the defect and to the multiplicity of triggers able to inducing the hemolytic anemia typical of this disease. This is what we present in the following case report, subject normally eating fava beans, who had never associated the ingestion with discomfort.

---

## **Introduzione**

Il deficit di glucosio-6-fosfato deidrogenasi (G6PD) è il più comune difetto enzimatico umano, si presenta, infatti, in più di 400 milioni di persone al mondo [1]. L'incidenza maggiore si riscontra in Africa, Asia, regioni mediterranee e Medio Oriente, anche se a seguito delle recenti migrazioni, la malattia è individuabile con una certa frequenza in Nord America e nei paesi del nord Europa [2]. In Italia è particolarmente diffuso nella valle del Po, in tutto il Meridione, in Sicilia e soprattutto in Sardegna [3]. Le frequenze stimate variano da 0.5 a 1.5 %, eccezione fra le regioni è la Sardegna con una frequenza media di 14% [4].

Questa patologia è dovuta ad una mutazione del gene della G6PD, che produce l'enzima che catalizza la prima reazione della via dei pentoso fosfati generando NADPH+ H<sup>+</sup>, cofattore a sua volta di diversi enzimi coinvolti nei processi di detossificazione di specie reattive. Sono state descritte circa 140 mutazioni diverse di questo gene, di cui la maggior parte alterazioni di singole basi, causanti variabilità funzionale, con conseguenti fenotipi biochimici e clinici diversi [1]. Tutto ciò rende ragione dell'ampia gamma di gravità di manifestazioni e permette di comprendere perché talvolta la crisi emolitica arrivi a presentarsi solo quando vi è la compartecipazione di più agenti esterni [5-8]. Questa è la situazione che si è verificata nel caso che segue, soggetto consumatore di fave che non aveva mai associato la loro ingestione a malessere.

## Caso clinico

Descriviamo il caso di un soggetto maschio di 42 anni, di nazionalità tunisina, residente stabilmente in Italia da anni. Alcuni giorni prima del ricovero riferiva la comparsa di episodio febbrile, con temperatura corporea superiore ai 39°C, associato a malessere generalizzato e cefalea, per cui assumeva nimesulide solubile e paracetamolo per os. A distanza di circa 24-36 ore il paziente lamentava astenia profusa e comparivano ittero sclerale e muco-cutaneo insieme a urine color coca-cola. Tali manifestazioni si associavano ad episodi sincopali ripetuti. Per il ripetersi di tali episodi, il paziente veniva condotto presso il PS di questo Policlinico. Qui si evidenziava un grave quadro di anemia emolitica (Hb 6.3 g/dl, MCV 94.5 fl, MCH 35.9 pg, LDH 2485 mU/ml, bilirubina totale 6.48mg/dl, bilirubina diretta 0.56 mg/dl) associato ad importante leucocitosi (WBC 26.30x10<sup>3</sup>/mm). Veniva quindi disposto il ricovero. In anamnesi il soggetto presentava una pregressa storia di tossicodipendenza con droghe iniettive e positività all'infezione da HCV condizionante un quadro di epatopatia cronica (analizzata istologicamente come di grado S, stadio 1 e già trattata con PEG interferon alfa + ribavirina, a cadenza ciclica con considerevole efficacia terapeutica). All'arrivo in reparto il paziente si presentava vigile, orientato, con temperatura corporea pari a 38.5° C, cute itterica, in assenza di edemi declivi, all'esame obiettivo cardiaco, toracico e addominale non erano presenti segni patologici. Si raccoglievano quindi campioni per emocolture seriate e, in considerazione dei valori emoglobinici rilevati presso il PS, si procedeva a premedicazione con metilprednisone e.v. e successiva emotrasfusione con due unità di globuli rossi concentrati (GRC). Il test di Coombs indiretto eseguito prima di tale procedura risultava negativo. Il paziente veniva, inoltre, sottoposto a radiografia del torace, risultato nella norma, e registrazione di tracciato ECG a 12 derivazioni con rilievo di ritmo sinusale, normale conduzione AV e IV. Il quadro emerso agli esami ematochimici confermava il sospetto di condizione emolitica acuta, venivano pertanto richieste consulenze ematologica ed infettivologica e si iniziava terapia empirica con metilprednisone, inibitore di pompa protonica, acido folico e si procedeva all'idratazione del paziente, al fine di prevenire eventuale tubulopatia secondaria ad emoglobinuria. Il successivo prelievo ematochimico di controllo confermava il quadro di anemia severa e la necessità di trasfusione di tre ulteriori unità di GRC. In terza giornata i valori emoglobinici erano risaliti sino a 9 g/dl. In accordo con i colleghi ematologi e infettivologi, si pianificava l'iter diagnostico di primo livello per chiarire l'eziologia dell'anemia emolitica. Si eseguiva quindi esame tossicologico delle urine, con risultato negativo. Si procedeva all'esecuzione di test di Coombs diretto, anch'esso negativo, escludendo così un'ipotetica patogenesi autoimmune (pannello autoimmune sierologico, risultato negativo, tranne che per una positività maculata agli ANA di 1:160, non significativa). L'eziologia virale veniva esclusa a seguito della negatività della sierologia per: HIV, EBV, CMV, HSV, Parvovirus B19, Virus della rosolia; e negatività dei tamponi nasali per: Virus Respiratorio Sinciziale, Virus Influenza A, Coronavirus,

Rhinovirus e Metapneumoniae virus. Si escludeva anche un'eventuale eziologia parassitaria e batterica con l'esecuzione di sierologia per: *Toxoplasma Gondii*, *Rickettsia Conorii*, *Treponema Pallidum* e *Mycoplasma Pneuomoniae*. L'analisi morfologica dello striscio di sangue periferico escludeva la presenza di Plasmodi malarici. In considerazione del quadro epatico del paziente si procedeva anche a ricerca di crioglobulinemia, risultata negativa. Si procedeva quindi alla ricerca di forme di anemia emolitica secondarie a difetti genetici. La malattia talassemica veniva esclusa per la presenza all'elettroforesi dell'Hb di normali percentuali di HbF e HbA2. Il risultato del dosaggio dell'attività enzimatica della glucosio-6-fosfato deidrogenasi risultava invece al di sotto dei valori di norma (48 mU/ER, VN: 118-144 mU/ER); si poteva porre, quindi, diagnosi di deficit di G6PD con crisi anemico-emolitica, esplicitatosi a seguito di verosimile infezione virale e concomitante assunzione di fave. Dato quest'ultimo, riconsiderato alla luce del dosaggio enzimatico e mai prima d'allora segnalato dal paziente come associato ad eventi avversi e perciò non riferito durante la raccolta anamnestica. Il paziente, durante la degenza, si manteneva apiretico in condizioni cliniche generali stabili; la diuresi si era mantenuta efficace e la funzionalità renale nella norma; il quadro anemico, presentatosi in miglioramento spontaneo, raggiungeva valori di Hb pari a 12 g/dl il giorno della dimissione e in netta risoluzione appariva anche il quadro emolitico agli esami ematochimici seriat.

## **Discussione**

G6PD è presente in tutte le cellule dell'organismo, ma la sua concentrazione varia nei diversi tessuti [9]. Catalizza la prima reazione della via dei pentoso fosfati, nella quale il glucosio viene convertito nel pentoso necessario nella glicolisi e per varie reazioni biosintetiche. La via dei pentoso fosfati provvede anche a creare nicotinadeninucleotide fosfato ridotto (NADPH), attraverso l'azione della G6PD e della 6-fosfogluconato deidrogenasi. Il NADPH a sua volta è donatore di elettroni in molte reazioni essenziali, i cui prodotti sono cruciali nella protezione della cellula dallo stress ossidativo, infatti è necessario per rigenerare la forma ridotta del glutatione, prodotta con il consumo della molecola di NADPH stessa [10-11]. Il meccanismo che porta all'aumentata sensibilità al danno ossidativo e quindi alla crisi emolitica non è ancora completamente conosciuto, ma sembra riconosciuto che i fenomeni di degradazione ossidativa, sia delle proteine citoplasmatiche (emoglobina, enzimi) che delle componenti lipidiche e proteiche della membrana, siano una delle cause scatenanti la lisi cellulare; da ciò si deduce l'importanza del mantenimento di livelli fisiologici di NADPH e GSH [12-14]. Da che il deficit di G6PD fu riconosciuto verso la fine degli anni '50 come entità patologica ad oggi sono state riconosciute più di 400 mutazioni diverse, che ne giustificano l'eterogeneità clinica e funzionale [15]. L'ereditarietà del deficit G6PD mostra un tipico pattern X-linked, che determina una maggiore incidenza nei soggetti di sesso maschile rispetto al sesso femminile; i maschi, emizigoti per il gene G6PD, possono, quindi, avere un'espressione del gene normale o deficitaria, mentre le femmine possono avere un'espressione del gene normale o essere eterozigoti e quindi mostrare un fenotipo intermedio. Nei globuli rossi sani, l'enzima opera solo all'1-2% del suo massimo potenziale, esiste, quindi, una grande riserva funzionale, che però si trova ridotta nei globuli rossi carenti di G6PD, portando così alle caratteristiche fisiopatologiche della malattia [16]. La malattia generalmente si manifesta con una severa crisi emolitica, caratterizzata clinicamente da: astenia, anemia, ittero e dolore lombare [17]. È stato documentato che alcune condizioni patologiche, come il DM [5], IMA [6], eccessivo esercizio fisico [7], possono facilitare il danno negli individui con deficit enzimatico; tuttavia anche la semplice assunzione di farmaci o il contatto con agenti ossidativi come fave e infezioni [8, 18], possono determinare al danno ossidativo [1]. L'anemia, normalmente acuta e severa, può portare in alcuni pazienti in-

sufficienza renale acuta come conseguenza del danno ischemico o della precipitazione di emoglobinuria nei tubuli renali. La diagnosi di crisi emolitica si basa sui dosaggi di: lattico-deidrogenasi, aptoglobina, bilirubina indiretta ed emoglobina. L'esame microscopico morfologico del sangue periferico mostra schistocitosi e reticolocitosi. La diagnosi definitiva del deficit enzimatico si fonda sulla stima dell'attività residua attraverso l'analisi quantitativa spettrofotometrica della quantità di NADPH prodotto dal NADP [15]. Per quanto riguarda l'analisi genetica mutazionale, lo sviluppo di semplici tecniche molecolari, come la PCR, ha reso più fruibile questo tipo di indagini. Alcuni problemi possono insorgere quando si misura l'attività dell'enzima durante un episodio di crisi emolitica acuta, o in presenza di un'elevata conta reticolocitaria, in quanto il livello dell'enzima nei globuli rossi immaturi è maggiore rispetto a quelli maturi, portando quindi a falsi risultati [19]. Nel nostro iter diagnostico abbiamo considerato le diverse possibili eziologie di anemia emolitica in relazione all'anamnesi patologica remota e prossima del paziente e considerando la difficoltà di stabilire un solo fattore causante direttamente la crisi emolitica si è deciso di dosare l'attività enzimatica di G6PD. Sulla base del quadro anamnestico gli agenti esogeni ossidanti che possono aver avuto un ruolo nella genesi della crisi emolitica sono stati: l'episodio parainfettivo, con la conseguente assunzione di farmaci antipiretici e analgesici, e la concomitante ingestione di fave. Inoltre, deve essere tenuto in considerazione che il dosaggio dell'attività enzimatica è stato post-trasfusionale, perciò i risultati ottenuti non rispecchiavano solamente i livelli di attività presenti nei globuli rossi del paziente, ma anche quella presente nelle cellule trasfuse. Le infezioni sono, probabilmente, la causa più comune di crisi emolitica nelle persone con deficit di G6PD [20] capaci di far precipitare il delicato equilibrio biochimico dei soggetti affetti da favismo. La severità dell'emolisi dipende da molti fattori, come l'uso concomitante di farmaci, l'età del paziente e la funzionalità epatica [1]. Infine, per quanto riguarda l'ingestione di fave, non tutti i soggetti con deficit che le assumono, sviluppano poi il favismo e lo stesso individuo può presentare reazioni imprevedibili, questo a dimostrazione dell'esistenza di numerosi fattori che giocano nello sviluppo del disordine, inclusa la salute stessa del paziente che ha ingerito le fave.

---

### **Bibliografia**

1. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet* 2008;5:64-74.
2. Beutler E. G6PD: population genetics and clinical manifestations. *Blood Rev* 1996;10:45-52.
3. Fiorelli G, Manoussakis C, Sampietro M et al. Different polymorphic variants of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) in Italy. *Ann Hum Genet* 1989;53:229-236.
4. Salvati AM, Caprari P, Maffi D et al. Prevalenza del deficit di glucosio 6-fosfato deidrogenasi nel Lazio. *It J Pedi* 1998;24(3):209.
5. Shalev O, Wollner A, Menczel J. Diabetic ketoacidosis does not precipitate haemolysis in patients with the Mediterranean variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *BMJ* 1984;288:179-180.
6. Lee DH, Warkentin TE, Neame PB et al. Acute hemolytic anemia precipitated by myocardial infarction and pericardial tamponade in G6PD deficiency. *Am J Hematol* 1996;51:174-175.
7. Ninfali P, Bresolin N. Muscle glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency and oxidant stress during physical exercise. *Cell Biochem Funct* 1995;13:297.
8. Hoiberg A, Ernst J, Uddin DE. Sick cell trait and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: effects on health and military performance in Black naval enlistees. *Arch Intern Med* 1981;141:1485-1488.
9. Battistuzzi G, D'Urso M, Toniolo D et al. Tissue specific levels of G6PD correlate with methylation at the 3' end of the gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1985;82:1465-1469.
10. Luzzatto L. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and the pentose phosphate pathway. In: Handin RI, Lux SE, Stossel TP. *Blood: principles and practice of hematology*. Lippincott, Williams, and Wilkins, Philadelphia, USA, 1995:1897-1902.
11. Tsai KJ, Hung IJ, Chow CK et al. Impaired production of nitric oxide, superoxide, and hydrogen peroxide in glucose 6-phosphate-dehydrogenase-deficient granulocytes. *FEBS Lett* 1998;436:411-414.
12. Gaetani GF, Kirkman HN, Mangerini R et al. Importance of catalase in the disposal of hydrogen peroxide within human erythrocytes. *Blood* 1994;84:325-330.
13. Gaetani GF, Galiano S, Canepa L et al. Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. *Blood* 1989;73:334-339.

14. Kirkman HN, Gaetani GF. Catalase: a tetrameric enzyme with four tightly bound molecules of NADPH. *Proc Natl Acad Sci USA* 1984;81:4343-4347.
15. Beutler E. Red cell metabolism: a manual of biochemical methods, 3rd edn. *Grune and Stratton*, New York, USA, 1984.
16. Beutler E. The genetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Semin Hematol* 1990;27:137-164.
17. Edwards CQ. Anemia and the liver. Hepatobiliary manifestations of anemia. *Clin Liver Dis* 2002;6:891-907.
18. Cocco P, Todde P, Fornera S et al. Mortality in a cohort of men expressing the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood* 1998;91:706-709.
19. Ringelhahn B. A simple laboratory procedure for the recognition of the A- (African Type) G6PD deficiency in acute haemolytic crisis. *Clin Chim Acta* 1972;36:272-274.
20. Burka ER, Weaver Z III, Marks PA. Clinical spectrum of hemolytic anemia associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Ann Intern Med* 1966;64:817.