

# Obilježja intenzivirane i prolongirane hiperbilirubinemije terminske novorođenčadi

---

**Gamberažić, Tea**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2019**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:171:050048>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-04-27**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



UNIVERSITY OF SPLIT



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Tea Gamberažić**

**OBILJEŽJA INTENZIVIRANE I PROLONGIRANE**  
**HIPERBILIRUBINEMIJE TERMINSKJE NOVOROĐENČADI**

**Diplomski rad**

**Akadska godina 2018./2019.**

**Mentorica:**

**Doc. dr. sc. Orjena Žaja, dr. med.**

**Split, srpanj 2019.**

|                                                          |    |
|----------------------------------------------------------|----|
| <b>1. UVOD</b>                                           | 1  |
| 1.1. Novorođenačka hiperbilirubinemija                   | 2  |
| 1.1.1. Epidemiologija                                    | 3  |
| 1.1.2. Metabolizam bilirubina novorođenčadi              | 3  |
| 1.1.3. Patofiziologija hiperbilirubinemije novorođenčadi | 5  |
| 1.1.4. Klinička slika                                    | 9  |
| 1.1.5. Dijagnoza                                         | 10 |
| 1.1.6. Diferencijalna dijagnoza                          | 12 |
| 1.1.7. Liječenje                                         | 13 |
| 1.2. LAKTACIJSKA ŽUTICA                                  | 15 |
| 1.3. GILBERTOV SINDROM                                   | 16 |
| 1.4. INTENZIVIRANA HIPERBILIRUBINEMIJA                   | 17 |
| 1.5. PROLONGIRANA HIPERBILIRUBINEMIJA                    | 17 |
| 1.6. HEMOLITIČKA BOLEST NOVOROĐENČADI                    | 18 |
| 1.7. BILIRUBINSKA ENCEFALOPATIJA                         | 18 |
| <b>2. CILJ ISTRAŽIVANJA</b>                              | 21 |
| <b>3. MATERIJALI I METODE</b>                            | 23 |
| 3.1. Ustroj istraživanja                                 | 24 |
| 3.2. Mjesto istraživanja                                 | 24 |
| 3.3. Ispitanici                                          | 24 |
| 3.4. Metode prikupljanja podataka                        | 24 |
| 3.5. Mjerenja i druga opažanja                           | 24 |
| 3.5.1. Primarne mjere ishoda                             | 25 |
| 3.5.2. Sekundarne mjere ishoda                           | 25 |
| 3.6. Statistička analiza podataka                        | 26 |
| <b>4. REZULTATI</b>                                      | 27 |

|                                          |           |
|------------------------------------------|-----------|
| <b>5. RASPRAVA .....</b>                 | <b>36</b> |
| <b>6. ZAKLJUČCI .....</b>                | <b>41</b> |
| <b>7. POPIS CITIRANE LITERATURE.....</b> | <b>43</b> |
| <b>8. SAŽETAK.....</b>                   | <b>49</b> |
| <b>9. SUMMARY.....</b>                   | <b>51</b> |
| <b>10. ŽIVOTOPIS.....</b>                | <b>54</b> |

## ***Zahvale***

*Hvala najljepša mentorici, doc. dr .sc. Orjeni Žaji, na aktivnoj pomoći, stručnim savjetima i dobroj volji pri izradi diplomskog rada.*

*Zahvalila bih svojoj obitelji, posebice sestri Ines, također liječnici, na potpori tijekom ovog akademskog putovanja.*

*Zahvaljujem i svojim prijateljicama i zaručniku, bez kojih bi ovo životno razdoblje bilo nezamislivo.*

**Popis oznaka i kratica:**

STB – engl. serum total bilirubin, hrv. ukupni serumski bilirubin

HDL – engl. high density lipoprotein, hrv. lipoprotein velike gustoće

Apo-D – apolipoprotein D

UGT – uridin-difosfat glukoronozil transferaza

mRNA – engl. messenger RiboNucleic Acid

*UGT1A1* – gen za uridin-difosfat glukoronozil transferazu 1, polipeptid A1

TA – timin adenin

LDL – engl. low density lipoprotein, hrv. lipoprotein male gustoće

GS – Gilbertov sindrom

CN – sindrom Crigler-Najjar

DAT – direktni antiglobulinski test

CMV – citomegalovirus

G-6PD – glukoza-6 fosfat dehidrogenaza

TORCH – Toxoplasma, Other (hrv. ostalo), Rubella, Citomegalovirus, Herpes simplex

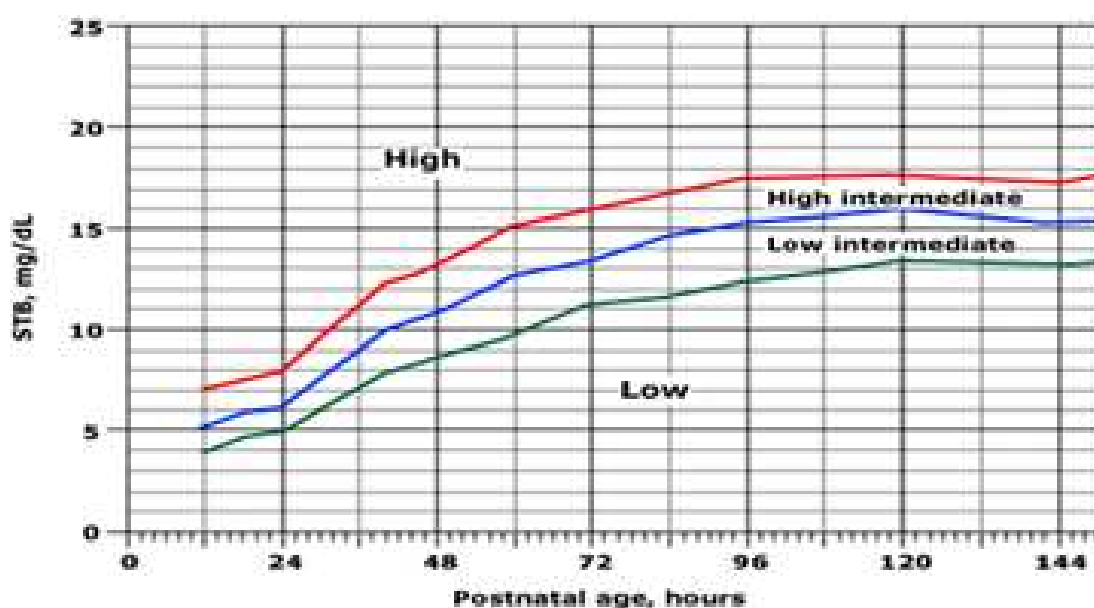
BIND – bilirubinom inducirana neurološka disfunkcija

## **1. UVOD**

## 1.1. Novorođenačka hiperbilirubinemija

Novorođenačka hiperbilirubinemija čest je entitet u kliničkoj praksi pedijataru i neonatologa te zbog svoje kompleksnosti ustraje kao jedna od vodećih briga za liječnike, ali i za roditelje (1,2). Novorođenačka hiperbilirubinemija je rezultat neravnoteže između nastajanja i uklanjanja bilirubina, kojoj pridonosi fiziološki pojačano stvaranje bilirubina u novorođenačkoj dobi (3).

Hiperbilirubinemija u novorođenčeta rođenog poslije 35. tjedna gestacije može se definirati kao serumska koncentracija ukupnog bilirubina iznad 95. centile u određenom satu postnatalnog života prema Bhutanijevom nomogramu (4).



**Slika 1.1.** Normogram koncentracija ukupnog, prema satu specifičnog, serumskog bilirubina u zdrave terminske novorođenčadi (STB = serum total bilirubin, eng.) (4)

Tri linije označavaju 95., 75. i 40. centilnu krivulju koncentracija serumskog bilirubina. Visoka zona rizika se nalazi iznad 95. centile, visoka intermedijarna zona od 75. do 95. centile, niska intermedijarna od 40. do 75. centile., te zona niskog rizika ispod 40. centile (Slika 1.1.). Novorođenčad sa serumskom koncentracijom bilirubina u zoni visokog rizika su pod rizikom za razvoj klinički značajne hiperbilirubinemije koja zahtijeva daljnju evaluaciju i terapijsku intervenciju (4).

### **1.1.1. Epidemiologija**

Novorođenačka hiperbilirubinemija jedan je od najčešćih razloga ponovnog prijema novorođenčadi u bolnice, unatoč pokušajima da se razotkriju rizici za klinički važnu hiperbilirubinemiju prije otpusta (1). 20-50% terminske novorođenčadi i više od 50% nedonoščadi ima manifestnu žuticu, a svako novorođenče ima hiperbilirubinemiju (5,6).

Čak dvije trećine novorođenčadi na prsima ima značajno povišen bilirubin, a u polovici njih ikterus je i klinički vidljiv. Tijekom prvih 3 do 10 dana života, hiperbilirubinemija s vrijednostima ukupnog serumskog bilirubina iznad 205  $\mu\text{mol/l}$  je tri puta češća u dojene novorođenčadi u odnosu na novorođenčad hranjenu adaptiranim mliječnim pripravcima (1). Postoje velike razlike među izvještajima o učestalosti značajne hiperbilirubinemije u novorođenačkoj dobi. Razlog tome je multifaktorijalna etiologija poremećaja, stoga na učestalost značajno utječu rasne razlike ispitivane populacije, društvena svijest o važnosti dojenja, time i udio majki koje doje, a svakako određen utjecaj imaju i metodološke razlike u dostupnoj literaturi (1).

### **1.1.2. Metabolizam bilirubina novorođenčadi**

Bilirubin se u novorođenčetu stvara 2-3 puta brže nego u tijelu odrasle osobe. Uzrok tomu je kraći životni vijek bilirubina (90 dana naspram 120 dana u odraslih) i visok hematokrit (veća masa eritrocita) (5). Metabolizam bilirubina se tijekom prvih mjesec dana života mijenja iz fetalnog obrasca, kad je placenta glavni put izlučivanja liposolubilnog, nekonjugiranog bilirubina, u adultni obrazac u kojem se hidrosolubilni, konjugirani oblik bilirubina, izlučuje iz hepatocita putem bilijarnog stabla u probavni trakt (1).

Oko 75% bilirubina nastaje fiziološkom razgradnjom hemoglobina eritrocita čiji je životni vijek na izmaku, a preostalih 25% razgradnjom hema drugih spojeva koji nisu hemoglobin (npr. mioglobin), preranim raspadanjem stanica neuspjele eritropoeze, te razgradnjom drugih spojeva kao što su citokrom, katalaza, peroksidaza (5,6).

Pojačan katabolizam hema je važan doprinos hiperbilirubinemiji prva 4 dana nakon rođenja (3). Bilirubin nastaje kao raspadni produkt hema. U fagocitnim stanicama retikuloendotelnog sustava hem oksigenaza otvara tetrapirolski prsten te nastaje biliverdin i ugljikov monoksid. Biliverdin zatim bude reduciran u bilirubin djelovanjem biliverdin reduktaze. Hem oksigenazu induciraju upalni medijatori kod nedonoščadi s respiratornim

distres sindromom ili bronhopulmonalnom displazijom, dodatno opterećujući nezreli novorođeni organizam metabolitima prethodnicima bilirubina (7).

Nastankom u retikuloendotelnom sustavu, bilirubin putuje u svom nekonjugiranom, liposolubilnom obliku (tzv. indirektni bilirubin) te se veže za albumin (1). Malena, iako ne i zanemariva, frakcija nekonjugiranog bilirubina (9%) prenosi se u plazmi vezana za apo-D u okviru HDL frakcije kolesterola (1).

Nekonjugirani bilirubin ima i citoprotektivni i citotoksični učinak u raznim tkivima i stanicama; može imati antioksidativnu aktivnost u niskim, a oksidativnu aktivnost u visokim koncentracijama. Umjerena hiperbilirubinemija, daleko ispod granica rizičnih za kernikterus, ali s punom antioksidativnom aktivnosti koja se pripisuje nekonjugiranom bilirubinu, predstavlja fiziološku prednost u odnosu na novorođenčad hranjenu na bočicu. Nekonjugirani bilirubin pokazuje i 'anti-komplementnu' aktivnost, u koncentracijama bilirubina višima nego što je to normalno u ljudskom serumu; posreduje u interakciji C1q molekule i imunoglobulina, inhibirajući početni korak u aktivaciji komplementa klasičnim putem (8).

Nekonjugiran, bilirubin dolazi do jetrenih stanica gdje se, konjugacijom s glukuronskom kiselinom, pretvara u hidrosolubilni oblik (direktni bilirubin). Konjugirani bilirubin dolazi sa žuči u crijevo te veći dio bude izlučen iz organizma. Manji dio bilirubina beta-glukoronidaza hidrolizira u nekonjugirani oblik koji se resorbira iz crijeva natrag u portalni optok i jetru (enterohepatična cirkulacija) (5,9).

U crijevu zdrave odrasle osobe bilirubin bude podvrgnut enzimskim reakcijama. Normalna crijevna flora hidrolizira najprije dvostruke veze na ugljikovim atomima stvarajući urobilinogene odnosno sterkobilinogene, a daljnjom oksidacijom na C10 nastaju odgovarajući urobilini odnosno sterkobilini; time se blokira moguća apsorpcija bilirubina iz crijeva (enterohepatička cirkulacija), posebice u novorođenčadi prije naseljavanja crijevnom florom. Urobilin i sterkobilin odgovorni su za normalnu boju stolice i urina (1).

U enzimskoj reakciji konjugacije bilirubina posreduje uridin-difosfat glukuronozil transferaza (UGT), u kojoj se kao kosupstrat koristi se UDP-glukuronska kiselina, široko rasprostranjen unutarstanični element potekao od glukoze. Do danas je u ljudi otkriveno 9 funkcionalno aktivnih genskih zapisa mRNA (engl. messenger ribonucleic acid), ali samo je izoforma *UGT1A1* (gen za UDP-glukuronoziltransferazu 1, polipeptid A1), odgovorna za glukoroniranje bilirubina (1,10).

U fetalnom životu aktivnost UGT enzima je niska jer se izlučivanje bilirubina odvija transplacentnim prijenosom. Nakon rođenja, prateći brzi razvoj mehanizama prihvaćanja bilirubina i sazrijevanja ligandina, punu aktivnost UGT doseže već nakon nekoliko postnatalnih mjeseci. Uz prosječnu dnevnu produkciju bilirubina, potrebno je samo 25-30% od pune aktivnosti UGT, ili 1-2% normalno funkcionirajućih hepatocita (1).

Biološki sustav smješta bilirubin u sam vrh obrane organizma. Bez obzira o kojem se kemijskom obliku radi, bilirubin učinkovito uklanja peroksi radikale, suprimira oksidaciju lipida, pogotovo LDL-a, time i razvoj ateroskleroze. In vitro istraživanja Wu-a i suradnika utvrdila su kako je molekula bilirubina trideset puta učinkovitija u prevenciji oksidacije LDL-a u usporedbi s vodotopljivim vitaminom E. Klinička istraživanja ukazuju na obrnuto razmjeran odnos između umjereno povišenog bilirubina u GS (Gilbertov sindrom) i rizika za ishemičnu bolest srca, koja u populaciji iznosi 12%, a u GS samo 2%. Jedno novije epidemiološko istraživanje iznosi kako *UGT1A1*\*28 alel u homozigotnom obliku umanjuje rizik kardiovaskularnih bolesti na trećinu u odnosu na nosice divljeg, *UGT1A1*\*1 alela. Iz navedenog niče ideja da bi polimorfizam *UGT1A1* gena mogao u budućnosti biti cilj terapijske intervencije u oboljelih od ishemične bolesti srca (11,12,13).

### 1.1.3. Patofiziologija hiperbilirubinemije novorođenčadi

Hiperbilirubinemije mogu biti nekonjugirane i konjugirane. Najčešći uzroci nekonjugiranih hiperbilirubinemija su pojačana hemoliza eritrocita (intravaskularna ili ekstravaskularna) te poremećena konjugacija bilirubina, dok opstrukcija žučnih vodova i oštećenje hepatocita povisuju i nekonjugirani i konjugirani bilirubin pa žutice koje nastanu kao posljedica takvih zbivanja nazivamo kolestatskim (5).

Nekonjugirana hiperbilirubinemija može nastati ili biti intenzivirana uslijed bilo kojih od čimbenika koji:

- povećavaju dotok bilirubina u jetru (hemolitička anemija, policitemija, skraćen vijek eritrocita, povećana enterohepatička cirkulacija, infekcija)
- smanjuju ili oštećuju aktivnost enzima uključenih u metabolički proces konjugacije bilirubina u jetri (genetski poremećaji, hipoksija, infekcija, hipotireoza)
- se natječu za vezno mjesto ili blokiraju enzimске receptore za UGT (liijekovi, endobiotici koji se glukoroniraju)
- smanjuju prihvrat bilirubina u hepatocit (genetski poremećaji, nedonošenost)

Usporen prolaz mekonija, koji u 1 dL sadrži 1 mg bilirubina, potiče hiperbilirubinemiju pojačavajući enterohepatičnu cirkulaciju nakon dekonjugacije bilirubina crijevnim glukoronidazama. Lijekovi poput oksitocina ili preparata fenola, koji su često u upotrebi u porođništvu, imaju potencijal poticanja hiperbilirubinemije. I hipertrofična novorođenčad majki dijabetičarki u osnovi imaju pojačanu produkciju bilirubina (1).

U većine novorođenčadi sa žuticom nema bolesti u podlozi, a žutica se naziva fiziološkom (14).

#### **1.1.3.1. Fiziološka žutica novorođenčadi**

U sve se novorođenčadi razvija određeni stupanj hiperbilirubinemije odmah nakon rođenja zbog vrlo niske aktivnosti UGT enzima (1).

U donošene novorođenčadi koncentracija nekonjugiranog bilirubina doseže koncentraciju od 100  $\mu\text{mol/l}$  između 48 i 72 sata života, ali koncentracije bilirubina i do 200  $\mu\text{mol/l}$  u donošenog novorođenčeta, koje je inače zdravo, smatraju se normalnima. Hiperbilirubinemija novorođenčadi najčešće postaje klinički vidljiva kad je koncentracija bilirubina u serumu veća od 119,7  $\mu\text{mol/l}$  tako da samo dio novorođenčadi ima manifestnu fiziološku žuticu koja uglavnom iščezne do kraja prvog tjedna života (5,6).

Fiziološka žutica novorođenčeta nastaje kao posljedica nekoliko uzroka: velik ukupni volumen eritrocita tijekom intrauterinog života, pojačana hemoliza pri prelasku na izvanmaternični život u atmosferu s višim parcijalnim tlakom kisika, smanjena konjugacija bilirubina zbog nepotpuno zrele funkcije UGT enzima i inhibicije steroidnim hormonima iz majčina seruma, veća enterohepatična cirkulacija bilirubina te smanjena sposobnost vezanja bilirubina zbog manje količine proteina ligandina (5).

Dinamika promjena koncentracije serumskog bilirubina odvija se u dvije faze. Prva faza uključuje razdoblje od prva četiri dana života donošenog novorođenčeta, kada nekonjugirani bilirubin raste razmjerno brzo. Vrijednost indirektnog bilirubina iznosi oko 17-51  $\mu\text{mol/l}$  u prvom danu života i raste brzinom  $<8 \mu\text{mol/dl/sat}$ , stoga je kod ove djece žutica vidljiva u drugom ili trećem danu života. Maksimalne koncentracije bilirubina, koje se kreću oko 100-120  $\mu\text{mol/l}$ , postižu se otprilike između drugog i četvrtog dana, uz postupno opadanje nakon petog dana života. U petom danu života, počinje druga faza koja je obilježena uglavnom

stabilnom indirektnom hiperbilirubinemijom, čije se vrijednosti kreću oko 35-50  $\mu\text{mol/l}$  i koja traje do kraja drugog tjedna života. Nakon ovog razdoblja, koncentracija bilirubina u serumu pada na vrijednosti poput vrijednosti u zdravih odraslih osoba (1,7,15).

### **1.1.3.2. Patološka žutica novorođenčadi**

Kriteriji koji služe razlikovanju patološke od fiziološke žutice novorođenčeta su: žutica uočljiva u prva 24 sata života (icterus praecox), koncentracija bilirubina u serumu koja prelazi 255 $\mu\text{mol/l}$  u donošenog, odnosno 205 $\mu\text{mol/l}$  u nedonošenog novorođenčeta (icterus gravis), koncentracija bilirubina u serumu koja raste brže od 85 $\mu\text{mol/l}$  na dan, koncentracija direktnog bilirubina u serumu koja poraste na koncentraciju višu od 35 $\mu\text{mol/l}$  te trajanje žutice poslije kraja prvog tjedna života u donošenog, a dulje od drugog tjedna života u nedonošenog novorođenčeta (icterus prolongatus) (5).

Postoje i dodatni podaci koji mogu uputiti na nefiziološku žuticu, kao što su pozitivna obiteljska anamneza za hemolitičke bolesti, blijedilo, hepatosplenomegalija, neuspjeh normalizacije bilirubina fototerapijom, povraćanje, letargija, slabo sisanje, značajan gubitak na tjelesnoj masi, apneja, bradikardija, hipotermija, svijetla stolica, taman urin i klinički znakovi kernikterusa (1). Današnji podaci sugeriraju i da je novorođenačka hiperbilirubinemija povezana s povećanim rizikom za razvoj dijabetesa tip 1 u djetinjstvu (16).

Uzroci patološke žutice novorođenčadi prema etiologiji se razvrstavaju u nekoliko kategorija:

- pojačana hemoliza eritrocita
- poremećena konjugacija bilirubina
- hepatocelularno oštećenje
- opstrukcija bilijarnog stabla

Uzroci navedeni u prve dvije kategorije izazivaju povećanje koncentracije samo nekonjugiranog bilirubina u serumu, pa je riječ o nekonjugiranim hiperbilirubinemijama, dok u drugim dvjema dolazi do povećanja obje frakcije bilirubina te tada govorimo o kolestatskim žuticama. Uvijek valja imati na umu činjenicu da kod pojedinog djeteta navedeni mehanizmi mogu djelovati udruženo. Primjerice, tijekom sepse, uz pojačanu hemolizu, dolazi i do hepatocelularnog oštećenja (1,17).

### 1.1.3.3. Nasljedni poremećaj konjugacije bilirubina (obiteljska nekonjugirana nehemolitička hiperbilirubinemija)

Prije dolaska u crijevo, zajedno sa žuči, bilirubin se konjugira u jetri pomoću enzima uridin-difosfat glukoronozil transferaze (UGT). Aktivnost UGT enzima je nedostatna ili promijenjena u tri genetički i funkcionalno različita poremećaja: sindrom Crigler-Najjar tip I i tip II, te Gilbertov sindrom. Urođena, neopstruktivna, nehemolitička, nekonjugirana hiperbilirubinemija je karakteristika svih triju poremećaja. UGT1A1 je primarna izoforma UGT enzima koja je potrebna za glukoronidaciju bilirubina. Potpuni nedostatak UGT enzima u podlozi je sindroma Crigler-Najjar tip I, a smanjena aktivnost UGT uzrokuje sindrom Crigler-Najjar tip II (18).

Prema definiciji, sve obiteljske, kongenitalne, nehemolitičke hiperbilirubinemije, imaju uredne standardne funkcionalne testove jetre te uredan histološki nalaz jetre pri svjetlosnoj mikroskopiji (19).

U kontekstu hiperbilirubinemičnog fenotipa, sindromi se mogu shvatiti kao spektar poremećaja sa sindromom CN I na jednom, a GS na drugom, benignijem kraju tog spektra (1). Sindromi su genetski vrlo heterogeni, a zbog udruženosti više mutacija u pojedinog pacijenta, povezanost između genotipa i fenotipa nije uvijek linearna te nije uvijek jasno razgraničenje kliničkih i biokemijskih fenotipova (Tablica 1.) (1,20).

**Tablica 1.** Osnovne razlike sindroma Crigler Najjar i Gilbertovog sindroma

|                                     | CRIGLER-NAJJAR                                    |                                                   | GILBERT                     |
|-------------------------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------|-----------------------------|
|                                     | TIP I                                             | TIP II                                            |                             |
| <b>Bilirubin ukupni</b>             | 307,8-769,5 $\mu\text{mol/l}$<br>(uglavnom > 342) | 102,6-427,5 $\mu\text{mol/l}$<br>(uglavnom < 342) | 34,3-68,4 $\mu\text{mol/l}$ |
| <b>Testovi jetrene funkcije</b>     | Normalni                                          | normalni                                          | normalni                    |
| <b>Odgovor na fenobarbiton</b>      | Izostaje                                          | sniženje bilirubina<br>> 25%                      | normalizacija bilirubina    |
| <b>Kernikterus</b>                  | Čest                                              | rijedak                                           | izostaje                    |
| <b>Bilirubinske frakcije u žuči</b> | > 90%<br>Nekonjugirani                            | oko 57%<br>nekonjugirani                          | uglavnom<br>nekonjugirani   |

|                             |           |                  |                           |
|-----------------------------|-----------|------------------|---------------------------|
| <b>Aktivnost UGT enzima</b> | Odsutna   | značajno snižena | snižena na 33% od normale |
| <b>Naslijeđe</b>            | Recesivno | recesivno        | recesivno                 |

#### 1.1.4. Klinička slika

Novorođenačka hiperbilirubinemija se klinički odnosi na žutu obojenost kože i bjeloočnica, koja nastaje zbog odlaganja nekonjugiranog, apolarnog, u lipidima topivog pigmenta bilirubina u kožu novorođenčeta (1,14). Klinički vidljiva hiperbilirubinemija u odraslih postaje kada koncentracija bilirubina u serumu dosegne 34-51  $\mu\text{mol/l}$ , dok je za isto u novorođenčeta potrebna serumska koncentracija  $>85 \mu\text{mol/l}$  (18).

Žutica je obično vidljiva prvo u području lica, a zatim napreduje kaudalnije, prema trupu i ekstremitetima. 'Kramerove zone' su oblik kvantifikacije te progresije (14,21). Prema proširenosti žutice možemo približno procijeniti serumsku koncentraciju bilirubina. Ukoliko je zahvaćeno samo lice, ukupni bilirubin se kreće oko 85  $\mu\text{mol/l}$ ; širenje na srednji abdomen obično nastupa pri koncentracijama oko 250  $\mu\text{mol/l}$ , dok iznad vrijednosti bilirubina od 340  $\mu\text{mol/l}$  žutica zahvaća i tabane (1).

Ponekad uočavanje žute obojenosti kože može biti iznenađujuće teško. Novorođenčad svijetle puti može izgledati osunčano, više nego žuto, a uočavanje žutice u novorođenčadi tamnije puti je gotovo nemoguće. Kod hiperbilirubinemija koje nastaju kao posljedica jetrenih bolesti, koncentracija ukupnog bilirubina može biti promijenjiva, pa tako novorođenčad nekad može imati naizgled blago žutu obojenost kože, a zapravo imati tešku, potencijalno letalnu, jetrenu bolest. Također, u djece s jetrenom bolesti, težina hiperbilirubinemije ne korelira s ozbiljnošću jetrene bolesti. Tradicionalno, ispitivanje žutice se provodilo utvrđivanjem blijedenja na pritisak malog područja kože (često nosa), te inspekcijom bjeloočnica i nepca (21).

Postoje dva klinička oblika žutice koji nas mogu usmjeriti na vrstu hiperbilirubinemije prema dominirajućoj frakciji u podlozi. Uz indirektnu hiperbilirubinemiju boja kože je svijetlo, odnosno limun žuta, dok zelenkasto-žutu ili sivo-žutu boju povezujemo uz postojanje direktne hiperbilirubinemije, koja u bilo kojoj životnoj dobi, a poglavito kod novorođenčadi, predstavlja hitno stanje (7,22). Klinička opažanja ni u kojem slučaju ne mogu biti pouzdan pokazatelj, niti zamijeniti biokemijsko određivanje serumske koncentracije i frakcija bilirubina (1).

Nužno je pažljivo praćenje novorođenčadi kako klinička slika ne bi napredovala do akutne bilirubinske encefalopatije, čiji su simptomi posljedica toksičnog djelovanja bilirubina na središnji živčani sustav (9).

#### **1.1.5. Dijagnoza**

Koncentracije bilirubina bi se trebale tumačiti u odnosu na dob novorođenčeta u satima (9). Žutica novorođenog djeteta koja se javi prije 36. sata života, a posebno u prva 24 sata, zahtijeva ozbiljnu procjenu djetetova kliničkog stanja i laboratorijskih parametara, te otkrivanje uzroka. Puno se češće novorođenačke žutice javljaju nakon 72. sata života, traju tijekom prvog tjedna te najčešće dolazi do spontanog iščezavanja – fiziološke žutice (2).

S obzirom na to da se novorođenačka hiperbilirubinemija često dijagnosticira, sve je veća potreba za brzim i specifičnom dijagnostičkom metodom, pa se utvrđivanje koncentracije bilirubina najčešće provodi neinvazivnim, 'point-of-care', mjerenjem transkutanog bilirubina. Takav način mjerenja koji se provodi prijenosnim uređajem je klinički ekvivalentan mjerenju serumskog bilirubina u raznolikoj populaciji novorođenčadi (23). Danas postoji i jedna novija metoda koja koristi „bilirubin komplet za ispitivanje“, koji radi na principu fotoluminiscentne ugljikove senzorske sonde, ugrađene u nanopapir od bakterijske celuloze. Luminiscencija sonde se priguši u prisutnosti bilirubina i zatim ponovno oporavlja intenzitetom koji je proporcionalan koncentraciji nekonjugiranog bilirubina. Metoda je brza, specifična i isplativa, ali su za provedbu potrebni uzorci krvi novorođenčeta (24).

Mjerenje bilirubina bi se trebalo provoditi hitno (unutar 2 sata) u sve novorođenčadi sa žuticom razvijenom unutar prva 24 sata života, te nastaviti mjerenje svakih šest sati sve dok koncentracija bilirubina ne bude ispod praga za liječenje, ili barem stabilna/ u opadanju. U predviđanju značajne hiperbilirubinemije novorođenčadi, prije otpusta iz bolnice treba koristiti normograme (percentilne krivulje), temeljene na koncentracijama bilirubina u satima. Dijagnostičke metode koje se ne smatraju pouzdanim u predviđanju značajne hiperbilirubinemije su: koncentracija bilirubina u uzorku krvi pupkovine, koncentracija ugljičnog monoksida na kraju ekspirija i DAT (direktni antiglobulinski test) iz krvi pupkovine (Coombsov test) (21).

U kliničkom pristupu novorođenačkoj hiperbilirubinemiji, vrlo je važno prije otpusta iz rodilišta procijeniti postojanje rizičnih čimbenika za razvoj značajne hiperbilirubinemije. U skupine rizičnih čimbenika nisu uvršteni nasljedni poremećaji metabolizma bilirubina poput

sindroma Crigler Najjar i Gilbertovog sindroma, iako značajno pridonose riziku razvoja nefiziološke hiperbilirubinemije. Vjerojatno se pod pojmom obiteljskog opterećenja kao rizika za razvoj nefiziološke hiperbilirubinemije kriju upravo nasljedni poremećaji metabolizma bilirubina. Prema brojnim autorima smanjena aktivnost enzima UGT u nosioca polimorfizma TATA sloga tipičnog za sindrom Gilbert, kojih je u populaciji 7-15%, pogotovo u kombinaciji s drugim čimbenicima koji utječu na porast serumskog bilirubina, dovodi do razvoja nefiziološke hiperbilirubinemije (Tablica 2.) (25,26).

**Tablica 2.** Rizični čimbenici za razvoj nefiziološke hiperbilirubinemije u novorođenčadi nakon 35. tjedna gestacije

| <b>Veliki rizični čimbenici</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• serumski bilirubin &gt; 95.centile prema Bhutanijevom normogramu</li> <li>• žutica u prva 24 sata</li> <li>• hemolitička bolest (grupna nepodudarnost s pozitivnim Coombsovim testom, nasljedne hemolitičke anemije)</li> <li>• fototerapija u prethodnog djeteta</li> <li>• kefalhematom ili hematomi tijela</li> <li>• isključivo dojenje, pogotovo uz slabije napredovanje</li> <li>• gestacija 35-36 tjedana</li> <li>• azijati</li> </ul> |
| <b>Manji rizični čimbenici</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• serumski bilirubin od 90. do 95. centile prema Bhutanijevom nomogramu</li> <li>• gestacija 37-38 tjedana</li> <li>• žutica pred otpust iz rodilišta</li> <li>• prethodno dijete sa žuticom</li> <li>• hipertrofično novorođenče ili majka dijabetičarka</li> <li>• muški spol</li> </ul>                                                                                                                                                       |
| <b>Smanjeni rizik</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• serumski bilirubin &lt; 10.centile prema Bhutanijevom normogramu</li> <li>• gestacija &gt; 41 tjedana</li> <li>• prehrana isključivo adaptiranim dojenačkim pripravcima</li> <li>• boravak u rodilištu 72 sata</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                      |

Terminsko novorođenče bez rizičnih čimbenika i bez kliničkih simptoma može se pratiti samo mjerenjem serumskih koncentracija bilirubina. No, u slučaju postojanja bilo kojeg od rizičnih čimbenika, kliničkih simptoma, iznimno visokih vrijednosti bilirubina ili perzistiranja žutice nakon 10-og dana života, potrebno je proširiti dijagnostičku obradu kako bismo isključili brojna patološka stanja. Takva obrada uključuje određivanje serumske koncentracije i frakcija bilirubina, hemoglobin, retikulocite, krvnu grupu, Coombs test, periferni razmaz krvi (1,25).

### 1.1.6. Diferencijalna dijagnoza

Jedan od najvažnijih parametara za diferencijalnu dijagnozu žutice jest njena vremenska pojavnost, a u 40% inače zdrave novorođenčadi žutica se pojavljuje tijekom prvih pet dana života (1,2). Među zdravom novorođenčadi s fiziološkom ili laktacijskom žuticom, prolazna kolestaza može se dogoditi tijekom razrješenja žutice. Niže koncentracije konjugiranog bilirubina i ukupni bilirubin u opadanju, pomoći će u razlikovanju takve novorođenčadi od one s patološkom kolestazom (27).

Hiperbilirubinemija koja se pojavi u prva 24 sata života, uključujući i direktnu i indirektnu, zahtijeva obveznu daljnju evaluaciju. Može nastati uslijed fetalne eritroblastoze, krvarenja, sepse ili kongenitalnih infekcija (CMV, rubella, toksoplazma) (1).

Hemolitička bolest novorođenčadi, nasljedni nedostaci eritrocitnih enzima, nasljedni poremećaji eritrocitnog citoskeleta, pojačana enterohepatična cirkulacija bilirubina, konatalna hipotireoza, nasljedni oblici nedostatka UGT enzima i kolestatske žutice samo su neki od entiteta o kojima treba razmišljati pri pojavi novorođenačke hiperbilirubinemije (Tablica 3.) (5,9).

**Tablica 3.** Diferencijalna dijagnoza novorođenačke hiperbilirubinemije

| Nekonjugirana | Hemolitička                                                                                                                                                                                | Nehemolitička                                                                                                                                              |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|               | <p><i>Često</i></p> <p>Nepodudarnost krvne grupe: ABO, Rh faktor, minor antigeni, infekcije</p> <p><i>Rijetko</i></p> <p>Hemoglobinopatije, talasemije, hemolitičke anemije (manjak G-</p> | <p><i>Često</i></p> <p>Laktacijska žutica, novorođenče majke dijabetičarke, unutarnje krvarenje, fiziološka žutica, policitemija</p> <p><i>Rijetko</i></p> |

|                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |                                                                                              |
|--------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
|                    | 6PD), membranopatije (sferocitoza, ovalocitoza...)                                                                                                                                                                                                                                                         | Hipotireoza, imunosna trombocitopenija, Crigler-Najjar i Gilbertov sindrom, stenoza pilorusa |
| <b>Konjugirana</b> | <p><i>Često</i></p> <p>Citomegalovirusna infekcija, hiperalimentacijska kolestaza, neonatalni hepatitis, sepsa, TORCH infekcija, infekcija mokraćnog sustava</p> <p><i>Rijetko</i></p> <p>Bilijarna atrezija, cistična fibroza, infarkt jetre, metabolički poremećaji (galaktozemija, tirozinemija...)</p> |                                                                                              |

### 1.1.7. Liječenje

Terapijski pristup novorođenačkoj hiperbilirubinemiji je stupnjeviti, prvo se preporuča povećanje učestalosti dojenja, 8-12 puta na dan, koje osigurava povećanje izlučivanja bilirubina putem gastrointestinalnog trakta (1). Primjeren kalorijski unos osigurava ekspresiju *UGT1A1* u tankom crijevu kako bi se smanjila koncentracija bilirubina u serumu, stoga primjena otopine glukoze može biti prikladna i učinkovita metoda za liječenje novorođenačke hiperbilirubinemije uz istovremeno kontinuirano dojenje (28).

Novorođenčadi s neprimjerenim oralnim unosom, pretjeranim gubitkom tjelesne mase (više od 12% tjelesne mase pri rođenju), ili dehidracijom, potrebno je, uz dojenje, ponuditi obrok izdojenog majčinog mlijeka na bočicu, uz dopunu adaptiranim mliječnim pripravkom. U slučaju nedostatnog oralnog unosa, nakon kratke opservacije, parenteralno se primijenjuju glukozno-elektrolitske otopine. U slučaju umjerene ili teške dehidracije novorođenčeta, odmah se pristupa parenteralnoj rehidraciji uz nastavak hranjenja (24,25).

Osnovni cilj terapije je prevencija razvoja kernikterusa, stoga se liječenje novorođenačke hiperbilirubinemije, bez obzira na uzrok, usredotočuje na dvije osnovne mogućnosti:

- prepoznavanje novorođenčadi koja su pod povećanim rizikom za razvoj značajne hiperbilirubinemije te pravovremeno uvođenje fototerapije
- smanjenje serumskog bilirubina u novorođenčadi s ekstremnom hiperbilirubinemijom (4,25)

Fototerapija je slijedeći korak u liječenju novorođenačke hiperbilirubinemije i mogla bi biti najučinkovitija u prevenciji posljedica hiperbilirubinemije, ako se započne primijenjivati na vrijeme. Ostali načini liječenja hiperbilirubinemije su: liječenje uzroka (npr. dehidracija i spesa), imunoglobulini (u nekim slučajevima hemolitičkih anemija) i eksangvinotransfuzija u najtežim slučajevima (29,30).

Fototerapija se zasniva na sposobnosti svjetla određene valne duljine da, u koži istaložen bilirubin, strukturalnom izomerizacijom pretvori u lumibilirubin (1). Taj se postupak naziva fotoizomerizacija, njome se postiže pretvorba bilirubina u vodotopivi oblik koji se može izlučiti putem bubrega i žuči. Na taj se način učinkovito smanjuje koncentracija nekonjugiranog bilirubina i potreba za eksangvinotransfuzijom (31).

Smatrana je sigurnom intervencijom, ali ipak se povezuje s nekim komplikacijama poput 'sindroma brončanog djeteta' koji nastaje ako se koristi za terapiju djece s konjugiranom hiperbilirubinemijom, te u tom slučaju može doći do dehidracije zbog nevidljivog gubitka vode (29,32). Ako ukupni serumski bilirubin ne opada unatoč intenzivnoj fototerapiji, vrlo je vjerojatno da je hemoliza posrijedi (33).

Postoje i argumenti protiv fototerapije koji se temelje na činjenici da je bilirubin snažan antioksidans s važnom fiziološkom ulogom u novorođenčadi, te njegov manjak može uzrokovati retinopatiju nedonoščadi (34,35). Kronična plućna bolest te neurološke posljedice (intraventrikularno krvarenje, periventrikularna leukomalacija) također mogu biti posljedice manjka antioksidativne aktivnosti bilirubina. Fototerapija može dovesti i do promjena u homeostazi tekućina te utjecati na zatvaranje *ductusa arteriosus*-a (29). Istraživanja donose činjenicu da se fototerapija može povezati i s povećanim rizikom od solidnih tumora u dječjoj dobi, stoga se preporuča minimiziranje nepotrebnom izlaganju fototerapiji korištenjem preporučenih pragova (36,37). Dojenje treba nastaviti, bez obzira na potrebu za fototerapijom (9).

Farmakološki terapijski pristup podrazumijeva najčešće uporabu fenobarbitona zbog poznatih učinaka na indukciju UGT enzima, i time poticanja konjugacije i izlučivanja bilirubina (1).

Eksangvinotransfuzija je žurna terapijska intervencija koja se koristi za snižavanje koncentracije bilirubina u novorođenčadi s visokim rizikom od bilirubinske encefalopatije (25). To je invazivna terapijska metoda kojom se uklanja cirkulirajući bilirubin putem umbilikalne vene, izmijenjujući gotovo 85% volumena cirkulirajuće krvi (1).

Kriteriji za početak terapije eksangvinotransfuzijom se postavljaju pomoću krivulja koje se crtaju prema koncentraciji ukupnog serumskog bilirubina, gestacijskoj dobi novorođenčadi i dobi u satima. Treba odmah započeti s eksangvinotransfuzijom u slučaju znakova bilirubinske encefalopatije ili ukoliko je koncentracija ukupnog serumskog bilirubina  $85 \mu\text{mol/l}$  iznad inače preporučenih koncentracija prema krivuljama (33).

Komplikacije uključuju emboliju zrakom, vazospazam, infarkt, infekcije, a moguć je i smrtni ishod. Među komplikacije koje se kasnije javljaju ubraja se portalna tromboza. Iako je eksangvinotransfuzija vrlo zahtjevna, skupa i dugotrajna, predstavlja najučinkovitiji način snižavanja bilirubina, stoga u pravilno indiciranim slučajevima može biti od vitalne važnosti (1).

## 1.2. LAKTACIJSKA ŽUTICA

Laktacijska žutica je žutica zdrave dojene novorođenčadi ili novorođenčadi hranjene majčinim mlijekom. Uočava se u periodu od kasnog neonatalnog razdoblja do 4 mjeseca starosti dojenčeta (38). Dojena novorođenčad ima otprilike  $30 \mu\text{mol/l}$  više koncentracije bilirubina u serumu od novorođenčadi koja je hranjena drugim mlijekom. U oko 12% dojene djece koncentracija bilirubina poslije trećeg dana života dosegne i više od  $200 \mu\text{mol/l}$  (5).

Žutica u djece na prsima je vrsta nekonjugirane, nehemolitičke hiperbilirubinemije u zdravog novorođenčeta. Pojavljuje se u ranom obliku, koji nastane zbog manjeg kalorijskog unosa u prvim danima života - rana laktacijska žutica ili žutica zbog dojenja. Naziva se još i rana žutica na prsima ili žutica zbog izgladnjivanja (engl. breast non-feeding jaundice) te se povezuje s manjkavom ili zakašnjelom produkcijom mlijeka od strane majke, ili poteškoćama u sisanju od strane djeteta, što rezultira suboptimalnim kalorijskim unosom, gubitkom na težini i znacima dehidracije. Drugi je oblik žutica na prsima u užem smislu (engl. breast milk jaundice), entitet kliničarima poznat i kao produljena žutica u dojene djece, ili kasna laktacijska žutica. U pravilu se ustanovi u novorođenčadi koja su već izašla iz rodilišta, s vršnim koncentracijama bilirubina u drugom tjednu života, i na neki se način smatra prolongiranjem fiziološke žutice (1).

Brojne komponente majčinog mlijeka su smatrane mogućim uzrokom laktacijske žutice, kao što su pregnan- $3\alpha,20\beta$ -diol, neesterificirane masne kiseline i  $\beta$ -glukuronidaza (39).

Unatoč tome, preporučeno je nastaviti dojenje, ukoliko nema znakova infekcije, hipotireoze, galaktozemije ili jetrene disfunkcije (40). Dojenje je preporučeno prekinuti samo na 24-48 sati, u slučaju da je koncentracija bilirubina iznimno visoka ( $>300\mu\text{mol/l}$ ) (5).

### 1.3. GILBERTOV SINDROM

Opće prihvaćena klinička definicija Gilbertovog sindroma uključuje postojanje kronične, blage, ponavljajuće, nekonjugirane hiperbilirubinemije, bez jasnih znakova hemolize, strukturalne ili funkcionalne bolesti jetre (1,15,41). Učestalost homozigota u općoj populaciji Republike Hrvatske je 14%, najčešće se očituje nakon puberteta te ne zahtijeva terapijski postupak (1,18).

Gilbertov sindrom je uzrokovan čestim genetskim polimorfizmom; insercija sloga timin-adenin u promotorskoj regiji *UGT1A1* dovodi do smanjenog vezanja TATA vezujućeg proteina te smanjuje normalnu gensku aktivnost za 30-ak % (16). Uz postojanje genske osnove, okolišni čimbenici mogu provocirati očitovanje biokemijskog i kliničkog fenotipa (post, infekcija, menstrualno krvarenje, nikotinska kiselina), a neki drugi mogu manifestni fenotip prevesti u latentni (alkohol, pušenje, fenobarbiton, Clofibrat) (1).

Budući da je *UGT1A1* regija uključena, uz glukoronidaciju bilirubina, i u glukoronidaciju brojnih supstrata (lijekovi, endogeni hormoni, okolišni toksini, aromatski ugljikovodici), mutacija u ovoj regiji može značiti, osim hiperbilirubinemije, i povećan rizik od obolijevanja od raka te toksičnosti lijekova (18).

Često je u upotrebi termin “pretjerana fiziološka žutica ili nefiziološka hiperbilirubinemija novorođenčeta” za djecu u koje se u podlozi radi o manjku ili smanjenoj aktivnosti UGT, kao što je slučaj u Gilbertovom sindromu (27,42).

Pogreška u *UGT1A1* regiji, s posljedičnom oslabljenom sposobnosti UGT enzima da ukloni bilirubin, doprinosi hiperbilirubinemijskoj neurotoksičnosti u razvojnom stadiju. Kako je identificiran niz nasljednih *UGT1A1* pogrešaka koje su povezane s nedostatkom UGT aktivnosti, novi dokazi potvrdili su da je odgođena ekspresija *UGT1A1* u ranim fazama neonatalnog razvoja osjetljiv događaj koji je strogo reguliran koordiniranim intrahepatičnim i ekstrahepatičnim mehanizmima (43).

#### **1.4. INTENZIVIRANA HIPERBILIRUBINEMIJA**

Intenzivirana hiperbilirubinemija je hiperbilirubinemija ranog početka, pojavljuje se unutar prva 2 do 4 dana života. Može biti rezultat nedovoljnog unosa mlijeka, te posljedično dehidracije i relativnog gladovanja. Sve navedeno nastaje zbog neprikladnog dojenja u okviru početne prilagodbe majke i novorođenčeta, nemogućnosti dojenja na zahtjev ili djetetovog slabog refleksa sisanja (2,44).

Oko 3% novorođenčadi ima intenziviranu fiziološku hiperbilirubinemiju s vrijednostima ukupnog serumskog bilirubina iznad 250  $\mu\text{mol/l}$ , (17) dok se koncentracija serumskog bilirubina iznad 205  $\mu\text{mol/l}$  u nedonošenog novorođenčeta smatra intenziviranom hiperbilirubinemijom (icterus gravis) (1).

Kao prediktivni čimbenik za razvoj teške novorođenačke hiperbilirubinemije  $\geq 255$   $\mu\text{mol/l}$  može se mjeriti albumin iz pupkovine, čija bi koncentracija u serumu, u tom slučaju, trebala biti  $\leq 28$  g/l (45).

Postoji tijesna povezanost između intenzivirane žutice novorođenčadi, fetalnoga hidropsa, intrauterine smrti i urođene anemije, stoga se može smatrati kako su ovo različiti oblici iste bolesti koja se uglavnom pojavljuje obiteljski (46).

#### **1.5. PROLONGIRANA HIPERBILIRUBINEMIJA**

Prolongirana hiperbilirubinemija, definirana kao ona hiperbilirubinemija koja perzistira dulje od prvih 14 dana života, najčešće se nalazi u terminske dojene novorođenčadi. Ukoliko je u podlozi 'laktacijska žutica', iako nepotpuno razjašnjena, smatra se benignim stanjem. Naprotiv, prolongirana hiperbilirubinemija može biti trag ozbiljne jetrene bolesti u podlozi, te treba biti pažljivo procijenjena (14).

Prolongirana hiperbilirubinemija je posljedica učinka sastojaka majčinog mlijeka koji se natječu s bilirubinom za receptorska mjesta na UGT enzimu te povećavaju enterohepatičnu cirkulaciju bilirubina. Ova vrsta žutice ne zahtijeva terapiju u zdrave terminske novorođenčadi, ukoliko koncentracija bilirubina nije viša od 270  $\mu\text{mol/l}$  (44,47).

Produljena nekonjugirana hiperbilirubinemija češće se razvija u dojenčadi s *UGT1A1*\*6 genotipom za UGT enzim, koja su uz to hranjena majčinim mlijekom; jer ova dojenčad ima znatno veću koncentraciju serumskog bilirubina od ostalih genotipova (48).

Etiologija ovog poremećaja je kompleksna i nije u potpunosti razjašnjena. Prolongirana žutica na prsima opisana je još početkom 60-tih godina prošlog stoljeća od Ariasa, a dvadesetak godina kasnije, Odell hrabro sugerira kako se zapravo radi o infantilnoj prezentaciji Gilbertova sindroma, koji se tipično otkriva u adolescentnoj dobi. Sindrom se javlja obiteljski, a obilježen je bezazlenom, ponavljajućom, umjerenom, nekonjugiranom hiperbilirubinemijom. Činjenica da se u 70% srodnika novorođenčeta također javlja prolongirana žutica, upućuje na genetsku podlogu. Za ono vrijeme dalekovidna ideja Odella, o infantilnom fenotipu GS, nije se mogla potvrditi sve do početka 90-ih, kada je otkriven gen za *UGT1A1* i polimorfizam TATA sloga odgovoran za GS, ali i za sindrom Crigler-Najjar. Prvi izvještaj o udruženosti polimorfizma TATA sloga i prolongiranog ikterusa na prsima objavljen je 1999. godine u radu Monaghan i suradnika iz Škotske (1,42).

## **1.6. HEMOLITIČKA BOLEST NOVOROĐENČADI**

Hemolitička bolest novorođenčeta ili fetalna eritroblastozu može biti uzrokom novorođenačke hiperbilirubinemije. Najčešći uzrok jest fetomaternalna izoimunizacija na Rh eritrocitne antigene. Otkad se provodi profilaksa Rh-D izoimunizacije, sve su češće reakcije na rijetke antigene u populaciji, poput Kell, Duffy i Kidd antigena. Temelj nastanka bolesti jest prisutnost antigena naslijeđenog od oca, koje majčini eritociti ne sadržavaju (5).

Izloženost fetalnim eritrocitima se može dogoditi uslijed fetomaternalnog krvarenja tijekom trudnoće. Samo 0,1 ml fetalne krvi je dovoljno da dođe do proizvodnje majčinih protutijela. Češće ipak dolazi do izloženosti odvajanjem posteljice tijekom poroda (49). Najčešći scenarij je stoga senzibilizacija majke nakon prve trudnoće, te prvi fetus uglavnom izbjegne hemolitičkoj bolesti. Ipak, rijetko se dogodi senzibilizacija već u prvih šest mjeseci prve trudnoće, ili nakon pobačaja te invazivnih zahvata poput amniocenteze (5).

Hemoliza je praćena brzim porastom bilirubina ( $>8 \mu\text{mol/dl/sat}$ ), anemijom, blijedilom, retikulocitozom, hepatosplenomegalijom, uz pozitivnu obiteljsku anamnezu (1,50).

## **1.7. BILIRUBINSKA ENCEFALOPATIJA**

Iako nekonjugirani bilirubin ima antioksidativni učinak, što predstavlja biološku prednost, prekomjerno povišenje indirektnog bilirubina može biti neurotoksično. U vrlo malog broja djece nekonjugirani bilirubin u visokim koncentracijama može prijeći krvno-moždanu

barijeru te iz plazme prodrijeti u bazalne ganglije mozga i izazvati trajna oštećenja, nuklearni ikterus, odnosno kernikterus (51).

Nuklearni ikterus ili kernikterus patološkoanatomski je pojam koji označava žutu obojenost bazalnih ganglija mozga i hipokampusu zbog prožetosti bilirubinom. Klinička manifestacija nuklearnog ikterusa je bilirubinska encefalopatija (5).

Visoka hiperbilirubinemija ( $360\mu\text{mol/l}$ ), koja bi mogla biti uzrokom kernikterusa i neurorazvojnih komplikacija, je rijetka, zahvaća manje od 2% novorođenčadi (52). Točna koncentracija nekonjugiranog bilirubina pri kojoj isti postaje neurotoksičan nije poznata. Postoje slučajevi kada je kernikterus dokazan autopsijom novorođenčadi koja nisu imala jasno povišene koncentracije bilirubina (14).

Koncentracija slobodnog bilirubina je najvažniji faktor koji određuje prolazak bilirubina iz plazme u stanice bazalnih ganglija. Koncentracija slobodnog bilirubina posredno ovisi i o koncentraciji albumina i drugih aniona u plazmi; albumini vežu nekonjugiranu frakciju bilirubina, a anioni, kao što su hematin, žučne soli, slobodne masne kiseline (kod gladovanja i pothlađivanja novorođenčeta), i lijekovi, poput diazepama, oksacilina te furosemda, se nadmeću s bilirubinom za vezno mjesto na albuminu. Hipoksija, acidoza i hipoglikemija također pogoduju nastanku nuklearnog ikterusa (5). Dodatni rizični čimbenici uključuju nisku gestacijsku dob, hemolizu, sepsu, kefalhematom, ili druge uzroke hemoragijske dijateze, i isključivo dojenje (53).

Klinički znakovi kojima se prezentira akutna bilirubinska encefalopatija su: slabije hranjenje, letargija, abnormalni tonus (hipertonija ili hipotonija), opistotonus, piskavi plač, vrućica, cerebralni napadaji i moguća smrt (54,55). Jedan od simptoma može biti i tzv. 'kernikersko lice' koje uključuje fenomen zalazećeg sunca s retrakcijom vjeđe (Collierov znak) i distoniju lica (56). Novije studije donose spoznaju da su apneja i drugi poremećaji disanja također mogući znak izolirane rane abnormalnosti u sklopu akutne bilirubinske encefalopatije (57). U slučaju tzv. 'motorno-dominantnog' kernikterusa, koji nastaje zbog zahvaćanja gloubus palidusa i subtalamičke jezgre, pacijenti se prezentiraju atetotskim i diskinetskim oblikom cerebralne paralize (58). Bilirubinom inducirana neurološka disfunkcija (BIND), 'tihi kernikterus', definirana je blagim neurološkim poteškoćama bez klasične prezentacije kernikterusa (54). Važan klinički znak tihog kernikterusa je i slušna neuropatija (59).

S obzirom na to da su simptomi koje kernikterus uzrokuje raznoliki, uputno bi bilo koristiti naziv 'spektar poremećaja uzrokovan kernikterusom' kako bi se obuhvatile sve neurološke posljedice (60).

Teška hiperbilirubinemija i kernikterus, iako rijetko, i dalje bivaju uzrokom pobola, unatoč provođenju probira redovitim mjerenjem koncentracije bilirubina u rodilištima (61).

## **2. CILJ ISTRAŽIVANJA**

Postojanje novorođenačke hiperbilirubinemije redovito se ispituje mjerenjem koncentracija bilirubina svoj novorođenčadi prije otpusta iz rodilišta, te je ta dijagnoza jedna od najčešćih pri ponovnom prijemu novorođenčadi na pedijatrijske odjele. (1) Stoga je pravi izazov utvrditi sve moguće utjecajne faktore na pojavnost značajne hiperbilirubinemije, kako bi se isti prepoznali prije otpusta iz rodilišta i prikladno zbrinuli, te se tako spriječile moguće posljedice poput nenapredovanja na tjelesnoj masi i bilirubinske encefalopatije.

Cilj ovog istraživanja bio je istražiti obilježja intenzivirane i prolongirane hiperbilirubinemije terminske novorođenčadi, kao što su: utjecaj gubitka tjelesne mase novorođenčeta, vrste poroda, gestacijske dobi, majčine dobi, godišnjeg doba, udjela djece s dokazanim sindromom Gilbert, uroinfekcije i ostalih poremećaja na pojavnost hiperbilirubinemije u novorođenčadi i mlađe dojenčadi.

Postavljene su sljedeće hipoteze istraživanja:

1. Koncentracija bilirubina u krvi veća je u skupini novorođenčadi s intenziviranom hiperbilirubinemijom u odnosu na skupinu novorođenčadi s prolongiranom hiperbilirubinemijom
2. U populaciji terminske novorođenčadi s hiperbilirubinemijom postoji značajan udio onih koji imaju gensku pogrešku u regiji *UGT1A1*
3. Postotak gubitka tjelesne mase utječe na raniju pojavnost intenzivirane hiperbilirubinemije
4. Vrsta poroda i gestacijska dob imaju utjecaj na pojavnost hiperbilirubinemije
5. Dulji boravak u bolnici bilježi se u skupini novorođenčadi s prolongiranom hiperbilirubinemijom

### **3. MATERIJALI I METODE**

### **3.1. Ustroj istraživanja**

Provedeno je retrospektivno multicentrično istraživanje. Prema ustroju, istraživanje je kvalitativno te je prema intervenciji deskriptivnog tipa.

### **3.2. Mjesto istraživanja**

Istraživanje je provedeno na Odjelu za gastroenterologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Sestre milosrdnice u Zagrebu te na Klinici za pedijatriju KBC-a Split.

### **3.3. Ispitanici**

U ovo retrospektivno istraživanje uključeno je 100 novorođenčadi i dojenčadi, od kojih je 42 bilo hospitalizirano na Odjelu za gastroenterologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Sestre milosrdnice u Zagrebu, a 58 na Klinici za pedijatriju KBC-a Split, u razdoblju od 1. siječnja 2017. do 10. svibnja 2019.

Kriterij uključenja:

Novorođenačka hiperbilirubinemija koja je nastupila nakon otpusta iz rodilišta, te se prezentirala kao intenzivirana, s koncentracijom ukupnog bilirubina u krvi većom od 255  $\mu\text{mol/l}$ , ili kao prolongirana hiperbilirubinemija, u trajanju duljem od 14 dana.

Kriteriji isključenja:

1. Nedonošenost novorođenčeta (rođenje prije 37. tjedana gestacije)
2. Sepsa

### **3.4. Metode prikupljanja podataka**

Podaci o svim ispitanicima prikupljeni su analizom medicinske dokumentacije novorođenčadi i mlađe dojenčadi hospitalizirane na Klinike za gastroenterologiju KBC-a Sestre milosrdnice i Odjela za gastroenterologiju Klinike za pedijatriju KBC-a Split.

### **3.5. Mjerenja i druga opažanja**

Prikupljeni su sljedeći podaci:

1. Ime, prezime, spol i dob u danima za svu novorođenčad

2. Vodeća dijagnoza intenzivirane ili prolongirane hiperbilirubinemija, te sve ostale pridružene dijagnoze novorođenčeta u trenutku prijema u bolnicu
3. Rezultati DNA analize *UGT1A1*\*28 genotipa za 38-ero novorođenčadi
4. Podaci o potrebi fototerapije ili intravenske hidracijske terapije
5. Postojanje infekcije urinarnog trakta
6. Rezultati laboratorijske analize jetrenih enzima : AST (U/L 37°C, referentni interval <75), ALT (U/L 37°C, referentni interval <46) i GGT (U/L 37°C, referentni interval <200), ukupnog i konjugiranog bilirubina ( $\mu\text{mol/L}$ ), eritrocita ( $\times 10^{12}/\text{L}$ ), hemoglobina (g/L) i hematokrita (L/L)
7. Sva novorođenčad uključena u ovo istraživanje bila je rođena terminski, te je za 97-ero novorođenčadi postojao točan podatak o tjednu gestacije
8. Porodna masa u gramima prikupljena je iz otpusnih pisama sve novorođenčadi, a tjelesna masa pri prijemu u bolnicu je nedostajala za jedno novorođenče. Iz tih je podataka bila izračunata razlika porodne mase i tjelesne mase u trenutku prijema u bolnicu
9. Iz otpusnih pisama majke prikupljeni su podaci o načinu poroda (vaginalni/carski rez) i dobi majke
10. Podaci o broju dana provedenih u bolnici, sezoni poroda (proljeće, ljeto, jesen, zima) te drugim značajnim anamnestičkim podacima (postojanje hiperbilirubinemije kod starije braće ili sestara)

### **3.5.1. Primarne mjere ishoda**

Primarne mjere ishoda uključivale su ispitivanje utjecaja i povezanosti pojedinih demografskih i kliničkih obilježja na pojavnost intenzivirane i prolongirane hiperbilirubinemije.

### **3.5.2. Sekundarne mjere ishoda**

Sekundarne mjere ishoda su bile su utvrđivanje razlika u obilježjima između skupina intenzivirane i prolongirane novorođenačke hiperbilirubinemije.

### **3.6. Statistička analiza podataka**

Prikupljeni podaci uneseni su u Microsoft Excel za izradu tabličnog prikaza. Isti su statistički obrađeni programom MedCalc (version 17.9.4) uz odabranu razinu statističke značajnosti  $p < 0,05$ . Numerički podaci prikazani su aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom te medijanom i rasponom, a kategorijske varijable opisane apsolutnim brojevima i postotcima. Za usporedbu varijabli korišteni su: T-test za zavisne i nezavisne uzorke,  $\chi^2$  test, Fisherov egzaktni test za male uzorke i Kruskal-Wallis test za usporedbu neovisnih uzoraka različite veličine. Za izračun korelacije između varijabli korišten je Spearmanov test korelacije jer testirane varijable nisu imale linearnu vezu i nisu bile u potpunosti normalno distribuirane.

#### **4. REZULTATI**

Na Odjelu gastroenterologije Klinike za pedijatriju KBC-a Sestre milosrdnice u Zagrebu i na Klinici za pedijatriju KBC-a Split, u promatranom razdoblju od 1. siječnja 2017. do 10. svibnja 2019. godine, hospitalizirano je 100 novorođenčadi pod dijagnozom intenzivirane ili prolongirane hiperbilirubinemije.

Od ukupnog broja djece 68 (68%) imalo je NHI (novorođenačku hiperbilirubinemiju intenziviranu), a 32 (32%) NHP (novorođenačku hiperbilirubinemiju prolongiranu).

**Tablica 4.** Prikaz dobi majke, gestacijske dobi i vrste poroda u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije

|                                 | Ukupno<br>(n=100) | Hiperbilirubinemija     |                        | p      |
|---------------------------------|-------------------|-------------------------|------------------------|--------|
|                                 |                   | Intenzivirana<br>(n=68) | Prolongirana<br>(n=32) |        |
| <b>Gestacijska dob</b> (tjedni) | 39                | 39                      | 39                     |        |
| Medijan, min-maks               | (37-42)           | (37-42)                 | (37-42)                |        |
| <b>Dob majke</b> (godina)       | 30 ± 5,4          | 30,5 ± 5,7              | 29,5 ± 4,6             | 0,398* |
| Prosjek ± SD                    |                   |                         |                        |        |
| <b>Vrsta poroda; n (%)</b>      |                   |                         |                        |        |
| <b>vaginalni</b>                | 63 (82)           | 46 (87)                 | 17 (74)                | 0,299† |
| <b>carski rez</b>               | 13 (17)           | 7 (13)                  | 6 (22)                 |        |

\*T-test za nezavisne uzorke; † $\chi^2$  test

U Tablici 4 prikazana je dob majke, gestacijska dob i vrsta poroda u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije. Majke se nisu statistički značajno razlikovale prema dobi u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije ( $t=0,850$ ;  $p=0,398$ ). Raspodjela poroda prema vrsti statistički se nije značajno razlikovala u odnosu na skupine hiperbilirubinemije ( $\chi^2=1,1$ ;  $p=0,299$ ).

**Tablica 5.** Prikaz podataka o djeci s hiperbilirubinemijom, terapijskom pristupu i sezoni poroda u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije

|                                                                 | Ukupno<br>(n=100) | Hiperbilirubinemija     |                        | p      |
|-----------------------------------------------------------------|-------------------|-------------------------|------------------------|--------|
|                                                                 |                   | Intenzivirana<br>(n=68) | Prolongirana<br>(n=32) |        |
| <b>Spol djece; n (%)</b>                                        |                   |                         |                        | 0,173* |
| muško                                                           | 51 (51)           | 31 (46)                 | 20 (62)                |        |
| žensko                                                          | 49 (49)           | 37 (54)                 | 12 (38)                |        |
| <b>Porodna masa (g)</b><br>Prosjek ± SD                         | 3472,8 ± 358      | 3463 ± 346              | 3494 ± 387             | 0,700† |
| <b>Tjelesna masa pri hospitalizaciji (g)</b><br>Prosjek ± SD    | 3545 ± 651        | 3308 ± 475              | 4041 ± 694             |        |
| <b>Infekcija urinarnog trakta; n (%)</b>                        |                   |                         |                        | 0,482* |
| da                                                              | 18 (18)           | 14 (21)                 | 4 (12)                 |        |
| ne                                                              | 82 (82)           | 54 (79)                 | 28 (88)                |        |
| <b>Terapija; n (%)</b>                                          |                   |                         |                        |        |
| <b>fototerapija</b>                                             |                   |                         |                        | 0,019* |
| da                                                              | 56 (56)           | 44 (65)                 | 12 (37)                |        |
| ne                                                              | 44 (44)           | 24 (35)                 | 20 (63)                |        |
| <b>intravenska hidracija</b>                                    |                   |                         |                        | 0,175* |
| da                                                              | 89 (89)           | 63 (93)                 | 26 (81)                |        |
| ne                                                              | 11 (11)           | 5 (7)                   | 6 (19)                 |        |
| <b>Boravak u bolnici (dani)</b><br>Medijan (Q1-Q3;<br>min-maks) | 5<br>(3-6;1-15)   | 5<br>(3-6;1-15)         | 4,5<br>(3-6;1-13)      | 0,808* |

\*  $\chi^2$  test; † T-test za nezavisne uzorke

U Tablici 5 prikazani su podaci o djeci, terapiji i sezoni poroda u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije.

Djeca s intenziviranom i prolongiranom hiperbilirubinemijom se nisu statistički značajno razlikovala prema spolu ( $\chi^2=1,86$ ;  $p=0,173$ ).

Porodna masa djece nije se statistički značajno razlikovala u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije ( $t=0,386$ ;  $p=0,700$ ).

Tjelesnu masu djece pri hospitalizaciji nema smisla uspoređivati prema vrsti hiperbilirubinemije zbog razlike u dobi pri hospitalizaciji.

Ispitivane skupine se nisu statistički značajno razlikovale prema učestalosti infekcije. ( $\chi^2=0,494$ ;  $p=0,482$ ).

Od ukupnog broja djece s hiperbilirubinemijom:

- 89-ero (89%) je dobilo intravensku hidracijsku terapiju,
- 56-ero (56%) fototerapiju, a njih
- 10-ero (10%) nije dobilo nikakvu terapiju

Od 56-ero djece s hiperbilirubinemijom koji su dobili fototerapiju, njih 55 je istovremeno dobilo i intravensku hidracijsku terapiju. U skupini djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom 1,8 puta je češće primijenjivana fototerapija u odnosu na skupinu djece s prolongiranom hiperbilirubinemijom ( $\chi^2=5,5$ ;  $p=0,019$ ). Nismo dokazali statistički značajnu razliku u primijeni intravenske terapije među djecom s intenziviranom i prolongiranom hiperbilirubinemijom ( $\chi^2=1,84$ ;  $p=0,175$ ).

Nismo dokazali statistički značajnu razliku duljine boravka u bolnici između djece s intenziviranom i prolongiranom hiperbilirubinemijom ( $\chi^2=0,234$ ;  $p=0,808$ ).

**Tablica 6.** Prikaz prosječnih vrijednosti  $\pm$  SD porodne mase, tjelesne mase pri prijemu djeteta u bolnicu, te razlike tjelesne mase pri prijemu i porodne mase

| Hiperbilirubinemija         | Tjelesna masa djeteta (g) |                |                                 | p       |
|-----------------------------|---------------------------|----------------|---------------------------------|---------|
|                             | Porodna                   | Pri prijemu    | Razlika tjelesne mase (95% CI)  |         |
| <b>intenzivirana; n (%)</b> | 3463 $\pm$ 346            | 3308 $\pm$ 475 | -154 $\pm$ 303<br>(-228 do -80) | <0,001* |
| <b>prolongirana; n (%)</b>  | 3494 $\pm$ 387            | 4041 $\pm$ 694 | 548 $\pm$ 480<br>(374 do 720)   | <0,001* |

\*T-test za zavisne uzorke

U Tablici 6 prikazani su podaci o tjelesnoj masi djeteta u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemija.

U skupini djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom statistički je značajno, u prosjeku za 154 grama, manja tjelesna masa djece pri hospitalizaciji u odnosu na porodnu masu ( $t=4,1; p<0,001$ ). Tjelesna masa djece pala je u postotku za  $4,5\% \pm 8\%$ . U toj skupini djece nema statistički značajne korelacije apsolutnih vrijednosti razlika i razlika (%) tjelesne mase pri hospitalizaciji sa životnom dobi (Spearman's  $\rho=0,228; p=0,064$ ).

U skupini djece s prolongiranom hiperbilirubinemijom tjelesna masa djece statistički je značajno porasla, u prosjeku za 548 grama, pri prijemu u odnosu na porodnu masu ( $t=6,4; p<0,001$ ). Tjelesna masa djece je porasla u postotku za  $15,5\% \pm 13,7$ . Spearmanov koeficijent korelacije razlika tjelesnih masa u apsolutnom broju iznosi 0,741 i  $p<0,001$  sa životnom dobi, a za razlike tjelesne mase (%) sa životnom dobi iznosi 0,72 i  $p<0,001$ . Unutar ove skupine imamo negativan utjecaj vrijednosti bilirubina na razliku tjelesnih masa u apsolutnom broju, Spearmanov koeficijent korelacije iznosi -0,314;  $p=0,080$ , a za negativnu povezanost razlike tjelesne mase u % Spearmanov koeficijent korelacije iznosi -0,359, a  $p=0,044$ .

**Tablica 7.** Laboratorijski nalazi novorođenčadi s hiperbilirubinemijom

|                                                             | Ukupno<br>(n=100)           | Hiperbilirubinemija         |                             | p      |
|-------------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------|
|                                                             |                             | Intenzivirana<br>(n=68)     | Prolongirana<br>(n=32)      |        |
| <b>AST</b><br>Medijan (Q1-Q3,<br>min-maks)                  | 39<br>(31,5-51; 17-144)     | 39<br>(31-47; 17-140)       | 42,5<br>(32-68; 25-144)     | 0,124* |
| <b>ALT</b><br>Medijan (Q1-Q3,<br>min-maks)                  | 21<br>(18-29; 8-65)         | 20<br>(17-27; 8-64)         | 27<br>(21-38; 12-65)        | 0,001* |
| <b>GGT</b><br>Medijan (Q1-Q3,<br>min-maks)                  | 118<br>(84-199;<br>32-455)  | 139<br>(85-199;<br>39-455)  | 105<br>(62-185;<br>32-367)  | 0,288* |
| <b>Bilirubin, ukupni</b><br>Medijan (Q1-Q3,<br>min-maks)    | 273<br>(236-315;<br>79-472) | 288<br>(246-316;<br>79-472) | 246<br>(200-310;<br>85-358) | 0,019* |
| <b>Bilirubin,<br/>konjugirani</b><br>Medijan (min-<br>maks) | 10<br>(9-12;2-18)           | 10<br>(9-12;2-18)           | 10<br>(9-12;7-17)           | 0,742* |

|                                            |                                     |                                     |                                      |
|--------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| <b>E</b><br>Prosjeck± SD                   | 4,96 ± 0,76                         | 5,25 ±0,64                          | 4,3 ±1                               |
| <b>Hgb</b><br>Medijan (Q1-Q3,<br>min-maks) | 173<br>(145-189;<br>100-218)        | 179<br>(162-195;<br>109-218)        | 141,5<br>(128-171;<br>100-189)       |
| <b>Htc</b><br>Medijan (Q1-Q3,<br>min-maks) | 0,5<br>(0,423-0,54;<br>0,245-0,623) | 0,51<br>(0,48-0,55;<br>0,245-0,623) | 0,406<br>(0,36-0,49;<br>0,275-0,537) |

---

\*Mann-Whitney test

U Tablici 7 prikazana je povezanost laboratorijskih nalaza ukupno i u odnosu na ispitivane vrste hiperbilirubinemije.

Nismo dokazali statistički značajnu razliku nalaza AST-a ( $z=1,54$ ;  $p=0,124$ ), GGT-a ( $z=1,1$ ;  $p=0,288$ ) i bilirubina konjugiranog ( $z=0,329$ ;  $p=0,742$ ) između skupina djece s intenziviranom i prolongiranom hiperbilirubinemijom.

Od 100 djece, njih 10 imalo je AST veći od 74. Petero djece je pripadao skupini intenzivirane hiperbilirubinemije, a petero prolongirane hiperbilirubinemije.

Od ukupnog broja djece, 18-ero djece imalo je povećani GGT. 13 ih je pripadalo intenziviranoj hiperbilirubinemiji, a petero prolongiranoj.

Medijan ALT-a u skupini djece s prolongiranom hiperbilirubinemijom za 7 je veći nego u skupini djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom ( $z=3,36$ ;  $p=0,001$ ). Od ukupnog broja djece, njih 9 je imalo ALT veći od 45. Šestero djece pripadalo je skupini prolongirane, a troje intenzivirane hiperbilirubinemije.

Medijan vrijednosti bilirubina za 42 je veći u djece s intenziviranom u odnosu na djecu s prolongiranom hiperbilirubinemijom. ( $z=2,35$ ;  $p=0,019$ ).

Spearmanov koeficijent korelacije ( $\rho$ ) dobi skupine djece s hiperbilirubinemijom pokazuje da AST ( $\rho=0,151$ ;  $p=0,149$ ), GGT ( $\rho=-0,04$ ;  $p=0,729$ ), bilirubin ukupni ( $\rho=-0,187$ ;  $p=0,062$ ), bilirubin konjugirani ( $\rho=0,124$ ;  $p=0,220$ ). Ne postoji statistički značajna povezanost dobi i navedenih parametara.

Spearmanov koeficijent korelacije pokazuje statistički značajnu povezanost ALT s dobi ( $\rho=0,442$ ;  $p<0,001$ ).

Vrijednosti parametara E (eritrociti), Hgb (hemoglobin) i Htc (hematokrit) su unutar referentnih intervala za dob, te nepostojanje odstupanja u tim laboratorijskim parametrima potvrđuje odutnost hemolize u ispitivanoj skupini djece s hiperbilirubinemijom.

**Tablica 8.** Povezanost DNA-UGT analize s vrstom hiperbilirubinemije

|                       | Ukupno<br>(n=100) | Hiperbilirubinemija     |                        | p      |
|-----------------------|-------------------|-------------------------|------------------------|--------|
|                       |                   | Intenzivirana<br>(n=68) | Prolongirana<br>(n=32) |        |
| <b>DNA-UGT; n (%)</b> |                   |                         |                        |        |
| <b>6/6</b>            | 15 (39,5)         | 13 (43,3)               | 2                      |        |
| <b>6/7</b>            | 15 (39,5)         | 2 (40)                  | 3                      |        |
| <b>7/7</b>            | 8 (21)            | 5 (16,7)                | 3                      |        |
| <b>DNA-UGT; n (%)</b> |                   |                         |                        | 0,327* |
| <b>6/6 + 6/7</b>      | 30 (79)           | 25 (83)                 | 5 (62)                 |        |
| <b>7/7</b>            | 8 (21)            | 5 (17)                  | 3 (68)                 |        |

\*Fisherov egzaktni test

Za 42 ispitanika imali smo dostupan nalaz UGT-DNA analize za *UGT1A1* \*28 genotip te je za iste u Tablici 8 prikazana povezanost DNA-UGT nalaza s vrstom hiperbilirubinemije.

U strukturi DNA-UGT nalaza uočavamo da je podjednako zastupljeno nalaza 6/6 i 6/7 (39,5%;39,6%) što je za skoro 2 puta više nego DNA-UGT nalaza 7/7.

Zbog malog uzorka analizirana su djeca s nalazom DNA 6/6 i 6/7 zajedno u odnosu na djecu s DNA nalazom 7/7. Nismo dokazali statistički značajnu razliku raspodjele djece s hiperbilirubinemijom prema nalazu DNA-UGT u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije (p=0,327).

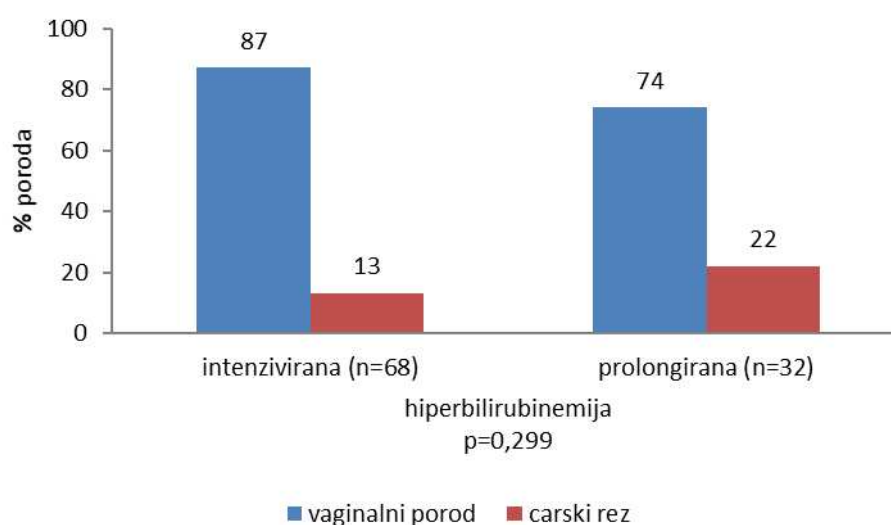
**Tablica 9.** Povezanost DNA-UGT analize i koncentracija bilirubina

|                         | DNA-UGT       |               |              | p      |
|-------------------------|---------------|---------------|--------------|--------|
|                         | 6/6<br>(n=15) | 6/7<br>(n=15) | 7/7<br>(n=8) |        |
| <b>Bilirubin ukupni</b> | 310           | 296           | 241          | 0,124* |
| Medijan (Q1-Q3;         | (264-352;     | (253-318;     | (221-309;    |        |
| min-maks)               | 79-381)       | 147-369)      | 85-335)      |        |

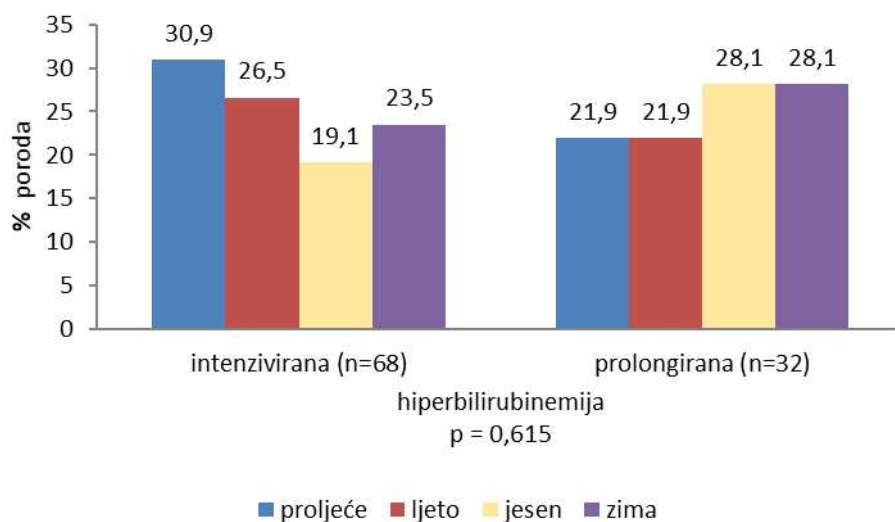
\*Kruskall-Wallis test

U Tablici 9 prikazana je povezanost DNA analize *UGT1A1*\*28 genotipa. Ne možemo sa sigurnošću zaključiti da nema razlike u koncentracijama bilirubina između skupina 6/6, 6/7 i 7/7 ( $\chi^2=4,1$ ;  $p=0,124$ ). Snaga istraživanja je mala zbog malog uzorka ( $n=42$ ).

Raspodjela poroda prema vrsti statistički se nije značajno razlikovala u odnosu na skupine hiperbilirubinemije ( $\chi^2=1,1$ ;  $p=0,299$ ) (Tablica 4, Slika 2).

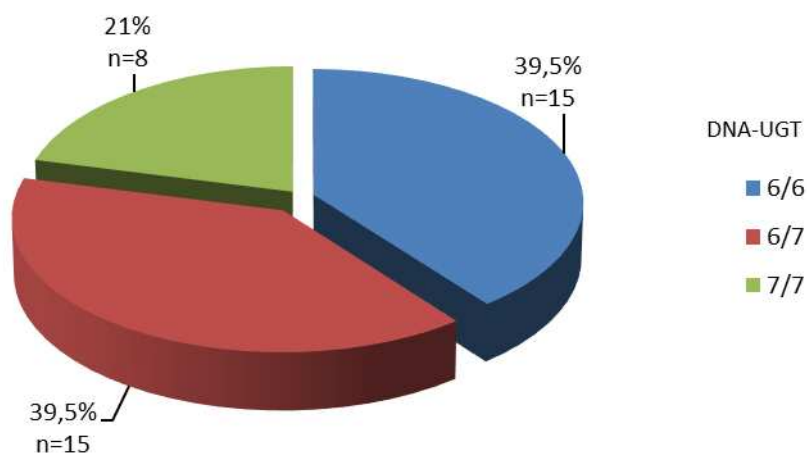
**Slika 2.** Raspodjela vrste poroda u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemija

Raspodjela djece s hiperbilirubinemijom prema godišnjem dobu nije se statistički značajno razlikovala u odnosu na promatrane skupine hiperbilirubinemije ( $\chi^2=1,80$ ;  $p=0,615$ ) (Slika 3).



**Slika 3.** Prikaz raspodjele rođenja djece s obzirom na godišnje doba između ispitivanih skupina

U strukturi DNA-UGT nalaza, u kojem je analiziran *UGT1A1*\*28 genotip uočava se da je podjednako zastupljeno nalaza 6/6 (divlji tip) i 6/7 (heterozigot) (39,5%;39,5%) što je za skoro 2 puta više nego DNA-UGT nalaza 7/7 (homozigot). (Tablica 8, Slika 4).



**Slika 4.** Prikaz raspodjele rezultata DNA-UGT analize

## **5. RASPRAVA**

Rezultati istraživanja ukazuju na veću učestalost novorođenačke intenzivirane hiperbilirubinemije (68%) u odnosu na prolongiranu hiperbilirubinemiju (32%) u ispitivanoj populaciji novorođenčadi KBC-a Sestre milosrdnice Zagreb i KBC-a Split. Bez obzira na postavljenu dijagnozu, djeca su podjednako boravila u bolnici, u prosjeku 5 dana. Također, bez obzira na vrstu hiperbilirubinemije koju je razvila, novorođenčad je najčešće bila rođena u 39. tjednu gestacije. Majke djece su pri porodu imale prosječno 30 godina, te su djecu uglavnom rodile vaginalnim putem.

Vaginalni je porod, u odnosu na porod carskim rezom, bio nešto više zastupljen u skupini djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom, ali bez statističke značajnosti. Udio poroda dovršenih carskim rezom u općoj populaciji je prosječno 27% (podatak iz KBC-a Sestre milosrdnice Zagreb i iz KBC-a Split), što je više od udjela poroda dovršenih carskim rezom u obje ispitivane skupine novorođenčadi s hiperbilirubinemijom (intenzivirana - 13%, prolongirana - 22%). Navedena razlika ukazuje na negativnu povezanost poroda carskim rezom i hiperbilirubinemije. Bertini *i sur.* u svojoj randomiziranoj studiji također iznose statistički značajno negativnu povezanost visokih koncentracija bilirubina i poroda carskim rezom (62).

U ovom retrospektivnom istraživanju ispitali smo i mogući utjecaj sezone poroda u odnosu na pojavu hiperbilirubinemije, te je utvrđena veća pojavnost intenzivirane hiperbilirubinemije u toplijem dijelu godine (57% novorođenčadi bilo je rođeno u proljetnom ili ljetnom periodu), dok je 56% novorođenčadi s prolongiranom hiperbilirubinemijom rođeno u jesenskom i zimskom dijelu godine. Nije pronađena značajno veća pojavnost u određenom godišnjem dobu, kao ni statistički značajna razlika u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije. U studiji koja je istraživala incidenciju i rizične čimbenike novorođenačke hiperbilirubinemije u Sjevernom Nepal (63) pronađeno je značajno povećanje rizika s povećanjem temperature okolnog zraka, što se djelomično može objasniti oskudnijim odijevanjem u vrućoj sezoni te time lakšim uočavanjem žute obojenosti kože novorođenčadi. Također, zbog više temperature okolnog zraka dolazi do povećane perspiracije, a time i većeg stupnja dehidracije, što je jedan od poznatih rizičnih čimbenika za nastajanje izraženije hiperbilirubinemije u novorođenčadi.

Za novorođenčad u našem istraživanju bilježilo se postojanje infekcije urinarnog trakta kako bi se utvrdio mogući utjecaj infekcije na postojanje hiperbilirubinemije. Infekciju urinarnog trakta imalo je 18% ispitivane novorođenčadi te nije pronađena statistički značajna razlika u postojanju infekcije u odnosu na ispitivane skupine hiperbilirubinemije. Navedeno nas navodi na zaključak da infekcija koja zahvaća mokraćni sustav nije značajan rizični čimbenik

za postojanje novorođenačke hiperbilirubinemije. Preer i sur. u svojoj studiji također zaključuju da u afebrilne novorođenčadi i dojenčadi s prolongiranom nekonjugiranom hiperbilirubinemijom, bez znakova ili simptoma infekcije mokraćnog sustava, daljnja dijagnostika nije indicirana (64).

Od ukupnog broja djece s hiperbilirubinemijom 89% ih je dobilo intravensku hidracijsku terapiju, a 56% fototerapiju. Njih 10% nije uopće zahtijevalo terapijsku intervenciju, ali u te se novorođenčadi preporučuju učestaliji podoji uz povećan unos tekućine peroralnim putem ili vode žličicom ili špricom, između podoja. U skupini djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom 1,8 puta je češće primijenjivana fototerapija u odnosu na skupinu djece s prolongiranom hiperbilirubinemijom, što se podudara s karakteristikama intenzivirane hiperbilirubinemije, višim koncentracijama bilirubina i ranijom pojavnošću.

U skupini djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom tjelesna masa pri hospitalizaciji bila je statistički značajno manja u odnosu na porodnu masu. Iako su to djeca hospitalizirana 2 do 15 dana nakon poroda, očekuje se da u tom razdoblju tjelesna masa teži dosezanju porodne mase. Smatra se da je pad tjelesne mase nastao uslijed povišene koncentracije bilirubina koja ometa proces hranjenja, učinkovito dojenje, i time negativno utječe na kalorijski unos. Sve zajedno u konačnici dovodi do gladovanja djeteta, gladovanjem se potiče daljnji porast koncentracije bilirubina te dolazi do nastanka 'negativnog začaranog kruga'. Upravo zbog toga potrebno je osvijestiti problem i na vrijeme, terapijskom intervencijom, prekinuti taj krug negativnih utjecaja koji može biti ugrožavajući za novorođenčad i dovesti do teške dehidracije s ozbiljnim metaboličkim komplikacijama, izvjesno i fatalnim. Budući da veće nenapredovanje na tjelesnoj masi u prva tri dana života od očekivanog, može biti predisponirajući čimbenik za novorođenačku hiperbilirubinemiju, može se iskoristiti i kao koristan biljeg za prevenciju značajne hiperbilirubinemije. Yang i sur. u svojoj studiji iznose granične vrijednosti gubitka tjelesne mase u postotcima, koji mogu poslužiti za predviđanje značajne hiperbilirubinemije u novorođenčadi. Kao granična vrijednost gubitka tjelesne mase za prvi dan života preporuča se 4,48%, za drugi 7,60% i 8,15% preporučena je granična vrijednost pada na tjelesnoj masi u trećem danu života (65). U skupini djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom nema statistički značajne korelacije razlika tjelesne mase pri porodu i pri hospitalizaciji sa životnom dobi. Ovo nas navodi na zaključak da su razlike koje su nastale posljedica utjecaja viših koncentracija bilirubina od normalnih.

U skupini djece s prolongiranom hiperbilirubinemijom tjelesna masa djece pri prijemu statistički je značajno porasla u odnosu na porodnu masu. Ovaj porast bi trebalo usporediti s

porastom tjelesne mase djece u kontrolnoj skupini bez hiperbilirubinemije, kako bi se moglo zaključiti jesu li se oni napredovali na tjelesnoj masi jednako kao i zdrava djeca ili sporije. Spearmanov koeficijent korelacije razlika tjelesne mase sa životnom dobi ukazuje na pozitivnu povezanost, dok se bilježi negativan utjecaj vrijednosti bilirubina na razliku tjelesnih masa. S obzirom na to da je Spearmanov koeficijent korelacije za životnu dob veći u odnosu na Spearmanov koeficijent korelacije za bilirubin, zaključuje se da prevladava pozitivan utjecaj dobi te djeca napreduju na tjelesnoj masi. Za postizanje boljih i točnijih rezultata u obzir dolazi primijena multiple logističke regresije, kad bismo proširili istraživanje, povećali uzorak i grupirali podatke.

U rezultatima ove studije iznijeli smo laboratorijske nalaze crvene krvne slike (eritrociti, hemoglobin, hematokrit) kako bismo zabilježili eventualnu prisutnost hemolize kao pozadinskog uzroka novorođenačke hiperbilirubinemije. Svi navedeni parametri bili su unutar referentnih intervala očekivanih za dob, te je potvrđeno nepostojanje hemolize kao uzroka novorođenačke hiperbilirubinemije u ispitivanoj populaciji.

Laboratorijska analiza jetrenih enzima (AST, ALT, GGT) učinjena je u gotovo svakog ispitivanog novorođenčeta s hiperbilirubinemijom, te su uglavnom zabilježene normalne vrijednosti istih, bez statistički značajne razlike između ispitivanih skupina hiperbilirubinemije. Ipak, u 9-ero novorođenčadi pronađene su povišene vrijednosti alanin-aminotransferaze (ALT); šestero djece pripadalo je skupini prolongirane, a troje intenzivirane hiperbilirubinemije. Zabilježene vrijednosti bile su nesignifikantno povišene, što se potvrdilo pozitivnom dinamikom nalaza. Time je isključena sumnja na postojanje jetrene lezije i potreba za daljnjom dijagnostikom u smjeru isključivanja jetrene bolesti.

U naše istraživanje uključeno je 42-je novorođenčadi iz KBC-a Sestre milosrdnice Zagreb te je njih 38-ero imalo učinjene nalaze DNA analize za gensku pogrešku UGT enzima, točnije za *UGT1A1*\*28 genotip. 58-ero novorođenčadi koja je bila hospitalizana u KBC-u Split nisu imali dostupne nalaze navedene analize. U rezultatima je prikazana zastupljenost pojedinog genotipa (6/6 – divlji tip, 6/7 – heterozigot, 7/7 – homozigot) za 38-ero novorođenčadi te se uočilo da je 60,5% novorođenčadi nositelj polimorfizma GS (Gilbertov sindrom). U usporedbi s kontrolnom skupinom zdrave djece u studiji Žaje *i sur.*, frekvencija polimorfizma GS – heterozigotnog (6/7) i homozigotnog genotipa (7/7) za promotor gena *UGT1A1* bila je 55,6% (1) te je unatoč malom uzorku novorođenčadi s analiziranim genotipom u našoj ispitivanoj populaciji, dokazana veća učestalost mutiranog genotipa. Inserirani alel A(TA)7TAA (GS alel) dovodi do smanjene ekspresije gena *UGT1A1*, time i posljedično do

smanjene ekspresije UGT enzima, što može bit jedan od ranih utjecajnih čimbenika na izraženiju kliničku pojavnost i dulje trajanje novorođenačke hiperbilirubinemije.

Analizirali smo i povezanost DNA-UGT analize s koncentracijama bilirubina te se nije moglo sa sigurnošću zaključiti o razlici u koncentracijama bilirubina između skupina 6/6, 6/7 i 7/7. Naprotiv, zabilježili smo neočekivane rezultate viših koncentracija bilirubina u skupini djece s normalnih genotipom (6/6) u odnosu na mutirani (7/7) te smatramo da je razlog tomu maleni uzorak i posljedično mala snaga istraživanja. Također, u najranijoj dobi i drugi čimbenici, uz polimorfizam GS, imaju važnu ulogu, poput neučinkovite laktacije i dehidracije, utjecaja metabolita majčinog mlijeka, slobodnih masnih kiselina itd. Utvrđeni rezultati predstavljaju dobar temelj za buduća istraživanja koja bi trebala uključiti veći broj ispitanika, poglavito veći broj molekularnih analiza, kako bi sa sigurnošću mogli potvrditi ili odbaciti klinički utemeljene razlike.

Zaključno, novorođenačka hiperbilirubinemija čest je klinički entitet koji je najčešće dobroćudne naravi i pojavljuje se u okviru prilagodbe novorođenog organizma na izvanmaternični život. Brojni su mogući utjecajni čimbenici na pojavnost novorođenačke hiperbilirubinemije. U ovom je istraživanju kao najznačajniji utvrđena razlika tjelesne mase pri hospitalizaciji i porodne mase, te postojanje GS alela u genskom zapisu novorođenčeta. Ovo istraživanje može koristiti kao podloga za buduća istraživanja, koja bi uz bolju organizaciju i veći uzorak, mogla kvalitetnije zaključiti o utvrđenim utjecajnim čimbenicima u ovoj studiji, kao i utvrditi druge značajne nasljedne, okolišne i druge čimbenike. Sve navedeno treba se iskoristiti kako bi novorođenčad bila što prikladnije obrađena, i upućena na eventualnu potrebnu dijagnostiku i praćenje, prilikom otpusta iz rodilišta.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Učestalost intenzivirane hiperbilirubinemije u ispitivanoj skupini novorođenčadi veća je od učestalosti prolongirane hiperbilirubinemije i iznosi 68%.
2. Bez obzira na vrstu hiperbilirubinemije, djeca su podjednako boravila u bolnici, u prosjeku 5 dana.
3. Novorođenčad sa značajnom hiperbilirubinemijom najčešće je bila rođena u 39. tjednu gestacije.
4. Majke djece su pri porodu imale prosječno 30 godina, te su djecu uglavnom rodile vaginalnim putem. Uočena je negativna povezanost poroda carskim rezom i hiperbilirubinemije.
5. Veća je pojavnost intenzivirane hiperbilirubinemije bila tijekom toplijih godišnjih doba (proljeće, ljeto), a intenzivirana se hiperbilirubinemija češće pojavljivala u hladnijem dijelu godine (jesen, zima).
6. Infekcija koja zahvaća mokraćni sustav nije značajan čimbenik rizika za nastanak novorođenačke hiperbilirubinemije.
7. Najčešća i najučinkovitija terapijska intervencija u novorođenčadi s hiperbilirubinemijom bila je intravenska hidracija, koju je primilo 89% novorođenčadi.
8. U skupini novorođenčadi s intenziviranom hiperbilirubinemijom tjelesna masa pri prijemu bila je značajno manja u odnosu na porodnu masu,  $-4,5\% \pm 8\%$ , čemu su najvjerojatnije uzrok visoke koncentracije bilirubina u prvih 14 dana života. Novorođenčad s prolongiranom hiperbilirubinemijom imala je tjelesnu masu pri prijemu veću u prosjeku za  $15,5\% \pm 13,7\%$  u odnosu na porodnu masu, što je povezano s pozitivnim utjecajem dobi u toj skupini.
9. U ispitivanoj skupini novorođenčadi učestalost polimorfizma GS je 60,5%, te je viša u odnosu na učestalost u kontrolnoj skupini zdrave djece, koja je iznosila 55,6%.
10. Zabilježeni su neočekivani rezultati više koncentracije bilirubina u skupini djece s divljim genotipom (6/6) u odnosu na nositelje GS polimorfizma (6/7 i 7/7), što se može pripisati većem udjelu intenzivirane hiperbilirubinemije u ionako malenom uzorku koji uvjetuje malu snagu istraživanja.

## **7. POPIS CITIRANE LITERATURE**

1. Žaja O, Tiljak MK, Štefanović M, Tumbri J, Jurčić Z. Correlation of UGT1A1 TATA-box polymorphism and jaundice in breastfed newborns-early presentation of Gilbert's syndrome. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27:844-50.
2. Zakanj Z, Juričić Z. Žutica u djece na prsima. *Paediatr Croat* 2008;52:257-62.
3. Brits H, Adendorff J, Huisamen D, Beukes D, Botha K, Herbst H i sur. The prevalence of neonatal jaundice and risk factors in healthy term neonates at National District Hospital in Bloemfontein. *Afr J Prim Health Care Fam Med.* 2018;10:1582.
4. Bhutani VK, Johnson, L, Sivieri, EM. Predictive ability of a predischage hour-specific serum bilirubin for subsequent significant hyperbilirubinemia in healthy term and near-term newborns. *Pediatrics.* 1999;103:6-8.
5. Mardešić D i sur. *Pedijatrija. Školska knjiga.* 2016. str. 333-42.
6. Kuvačić I, Kurjak A, Đelmiš J i sur. *Porodništvo. Medicinska naklada.* 2009. str. 595-6.
7. Kirk JM. Neonatal jaundice: a critical review of the role and practice of bilirubin analysis. *Ann Clin Biochem.* 2008;45:452-62.
8. Basiglio CL, Arriaga SM, Pelusa F, Almara AM. Complement activation and disease: protective effects of hyperbilirubinaemia. *Clin Sci.* 2009;118:99-113.
9. Moerschel SK, Cianciaruso LB, Tracy LR. A practical approach to neonatal jaundice. *Am Fam Physician* 2008;77:1255-62.
10. Mackenzie PI, Owens IS, Burchell B. The UDP glucosyltransferase gene superfamily: recommended nomenclature update based of evolutionary divergence. *Pharmacogenetics.* 1997;7:255-69.
11. McCarty MF. Iatrogenic Gilbert syndrome: a new strategy for reducing vascular and cancer risk by increasing plasma unconjugated bilirubin. *Medical Hypothesis.* 2007;69:974-94.
12. Wu TW, Fung KP, Yang CC. Unconjugated bilirubin inhibits the oxydation of human low density lipoprotein better than Trolox. *Life Sci.* 1994;54:477-81.
13. Vitek L, Jirsa M, Brodanova M. Gilbert syndrome and ishemic heart disease: a protective effect of elevated bilirubin levels. *Atherosclerosis.* 2002;160:449-56.
14. Okwundu C, Okoromah CA, Shah PS, Cochrane Review: Prophylactic phototherapy for preventing jaundice in preterm or low birth weight infants. *Evid Based Child Health.* 2013;8:204-49.

15. Walker WA, Durie PR, Hamilton JR, Walker-Smith JA, Watkins JB. Pediatric gastrointestinal disease: Pathophysiology, diagnosis, management. 1991;2;1262-1263.
16. Liao PF, Tsai JD, Chen HJ, Pan HH, Hung TW, Chang HY i sur. Neonatal hyperbilirubinaemia is associated with a subsequent increased risk of childhood-onset type 1 diabetes. Paediatr Int Child Health. 2019;9:1-9.
17. Watchko JF, Lin Z, Clark RH, Kelleher AS, Walker MW, Spitzer AR. Complex multifactorial nature of significant hyperbilirubinemia in neonates. Pediatrics. 2009;124:868-77.
18. Menchise AN, Balistreri WF. Inherited Deficient Conjugation of Bilirubin (Familial Nonhemolytic Unconjugated Hyperbilirubinemia). Nelson textbook of Pediatrics, 20. izdanje. Philadelphia: Elsevier, Inc.; 2016. str. 1937-2812.
19. Jurčić Z, Žaja Franulović O, Štefanović M. Nasljedne nekonjugirane hiperbilirubinemije. Pediatr Croat. 2006;50:112-21.
20. Kaplan M, Hammerman C, Maisles MJ. Bilirubin genetics for the nongeneticist: hereditary defects of neonatal bilirubin conjugation. Pediatrics. 2003;111:886-93.
21. Maisels MJ, Kring E, The contribution of hemolysis to early jaundice in normal newborns. Pediatrics. 2006;118:276-9.
22. Raić F, Votava Raić A i sur. Pedijatrijska gastroenterologija. Naklada Ljevak. 2002. str. 278-330.
23. Bhutani VK, Gourley GR, Adler S, Kreamer B, Dalin C, Johnson LH. Noninvasive measurement of total serum bilirubin in a multiracial pre-discharge newborn population to assess the risk of severe hyperbilirubinemia. Pediatrics. 2000;106:E17.
24. Tabatabaee RS, Golmohammadi H, Ahmadi SH. Easy Diagnosis of Jaundice: A Smartphone-Based Nanosensor Bioplatfrom Using Photoluminescent Bacterial Nanopaper for Point-of-Care Diagnosis of Hyperbilirubinemia. ACS Sens. 2019;26:1063-71.
25. American Academy of Pediatrics Subcommittee on Hyperbilirubinemia. Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. Pediatrics. 2004;114:297-316.
26. Monaghan G, Mclellan A, McGeehan A. Gilbert's syndrome is a contributory factor in prolonged unconjugated hyperbilirubinemia of the newborn. J Pediatr. 1999;134:441-6.
27. Woodgate P, Jardine LA, Neonatal jaundice: phototherapy. BMJ Clin Evid. 2015.

28. Aoshima N, Fujie Y, Itoh T, Tukey RH, Fujiwara R. Glucose induces intestinal human UDP-glucuronosyltransferase (UGT) 1A1 to prevent neonatal hyperbilirubinemia. *Sci Rep*. 2014;11:6343.
29. Hansen, TW. Treatment of neonatal jaundice. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2005;125:594-8.
30. Maisels M, Kring EA, Klarr, J. Comparison of the efficacy of two fiberoptic phototherapy blankets. *Pediatric Research*. 1998;43:183.
31. Rubaltelli FF, Jori G, Reddi E, Bronze baby syndrome: a new porphyrin related disorder. *Pediatric Research*. 1983;17:327-30.
32. McDonagh AF. Is bilirubin good for you? *Clinics in Perinatology*. 1990;17:359-69.
33. Aitken SL, Tichy EM, Rh(O)D immune globulin products for prevention of alloimmunization during pregnancy. *Am J Health Syst Pharm*. 2015;72:267-76.
34. Hegyi T, Goldie E, Hiatt M, The protective role of bilirubin in oxygen radical disease of the preterm infant. *Journal of Perinatology*. 1994;14:296-300.
35. Kapoor D, Singh P, Seth A. Current Perspective on Exchange Transfusion. *Indian Pediatr*. 2017;54:961-62.
36. Auger N, Laverdière C, Ayoub A, Lo E, Luu TM. Neonatal phototherapy and future risk of childhood cancer. *Int J Cancer*. 2019;10.1002/ijc.32158.
37. Wickremasinghe AC, Kuzniewicz MW, Grimes BA, McCulloch CE, Newman TB. Neonatal Phototherapy and Infantile Cancer. *Pediatrics*. 2016;137:e20151353.
38. Arias IM, Gartner LM, Seifter S, Furman M. Neonatal unconjugated hyperbilirubinaemia associated with breast-feeding and factor in milk that inhibits glucuronide formation in vitro. *J Clin Invest*. 1963;42:913.
39. Gourley GR, Arend RA.  $\beta$ -Glucuronidase and hyperbilirubinemia in breast-fed and formula-fed babies. *Lancet*. 1986;1:644-46.
40. Newman AJ, Gross S. Hyperbilirubinaemia in breast-fed infants. *Pediatrics*. 1963;32:995.
41. Watson KJR, Gollan JL. Gilbert's syndrome. *Bailliere's Clin Gastroenterol*. 1989;3:337-55.
42. Bancroft J, Kreamer B, Gourley R. Gilbert syndrome accelerates development of neonatal jaundice. *J Pediatr*. 1998;132:656-60.
43. Yueh MF, Chen S, Nguyen N, Tukey RH. Developmental, Genetic, Dietary, and Xenobiotic Influences on Neonatal Hyperbilirubinemia. *Mol Pharmacol*. 2017;91:545-53.

44. Leung AK, Sauve RS. Breastfeeding and breast milk jaundice. *J R Soc Health.* 1989;109:213-7.
45. Mishra AK, Sanyasi Naidu C. Association of cord serum albumin with neonatal hyperbilirubinemia among term appropriate-for-gestational-age neonates. *Int J Pediatr Adolesc Med.* 2018;5:142-4.
46. De Snoo K. Cause and treatment of icterus gravis neonatorum. *Monatschr. f. Geburtsh u Gynäk.* 1942;113:150.
47. Gartner LM. Breastfeeding and jaundice. *J Perinatol.* 2001;21:25-29.
48. Maruo Y, Morioka Y, Fujito H, Nakahara S, Yanagi T, Matsui K i sur. Bilirubin uridine diphosphate-glucuronosyltransferase variation is a genetic basis of breast milk jaundice. *J Pediatr.* 2014;165:3.
49. NICE Clinical Guidelines, No. 98. National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). Neonatal Jaundice, London, 2010.
50. Shortland DB, Hussey M, Chowdhury AD, Understanding neonatal jaundice: UK practice and international profile. *J R Soc Promot Health.* 2008;128:202-6.
51. Johnson LH, Bhutani VK, Brown AK, System-based approach to management of neonatal jaundice and prevention of kernicterus. *J Pediatr.* 2002;140:396-403.
52. Sumit D, van Landeghem FKH. Clinicopathological Spectrum of Bilirubin Encephalopathy/Kernicterus. *Diagnostics.* 2019;9:24.
53. Bhardwaj K, Locke T, Biringer A, Booth A, Darling E.K, Dougan S i sur. Newborn Bilirubin Screening for Preventing Severe Hyperbilirubinemia and Bilirubin Encephalopathy: A Rapid Review. *Curr. Pediatr. Rev.* 2017;13:67–90.
54. Shapiro SM. Bilirubin toxicity in the developing nervous system. *Pediatr. Neurol.* 2003;29:410–21.
55. Shapiro SM. Definition of the Clinical Spectrum of Kernicterus and Bilirubin-Induced Neurologic Dysfunction (BIND). *J. Perinatol.* 2005;25:54–9.
56. Slusher TM, Owa JA, Painter MJ, Shapiro SM. The Kernicteric Facies: Facial Features of Acute Bilirubin Encephalopathy. *Pediatr. Neurol.* 2001;44:1534.
57. Amin SB, Bhutani VK, Watchko JF. Apnea in acute bilirubin encephalopathy. *Semin. Perinatal.* 2014;38:407–11.
58. Le Pichon JB, Riordan SM, Watchko J, Shapiro SM. The Neurological Sequelae of Neonatal Hyperbilirubinemia: Definitions, Diagnosis and Treatment of the Kernicterus Spectrum Disorders (KSDs). *Curr. Pediatr. Rev.* 2017;13:199–209.

59. Rose J, Vassar R. Movement disorders due to bilirubin toxicity. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2015;20:20–5.
60. Siu S, Chan L, Kwong A. Clinical and biochemical characteristics of infants with prolonged neonatal jaundice. *Hong Kong Med J.* 2018;24:270–6.
61. Chang PW, Newman TB, Maisels MJ. Update on Predicting Severe Hyperbilirubinemia and Bilirubin Neurotoxicity Risks in Neonates. *Curr. Pediatr. Rev.* 2017;13:181–7.
62. Bertini G, Dani C, Tronchin M, Rubaltelli FF. Is breastfeeding really favoring early neonatal jaundice? *Pediatrics.* 2001;107:E41.
63. Scraftford CG, Mullany LC, Katz J, Khatry SK, LeClerq SC, Darmstadt GL i sur. Incidence and Risk Factors for Neonatal Jaundice among Newborns in Southern Nepal. *Trop Med Int Health.* 2013;18:1317–28.
64. Preer GL, Philipp BL. Understanding and managing breast milk jaundice. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 201;96:461-6.
65. Yang WCh, Zhao LL, Li YC, Chen CH, Chang YJ, Fu YC i sur. Bodyweight loss in predicting neonatal hyperbilirubinemia 72 hours after birth in term newborn infants. *BMC Pediatr.* 2013;13:145.

## **8. SAŽETAK**

**Cilj istraživanja:** Cilj istraživanja bio je istražiti obilježja intenzivirane i prolongirane hiperbilirubinemije terminske novorođenčadi.

**Ispitanici i metode:** Ovo retrospektivno istraživanje obuhvatilo je 100 novorođenčadi, od kojih je 42 s dijagnozom novorođenačke hiperbilirubinemije hospitalizirano na Odjelu za gastroenterologiju Klinike za pedijatriju KBC-a "Sestre Milosrdnice" u Zagrebu, a 58 na Klinici za pedijatriju KBC-a Split, u razdoblju od 1. siječnja 2017. do 10. svibnja 2019. godine.

**Rezultati:** U ovo istraživanje uključeno je 100 novorođenčadi i mlađe dojenčadi s dijagnosticiranom intenziviranom (68%) i prolongiranom hiperbilirubinemijom (32%) u dobi od 2 do 45 dana. U obje skupine dob majke bila je u prosjeku 30 godina. Većina je djece rođena u 39. gestacijskom tjednu, a 63% djece rođeno je vaginalnim putem poroda. Novorođenčad u skupini intenzivirane hiperbilirubinemije češće je rođena u toplijim mjesecima, od ožujka do rujna, a novorođenčad s produljenom hiperbilirubinemijom u hladnijem dijelu godine, tijekom jeseni i zime. Većina djece liječena je intravenskom hidracijom, njih 89%, a 56% djece liječeno je i fototerapijom. Utjecaj infekcije urinarnog trakta na hiperbilirubinemiju novorođenčadi nije dokazan. Laboratorijski nalazi eritrocita, hemoglobina i hemtokrita bili su unutar referentnih vrijednosti, a mali broj djece imao je nesignifikantno povišene vrijednosti jetrenih enzima. Najveća vrijednost bilirubina bila je izmjerena u skupini djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom i iznosila je 472  $\mu\text{mol} / \text{l}$ . Tjelesna masa djece s intenziviranom hiperbilirubinemijom bila je značajno niža pri prijemu u usporedbi s porođnom masom, dok su u skupini s prolongiranom hiperbilirubinemijom djeca imala veću tjelesnu masu u trenutku hospitalizacije u odnosu na porođnu masu. 42 od 100 novorođenčadi imalo je učinjenu DNA-UGT analizu za *UGT1A1*\*28 genotip. Učestalost nositelja polimorfizma za Gilbertov sindrom u ispitivanoj populaciji bila je veća od učestalosti u kontrolnoj skupini.

**Zaključak:** Novorođenačka hiperbilirubinemija značajan je klinički entitet na koji mogu utjecati brojni nasljedni, okolišni i drugi čimbenici. Od svih ispitivanih obilježja hiperbilirubinemije novorođenčadi u ovom je istraživanju najjača povezanost utvrđena u razlici tjelesne mase pri prijemu i porođne mase, koja je bila negativna u skupini intenzivirane hiperbilirubinemije, a pozitivna u novorođenčadi s prolongiranom hiperbilirubinemijom. Polimorfizam GS je važan utjecajni čimbenik na pojavnost i trajanje hiperbilirubinemije novorođenčeta. Sva ispitivana obilježja trebalo bi uzeti u obzir pri procjeni ozbiljnosti novorođenačke hiperbilirubinemije prilikom otpusta iz rodilišta, kako se ne bi propustila klinički značajna hiperbilirubinemija koja zahtijeva daljnju obradu i praćenje.

## **9. SUMMARY**

**Diploma thesis title:** Features of intensified and prolonged hyperbilirubinemia in term neonates.

**Objectives:** The aim of this study was to investigate the features of newborns on the occurrence of intensified and prolonged hyperbilirubinemia in term neonates.

**Patients and methods:** The retrospective research study included 100 term neonates, out of which 42 diagnosed with neonatal hyperbilirubinemia were hospitalized in the Department of Gastroenterology of the “Sestre Milosrdnice” University Hospital in Zagreb and 58 in the Department of Gastroenterology of the University Hospital in Split, in the period between the 1st January 2017 and 10th May 2019.

**Results:** This study included 100 neonates and younger infants with diagnosed intensified (68%) and prolonged hyperbilirubinemia (32%) in the age of 2 to 45 days. In both groups the age of the mother was in the average 30 years. All the children were born in the 39th gestation week and 63% of children were born vaginal delivery. Newborns in the group of intensified hyperbilirubinemia were more often born during the warmer months, March – September, and newborns with prolonged hyperbilirubinemia in the colder part of the year. Most children were treated with intravenous fluid supplements, 89% of them, and 56% children were also treated with phototherapy. The influence of urinary infection on newborn hyperbilirubinemia is not proven. Laboratory findings of erythrocytes, hemoglobin and hemtocrit were within the refining values, and a small number of children had insignificantly elevated liver enzymes. The highest value of bilirubin was measured in the group of intensified hyperbilirubinemia and it was 472  $\mu\text{mol/l}$ . The body mass of the newborns and infants with intensified hyperbilirubinemia was significantly lower on admission compared to the birth weight, whereas in the group of prolonged hyperbilirubinemia children had higher body mass at the time of hospitalization than the birth weight. 42 out of 100 newborns and infants had DNA-UGT analysis at *UGT1A1*\*28 genotype done. The frequency of the polymorphism carrier for Gilbert syndrome in the examined population was higher than the frequency in the control group.

**Conclusion:** Newborn hyperbilirubinemia is a significant clinical entity to which many hereditary, environmental and other factors can be affected. Of all the examined features of newborn hyperbilirubinemia, the strongest correlation was found in the difference in body weight at admission and birth weight, which is negative in the group of intensified hyperbilirubinemia and positive in newborns with prolonged hyperbilirubinemia. GS polymorphism is an important factor influencing the appearance and duration of newborn

hyperbilirubinemia. All tested features should be taken into account when assessing the severity of newborn hyperbilirubinemia when discharged from the maternity clinic, in order not to miss a clinically significant hyperbilirubinemia that requires further processing and monitoring.

## **10. ŽIVOTOPIS**

## **OSOBNİ PODACI**

**Ime i prezime:** Tea Gamberažić

**Datum rođenja:** 10. lipnja 1995.

**Mjesto rođenja:** Split, Republika Hrvatska

**Državljanstvo:** hrvatsko

**Adresa stanovanja:** Sukoišanska 23, 21 000 Split

**E-mail:** gamberazic.tea@gmail.com

## **OBRAZOVANJE:**

2001. – 2009. - Osnovna škola "Skalice" u Splitu

2009. – 2013. – V. gimnazija „Vladimir Nazor“ u Splitu

2013. – 2019. - Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

## **ZNANJA I VJEŠTINE:**

Vozačka dozvola B kategorije

Aktivno korištenje engleskog i talijanskog jezika te služenje njemačkim jezikom

## **OSTALO:**

2018. demonstratorica na Katedri za anatomiju Medicinskog fakulteta u Splitu