

- resistance and inflammation in metabolic homeostasis. *Science*. 2013;339:172-177.
55. Fortes MRP, Kunikawa CS, Marques SA. Immunology of Paracoccidioidomycosis. *Ann Bras Dermatol*. 2011;86:516-525.
 56. Travassos IR, Tabora CP. New advances in the development of a vaccine against *Paracoccidioides brasiliensis*. *Frontiers in Microbiology*. 2012;3:1-6.
 57. Bruns S, Kniemeyer O, Hasenberg M, Vishukumar A, Nietzsche S, Thywiben A, et al. Production of extracellular traps against *Aspergillus fumigatus in vitro* and in infected lung tissue is dependent on invading neutrophils and influenced by hydrophobin. *Rod A. PLoS Pathog*. 2010;6(4):e1000873(Internet).
 58. Guimaraes-Costa AB, Nascimento MTC, Froment GS, Soares RPD, Morgado FN, Conceicao-Silva F, et al. *Leishmania amazonensis* Promastigotes induce and are killed by neutrophil extracellular traps. *Proceedings National Academy of Sciences*. 2009;109:6747-6756.
 59. Alfonso L, Borges V, Cruz M, Ribeiro-Gómez FL, DosReis GA, Dutra AN, et al. Interactions with apoptotic but not with necrotic neutrophils increase parasite burden in human macrophages infected with *Leishmania amazonensis*. *J Leukocyte Biol*. 2008;84:389-396.
 60. Malawista SE, Boisfeury de AC, Naccache PH. Inflammatory gout. Observations over half a century. *The FASEB Journal*. 2011;25:4073-4078.
 61. Dos Santos SS, Spadari-Ferreira K, Almeida SR. *Paracoccidioides brasiliensis* - Induced migration of dendritic cells and subsequent T cell activation in the lung draining lymph nodes. *PLoS One*. 2011;6(5):e19690 (Internet).
 62. Shankar J, Restrepo A, Clemons KV, Stevens DA. Hormones and the resistance of women to Paracoccidioidomycosis. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24:296-313.
 63. Lora Morejón KM, Machado AC, Martínez R. Paracoccidioidomycosis in patients infected with and not infected with human immunodeficiency virus: A case controlled study. *Am J Trop Med Hyg*. 2009;80:359-366.

Gac Méd Caracas 2013;121(4):307-339

Anemias hemolíticas por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)

Dra. Aixa Müller de Soyano

e-mail: asoyano@gmail.com

RESUMEN

Se presenta una revisión de las anemias hemolíticas congénitas por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa que incluye aspectos epidemiológicos, estructura de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, genética molecular, patrón de herencia de la deficiencia, implicaciones clínicas tales como crisis hemolíticas precipitadas por drogas oxidantes e infecciones, anemias hemolíticas crónicas, ictericia y kernícterus neonatal, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y malaria, enfermedad granulomatosa crónica secundaria a la deficiencia

de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, variantes de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa a escala mundial y métodos diagnósticos. Asimismo se presentan los hallazgos clínicos, bioquímicos e inmunológicos de 396 pacientes deficientes en glucosa-6-fosfato deshidrogenasa estudiados por el autor durante varios años y extraídos de un conjunto de 2 586 pacientes con diversos tipos de anemias referidos al Instituto de Oncología y Hematología (Ciudad Universitaria de Caracas) y a la Clínica El Ávila con el objeto de hacer el diagnóstico de la etiología de la anemia. Se describen 2 familias venezolanas con anemia

ANEMIAS HEMOLÍTICAS

hemolítica e infecciones recurrentes con deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y con cuadro clínico de enfermedad granulomatosa crónica. Se describen también variantes de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa parcialmente purificadas y la caracterización bioquímica de la enzima residual de eritrocitos de pacientes venezolanos deficientes; esto permitió clasificar las enzimas de 52 pacientes de acuerdo a la clínica y los hallazgos bioquímicos en Clase I, Clase II y Clase III, de acuerdo a los criterios establecidos por la OMS. Las clases de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en pacientes deficientes se distribuyeron de la siguiente manera: Clase I: 4,9 % de los pacientes; porcentaje de actividad 7,5-13 %; Km G6P: 133-200 μM (VN: 50-70 μM), Km NADP: 3,8-4,4 μM (VN: 2,9-4,4 μM), electroforesis: tipo A. Clase II: 45,7 % de los pacientes; porcentaje de actividad: 0-10 %, Km G6P: 31-200 μM , Km NADP: 2,2-4,4 μM ; electroforesis: tipo B. Clase III: 49,6 % de los pacientes; porcentaje de actividad: 11-58 %, Km G6P: 40-73 μM , Km NADP: 1,4-2,9 μM ; electroforesis, tipo A y B. No se detectaron variantes de las clases IV y V.

Palabras clave: Deficiencia glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Genética molecular. Patrón de herencia. Deficiencia G6PD y malaria.

SUMMARY

A review of congenital hemolytic anemias due to deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase is presented. This includes epidemiological aspects, worldwide variants of glucose-6-phosphate dehydrogenase, structure and molecular genetic of the enzyme, hereditary pattern of the deficiency, clinical implications such as hemolytic crisis precipitated by oxidizing agents or infections, chronic hemolytic anemias, neonatal jaundice and kernicterus, the relationship of glucose-6-phosphate dehydrogenase and malaria, chronic granulomatous disease secondary to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and diagnostic methods. To complement the review, clinical, biochemical and immunologic findings in 288 glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patients are also described. These were diagnosed out of a population of 2 586 anemic patients evaluated at the Institute of Oncology and Hematology (University City of Caracas) and El Ávila Clinic (Caracas). Two (2) Venezuelan families with hemolytic anemia and recurrent infections, with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and chronic granulomatous disease are reported. Partially purified variants of the glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme and the biochemical characteristics of the residual enzyme obtained from erythrocytes of 52 Venezuelan patients are also described. The enzymes obtained from these patients were classified according to the clinical manifestations and the biochemical findings, following the WHO criteria. The distribution and main characteristics of these variant enzymes were as follows: Class I: 4,9 % of the patients; percentage of activity: 7,5-13 %; Km G6P: 133-200 μM

(NV [Normal Values]: 50-70 μM), Km NADP: 3,8-4,4 μM (NV [Normal Values]: 2,9-4,4 μM), electrophoresis: type A. Class II: 45,7 % of the patients; percentage of activity: 0-10 %, Km G6P: 31-200 μM , Km NADP: 2,2-4,4 μM ; electrophoresis: type B. Class III: 49,6 % of the patients; percentage of activity: 11-58%, Km G6P: 40-73 μM , Km NADP: 1,4-2,9 μM ; electrophoresis: type A y B. No variants of the classes IV y V were detected.

Key words: Deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase. Molecular genetic. Hereditary pattern. G6PD and malaria.

Abreviaturas usadas en el texto

C3	componente 3 del complemento
C4	componente 4 del complemento
CH50	complemento hemolítico 50
CHCM	concentración de hemoglobina corpuscular media
G6P	glucose-6-fosfato
G6PD	glucose-6-fosfato deshidrogenasa
GSH	glutación reducido
GSSH	glutación oxidado
Hb	hemoglobina
HCM	hemoglobina corpuscular media
Hto	hematocrito
Ig	inmunoglobulina
LDH	deshidrogenasa láctica
NBT	nitro azul tetrazolium
OMS	Organización Mundial de la Salud
PEP	fosfoenol piruvato
SGOT	transaminasa glutámica oxaloacética sérica
SGPT	transaminasa glutámica pirúvica sérica
U	unidad
UI	unidad internacional
VCM	volumen corpuscular medio
V.N.	valor normal

Nota: el resto se definen en la Figuras 1 a 6.

INTRODUCCIÓN

Los eritrocitos llevan a cabo sus funciones en un período de 120 días en el transcurso de alrededor de $1,7 \times 10^5$ ciclos circulatorios. Estas funciones requieren ATP y NADPH, los cuales deben ser producidos constantemente dentro del eritrocito por las vías metabólicas de la glicólisis (Figura 1) y la vía de las pentosas o de la hexosamonofosfato, en cuya fase inicial actúa la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) (Figura 2). El ATP y el NADPH son necesarios para mantener la forma bicóncava de las células, la concentración de cationes intracelulares, la hemoglobina en estado reducido con hierro en estado ferroso y asimismo

en estado reducido grupos de enzimas sulfidrílicas, el glutatión y componentes de la membrana. Si ocurre una deficiencia de una de las enzimas de esas vías metabólicas se limita la producción de ATP o NADPH, produciéndose alteraciones de la membrana que determinan la remoción de las células dañadas por el sistema macrofágico y por ende acortamiento de la vida del eritrocito y anemia. Las necesidades metabólicas del eritrocito son cubiertas, en su mayor parte, por la vía glicolítica y la vía de la pentosa, el ciclo del glutatión, el metabolismo de los nucleótidos y la metahemoglobina reductasa (1). Deficiencias hereditarias de las enzimas de todas esas vías han sido identificadas y muchas de ellas causan anemia hemolítica (2).

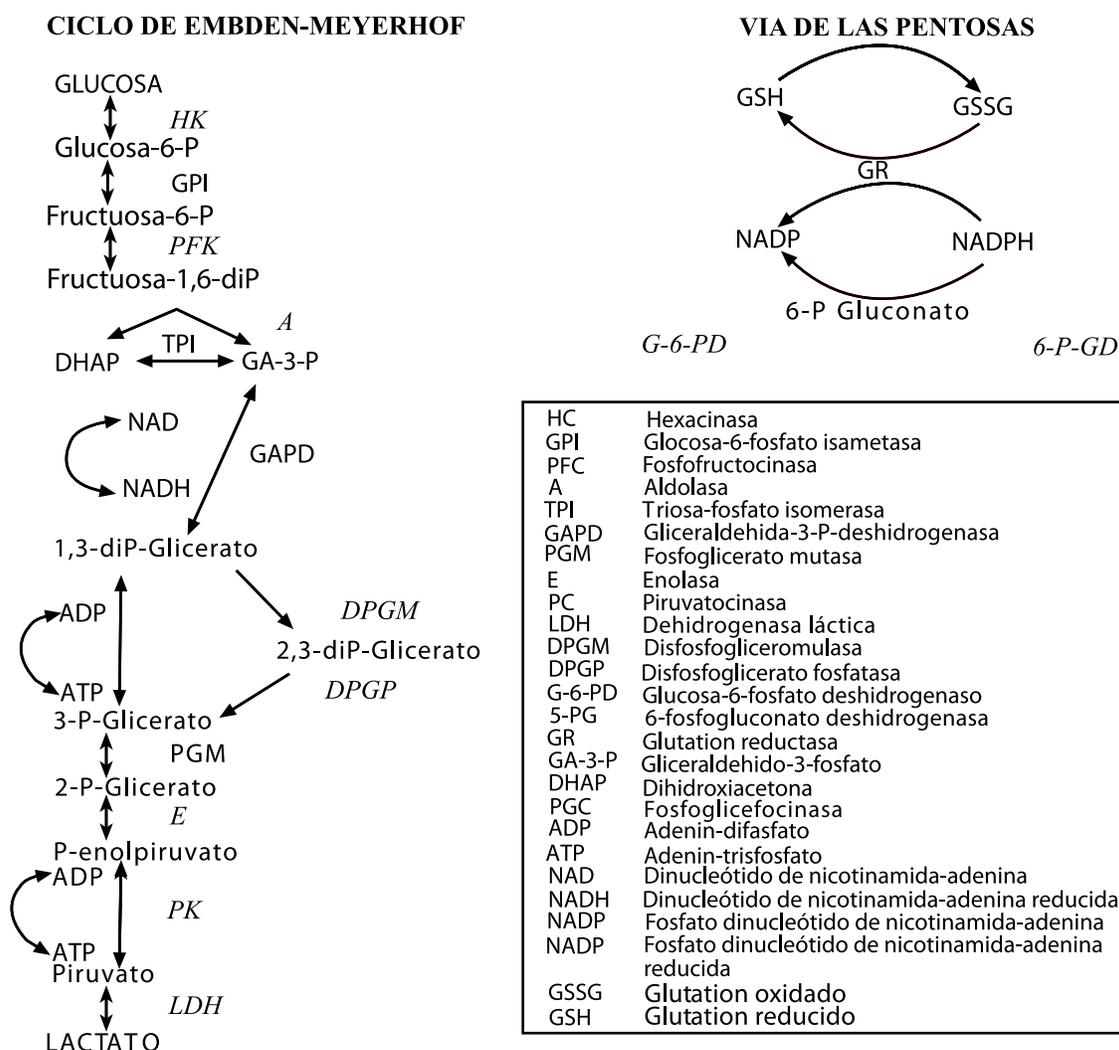


Figura 1. Vía glicolítica o ciclo de Embden-Meyerhof.

ANEMIAS HEMOLÍTICAS

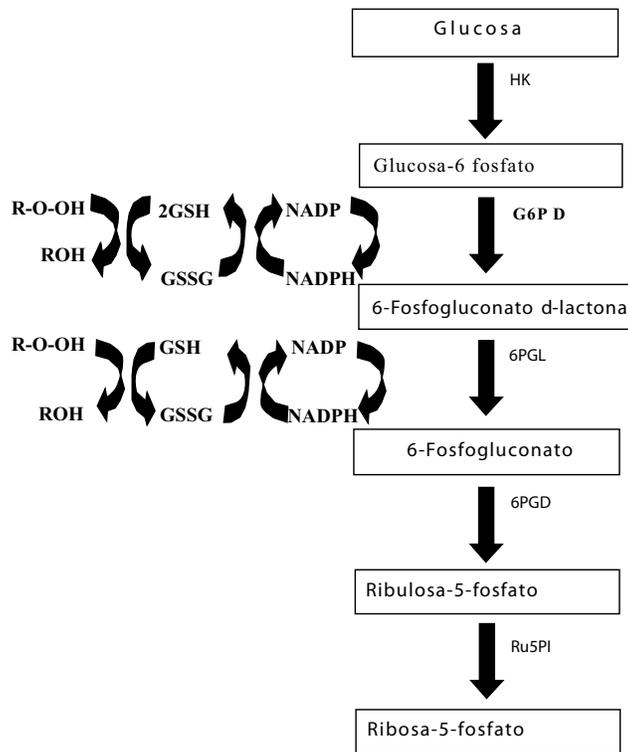


Figura 2. Fase inicial de la vía de la hexosa monofosfato o de las pentosas.

Las anemias hemolíticas congénitas por defectos enzimáticos fueron reconocidas como entidades diferentes a la ya conocida anemia hemolítica congénita por esferocitosis desde 1953, cuando Dacie llamó la atención sobre un grupo de pacientes con anemias hemolíticas congénitas, que diferían de los pacientes con anemia hemolítica congénita por esferocitosis, por no presentar en los frotis de sangre periférica los típicos esferocitos. Dacie las denominó anemias hemolíticas congénitas atípicas (3). En 1958 Newton y Bass descubrieron que uno de esos pacientes con anemia hemolítica congénita atípica era deficiente en glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) (4).

Las anemias hemolíticas por defectos enzimáticos pueden ser clasificadas en dos grandes grupos:

1. Deficiencia de G6PD y trastornos relacionados con la vía de las pentosas, y
2. Deficiencia de piruvato quinasa y trastornos de la glicólisis.

Bioquímica y metabolismo del eritrocito maduro

Los eritrocitos maduros carecen de núcleo, mitocondrias, ribosomas y otros organelos; no tienen capacidad para replicarse, no realizan síntesis proteica, ni de lípidos ni fosforilización oxidativa. Los eritrocitos maduros, con un diámetro de aproximadamente 7 micras, requieren energía para mantener la flexibilidad de su membrana celular, la cual les permite atravesar microcapilares de 3 micras de diámetro sin sufrir daños físicos y, por otro lado, mantener en su forma reducida tanto el hierro de la hemoglobina como ciertos grupos sulfidrilos del eritrocito, tales como los de determinadas enzimas, lo cual es de vital importancia, ya que la hemoglobina es capaz de transportar oxígeno solo cuando el hierro del hemo se encuentra en forma ferrosa. Esto se logra casi exclusivamente a través de la conversión de glucosa en ácido láctico a través de dos vías metabólicas, estrechamente ligadas: una vía directa (la vía glicolítica) que consume alrededor del 90 %-95 % de la glucosa que utiliza el eritrocito y que resulta fundamentalmente en la generación de ATP (Figura 1), y una vía alterna (la vía de la hexosa monofosfato

o vía de las pentosas) cuya función principal es la producción de NADPH, el cual es un agente reductor (Figura 2) (5).

Vía de la hexosa monofosfato o vía de las pentosas

La G6PD humana cataliza el primer paso de la vía de las pentosas (Figura 2), en el cual la glucosa-6-fosfato (G6P) es convertida a 6-fosfogluconato (6PG) y el NADP es reducido a NADPH (Figura 3-5); esta enzima también puede actuar sobre la glucosa o las pentosas de los nucleótidos procedentes de la hidrólisis de los ácidos nucleicos de la dieta, hasta convertirlos en CO_2 y H_2O_2 . La vía de las pentosas tiene dos fases: una oxidativa y otra no oxidativa. La fase oxidativa genera por cada molécula de glucosa dos moléculas de NADPH, una de ribulosa-5-fosfato y otra de CO_2 , con tres reacciones: la oxidación de la glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconolactona, la hidrólisis de la lactona a fosfogluconato y la descarboxilación oxidativa a ribulosa-5-fosfato. La fase no oxidativa, transforma tres azúcares fosfatados

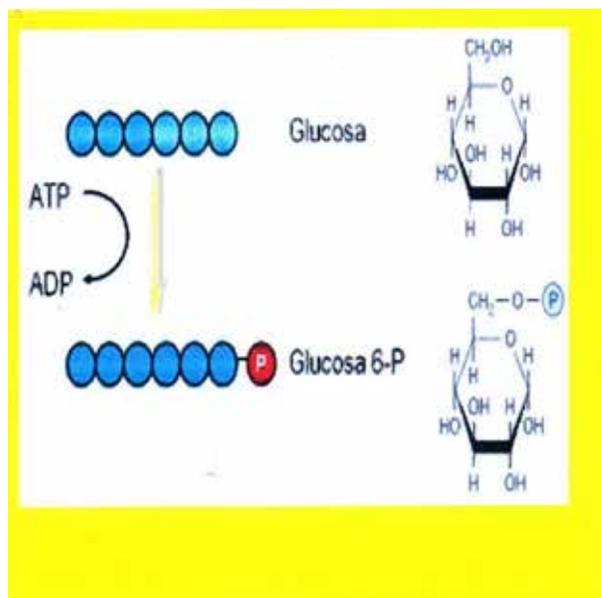


Figura 4. El grupo fosfato es transferido al carbono 6 (C6) de la glucosa-6-fosfato, el sustrato de la G6PD.

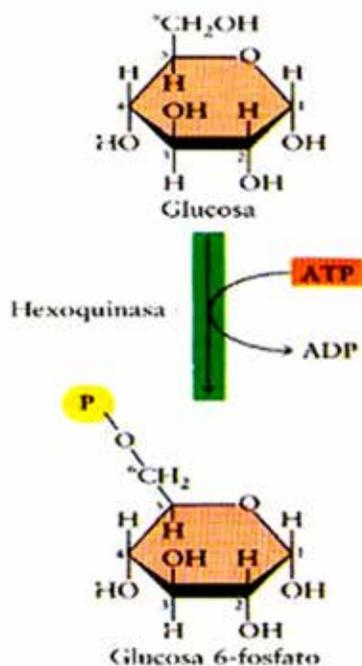


Figura 3. La glucosa en presencia de ATP y la enzima hexoquinasa es fosforilada a glucosa-6-fosfato, el sustrato de la G6PD.

de cinco carbonos en dos azúcares fosfatados de seis carbonos y un azúcar fosfatado de 3 carbonos (6). El NADPH interviene en la producción de glutatión reducido, indispensable para proteger a los eritrocitos del daño oxidativo (Figura 5 y 6) y también es de gran importancia en la biosíntesis de ácidos grasos. La vida media de la G6PD en el eritrocito es de 60 días, y es de hacer notar que el eritrocito no sintetiza G6PD *de novo* (7,8).

La deficiencia de G6PD es el defecto enzimático humano más común y uno de los trastornos genéticos más frecuentes en el mundo, estimándose que 400 millones de individuos a escala mundial portan una mutación en el gen de la G6PD que causa deficiencia enzimática (9).

La deficiencia cuantitativa o cambios en la estructura y por consiguiente en la función de algunas de las enzimas involucradas en la vía de la glicólisis, llamado también “shunt” de la hexosa monofosfato, puede dar origen a disminución del metabolismo de la glucosa a través de la vía glicolítica y por ende disminución de la producción de ATP o disminución de la generación de NADPH por la vía de las pentosas fosfato, cuyo resultado final puede ser el acortamiento de la vida media del eritrocito y por tanto la aparición de una anemia hemolítica.

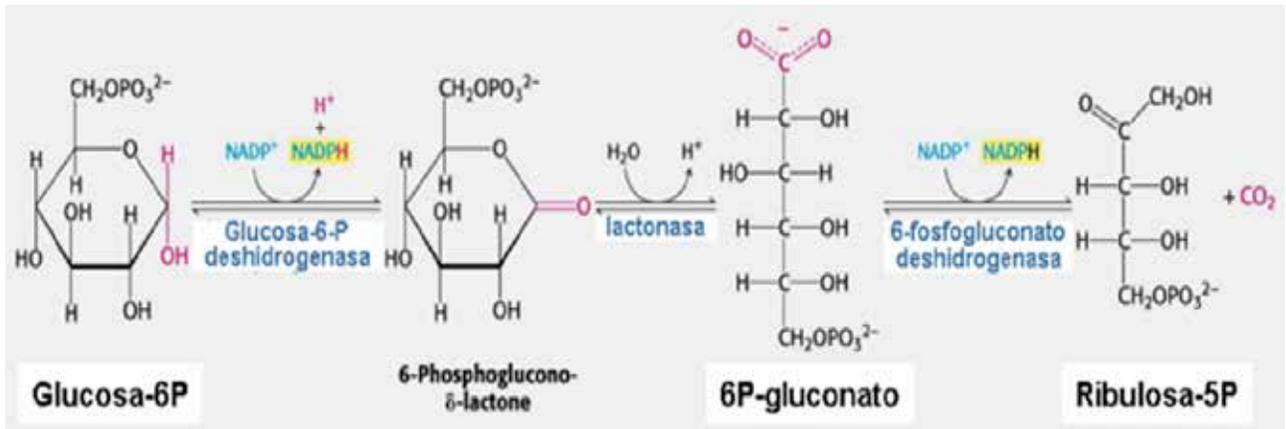
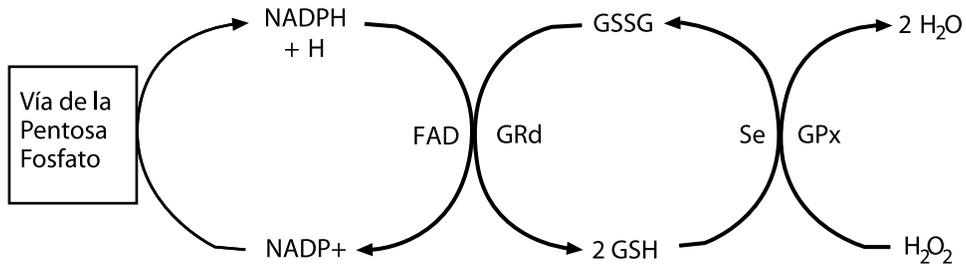


Figura 5. Oxidación de la glucosa-6-fosfato a ribulosa-6-P con producción de NADPH.



NADPH nicotin adenin dinucleótido reducido
 NADP nicotin adenin denucleótico fosfato
 GSSG glutatión oxidado
 HSG glutatión reducido
 GRd glutatión reductasa
 GPx glutatión peroxidasa
 H2O2 peróxido de hidrógeno
 FAD (flavina adenina dinucleótido)

Figura 6. Ciclo del glutatión.

El eritrocito privado de glucosa no puede funcionar ni sobrevivir. En estas condiciones el eritrocito no puede mantener el gradiente de sodio y de potasio que existe entre el medio extracelular y su medio intracelular, no puede prevenir la acumulación de calcio en su membrana, y en presencia de estrés oxidativo se le acumula metahemoglobina y glutatión oxidado. El eritrocito cambia de forma a equinocito

y posteriormente en esferocito y sucumbe a la lisis osmótica (6).

La deficiencia de otras enzimas no involucradas en las vías metabólicas anteriores, tales como la adenilato quinasa, la ribosafosfato pirofosfoquinasa y la adenosin-trifosfatasa (ATPasa), también han sido asociadas a trastornos hemolíticos, aunque su frecuencia es pequeña (5,10-13).

Deficiencias de eritroenzimas asociadas a las anemias hemolíticas congénitas

En el ciclo de la hexosa monofosfato han sido reportadas deficiencias de:

- | | |
|-------------------------------------|------------------------|
| 1. Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa | 2. Glutación reductasa |
| 3. Glutación peroxidasa | 4. Glutación sintetasa |
| 5. Glutamil-cisteín-sintetasa | |

En el ciclo glicolítico han sido descritas deficiencias de las siguientes enzimas:

- | | |
|----------------------------|------------------------------|
| 1. Piruvato quinasa | 2. Glucosa fosfato isomerasa |
| 3. Fosfofructo quinasa | 4. Aldolasa |
| 5. Triosafosfato isomerasa | 6. 2,3 difosfogliceromutasa |
| 7. Fosfoglicerato quinasa | 8. Enolasa |

Anemias hemolíticas congénitas por deficiencia de G6PD. Etiología de la hemólisis. Importancia de la producción de NADPH

Estructura de la G6PD

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa cataliza el primer paso en la vía de las pentosas; su función principal es producir o generar NADPH, un donante clave de electrones que protege al eritrocito contra el daño del estrés oxidativo e interviene en reacciones biosintéticas reductivas.

La enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa está en un equilibrio dímero \rightleftharpoons tetrámero y su estabilidad es dependiente de la concentración de NADP(+) influenciado por el pH y la fuerza iónica, explicable por la naturaleza electrostática de las superficies de contacto (14); pH >8 y fuerza iónica elevada, desplazan el equilibrio hacia el dímero mientras que a bajo pH (<6) y baja fuerza iónica, el equilibrio se inclina a favor del tetrámero. El monómero es inactivo y consiste de 514 AA y un peso molecular de 59 kDa (Figura 7a, 7b).

Estructura cristalina y tridimensional de la G6PD

La primera estructura cristalina de la G6PD se obtuvo a partir de la enzima de *Leuconostoc mesenteroides*. El monómero de la G6PD es una proteína de 485 AA. La forma activa de G6PD de *L. mesenteroides*, igual que en otros organismos, requiere al menos la forma dímica (subunidades A y B), que es una molécula muy grande (> 112 Å) (14,15).

La estructura tridimensional del dímero de la G6PD humana fue primero modelada a partir de la estructura cristalina de la G6PD de *L. mesenteroides*, lo cual permitió obtener alguna información sobre las causas de la deficiencia (15). Posteriormente,

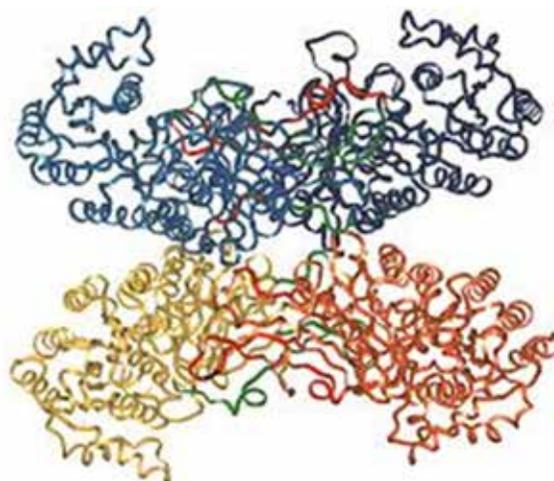


Figura 7a. Estructura tridimensional del tetrámero de la G6PD.



Figura 7b. Estructura tridimensional del dímero de la G6PD.

ANEMIAS HEMOLÍTICAS

Au y col. reportaron la primera estructura cristalina de la G6PD humana determinada para la variante Canton (Arg 459→Leu), a una resolución de 3 Å, un tetrámero conformado por dos dímeros (cuatro sub-unidades ABCD) y una topología similar a la G6PD de *L. mesenteroides* (Figura 8 y 9) (16,17).

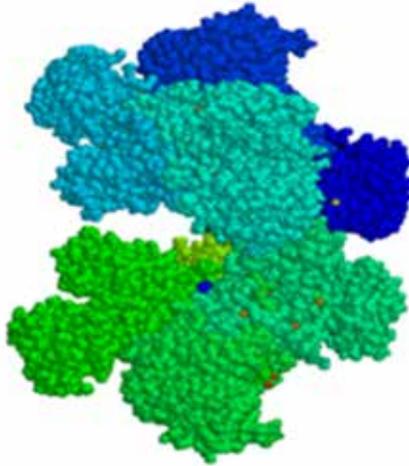


Figura 8. Estructura tridimensional.

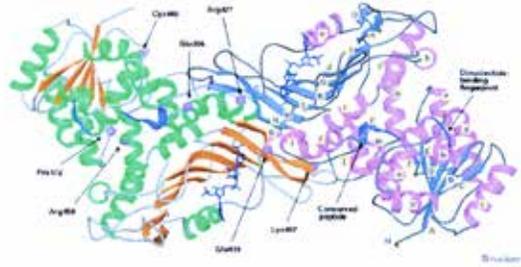


Figura 9. Estructura tridimensional de la G6PD.

La coenzima NADP

El NADP⁺ estructural que confiere estabilidad desempeña un papel dual pues hace parte de la estructura de la enzima y actúa como coenzima. El monómero de la G6PD humana tal como su homólogo

de *L. mesenteroides*, muestra un sitio de unión a la coenzima (Figura 10) (15,17).

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa es la enzima que cataliza la conversión de glucosa-6-fosfato (G6P) a 6-P-gluconolactona y al mismo tiempo reduce la

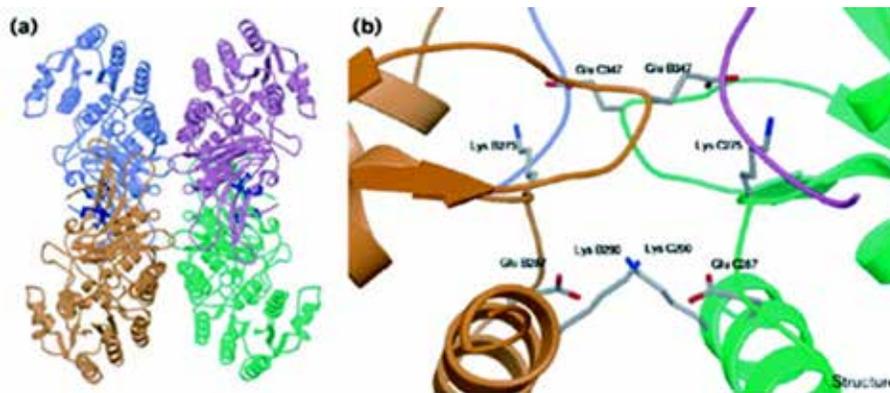


Figura 10. Estructura tridimensional de la NADP. La figura (a) muestra el tetrámero de la G6PD y en el centro el sitio de unión de la coenzima NADP. La figura (b) el sitio de unión del NADP a G6PD a mayor aumento.

coenzima NADP a NADPH (Figura 4 y 5).

El sustrato G6P puede ser utilizado ya sea a través de la vía glicolítica o ciclo de Embden-Meyerhof o a través de la vía de las pentosas o ciclo de la hexosa monofosfato. Solo una fracción muy pequeña de glucosa-6-P es utilizada a través de esta vía de las pentosas, la mayoría del flujo metabólico (90 %) es derivado hacia la vía glicolítica para generar ATP, 2,3-DPG y lactato. Hay que resaltar que la vía de las pentosas o ciclo de la hexosa monofosfato provee al eritrocito de un mecanismo reductor efectivo.

Para sobrevivir el eritrocito tiene que proteger a los grupos sulfidrilos de la hemoglobina, de la membrana eritrocítica y de sus enzimas, del daño oxidativo causado por la presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) producido normalmente por reacciones metabólicas intracelulares, o por la ingestión de drogas oxidantes. Esto lo logra manteniendo las concentraciones eritrocíticas de glutatión reducido (GSH) en cantidades adecuadas a través de la reacción de la glutatión reductasa, una de las enzimas que intervienen en el ciclo de glutatión (Figura 5).

Cuando el eritrocito es atacado por el H_2O_2 , inmediatamente actúa la glutatión peroxidasa, la cual utiliza glutatión reducido (GSH) como sustrato,

transformando el H_2O_2 en H_2O y el glutatión reducido (GSH) en glutatión oxidado (GSSG). A continuación actúa la enzima glutatión reductasa, la cual utiliza como sustrato el GSSG y como coenzima al NADPH, producido en la reacción que constituye la vía de las pentosas, donde la G6P es convertida en 6-fosfogluconato y luego en ribulosa-5-P y ribosa-5-fosfato, los cuales se emplean en la síntesis de nucleótidos.

Por cada 3 moléculas de glucosa-6-P utilizada se forman 2 moléculas de fructosa-6-P y una de gliceraldehído-3-P (Figura 2). La fructosa-6-P puede ser metabolizada a través de la glicólisis a lactato o convertida nuevamente a glucosa-6-P por la hexosa isomerasa para recomenzar el ciclo. Dos moléculas de gliceraldehído-3-P pueden ser convertidas en otras moléculas de fructosa-6-P (Figura 6) (18-20). Otras funciones de la G6PD aparecen especificadas en el Cuadro 1.

Genética de la deficiencia de G6PD

El locus del gen *G6PD*, se encuentra en la banda terminal del telómero del cromosoma X [Xq28], entre los genes del *Factor VIII* y *Visión de Color*. Este gen, una sola copia por genoma humano, posee 20

Cuadro 1
Otras funciones de la enzima G6PD en el organismo

Tipo de Proceso	Funciones
Regulación de la actividad de la proteína KU, implicada en reparar el ADN dañado por radiaciones. Desarrollo temprano del embrión. Supervivencia del feto durante la transición de la hemoglobina fetal a la adulta. Fagocitosis por neutrófilos.	Favorece el desarrollo de la placenta. Impide el daño oxidativo.
Regulación de angiogénesis.	Interviene en la generación de NADPH que actúa como donador específico de electrones para el oxígeno, se forma peróxido de hidrógeno que es directamente tóxico para los microorganismos. El NADPH se utiliza como cofactor de la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS), para mantener el óxido nítrico en concentraciones adecuadas durante el crecimiento vascular.

(21-26).

ANEMIAS HEMOLÍTICAS

kilobases con 13 exones y 12 intrones. La secuencia codificadora comienza en el exón 2, ya que el exón 1 no codifica. El ARNm consta de 2 269 nucleótidos (Figura 11-13) (27-29).

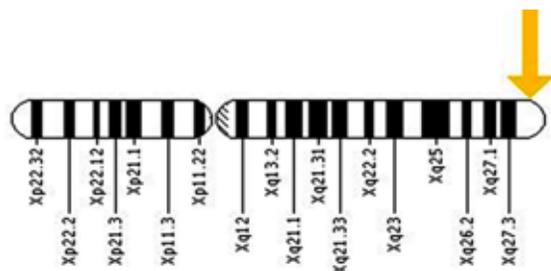


Figura 11. Diagrama esquemático del cromosoma X que muestra la región X28q y posición del locus de la G6PD.

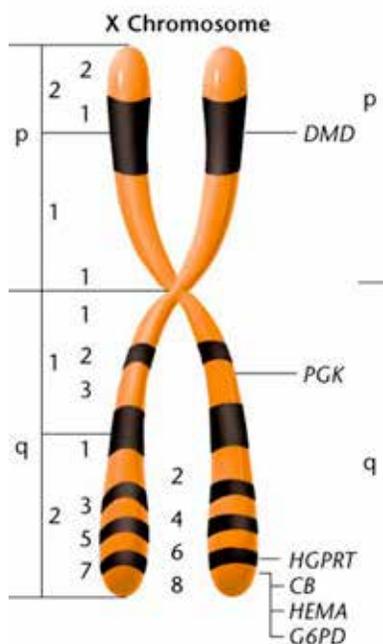


Figura 12. Representación del cromosoma X humano, donde se puede identificar el gen *G6PD* en la región 28 del brazo q del cromosoma.

La deficiencia de *G6PD* es resultado de muchas mutaciones puntuales en el gen ligado al cromosoma

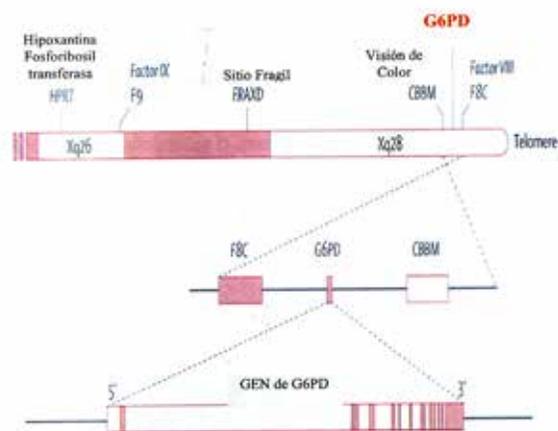


Figura 13. Representación esquemática del gen de la *G6PD* (Tomada de la ref. 30).

X que codifica la *G6PD* y es la enzimopatía más frecuente. Deficiencias graves causan anemia congénita crónica no esferocítica (14). Casi todas las deficiencias de *G6PD* son debidas a un cambio de aminoácido derivado de una mutación puntual en el ADN genómico, ocurrida en diversas regiones génicas, excepto en los exones 3 y 13. Con el objeto de entender los fundamentos moleculares de la deficiencia de *G6PD* y lograr correlacionar genotipo con fenotipo, muchas de las mutaciones puntuales deben ser analizadas en el contexto de la estructura tridimensional de la molécula (14,31).

Patrón de herencia

El gen de la *G6PD* en humanos y otros mamíferos está localizado en el cromosoma X, por lo cual la herencia está ligada al sexo, con expresión del defecto en el varón hemicigoto, en forma similar a como sucede en la hemofilia. La deficiencia de *G6PD* es transmitida a los hijos de madres que llevan una copia del gen anormal en uno de sus cromosomas X; los hijos varones que llevan el gen anormal estarán afectados (al carecer de una segunda copia), mientras que las hijas que reciben el gen son portadoras (32). Los varones pueden tener cantidades de *G6PD* normales o muy bajas (deficientes de *G6PD* hemicigotos). Las mujeres, en cambio, pueden tener cantidades de *G6PD* normales, muy bajas (deficientes de *G6PD* homocigotos) o intermedios (heterocigotas) (Figura 14) (33).

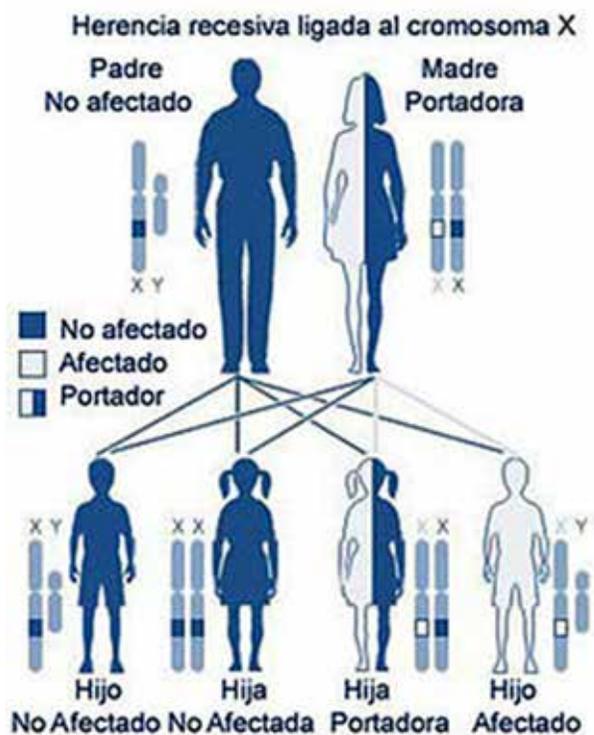


Figura 14. Representación esquemática del patrón de herencia de la deficiencia de G6PD.

Prevalencia y distribución geográfica

La deficiencia de G6PD se encuentra distribuida a escala mundial siendo la más frecuente deficiencia eritroenzimática asociada con anemia hemolítica. Su prevalencia varía de acuerdo a la población estudiada, pero se ha estimado que existen alrededor de 400 millones de personas (90 % del sexo masculino) afectadas en todo el mundo. La prevalencia más alta de la deficiencia de G6PD se encuentra en los países del África subsahariana (9,34), pero también se presenta en las regiones del Mediterráneo, el Medio Oriente, la India, Indochina, el sur de China y América (Figura 15) (9,34).

Como veremos más adelante, existen variantes de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. De todas las variantes de G6PD con actividad deficiente, las que muestran mayor importancia por su frecuencia son: la variante Africana o A-, que ocurre comúnmente en personas originarias de este continente, así como del sur de Italia, España, Portugal y la península árabe; la variante Mediterránea que se encuentra usualmente en italianos de Cerdeña y Sicilia y en griegos, judíos orientales, árabes y persas; la variante Cantón frecuente en el sur de China, la variante Seattle se ha detectado también en Cerdeña, Grecia, el sur de Italia y Estados Unidos y finalmente la variante Unión descrita en chinos y en el sur de Italia (34).

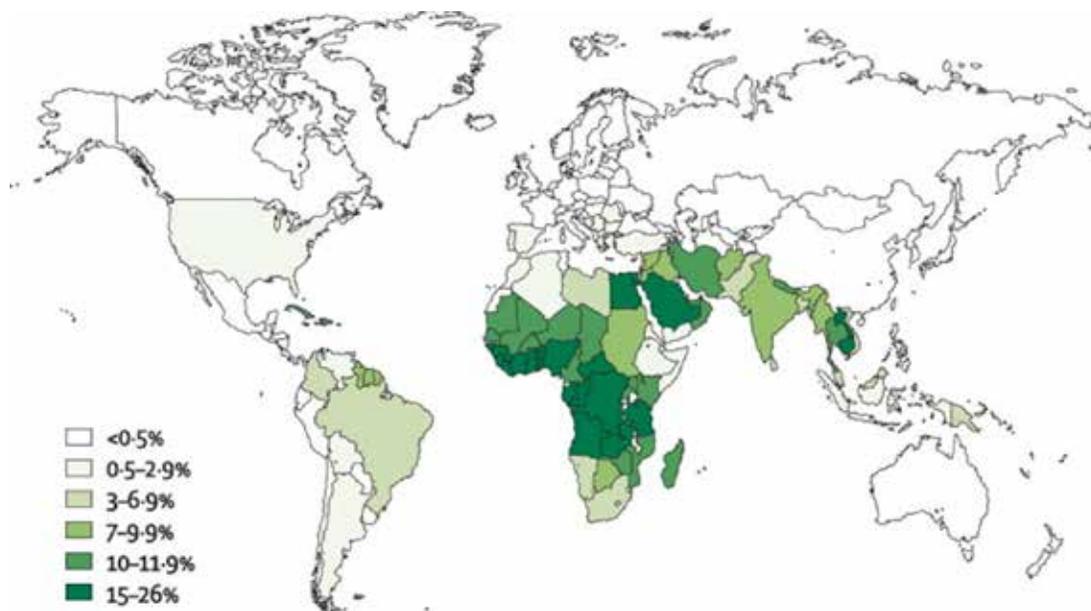


Figura 15. Prevalencia mundial de la deficiencia de G6PD (Tomado de la ref. 30).

En Suramérica se han realizado algunos estudios: en Brasil, se encontraron más frecuentemente las variantes Africana y Mediterránea (35-37); en México, luego del análisis de 1 938 personas, se observaron solo tres variantes polimórficas, A_{-202A/376G}, A_{-376G/968C} y Seattle; en Cuba se ha encontrado presencia de la variante Africana en el 7 % de la población (Figura 15) (34,38).

En Venezuela muy pocos investigadores se han dedicado al estudio de esta deficiencia enzimática, siendo Boada Boada, el primero en comunicar en una presentación oral en el V Congreso de la Asociación Latinoamericana de Ciencias Fisiológicas en Caracas en 1963 la presencia de la deficiencia de G6PD en nuestro país (citado en referencia 39), detectando en la población de Barquisimeto un 6 % de deficientes en G6PD. Posteriormente, Acquatella (39) encontró un 2 % de deficientes de G6PD en donantes del Banco de Sangre del Hospital Universitario de Caracas y su ausencia en indígenas venezolanos paraujanos y maquiritaes. Por su parte, Müller encontró una prevalencia de deficiencia de G6PD de 10 % en la población de Tapipa (Edo. Miranda) y su ausencia en indios yanomamis y waraos (40).

Heterogeneidad genética

En 1967, un comité de la OMS propuso los procedimientos bioquímicos estandarizados para caracterizar las variantes de G6PD, utilizando como parámetros de evaluación, las siguientes características bioquímicas: movilidad electroforética, actividad enzimática (expresada como porcentaje de la actividad de G6PD normal), afinidad para los sustratos G6P (Km G6P) y NADP (Km NADP), utilización de los sustratos análogos 2-deoxi-G6P y deamino-NADP, termoestabilidad y pH óptimo (41). La caracterización ha permitido la identificación de 442 variantes bioquímicas distintas, de las cuales alrededor de 100 de ellas son polimórficas en varias poblaciones humanas (42-47). Las variantes polimórficas son aquellas que se encuentran con alta frecuencia en algunas poblaciones y representan polimorfismos balanceados. Las variantes polimórficas mejor conocidas son la G6PD Mediterránea, la variante Africana (G6PD A-) y las variantes orientales. Generalmente cada población tiene sus propias características mutacionales (42). Las variantes esporádicas han sido también reportadas en muchas poblaciones y se caracterizan por su asociación con anemia hemolítica crónica no esferocítica (44,48,49).

Las diferentes variantes de la G6PD descritas

se han denominado de acuerdo a sus propiedades electroforéticas o se les han asignado nombres propios de acuerdo a la región en que han sido detectadas (49).

Genética molecular

Se demostró que el gen estructural de la G6PD está situado en el cromosoma X y es requerido para codificar las subunidades de la G6PD (32). Los más recientes análisis de genética molecular demuestran que ciertas variantes o mutantes de G6PD que fueron consideradas bioquímicamente iguales, en realidad son diferentes cuando se realiza la clonación y secuenciación de los genes respectivos. Por ejemplo, la G6PD Cantón, la G6PD Taiwán-Hakka, la G6PD parecida a la Gifu, y G6PD parecida a la Agrigento son causados por una mutación de G → T en la posición 1376 del gen. La ambigüedad ha surgido porque a algunas variantes le han asignado nombres en diferentes partes del mundo y aunque la variante correspondiente fue considerada inicialmente única, en alguno de esos casos se ha demostrado que son causadas por la misma mutación (48).

Variantes de la G6PD

Según la estabilidad al calor y la movilidad electroforética, existen dos tipos de G6PD: A y B. La primera es respecto a B, más termoestable y de mayor movilidad electroforética. Los tipos B y A difieren también en la actividad enzimática que muestran: 100 % y 85 %, respectivamente; y también difieren en la constante de Michaelis-Menten (Km) para G6P (63 y 89 μM, respectivamente) (Cuadro 2).

La G6PD normal se conoce como G6PD "B", representa el tipo enzimático más común encontrado en todos los grupos poblacionales que han sido estudiados y presenta una movilidad electroforética característica.

Aquellas variantes de G6PD que electroforéticamente migran por delante de la G6PD "B" son clasificadas como variantes rápidas tipos "A" y las variantes de G6PD que migran en la misma posición que la "B" son clasificadas como variantes con migración electroforética normal. Cuando se añade el símbolo menos (-) detrás de la denominación G6PD "A" o "B", se quiere indicar que la enzima está presente en cantidades deficientes (Figura 16) (50,51).

La G6PD "A" es la variante más común alrededor del mundo, encontrándose en el 20 % de los varones africanos. Su actividad es normal, pero electroforéticamente migra más rápido que la G6PD

Cuadro 2

Variantes de G6PD más comunes, el porcentaje de actividad enzimática, la población o región de mayor prevalencia y la vida media promedio de la enzima

Variantes más comunes			
Variante	Nivel de actividad	Población	Vida media
Gd ^B	Actividad normal	Todas las poblaciones	62 días
Gd ^A	Actividad normal; ácido aspártico Sustituido por asparagina en la Posición 126, guanina por adenina En la posición 376.	África (variante más común)	13 días
Gd ^{A-}	8 %-20 % de la actividad normal; metionina por valina en la posición 67 y ácido aspártico, por asparagina en la posición 126, adenina por guanina en la posición 202 y guanina por adenina en la posición 376	África	13 días
Gd ^{Med}	<5 % de la actividad normal; fenilalanina por serina en la posición 188; timina por citosina en la posición 563	Irán, Irak, India, Pakistán, Grecia, Sardinia	8 días

Gd indica G6PD

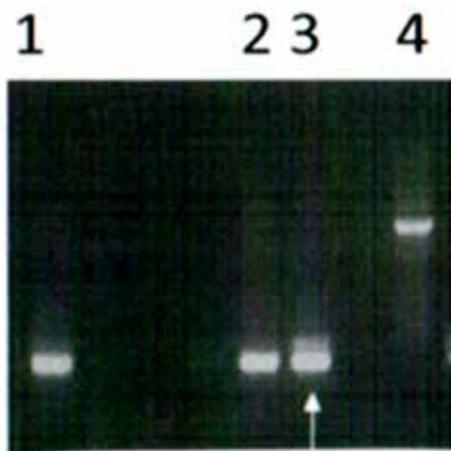


Figura 16. Electroforesis de la enzima G6PD. La G6PD "A" migra por delante de la G6PD "B". Números 1,2 muestran la corrida electroforética de 2 muestras de G6PD de eritrocitos con G6PD B y el número 3 la G6PD de eritrocitos con G6PD "A" con migración más rápida (Adaptada de la referencia 40).

normal. El defecto molecular radica en la sustitución de adenina por guanina A-G en el nucleótido 376. La variante A despliega una mutación puntual en el nucleótido 376 que determina la sustitución del aminoácido asparagina por ácido aspártico en la posición 126 del bloque II de la proteína, condición que le confiere mayor movilidad electroforética (52,53).

La G6PD "A-" es una enzima electroforéticamente rápida, pero con una marcada inestabilidad intracelular y por tanto con baja actividad. Es una de las variantes deficientes más comunes. Con la clonación y secuenciación de genes se ha detectado un grupo de mutaciones que se originaron a partir de la G6PD "A". Se han encontrado sustituciones de aminoácidos producidos por cambios en los nucleótidos 371, 202 (transición G-A), 680 (transición G-T), 968 (transición T-C). Estos tres genotipos de la G6PD han sido detectados en africanos y uno de ellos fue detectado en los eritrocitos de una familia española cuya G6PD había sido previamente clasificada por métodos bioquímicos como G6PD Bética.

Se ha encontrado la mutación de los nucleótidos 202 y 376 no solo entre negros sino también en blancos del norte de Europa y en mejicanos. Ciertas

variantes de G6PD "A -" que fueron consideradas anteriormente como únicas, actualmente se sabe que son idénticas, tales como Matera, Bética, Castilla, Alabama y Tepic (53).

La G6PD Mediterránea es la variante más común en las poblaciones caucásicas, aunque se ha hecho evidente que otras variantes existen en esa población. La frecuencia de la deficiencia de G6PD en poblaciones caucásicas varía entre menos de 0,1 % en poblaciones del norte de Europa al 50 % entre los judíos kurdos. La actividad enzimática de los eritrocitos de los individuos que han heredado la deficiencia es muy baja y a menudo menor de 1 %; es debida a una transición C-T en el nucleótido 563 (54,55).

Clasificación de las deficiencias de G6PD

La heterogeneidad genética de la deficiencia de G6PD resulta de diferencias cualitativas y cuantitativas de la enzima G6PD. En 1967, un comité de expertos convocado por la Organización Mundial de la Salud estableció los criterios, para caracterizar a las variantes de G6PD y las agrupó en cinco clases, según la actividad enzimática asociada y el grado de la hemólisis (41).

1. G6PD Clase I

Los pacientes con deficiencia de G6PD de Clase I presentan una deficiencia enzimática severa asociada con anemia hemolítica congénita no esferocítica; la hemólisis es permanente. La gravedad varía con los diferentes tipos. Es secundaria a mutaciones puntuales, las cuales están confinadas a dos áreas cerca del extremo carboxiterminal de la enzima, en la región entre los aminoácidos 362 y 446, donde se encuentran los sitios de unión a NADP o NADPH y el sitio de unión a la glucosa 6-fosfato. Se han descrito cerca de 97 variantes, siendo apenas una polimórfica, por ejemplo: variantes Andalaris, Campinas y Sumaré (47,49).

2. G6PD Clase II

Los pacientes con deficiencia de G6PD clase II presentan una deficiencia enzimática marcada (actividad enzimática eritrocítica menor del 10 % de lo normal): la sensibilidad a los agentes hemolíticos y la gravedad de los episodios hemolíticos son intensos. Se han descrito en esta clase de deficientes de G6PD 122 variantes,

siendo 37 polimórficas, por ejemplo, las variantes Mediterránea y Unión (47,49).

3. G6PD Clase III

Los pacientes con deficiencia de G6PD de clase III presentan una deficiencia enzimática moderada (actividad enzimática del 10 %-60 % de lo normal): la hemólisis, puede ser inducida en forma aguda por muchas drogas y otros agentes. Se han descrito en esta clase de deficientes de G6PD 103 variantes, siendo 22 de estas variantes de tipo polimórficas (variantes Africana o A-, Cantón y Seattle) (50,51).

4. G6PD Clase IV

Los pacientes con deficiencia de G6PD clase IV presentan una actividad enzimática intraeritrocítica poco reducida o casi normal (60 %-100 % de actividad), sin consecuencias clínicas. Se han descrito 52 variantes, con 12 polimórficas (variante A).

5. G6PD Clase V

La G6PD clase V se caracteriza por presentar una actividad enzimática aumentada (>150 %). Se han reportado dos variantes de esta clase, ninguna polimórfica (Ej. variante Verona) (47).

Se han reportado a escala mundial aproximadamente 200 variantes alélicas y 140 variantes moleculares del genotipo *G6PD*, la mayoría de ellas tienen una sola mutación, sin embargo, no es el número de mutaciones lo que determina la gravedad de la deficiencia, sino el compromiso de bloques o regiones determinadas de la enzima (14).

Por razones de espacio no reproducimos el cuadro con las variantes genéticas de G6PD, el cual podrán consultar los lectores en la referencia 43.

Del mismo modo pueden consultar la frecuencia de la deficiencia de la G6PD en varones y la ocurrencia de las variantes polimórficas en la referencia 52.

En ella se muestra la frecuencia de la deficiencia de G6PD en varones deficientes y el polimorfismo de las variantes de G6PD a escala mundial.

Manifestaciones clínicas de los pacientes deficientes en G6PD

La mayoría de las personas deficientes en G6PD son usualmente asintomáticas y solo se manifiesta la enfermedad cuando ingieren medicamentos que

desencadenan la hemólisis masiva intravascular. La gravedad de la hemólisis va a depender de la clase de deficiencia de G6PD. Si la deficiencia de G6PD es moderada, la anemia hemolítica es autolimitada, porque solo son destruidos los eritrocitos viejos pues los jóvenes tienen actividad enzimática normal o cercana a la normalidad y no son susceptibles a hemólisis, salvo que se expongan a sustancias desencadenantes de estrés oxidativo. Las células jóvenes de las personas afectadas por formas graves de deficiencia enzimática, son también fuertemente deficientes en G6PD y con mayor riesgo de hemólisis grave (56).

La deficiencia de G6PD puede presentarse de varias maneras clínicas:

Hemólisis inducida por drogas. Después de la ingestión de ciertas drogas oxidantes el paciente puede presentar una crisis hemolítica intensa, la cual se puede manifestar clínicamente como fiebre, orinas colúricas, ictericia y anemia. En ocasiones esta hemólisis se puede complicar con un cuadro de necrosis tubular y coagulación intravascular diseminada (Cuadros 4 y 5) (56).

Las drogas oxidantes y sustancias que causan hemólisis en pacientes con deficiencia de G6PD (adaptada de la ref.43), son las siguientes: Acetanilida, Ácido nalidixico, Azul de metileno, Azul de toluidina, Dihidroepiandroterona, Fenazopiridina (Pyridium), Fenilhidrazina, Furazolidona (Furoxona), Glibenclamida, Isobutil nitrito, Metoclopramida, Naftaleno, Niridazol (Ambilhar), Nitrofurantoina (Furadantin), Primaquina, Sulfacetamida, Sulfametoxazol (Gantanol), Sulfanilamida, Sulfapiridina, Thiazolesulfona, Trinitrotolueno (TNT), Urato oxidasa.

La drogas que pueden ser administradas (en dosis terapéuticas) a personas deficientes de G6PD pero que a altas dosis pueden causar hemólisis (adaptada de la ref. 43), son las siguientes: Acetaminofén, Acetofenetidina (Phenacetin), Ácido acetilsalicílico (aspirina), Ácido ascórbico (vitamina C)*, Ácido p-aminobenzoico, Actazolina (Antistina), Aminopirina (Piramidón, Aminopirina), Antipirina, Benzhexol (Artane), Cloranfenicol, Clorguanidina (Proguanil, Paludrina), Cloroquina, Colchicina, Difenhidramina (Benadril), Estreptomina, Fenilbutazona, Fenotoina, Isoniazida, L-dopa, Pirimetamina (Daraprim), Procainamida, Quinidina, Quinina, Sulfacitina, Sulfadiazina, Sulfaguanidina, Sulfamerazina, Sulfametoxipiridazina (Kynex), Sulfisoxazola (Gantrisin), Trimetoprim, Tripelenamina (Piribenzamina), Vitamina K.

*Dosis altas (≈ 80 g administrados vía intravenosa) producen anemia grave.

Hemólisis inducida por infección. La infección es probablemente la causa más frecuente de desencadenamiento de la hemólisis en los pacientes con deficiencia de G6PD. La gravedad y las consecuencias clínicas de la hemólisis están influenciadas por numerosos factores que incluyen la administración simultánea de drogas oxidantes, la concentración de hemoglobina, la función hepática y la edad. El mecanismo por el cual la infección induce hemólisis no se conoce con exactitud (50,51,56).

Favismo. La presentación de hemólisis aguda luego de la ingestión de habas ha sido reconocida desde la antigüedad (57), presentando los pacientes un cuadro clínico similar al inducido por drogas, que se desencadena dentro de las 24 y 48 horas siguientes a la ingesta del producto. Sin embargo, no todos los pacientes con deficiencia de G6PD presentan hemólisis luego de la ingestión de habas. Los compuestos vicina e isouramilo, abundantes en este fruto, parecen ser responsables de la hemólisis (57-59).

Ictericia neonatal y kernícterus. Los individuos deficientes también pueden desarrollar ictericia neonatal con kernícterus, la cual ocurre típicamente entre los días 4 y 7 posnatales, es decir, en una forma más tardía que la ictericia neonatal secundaria a incompatibilidad ABO o Rh. La ictericia no es el resultado directo de la hemólisis, sino una consecuencia de la inmadurez de las funciones hepáticas del neonato. En el oeste de Bengala, India, en un estudio de 109 neonatos se encontró que 14,8 % eran deficientes en G6PD, de los cuales 23,8 % de ellos desarrollaron ictericia intensa con bilirrubinemia mayor que 15 mg% mientras que los neonatos controles no deficientes desarrollaron ictericia solo en el 12,5 % (60,61).

Anemia hemolítica crónica no esferocítica. Las variantes clase I se caracterizan por esta forma clínica, debido al grado intenso de deficiencia enzimática. La hemólisis es principalmente extravascular con un pequeño componente intravascular; los pacientes pueden presentar esplenomegalia y cálculos biliares como se ve en las anemias hemolíticas crónicas de otras etiologías. Sin embargo, existe una gran variabilidad en las manifestaciones asociadas a este tipo de anemia crónica (62,63).

Deficiencia de G6PD y malaria

Hay una correlación entre la distribución geográfica de la deficiencia de G6PD con las zonas endémicas de malaria, lo que sugiere que la deficiencia de G6PD ha aumentado en frecuencia a través de una selección natural por esa infección. Esto está respaldado por estudios *in vitro* que demuestran alteraciones en el crecimiento del parásito en eritrocitos deficientes en G6PD. Estudios controlados y casuísticas grandes en el este y en el oeste de África proveen fuerte evidencia de que la deficiencia más común que es la variante de G6PD A- está asociada a reducción significativa en el riesgo de malaria grave tanto para mujeres heterocigotas como para hombres hemocigotos (64).

Regiones que han sido endémicas para la malaria o poblaciones que se han originado de estas regiones muestran individuos con actividad de G6PD intraeritrocítica disminuida y tales eritrocitos ofrecen un ambiente hostil para el crecimiento del parásito y de este modo una ventaja para los portadores de la deficiencia. La contrapartida de este efecto protector es el aumento a la susceptibilidad a la hemólisis frente a agentes oxidantes, tales como habas, drogas antimaláricas, sulfonamidas o varios químicos (65).

Mecanismo fisiopatológico de la crisis hemolítica

En líneas generales la concentración de hemoglobina se mantiene normal en individuos deficientes en G6PD, excepto los de clase I, pero la administración de drogas oxidantes, las infecciones o la acidosis diabética puede inducir una crisis hemolítica. En este caso el agente hemolítico libera H_2O_2 , se producen radicales libres, y peroxihemoglobina.

Las drogas oxidantes o sus metabolitos oxidan el glutatión reducido (GSH), reduciendo progresivamente su concentración. Una vez que el GSH es depletado, los grupos sulfidrilos de la hemoglobina y probablemente de otras proteínas son oxidadas a disulfidos (estructura compuesta de un par ligado de átomos de azufre) o sulfóxidos (compuestos que contienen un grupo sulfínico enlazado por dos átomos de carbono).

En condiciones normales el sistema glutatión peroxidasa-glutatión reductasa es utilizado para reducir nuevamente el glutatión oxidado convirtiéndolo en glutatión reducido, el cual remueve los peróxidos peligrosos (Figura 6). En los eritrocitos deficientes en G6PD este mecanismo no opera rápidamente debido a la producción inadecuada de NADPH. Bajo esas condiciones, la hemoglobina precipita y forma los llamados cuerpos de Heinz, que no son más que cadenas de globina de la hemoglobina precipitada en

la cara interna de la membrana celular eritrocitaria.

Estudios sugieren que la unión de hemicromos (originados de la hemoglobina desnaturalizada) a las moléculas de la banda 3 de la membrana del eritrocito daña dicha membrana, lo cual va a traer como consecuencia cambios en la permeabilidad pasiva del eritrocito con abertura de los canales de K (66,67). Estos eritrocitos van a ser reconocidos como anormales por el sistema fagocitario del bazo y del hígado y van a ser fagocitados.

Las células fagocíticas ingieren los eritrocitos que contienen los cuerpos de Heinz con la consecuente fragmentación y hemólisis. También puede ocurrir peroxidación de lípidos, con destrucción de la membrana eritrocítica a través de mecanismos de oxidación de los grupos tioles de dicha membrana, con la consecuente hemólisis. Esto puede ocurrir en forma directa o puede ser con la cooperación del radical hidroxilo $OH\cdot$. La enzima superóxido dismutasa fábrica más H_2O_2 con los radicales $O_2\cdot$, agravando el proceso. Es de hacer notar que la mayoría de los eritrocitos muy dañados van a ser destruidos en el torrente sanguíneo (hemólisis intravascular) mientras que los eritrocitos menos dañados serán reconocidos como anormales por los macrófagos y serán sometidos a una hemólisis extravascular en el sistema retículoendotelial (66,67).

Diagnóstico de la deficiencia de G6PD

Existen métodos bioquímicos cualitativos y cuantitativos y análisis moleculares para el diagnóstico de la deficiencia de G6PD. Entre los métodos fluorescentes tenemos la determinación de actividad de G6PD sobre papel de filtro mediante técnicas fluorescentes; en estas se mezclan los reactivos con la sangre y se coloca una gota de la mezcla en un papel de filtro y otra gota a los 10 min de incubación. El NADPH generado en la reacción de personas no deficientes de G6PD es detectado visualmente bajo luz ultravioleta, mientras que en el método con indofenol-diclorofenol (DPIP) se detecta la presencia de G6PD por decoloración de este marcador en un tiempo específico (68-70). La cuantificación de la enzima se realiza por medición espectrofotométrica de la reducción de NADP a NADPH en presencia de glucosa-6-fosfato y hemolizado (68). Con técnicas de biología molecular se emplean diferentes metodologías que han permitido conocer los cambios moleculares que llevan a la deficiencia de G6PD; dentro de ellas están la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) alelo específica, el análisis del

polimorfismo conformacional de cadena sencilla (SSCP), la identificación de polimorfismos de fragmentos de restricción de longitud variable (RFLP) y los microarreglos (71-73).

Importancia de la producción de NADPH en la capacidad letal de los neutrófilos en pacientes con infecciones recurrentes y deficiencia intensa de G6PD

Fases de la fagocitosis: quimiotaxis, endocitosis y capacidad letal

Las células fagocíticas de nuestro organismo son los neutrófilos, los macrófagos, los monocitos y los eosinófilos. El papel principal de dichas células es en la defensa contra una variedad de infecciones producidas por gérmenes gramnegativos o positivos, catalasa positiva. Dicha función la cumplen a través del proceso de fagocitosis de microorganismos invasivos bacterianos, virales u hongos.

La fagocitosis comprende varias etapas: adherencia al endotelio vascular, estiramiento, quimiotaxis, endocitosis o englobamiento de los microorganismos, activación metabólica, capacidad letal y digestión. Ante la presencia de microorganismos ocurre el proceso de quimiotaxis, las células fagocíticas se dirigen desde el lecho vascular hacia los microorganismos, atraídos por factores quimiotácticos producidos por el huésped (C3a, C5a, leucotrieno B4), y otros factores producidos por estos mismos agentes infecciosos.

Una vez que las células fagocíticas se han movilizadas hacia los microorganismos infecciosos, ocurre el proceso de reconocimiento de los agentes infecciosos invasores. Estos microorganismos son previamente opsonizados, es decir, recubiertos por una serie de factores humorales u opsoninas (C3b, C4b, IgG1, IgG3, IgM). El reconocimiento se realiza mediante receptores que hay en las células fagocíticas para las opsoninas, lo cual permite la fijación de los microorganismos recubiertos de opsoninas sobre la superficie de las células fagocíticas.

A continuación ocurre el proceso de endocitosis, para lo cual, las células fagocíticas comienzan a emitir pseudópodos para englobar los microorganismos invasores, se forma un fagosoma o vacuola que contiene al agente infeccioso.

Una vez formado este fagosoma dentro del citoplasma, los lisosomas se acercan y se funden con él, formándose el fagolisosoma. Los lisosomas liberan dentro del fagolisosoma numerosas enzimas líticas y

agentes oxidantes letales para los microorganismos infecciosos invasores. El sistema letal principal va a estar constituido por mieloperoxidasa, iones de yodo y cloro y peróxido de hidrógeno (H_2O_2).

Al formarse el fagolisosoma, se estimula la producción de radical superóxido (O_2^-), H_2O_2 y un número de compuestos adicionales que contiene oxígeno, todos los cuales son altamente reactivos. En adición existe un marcado incremento en la oxidación de la glucosa por la vía del *shunt* de la hexosamonofosfato con aumento de la producción de NADPH. Estos cambios en el metabolismo oxidativo son conocidos como estallido respiratorio, nombre que se deriva del incremento del consumo de oxígeno, que es uno de los hallazgos constantes. En este estallido respiratorio se producen 2 moléculas de radical superóxido por la enzima NADPH oxidasa, que es una flavoenzima, que utiliza como coenzima el NADPH generado en la oxidación de la glucosa por la vía metabólica de la hexosa monofosfato:



A su vez 2 moléculas de superóxido se combinan en presencia de la enzima superóxido dismutasa para formar H_2O_2



La mieloperoxidasa es depositada por desgranulación en las vacuolas fagocíticas, donde en presencia de H_2O_2 y radicales haluros, cataliza las reacciones microbicidas. En ausencia de G6PD no se producirá NADPH y por tanto el poderoso mecanismo letal que poseen las células fagocíticas contra los microorganismos invasores no funcionará, de lo que resulta una mayor susceptibilidad a las infecciones (74-76).

Estudios de pacientes deficientes en G6PD en Venezuela

La mayoría de las observaciones clínicas y estudios bioquímicos relacionados con la deficiencia de G6PD, que se referirán a continuación, han sido hechos por la autora de este trabajo y sus colaboradores en el Instituto de Oncología y Hematología (Universidad Central de Venezuela – Ministerio de Salud) y en la Clínica El Ávila, ambos en Caracas. Tales resultados han sido previamente reportados (40,75-83).

Deficiencia de G6PD en pacientes y familiares

De 2 586 pacientes y familiares referidos a las instituciones mencionadas de diferentes partes del país, en el período de 1980 al 2011, con sospecha de anemia hemolítica congénita no autoinmunitaria se detectaron 396 individuos con deficiencia de eritroenzimas del ciclo glicolítico y del ciclo de la hexosa monofosfato. De estos individuos, 288, entre propósitos y familiares, presentaron la deficiencia de G6PD.

Clasificación de los pacientes deficientes en G6PD

La cuantificación de la concentración intraeritrocítica de la G6PD permitió clasificar los pacientes y familiares, provenientes de 196 familias estudiadas en:

157 individuos deficientes hemicigotos (varones)

131 individuos deficientes heterocigotos (mujeres)

De los 157 individuos hemicigotos encontramos que 136 eran propósitos y 21 eran familiares. De 131 individuos heterocigotos solo 66 eran propósitos y el resto, 65, eran familiares de los propósitos.

Se detectaron en 4 familias, en las cuales tanto la madre como el padre eran deficientes en G6PD. Estas parejas tuvieron hijas heterocigotas e hijos hemicigotos. No tenían hasta el momento de este estudio hijas homocigotas para la deficiencia de G6PD.

La concentración intraeritrocítica de la G6PD varió ampliamente en las 131 mujeres heterocigotas estudiadas, desde valores completamente normales hasta valores muy disminuidos, por debajo del 40 %, como si fuesen varones hemicigotos. Así tenemos, que aunque la mayoría presentó valores de G6PD intraeritrocíticos intermedios alrededor del 50 %, hubo 41 mujeres heterocigotas que presentaron valores entre 5 %-40 % de la actividad de G6PD normal, 7 presentaron valores de G6PD menores del 10 % y por último 9 de estas mujeres (7 madres de propósito) presentaron valores de G6PD intraeritrocítica completamente normales.

Los individuos hemicigotos se caracterizaron por presentar valores de G6PD variables en un rango de cero hasta el 60 % de los valores normales de G6PD intraeritrocíticos (77).

Herencia de la deficiencia de G6PD en pacientes

venezolanos

Encontramos que el gen para la deficiencia de G6PD se heredó a través del cromosoma X en las 155 familias. El padre en esos casos siempre presentó valores de G6PD intraeritrocíticos completamente normales. En solo cuatro familias encontramos que tanto el padre como la madre tenían valores de G6PD compatibles con la deficiencia (Figura 17) (78).

Manifestaciones clínicas de la deficiencia de G6PD en los propósitos

La causa principal de consulta fue anemia asociada al uso de drogas oxidantes en el 36,74 %. Es de hacer notar que todos los pacientes ingirieron la droga excepto un paciente que inhaló naftalina y otro que se aplicó la droga en la piel. La gravedad de la hemólisis fue variable según el paciente estudiado y no según el tipo de droga oxidante.

Las drogas ingeridas que precipitaron las crisis

Patrones de herencia de individuos venezolanos deficientes en G-6-PD

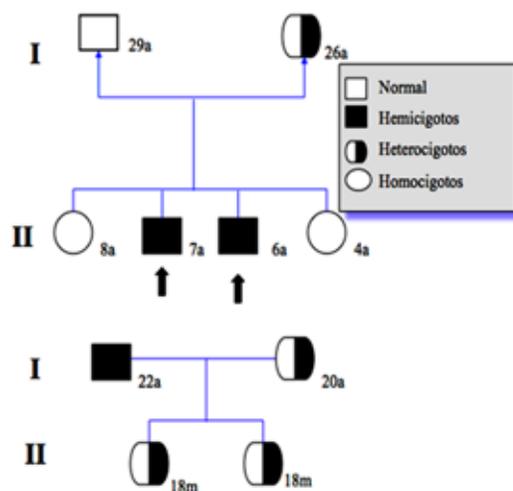


Figura 17. Patrón de herencia de la G6PD en pacientes venezolanos en dos familias deficientes en G6PD. Los símbolos vacíos (blancos) representan individuos normales, los símbolos llenos (negros), individuos hemicigotos, y los símbolos mixtos, individuos heterocigotos.

□ varón, ○ hembra.

hemolíticas en los varones hemocigotos fueron: sulfas (administradas para el tratamiento de infecciones urinarias), cloroquina (administrada como profilaxis para la malaria), acetofenitidina, aspirina, dipirona como analgésico o antipirético, azul de metileno, vitamina C, fenildimetilpirazolona y difenil-piperidino-etil-acetamida (BaralcinaTM), cloroferinamina y salicilato de sodio (CoricidinTM), diclorhidrato de N (dimetilamino etil) 2 metoxi-4-amino-5-clorobenzamida (PrimperánTM), clorhidrato de ceclizina y piridoxina (BonadoxinaTM) y nistatina (77,79).

La dosis de droga oxidante que causó la hemólisis varió con cada paciente; en algunos fue la dosis estándar y en otros la dosis excedió aquella. Dependiendo de la intensidad de la reducción de la Hb y del hematocrito se trató al paciente con transfusiones de concentrados globulares.

La crisis hemolítica secundaria a la ingestión de drogas oxidantes se presentó a cualquier edad desde el período de lactante hasta adulto. Las drogas oxidantes precipitaron la crisis hemolítica en los varones hemocigotos para la deficiencia y solo en 7 pacientes femeninas heterocigotas; una paciente deficiente heterocigota presentó la crisis hemolítica después de la ingestión de habas.

Las drogas oxidantes que precipitaron las crisis hemolíticas en las pacientes heterocigotas fueron: 1. Difenilpiperidino etil-acetamida (BaralcinaTM). 2. Naftalina. 3. KeforalTM. 4. Aspirina. 5. Furoxona. 6. Nistatina + Mezelizina + Piridoxina + Metocloropramida (1 paciente). 7. Sulfa

Tres de las pacientes heterocigotas fueron tratadas con transfusión de concentrado globular después de haberse expuesto a drogas oxidantes. Una de estas pacientes inhaló naftalina, otra de dichas pacientes recibió dosis elevadas de BaralcinaTM para dolores cólicos por litiasis vesicular, y la tercera paciente recibió dosis elevadas de furoxona por infección urinaria.

Una niña de 4 años recibió sulfa en dos diferentes oportunidades y presentó hemólisis acompañada de hematuria en las dos oportunidades, con disminución de la Hb a 8 g/dL.

La segunda causa de consulta fue ictericia neonatal; en estos casos la hiperbilirrubinemia se produjo a expensas del aumento de los valores séricos de bilirrubina indirecta en el 30,72 % de los pacientes. Se estudiaron 51 neonatos deficientes en G6PD; de 41 neonatos hemocigotos, 19 ameritaron

fototerapia, 9 exanguinotransfusión y 13 requirieron solo observación. De los 10 neonatos heterocigotos, 9 ameritaron fototerapia y solo uno requirió exanguinotransfusión.

El tiempo de aparición de la ictericia varió, siendo en el 80 % de los casos durante el segundo o tercer día después del nacimiento y el resto de aparición más tardía. No se detectó ictericia neonatal en los propósitos deficientes en G6PD en las primeras 24 horas de vida. En todos estos casos se descartó como causa de la ictericia la anemia hemolítica por incompatibilidad del grupo ABO o del sistema Rh y otras deficiencias de enzimas intraeritrocíticas del ciclo glicolítico y del *shunt* de la hexosa monofosfato.

La tercera causa de consulta fue ictericia por aumento de los valores séricos de bilirrubina indirecta en individuos asintomáticos. La mayoría de estos pacientes fueron detectados cuando se hicieron perfiles de laboratorio con química sanguínea completa como exámenes periódicos de rutina o exámenes de química sanguínea realizados como estudios complementarios por otra patología; en estos casos, el médico tratante lo refirió como parte del estudio para descartar enfermedad de Gilbert. También se detectó en individuos voluntarios usados como controles para realizar las pruebas de detección de deficiencia de G6PD. Estos pacientes con ictericia asintomática presentaron los valores de Hb, hematocrito y reticulocitos dentro del rango de la normalidad.

La infección, particularmente de tipo bacteriano o viral, actuó como precipitante de la crisis hemolítica en el 6,02 % de los pacientes.

Se diagnosticaron 3 pacientes con favismo, los cuales presentaron crisis de anemia hemolítica después de la ingestión de habas.

Se detectó un paciente con anemia hemolítica congénita por drepanocitosis y otro con anemia hemolítica congénita por esferocitosis asociados a la deficiencia de G6PD.

Se estudiaron 4 pacientes con anemia hemolítica crónica congénita secundaria a deficiencia solamente de G6PD.

Se diagnosticaron 2 pacientes deficientes en G6PD que habían sido referidos para descartar dicha deficiencia, ya que padecían de lepra y recibirían como tratamiento drogas oxidantes.

Es de hacer notar que muchos de estos pacientes propósitos deficientes en G6PD fuera de las crisis hemolíticas son completamente asintomáticos; comenzaron a presentar malestar general, cefalea,

ANEMIAS HEMOLÍTICAS

dolor lumbar y coluria a las 24 horas de haber ingerido la droga oxidante, o presentar una infección viral o bacteriana, acudiendo a la consulta en promedio de 3 a 5 días después de haber comenzado los síntomas. A veces se hizo difícil precisar si el desencadenante de la hemólisis fue la infección o la droga utilizada para combatir dicha infección o ambos.

Entre los donantes de sangre utilizados como controles aparentemente sanos encontramos 9 individuos deficientes en G6PD tanto hemicigotos como heterocigotos.

Crisis hemolíticas

Los pacientes varones hemicigotos tanto niños como adultos, en línea general, fuera de crisis presentaron valores de Hb y hematocrito en el rango normal para su edad con solo un discreto aumento de los reticulocitos. El frotis de sangre periférica mostró en todos los pacientes eritrocitos morfológicamente normales. La curva de fragilidad osmótica de los eritrocitos en fresco e incubada fue normal.

Las pacientes femeninas heterocigotas fuera de crisis también presentaron valores de Hb y hematocrito normales para su edad.

Alteraciones durante los períodos de crisis hemolítica

En los pacientes hemicigotos los valores basales de Hb y hematocrito disminuyeron durante la crisis hemolítica desde valores normales hasta 1,95 g/dL y 9 %, respectivamente, y los reticulocitos aumentaron a cifras de hasta 22 %. El estudio microscópico de una gota de sangre colocada en un portaobjeto coloreada con azul brillante de cresilo mostró la presencia en el microscopio de cuerpos de Heinz (Figura 18).

Además, en las crisis hemolíticas graves se observó en los frotis de sangre coloreados con Wright que los eritrocitos presentaban la hemoglobina polarizada hacia un extremo del eritrocito (Figura 19 y 20).

La curva de fragilidad osmótica eritrocitaria en fresco fue normal pero tras incubación de los eritrocitos en baño de María a 37 °C durante 24 horas mostró una ligera disminución de la fragilidad osmótica, lo cual pudo correlacionarse con el aumento de la cantidad de esferocitos, pero nunca como la observada en la anemia hemolítica por esferocitosis hereditaria.

Estudiamos tres pacientes heterocigotas, en las cuales los valores de Hb y hematocrito disminuyeron desde cifras normales hasta valores de 4,6 g/dL y 15 % respectivamente, con reticulocitosis de 18%, después

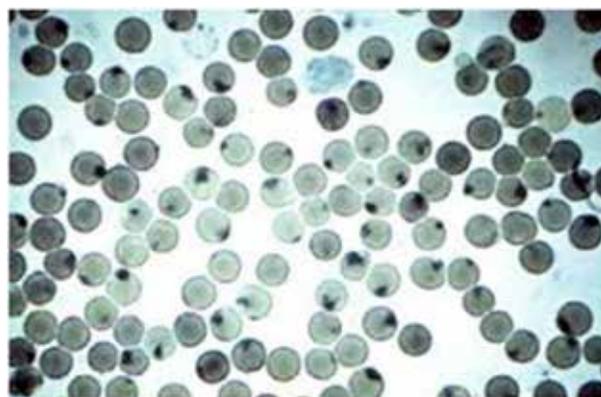


Figura 18. Cuerpos de Heinz en frotis de sangre con azul brillante de cresilo en un paciente deficiente en G6PD. Se aprecian corpúsculos redondeados dentro de los eritrocitos.

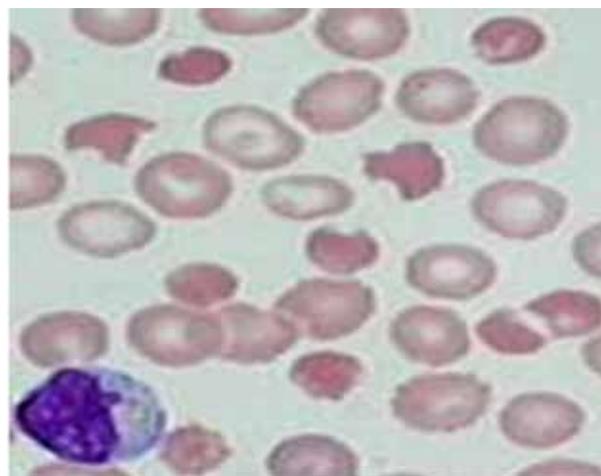


Figura 19. Frotis de sangre de paciente con deficiencia de G6PD en crisis hemolítica. Se aprecian eritrocitos con hemoglobina polarizada a un extremo del eritrocito dando la apariencia de glóbulos en sacabocado.

de la ingestión o administración de drogas oxidantes.

Anemia hemolítica congénita no esferocítica por deficiencia de G6PD clase I

Se diagnosticó anemia hemolítica congénita no esferocítica en 4 pacientes masculinos deficientes en G6PD no asociada a otras patologías hemolíticas o no hemolíticas. Se descartó defectos de la membrana

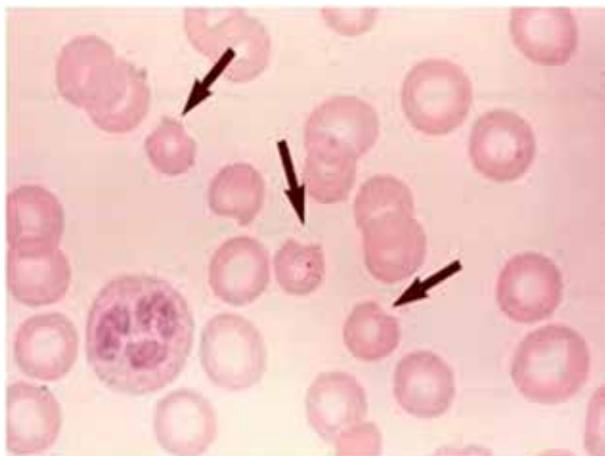


Figura 20. Frotis de sangre de paciente deficiente en G6PD en crisis hemolítica donde se señala el defecto del eritrocito.

del eritrocito, hemoglobinopatías y talasemias, y deficiencias de enzimas glicolíticas. La anemia hemolítica crónica fue atribuible solamente a la deficiencia de G6PD. Estos pacientes se caracterizaron por presentar antecedentes de ictericia neonatal que requirió exanguinotransfusión, ictericia crónica permanente con esplenomegalia, lo cual nos indica que estos pacientes padecen un proceso hemolítico constante o crónico. Además de que mantenían una hemólisis crónica manifestada por anemia constante, presentaban episodios sobreagregados de crisis hemolíticas agudas con disminución aún mayor de la Hb y hematocrito con aumento de los reticulocitos y de la bilirrubina indirecta. Tales crisis estuvieron acompañadas de coluria y fueron precipitadas por la ingestión de medicamentos oxidantes o infecciones. Los 4 pacientes estudiados provenían de 3 familias venezolanas, siendo dos de ellos hermanos; sin embargo, nos llamó la atención que los 4 pacientes presentaban clínicas muy similares.

Evolución clínica de la anemia hemolítica congénita no esferocítica por deficiencia de G6PD clase I

Con el transcurso de los años a estos pacientes les aumentó la ictericia y su esplenomegalia se acentuó con aparición también de hepatomegalia. Se presenta como prototipo la historia clínica del siguiente paciente con anemia hemolítica crónica por deficiencia de G6PD clase I, por haber sido estudiado por mayor número de años; dicho paciente fue seguido

en consultas clínicas desde los 6 hasta los 25 años.

PACIENTE JGP

Paciente masculino de 6 años de edad; consultó por anemia e ictericia.

Antecedentes personales

Ictericia neonatal que se presentó a los tres días de nacido. Requirió exanguinotransfusión y fototerapia. Durante su estadía de dos meses en el retén de neonatología presentó, como complicaciones, meningitis, diarrea y convulsiones. A los 7 meses de edad presentó neumonía con derrame pleural. A los cuatro años de edad presentó síndrome febril con ictericia y coluria.

Examen físico inicial. Preescolar de 6 años de edad, de piel blanca pero de apariencia mestiza; en buenas condiciones generales pero con ictericia conjuntival. Abdomen blando, depresible, con polo esplénico palpable e hígado no palpable.

Exámenes de laboratorio: Hematología: Hb: 10,6 g/dL, Hto: 30 %, reticulocitos: 4,6 %, VCM: 90 fl, HCM: 29,1 pg, CHCM: 32,3 g/dL.

Frotis de sangre periférica. Normal excepto por esferocitosis leve (Figura 21).

Perfil químico completo y pruebas hepáticas. Normal, excepto hiperbilirrubinemia de 2,1 mg/dL a expensas de la indirecta (1,8 mg/dL).

Evolución clínica

Este paciente se ha caracterizado por presentar de base una anemia hemolítica crónica, con ictericia permanente a expensas de la bilirrubina indirecta, hepatoesplenomegalia y crisis hemolíticas frecuentes de leves a moderadas, con episodios de coluria de varios días de duración, que no han ameritado transfusiones ni hospitalizaciones. El paciente ha presentado aproximadamente 4 crisis hemolíticas anuales con disminución evidente de la Hb y del Hto generalmente asociadas a infecciones virales, o administración de antipiréticos tipo dipirona. En cada crisis su Hb desciende 2 - 3,5 g/dL, su Hto desciende de 2 a 4 puntos, sus reticulocitos suben hasta 4 % y la hiperbilirrubinemia total a expensas de la indirecta alcanza valores de 5 mg/dL. El paciente, a los trece años de edad, presentó con frecuencia crisis dolorosas en el hipocondrio derecho secundarias a litiasis vesicular, por lo cual fue colecistectomizado. Con

ANEMIAS HEMOLÍTICAS

el transcurso de los años, los episodios de coluria han aumentado en frecuencia, y desde hace 2 años se han hecho casi permanente. Su bazo ha aumentado de tamaño desde un polo esplénico a los 6 años de edad hasta un bazo palpable a 8 cm del reborde costal izquierdo a los 25 años de edad. Asimismo, a pesar que el Hto se ha mantenido alrededor de 36 %, sus reticulocitos han aumentado a 9 % y la bilirrubina total a 6 mg/dL. El paciente no ha querido someterse a esplenectomía hasta el momento (Figura 21).

Favismo

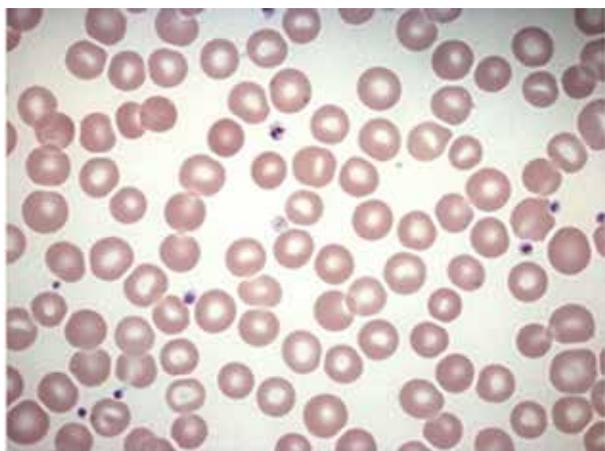


Figura 21. Frotis de sangre de paciente con deficiencia de G6PD. La morfología eritrocitaria mostró eritrocitos de aspecto morfológico normal excepto por presencia de algunos esféricitos.

Solo 4 de los pacientes presentaron crisis hemolíticas después de haber ingerido habas frescas cocidas (Figura 22). Dos de los pacientes fueron escolares del sexo masculino, hermanos, de 4 y 6 años de edad, quienes aproximadamente 24 horas tras la ingestión de las habas, comenzaron a presentar debilidad general, malestar, cefalea, náuseas, dolor lumbar y abdominal, ictericia y coluria. Ambos pacientes presentaron disminución de la Hb a 4 g/dL y el Hto a 15 %, con reticulocitos de 15 % y 18 % respectivamente, ameritando ambos, tratamiento con concentrados globulares. Los otros pacientes fueron dos adultos, uno masculino y otro femenino, que presentaron la misma sintomatología tras la ingestión de habas y ameritaron administración de

concentrado globular.

Deficiencia de G6PD asociada con otras anemias



Figura 22. Habas frescas y cocinadas.

hemolíticas congénitas

Se diagnosticaron dos pacientes con deficiencia de G6PD asociadas con otros tipos de anemia hemolítica tales como drepanocitosis, drepanocitosis-talasemia y esferocitosis hereditaria. Estos pacientes presentaron clínicamente el cuadro hemolítico crónico que caracteriza su enfermedad, que se exacerbaba con la ingestión de drogas oxidantes o infecciones virales o bacterianas.

El paciente con drepanocitosis (PME) era una niña de 3 años de edad, cuyo motivo de consulta fue anemia acompañada de crisis de dolor articular. Presentó los siguientes valores hematológicos: Hb: 4,6 g/dL, Hto: 15 %, conteo de reticulocitos: 50 %. El frotis de sangre mostró presencia de drepanocitos (Figura 23). El perfil de laboratorio practicado para detectar hemoglobinopatías y talasemias mostró que la paciente presentaba una hemoglobina SS con aumento de la Hb fetal (25 %) y con valores normales de Hb A2 (2,55 %). Esta paciente tenía valores de G6PD intraeritrocítica disminuidos compatible con el estado de heterocigocidad para la deficiencia de G6PD.

La paciente de la drepanocitosis-talasemia (MV) era una niña de 5 años de edad, quien fue referida por el médico hematólogo tratante desde Acarigua, Estado Portuguesa, debido a la frecuencia con que presentaba crisis de anemia hemolítica y cuadros clínicos infecciosos. Con los estudios de laboratorio se demostró que esta paciente presentaba una drepanocitosis-talasemia, siendo la drepanocitosis heredada del padre, quien presentaba una hemoglobina SA y la talasemia heredada de la madre, quien era

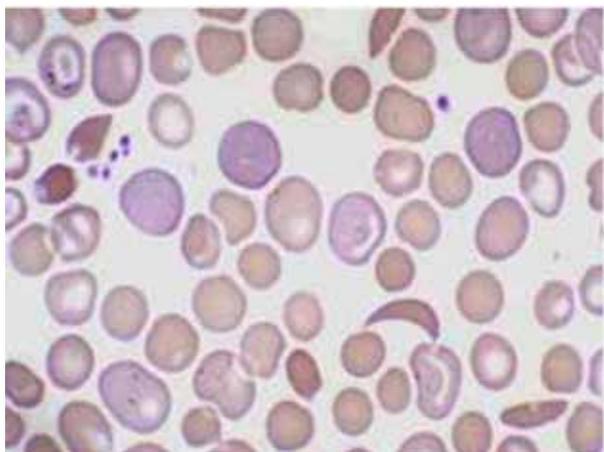


Figura 23. Frotis de sangre de paciente con drepanocitosis y deficiencia de G6PD.

heterocigota para la talasemia beta. El frotis de sangre mostró drepanocitos y dianocitos (Figura 24). Con los estudios de fagocitosis y capacidad letal de sus neutrófilos se demostró que esta paciente tenía asociada una enfermedad granulomatosa crónica secundaria a deficiencia de G6PD. El cuadro clínico y los valores de laboratorio de la paciente serán presentados más adelante cuando hablemos de enfermedad granulomatosa crónica secundaria a deficiencia de G6PD.

Deficiencia de G6PD y anemia por deficiencia de

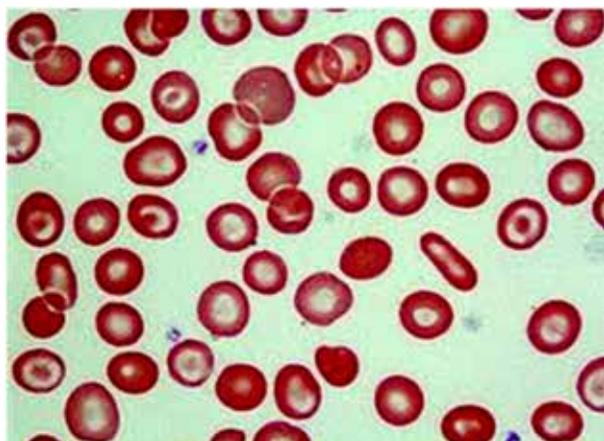


Figura 24. Frotis de sangre de paciente con drepanocitosis-talasemia y deficiencia de G6PD. Se observa dianocitosis.

hierro

En 10,5 % de los pacientes encontramos anemia microcítica hipocrómica, no explicable por la deficiencia de G6PD sino secundaria a disminución de los valores séricos de hierro por ingestión de dieta mal balanceada. Presentamos como ejemplo el paciente con la deficiencia de hierro más intensa asociada a la deficiencia de G6PD. Se trató de un lactante de 19 meses con cifras de Hb de 7,2 g/dL, Hto de 29,2 % y reticulocitos 0,9 %, con índices globulares notablemente disminuidos, volumen corpuscular medio (VCM) fue de 64 fl (V.N.: 80-99), la hemoglobina corpuscular (CHCM) fue de 24,8 g/dL (V.N.: $34 \pm 2,2$). El frotis de este paciente presentó una hipocromía y microcitosis marcada con poiquilocitosis y anisocitosis moderada con presencia de escasos dianocitos y células en lágrima (Figura 25). El hierro sérico de este paciente estuvo disminuido: 12 mg/dL (V.N.: 35-130 mg/dL) con un valor de ferritina sérica de 3 mg/dL (V.N.: 10-140 mg/dL).

Embarazo y deficiencia de G6PD

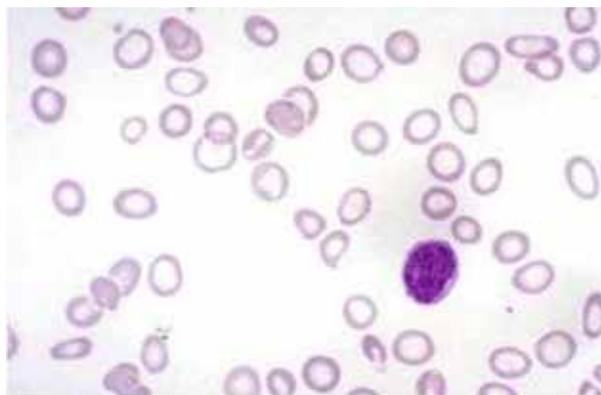


Figura 25. Frotis de sangre de paciente deficiente en G6PD y anemia microcítica hipocrómica por deficiencia de hierro.

Se diagnosticaron cuatro pacientes embarazadas deficientes en G6PD, con valores de Hb y Hto adecuados para su edad gestacional, bilirrubina normal y examen físico normal para su edad gestacional, es decir, sin anemia hemolítica congénita no esferocítica. Las cuatro pacientes cursaron con embarazos normales. A todas ellas se les prohibió la ingestión de drogas oxidantes y no tuvieron problema de hemólisis

durante su embarazo.

Enfermedad granulomatosa crónica y deficiencia de G6PD

1, Estudio de la familia G

Motivo de consulta: Los propósitos de la familia, procedentes de Ciudad Bolívar (Edo. Bolívar), eran dos varones de 5 y 11 años que consultaron por infecciones a repetición desde los tres años de edad que se acompañaban de anemia intensa (3 g/dL), fiebre, vómitos, dolor abdominal e ictericia. Este cuadro, que se presentaba con una frecuencia de tres veces por año, requería comúnmente hospitalización para tratamiento con antibióticos intravenosos y transfusiones de concentrados globulares (Figura 28). Ambos pacientes tenían antecedentes de crisis repetidas de forunculosis en piel, principalmente en miembros inferiores y tórax, por *Staphylococcus aureus* y abscesos en ganglios de las regiones inguinales que ameritaron drenaje quirúrgico. En algunas oportunidades se les hizo el diagnóstico de hepatitis y septicemia. Durante estas crisis los pacientes presentaban ictericia con aumento de la bilirrubina indirecta.

Antecedentes personales: Ictericia neonatal y anemia después de las primeras 24 horas del nacimiento que ameritó fototerapia en ambos pacientes. Niegan exanguinotransfusión. El paciente de 11 años de edad tiene como antecedente una glomerulonefritis aguda

a los 10 años, reducción rápida de la Hb a 6,7 g/dL, lo que requirió transfusión de concentrado globular.

Antecedentes familiares: Cuatro hermanos varones habían muerto con infección y anemia a diferentes edades. El primer hermano, fallecido a los 13 años por septicemia y anemia hemolítica, tenía antecedentes de ictericia neonatal, crisis hemolítica e infecciones cada 3-6 meses desde la niñez, que ameritaban hospitalización para transfusiones de concentrado globular y antibioticoterapia, y con frecuencia presentaba forunculosis en piel por *Staphylococcus aureus* que cedían con tratamiento con antibióticos tales como prostaflina. Este paciente al examen físico presentaba ganglios en regiones inguinales.

El segundo hermano fallecido fue un mortinato a término.

El tercer hermano fallecido nació de parto normal con un peso de 4 200 g; a las 24 horas de su nacimiento presentó anemia hemolítica e ictericia, desarrolló un síndrome febril y murió a los 30 días complicado con meningitis.

El cuarto hermano con la misma clínica de crisis de anemia hemolítica e infecciones a repetición murió a los 12 años de edad (no estudiado).

Los padres de los propósitos son asintomáticos. La madre tenía 46 años y el padre 45 años, sin antecedentes personales de anemia e ictericia, con exámenes físicos normales (Figura 26).

Examen físico

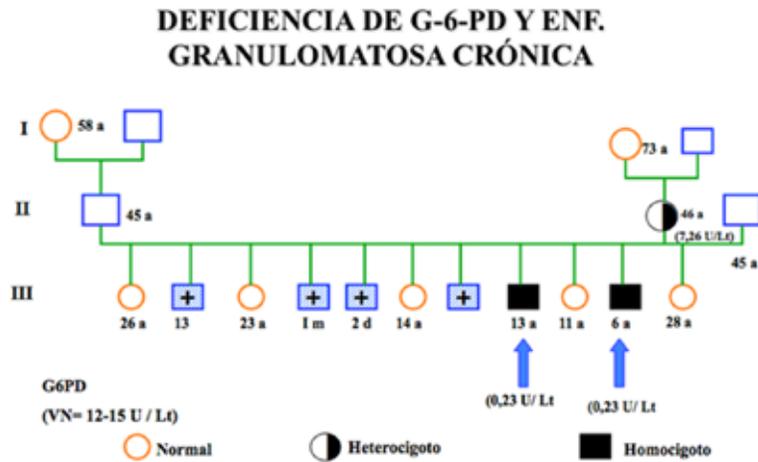


Figura 26. Patrón de herencia de la familia G con deficiencia de G6PD y enfermedad granulomatosa crónica secundaria a la deficiencia de G6PD.

Paciente [O.G.] de 11 años de edad, quien al examen físico presenta ictericia conjuntival, palidez de piel y mucosas, lesiones residuales en miembros y tórax de forunculosis previas, polo esplénico palpable, hígado palpable a 1 cm del reborde costal.

Paciente [E.G.] de 5 años de edad, quien al examen físico presenta ictericia conjuntival, palidez de piel y mucosas, lesiones residuales en miembros y tórax de forunculosis previas, polo esplénico palpable, hígado palpable a 1cm del reborde costal (79-81).

Paciente [O.G.]:

Hematología: Hb: 10,5 g%, Hto 39%, reticulocitos: 7,5 % (recibió transfusión 2 semanas antes), conteo blanco: 4811 leucocitos/mm³, recuento diferencial: 45 neutrófilos, 19 eosinófilos, 31 linfocitos, 4 monocitos, 1 basófilo.

Química sanguínea: SGPT: 15 U/L [V.N.: 8-30], SGOT: 23 U/L [V.N.: 7-27], hierro sérico: 251 mg/dL [V.N.: 60-160], LDH: 173 U/L [V.N. del adulto: 47-140].

Perfil de detección de hemoglobinopatías y talasemia: Electroforesis de Hb: AA, Cuantificación de Hb A2: 3 % [V.N.: 2,2 - 3,3 %], Cuantificación de Hb fetal: 1 % [V.N.: 2,2 - 3,3 %], Prueba de inestabilidad de la hemoglobina: negativa. No se detectaron hemoglobinopatías ni talasemias. La cuantificación del ciclo glicolítico fue normal.

Se observa en el Cuadro 3 valores muy disminuidos de la G6PD en los eritrocitos de los propósitos de la familia, los cuales fueron clasificados como deficientes hemocigotos para la G6PD. También se observa que el porcentaje de la G6PD de los neutrófilos estuvo muy disminuido en estos pacientes.

Estudio de la inmunidad humoral: Los valores séricos de las inmunoglobulinas y del complemento no presentaron deficiencias pero se observó aumento de la IgM.

Valores séricos de inmunoglobulinas:
IgG: 1 070 mg/dL [V.N.: 575-1.607], IgM: 280 mg/dL [V.N.: 26-105], IgA: 260 mg/dL [V.N.: 94-588]

Valores séricos de complemento: CH50: 122 U. hem/cc [V.N.: 150-250], C3: 158 mg/dL [V.N.: 90-190], C4: 31 mg/dL [V.N.: 20-40]

Paciente [E.G.]:

Hematología: Hb 9,7 g/dL, Hto: 36 % reticulocitos: 14 %, conteo blanco: 6 596 leucocitos/mm³, recuento diferencial: 45 segmentados, 6 eosinófilos, 46 linfocitos, 2 monocitos, 1 basófilo.

Química sanguínea: SGPT: 17 U/L [V.N.: 8-30], SGOT: 29 U/L [V.N.: 7-27], bilirrubina total: 2,17 mg/dL [V.N.: 0,2-1,2], bilirrubina directa: 0,31 mg/dL [V.N.: 0-0,4], hierro sérico: 18 mg/dL [V.N.: 60-160], LDH.: 153 U/L [V.N.: 47-140].

Perfil para detectar hemoglobinopatías y talasemia:

Cuadro 3. Cuantificación de las eritroenzimas del ciclo de la hexosa monofosfato de los propósitos y miembros de la familia G con deficiencia de G6PD y enfermedad granulomatosa crónica.

MIEMBROS	EDAD (años) UI/gHb	G-6-PD UI/gHb	6PGD UI/g Hb G.B %	GR	G6PD
MADRE	46	7,26	5,2	3,5	45
PADRE	45	12,59	4,0	3,8	98
HERMANA	23	12,25	4,9	3,9	100
HERMANA	14	13,71	5,1	4,0	97
HERMANA	12	12,10	4,1	4,4	98
PROPÓSITO	11	0,23	7,0	5,9	4
PROPÓSITO	5	0,23	7,0	5,9	3
VALORES NORMALES		12-15	1,35-6,07	3,5-4,5	95-100

G6PD: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa GR: glutatión reductasa

6PGD: 6-fosfogluconico deshidrogenasa G6PD G.B.: Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en glóbulos blancos

ANEMIAS HEMOLÍTICAS

Electroforesis de Hb: AA. Cuantificación de Hb A2: 3 % [V.N.: 2,2-3,3]. Cuantificación de Hb Fetal: 1 % [V.N.: 0,5-1,2]. Prueba de inestabilidad de la Hb: negativa. No se detectó hemoglobinopatía ni talasemia

Enzimas de los ciclos de la hexosa monofosfato y glicolítico: Los valores intraeritrocíticos de todas las enzimas del ciclo glicolítico fueron normales y los de las enzimas del ciclo de la hexosa monofosfato mostraron valores muy disminuidos de G6PD (0,2 UI/ g Hb) (V.N.: 12-14).

Estudio de la inmunidad humoral: Valores séricos de inmunoglobulinas: IgG: 1.150 mg/dL [V.N.: 571 – 1 597], IgM: 240 mg/dL [V.N.: 28 - 115], IgA: 180 mg/dL [V.N.: 52 - 329]

Valores séricos de complemento: CH50: 128 U. Hemolíticas/cc [V.N.: 150-250], C3: 146 mg/dl [V.N.: 90 - 190], C4: 31 mg/dl [V.N.: 20 - 40]. Los valores séricos de las inmunoglobulinas y del complemento no presentaron deficiencias pero se observó aumento de la IgM.

Estudio de la fagocitosis de los polimorfonucleares

Los própositos de la familia G. con deficiencia de G6PD, los varones hemocigotos O.G. de 11 años y E.G. de 5 años, presentaron disminución marcada de diversas funciones relacionadas con la fagocitosis de sus polimorfonucleares:

1. De la endocitosis de *Candida albicans*
2. De la capacidad de reducción del NBT
3. De la capacidad bactericida contra estafilococos
4. De la capacidad candidicida contra *C. albicans*.

Los polimorfonucleares del padre presentaron la función fagocitosis [endocitosis, reducción del NBT, capacidad bactericida y candidicida] completamente normales. La Figura 27 muestra la prueba de reducción del NBT en neutrófilos normales.

Los polimorfonucleares de la madre, por el contrario a los del padre, presentaron una función de fagocitosis disminuida pero solo moderadamente, con valores más altos que la de sus hijos própositos de este estudio, pero menores que los valores normales obtenidos en donantes de sangre, usados como controles. Es decir, los valores de las diferentes pruebas de fagocitosis realizada a los polimorfonucleares de la madre de los própositos nos dieron valores intermedios entre los normales y los deficientes en la función de fagocitosis (80).

2. Estudio de la familia Ve

Paciente AVe

Motivo de consulta: Paciente femenina de 5 años de edad, procedente de Acarigua (Edo. Portuguesa) quien consulta por cuadros de infecciones a repetición, anemia e ictericia que ameritaba hospitalización para tratamiento con antibióticos y transfusión de concentrados globulares.

Antecedentes personales: A los 8 meses de edad presentó bronconeumonía y anemia con reducción de la Hb a 3 g/dL, lo cual requirió hospitalización

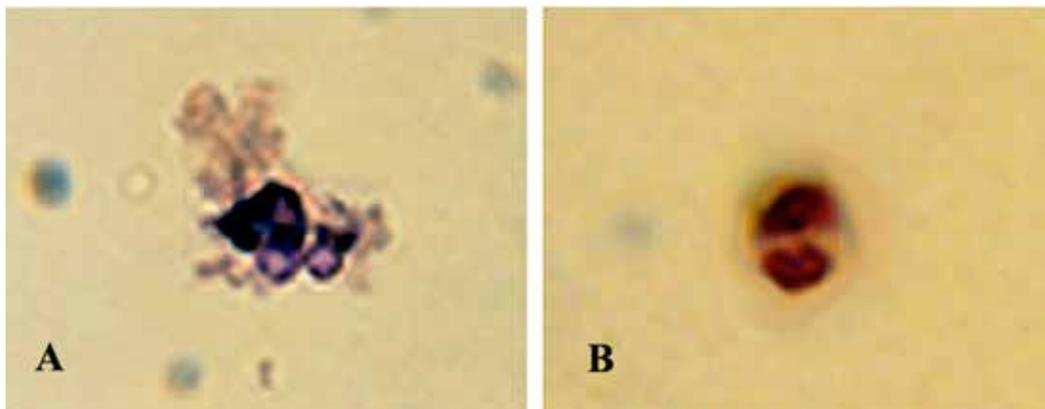


Figura 27. Prueba de reducción del NBT en frotis de sangre. Tanto en A como en B se aprecian inclusiones de gránulos oscuros (NTB) dentro del citoplasma de un neutrófilo de un individuo sin deficiencia de la G6PD.

para antibioticoterapia parenteral y transfusión de concentrado globular. Desde ese momento presentó frecuentes episodios de bronconeumonía asociados con síndromes gripales; en total presentó 9 neumonías, 8 del pulmón derecho y 1 del izquierdo. Requirió transfusión de concentrados globulares en 10 oportunidades. Presentó 3 infecciones urinarias en el transcurso del último año. Presentó un absceso de la fosa nasal derecha que fue tratado con antibióticos parenterales.

Examen físico: Preescolar femenina de raza mestiza con ictericia y palidez mucocutánea. No presentaba visceromegalia.

Hallazgos de laboratorio: Hematología: Hb: 6,98 g/dL, Hto: 21 %, conteo de reticulocitos: 18 %, conteo de leucocitos: 270 000 leucocitos/mm³, conteo de plaquetas: 334 000/mm³.

Química sanguínea: Glicemia: 69 mg% (V.N.: 65 - 110), urea: 9 mg% (V.N.: 7 - 18), LDH: 177 U/L (V.N.: 49 - 1 140), fosfatasa alcalina: 69 mg% (V.N.: 19 - 82), ácido úrico: 4,88 mg%, SGPT: 11 U/L (V.N.: 8 - 30), SGOT: 23 U/L (V.N.: 7 - 27).

Perfil para detectar hemoglobinopatía:

Electroforesis de Hb: Hb S + HbA + aumento de la HbA₂ (Figura 28). Cuantificación de la Hb A₂: 4,1 % (V.N.: 2,2 - 3,3). Cuantificación de la Hb fetal: 0,55 % (V.N.: 0,5 - 1,2). Prueba de la inestabilidad de la Hb: negativa.

La electroforesis de la hemoglobina de la paciente se muestra en posición 6 de la corrida electroforética de las hemoglobinas de la Figura 28, siendo tipificada

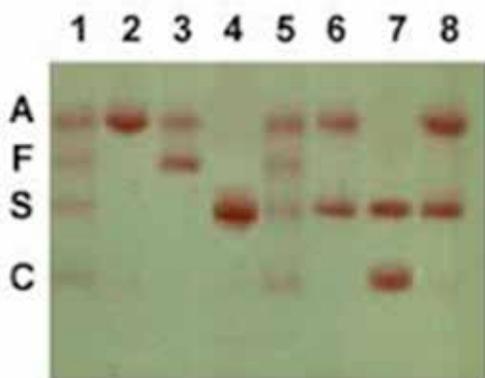


Figura 28. Electroforesis de diversos tipos hemoglobinas. La muestra 6 corresponde a la paciente Ave (Hb AS): A (normal), F (fetal), S y C.

como Hb AS. La Hb S es una Hb lenta y migra por detrás de la Hb A.

La cuantificación de la enzima G6PD en esta paciente mostró valores del 10 % de lo normal.

Estudio de la inmunidad humoral: Los valores séricos de las inmunoglobulinas y complemento no mostraron alteraciones. Hubo aumento de la IgG y del componente del complemento C4.

Valores séricos de las inmunoglobulinas: IgG: 2 072 mg% [V.N.: 571 - 1 597]. IgM: 107 mg% [V.N.: 28 - 115]. IgA: 264 mg% [V.N.: 52 - 329].

Valores séricos de complemento: CH50: 150 U. hemolíticas/cc [V.N.: 150 - 250]. C3: 175 U. hem./cc [V.N.: 90 - 190]. C4: 49 U. hem./cc [V.N.: 20 - 40]

Fagocitosis de los polimorfonucleares:

La paciente presentó una marcada disminución de diferentes fases de la función fagocítica de sus polimorfonucleares: 1. De la endocitosis de *Candida albicans*: 60 % [V.N.: 85 - 95]. 2. De la capacidad de reducción del NBT: 8% [V.N.: 85 - 95]. 3. De la capacidad bactericida contra estafilococos: disminuida, los neutrófilos del paciente no mataron los estafilococos ingeridos, y estos crecieron en la placa de agar. 4. De la capacidad candidicida contra *C. albicans*.

Los polimorfonucleares del padre presentaron la función de fagocitosis de sus polimorfonucleares normal; en cambio los de la madre mostraron un valor subnormal de endocitosis, pero normal de NBT (80,81).

Estudio de la G6PD parcialmente purificada de individuos hemicigotos y heterocigotos para la deficiencia de G6PD y clasificación de los pacientes deficientes en G6PD

La enzima G6PD eritrocitaria fue parcialmente purificada en columnas de intercambio aniónico y estudiada en 68 pacientes propósitos hemicigotos para la deficiencia de G6PD, de acuerdo con los parámetros bioquímicos establecidos por la OMS, anteriormente descritos (41).

Electroforesis de la G6PD

El estudio electroforético de la G6PD residual purificada de eritrocitos en columnas de intercambio

aniónico se realizó en membranas de acetato de celulosa; esto permitió, en los pacientes hemocigotos para la deficiencia de G6PD, en donantes de sangre usados como testigos y en los familiares de los pacientes própositos, detectar la G6PD de migración normal "B" y también la variante "A".

En pacientes hemocigotos para la deficiencia de G6PD se detectó la variante "A" en el 61,53 % de los casos y la variante "B" en el 38,47 %. En las pacientes heterocigotas se detectó la variante "A" en el 8,3 % de los casos, la variante "B" en el 37,53 % y la variante "AB" en el 54,17 %. La variante de G6PD "AB" representa combinación de la G6PD "B" y G6PD "A".

Clases de G6PD obtenidas en própositos deficientes

El estudio clínico, los valores intraeritrocíticos de G6PD obtenidos por cuantificación de la enzima residual, el estudio de las propiedades bioquímicas de la G6PD residual parcialmente purificada (constante de Michaelis [Km] para sus sustratos glucosa-6-fosfato [G6P] y nicotin-adenina disfosfato [NADP], estabilidad al calor y pH óptimo), y la electroforesis de la G6PD nos permitieron encontrar diferencias cinéticas y electroforéticas en las G6PD eritrocíticas de pacientes deficientes de diferentes grupos poblacionales.

Se detectaron tres diferentes clases de G6PD en 52 pacientes hemocigotos própositos provenientes de diferentes regiones de Venezuela. A saber: 1. **CLASE I:** con anemia hemolítica congénita no esferocítica en el 4,9 % de los pacientes. 2. **CLASE II:** con deficiencia intensa de G6PD y sin anemia hemolítica congénita no esferocítica en el 45,7 % de los pacientes. 3. **CLASE III:** con deficiencia moderada en la actividad de la G6PD en 49,4 % de los pacientes.

Características de la clase I de G6PD

Los pacientes de la clase I de deficiencia de G6PD se caracterizaron clínicamente por presentar anemia hemolítica congénita no esferocítica con ictericia permanente a expensas del aumento de la bilirrubina indirecta y esplenomegalia. Tenían antecedentes de ictericia neonatal, que ameritó fototerapia, y hemólisis crónica exacerbada por drogas oxidantes e infecciones.

La actividad de G6PD residual intraeritrocítica se encontró disminuida a valores de 7,5 % - 13 % de la actividad de G6PD normal que es tomada como el

100 %. El Km de la G6PD parcialmente purificada para su sustrato glucosa-6-fosfato se encontró en un rango que osciló entre 133 y 220 μM [V.N.: 50 - 70]. El Km de la G6PD parcialmente purificada para su sustrato NADP se encontró en un rango que osciló entre 3,8 y 4 μM [V.N.: 2 - 6,9].

La enzima G6PD residual parcialmente purificada de estos pacientes se comportó como termolábil al exponerse a temperatura de 40 y 46 grados centígrados. La curva de pH óptimo de la G6PD residual fue bifásica, con pH óptimo entre 8 y 9 (82,83).

La electroforesis de la enzima G6PD mostró solamente la variante rápida "A", en los 4 pacientes estudiados provenientes de tres familias diferentes, con una movilidad electroforética en el buffer TRIS de 110 %, en todos los casos.

Características de la clase II de G6PD

Los pacientes de la clase II se caracterizaron clínicamente por ser asintomáticos, con valores hematológicos normales, solo presentaron crisis hemolítica cuando se expusieron a drogas oxidantes, ingirieron habas o presentaron infecciones virales o bacterianas. No presentaban evidencia de anemia hemolítica crónica.

Los própositos de tres familias deficientes presentaron hemólisis después de la ingestión de habas (favismo). Estos pacientes tenían antecedentes de ictericia neonatal, que había requerido fototerapia o exanguinotransfusión para evitar el cuadro clínico de kernícterus.

La actividad de la G6PD residual intraeritrocítica se encontró muy disminuida, en un rango entre 0 % y 10 % de la actividad de la G6PD normal. El Km de la G6PD parcialmente purificada para su sustrato glucosa-6-fosfato se encontró entre 31 y 200 mM [V.N.: 50 - 70]. El Km de la G6PD parcialmente purificada de su sustrato NADP se encontró en 2,2 - 4,4 mM [V.N.: 2,9 - 4,4].

La enzima G6PD parcialmente purificada de estos pacientes se comportó como lábil al calor, al exponerse a temperaturas de 40 y 46 grados centígrados. La curva de pH de la enzima G6PD parcialmente purificada fue en todos los casos bifásica con pH óptimos de 6,5 y 9,5.

La electroforesis de la enzima parcialmente purificada mostró en todos los casos la presencia de la G6PD "B" con una movilidad electroforética de 100 % en el buffer TRIS.

El estudio de las propiedades antes enumeradas

nos permitió detectar la variante Mediterránea en nuestros pacientes deficientes en G6PD con la clase II, la cual se caracterizó por presentar la actividad de G6PD muy disminuida, con el Km para el PEP disminuido y el Km para el sustrato NADP normal, inestable al calor, con pH bifásico 6,5 y 9,5 (82,83).

Características de la Clase III de G6PD

Estos pacientes se caracterizaron por ser asintomáticos, con valores hematológicos normales y presentar crisis hemolítica solamente cuando se expusieron a drogas oxidantes o a infecciones. Tenían antecedentes de ictericia neonatal que había requerido tratamiento con fototerapia o exanguinotransfusión. No tenían evidencia clínica ni de laboratorio de anemia hemolítica congénita no esferocítica.

La actividad de G6PD residual intraeritrocítica se encontró disminuida en un rango entre 11 % y 58 % de la actividad de G6PD normal. El Km de la G6PD parcialmente purificada para el sustrato glucosa-6-fosfato se encontró entre 40 y 73 mM [V.N.: 50 - 70]. El Km de la G6PD parcialmente purificada para el sustrato NADP también se encontró en valores de 1,4 - 2,9 mM [V.N.: 3,9 - 4,4] de acuerdo al paciente estudiado.

La enzima G6PD parcialmente purificada de estos pacientes se comportó estable al calor en unos pacientes y termolábil al exponerse a temperaturas de 40 y 46 °C en otros pacientes. La curva de pH de la enzima G6PD varió desde monofásica con pH óptimo de 8 o 9 hasta bifásica con dos pH diferentes.

La electroforesis de la enzima parcialmente purificada mostró migraciones electroforéticas tipo "B" (normal) en 20 % de las pacientes y tipo "A" (rápida) en 80 % de los pacientes.

Con los estudios antes mencionados se pudo detectar dentro de esta clase la variante de G6PD A- (82, 83).

Conclusión

La deficiencia de G6PD es el trastorno enzimático con relevancia clínica de mayor frecuencia a escala mundial. La manifestación clínica más importante de la deficiencia es la destrucción acelerada de los glóbulos rojos que, en los casos más intensos, produce una anemia de tipo hemolítico. La hemólisis puede ser espontánea o puede ser precipitada por diversos factores tales como infecciones, el consumo de habas o la ingestión de agentes oxidantes. La prevalencia en Venezuela de la deficiencia de esta enzima varía

entre 2 % y 10 %, dependiendo de la población estudiada. De los pacientes reportados en Venezuela con deficiencia de G6PD la mayoría porta variantes de la enzima de las clases II y III (45,7 % y 49,6 %, respectivamente). Una menor proporción poseen la variante clase I (4,9 %). La clase II, en el ámbito mundial, predomina en la región mediterránea, por lo cual asumimos que su alta frecuencia en pacientes venezolanos se debe al intenso mestizaje de la población autóctona con individuos de raza caucasoide que inmigraron a este país. Por su parte, la clase III que es típica de regiones africanas, debió incorporarse en nuestra población por efecto de la inmigración forzada de individuos de raza negroide y su mezcla con la población autóctona, cuyos individuos no manifiestan esta deficiencia enzimática. Hasta ahora no han sido reportadas en Venezuela variantes de las clases IV y V.

En Venezuela, la deficiencia de G6PD no ha sido estudiada con la intensidad que se requiere, sobre todo si se toma en cuenta el incremento de la infección por parásitos maláricos, en cuyo tratamiento se utilizan drogas oxidantes, y el uso indiscriminado de diversos fármacos con esa propiedad que podrían afectar a los individuos susceptibles.

La deficiencia de G6PD es el trastorno enzimático con relevancia clínica de mayor frecuencia a escala mundial. La manifestación clínica más importante de la deficiencia es la destrucción acelerada de los glóbulos rojos que, en los casos más intensos, produce una anemia de tipo hemolítico. La hemólisis puede ser espontánea o puede ser precipitada por diversos factores tales como infecciones, el consumo de habas o la ingestión de agentes oxidantes. La prevalencia en Venezuela de la deficiencia de esta enzima varía entre 2 % y 10 %, dependiendo de la población estudiada. De los pacientes reportados en Venezuela con deficiencia de G6PD la mayoría porta variantes de la enzima de las clases II y III (45,7 % y 49,6 %, respectivamente). Una menor proporción poseen la variante clase I (4,9 %). La clase II, en el ámbito mundial, predomina en la región mediterránea, por lo cual asumimos que su alta frecuencia en pacientes venezolanos se debe al intenso mestizaje de la población autóctona con individuos de raza caucasoide que inmigraron a este país. Por su parte, la clase III que es típica de regiones africanas, debió incorporarse en nuestra población por efecto de la inmigración forzada de individuos de raza negroide y su mezcla con la población autóctona, cuyos individuos no manifiestan esta deficiencia enzimática. Hasta ahora

no han sido reportadas en Venezuela variantes de las clases IV y V.

En Venezuela, la deficiencia de G6PD no ha sido estudiada con la intensidad que se requiere, sobre todo si se toma en cuenta el incremento de la infección por parásitos maláricos, en cuyo tratamiento se utilizan drogas oxidantes, y el uso indiscriminado de diversos fármacos con esa propiedad que podrían afectar a los individuos susceptibles.

REFERENCIAS

- Jacobasch G, Rapoport SM. Hemolytic anemias due to erythrocyte enzyme deficiencies. *Mol Aspect Med.* 1996;17(2):143-170.
- Valentine WN, Tanaka KR, Paglia DE. Hemolytic anemias and erythrocyte enzymopathies. *Ann Intern Med.* 1985;103(2):245-257.
- Dacie JV, Mollison P, Richardson N, Selwyn JG, Shapiro L. Atypical congenital hemolytic anemia. *Quart J Med.* 1953;85:79-96.
- Newton WA Jr, Bass JC. Glutathion sensitive chronic nonspherocytic hemolytic anemia. *Am J Dis Child.* 1958;96:501-504.
- Beutler E. Red cell enzyme defects as no diseases and as diseases. *Blood.* 1979;54:1-7.
- Gregg XT, Prchal JT. Red blood cell enzymopathies. En: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, editores. *Hematology. Basic Principles and Practice.* 4ª edición. Filadelfia: Elsevier Inc.; 2005.p.653-667.
- Grimes J. *Human red cell metabolism.* Oxford: Blackwell Publ.; 1966:192-201.
- Naylor CE, Gover S, Basak AK, Cosgrove MS, Levy HR, Adams MJ. NADP+ and NAD+ binding to the dual coenzyme specific enzyme *Leuconostoc mesenteroides* glucose 6-phosphate dehydrogenase: Different interdomain hinge angles are seen in different binary and ternary complexes. *Acta Cryst.* 2001;57:635-648.
- Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: A systematic review and meta-analysis. *Blood Cell Mol Dis.* 2009;42(3):267-278.
- Waller HD, Benohr HC. Enzyme deficiencies in glycolysis and nucleotide metabolism of red blood cells in nonspherocytic hemolytic anemia. *Klin Wochenschr.* 1976;54(17):803-821.
- Prchal JT, Gregg XT. Red cell enzymes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2005:19-23.
- Abrusci P, Chiarelli LR, Galizzi A, Fermo E, Bianchi P, Zanella A, et al. Erythrocyte adenylate kinase deficiency: Characterization of recombinant mutant forms and relationship with nonspherocytic hemolytic anemia. *Exp Hematol.* 2007;35(8):1182-1189.
- Miwa S, Fujii H, Tani K, Takahashi K, Takizawa, Igarashi T. Red cell adenylate kinase deficiency associated with hereditary nonspherocytic hemolytic anemia: Clinical and biochemical studies. *Am J Hematol.* 1983;14(4):325-333.
- Kotaka M, Gover S, Vandeputte-Rutten L, Au SW, Lam VM, Adams MJ. Structural studies of glucose-6-phosphate and NADP+ binding to human glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Acta Crystallogr D Biol Crystallog.* 2005;61(5):495-504.
- Rowland P, Basak AK, Gover S, Levy HR, Adams MJ. The three-dimensional structure of glucose 6-phosphate dehydrogenase from *Leuconostoc mesenteroides* refined at 2.0 Å resolution. *Structure.* 1994;2:1073-1087.
- Au SW, Gover S, Lam SVM, Adams MJ. Human glucose-6-phosphate dehydrogenase: The crystal structure reveals a structural NADP(+) molecule and provides insights into enzyme deficiency. *Struct Fold Des.* 2000;8:293-303.
- Scopes DA, Bautista JM, Naylor CE, Adams MJ, Mason PJ. Amino acid substitutions at the dimer interface of human glucose-6-phosphate dehydrogenase that increase thermostability and reduce the stabilising effect of NADP. *Eur J Biochem.* 1998;251(1-2):382-388.
- Lehninger AL. The tricarboxylic acid cycle and the phosphogluconate pathway. En: Lehninger AL, editor. *Biochemistry. The molecular basis of cell structure and function.* 2ª edición. Nueva York: Worth Publishers Inc.; 1975.p.443-476.
- Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and other enzyme abnormalities. En: Beutler E, Lichtman M, Coller B, Kipps T, editores. *Williams Hematology.* 5ª edición. Nueva York: McGraw-Hill, Inc.; 1995.
- Arese P, De Flora A. Denaturation of normal and abnormal erythrocytes. II. Pathophysiology of hemolysis in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Semin Hematol.* 1990;27:1-26.
- Morelli A, Benatti U, Gaetani GF, de Flora A. Biochemical mechanisms of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Proc Natl Acad Sci EE.UU.* 1979;75:1979-1983.
- Luzzatto L, Battistuzzi G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Adv Hum Genet.* 1985;14:217-329.

23. Longo L, Vanegas O, Patel L, Rosti V, Li H, Waka J, et al. Maternally transmitted severe glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency is an embryonic lethal. *EMBO J.* 2002;21:4229-4239.
24. Chollet S, Gougerot M. Hereditary polymorphonuclear neutrophil deficiencies. *Transfus Clin Biol.* 2000;7:533-539.
25. Leopold JA, Walker J, Scribner AW, Voetsch B, Zhang Y, Losclazo AJ, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase modulates vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis. *J Biol Chem.* 2003;278:32100-32106.
26. Looareeuwan S, Buchachart K, Wilairatana P. Primaquine-tolerant *vivax* malaria in Thailandia. *Ann Trop Med Parasitol.* 1997;91:939-943.
27. Beutler E, Gelbart T, Kuhl W. Human red cell glucose-6-phosphate dehydrogenase: All active enzyme has sequence predicted by the X chromosome-encoded cDNA. *Cell.* 1990;62 (1):7-9.
28. Martini G, Toniolo D, Vulliamy TJ, Luzzatto L, Dono R, Viglietto G, et al. Structural analysis of the X-linked gene encoding human human glucose 6-phosphate dehydrogenase. *EMBO J.* 1986;5(8):1849-1855.
29. Persico MG, Viglietto G, Martini G, Toniolo D, Paonessa G, Moscatelli C, et al. Isolation of human glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) cDNA clones: Primary structure of the protein and unusual 5' non - coding region. *Nucl Acid Research.* 1986;14:2511-2522.
30. Cappellini MD, Fiorelli G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Lancet.* 2008;371(9606):64-74.
31. Mason PJ, Bautista JM, Gilsanz F. G6PD deficiency: The genotype-phenotype association. *Blood Review.* 2007;21:267-283.
32. Kanno H, Huang IY, Kan YW, Yoshida A. Two structural genes on different chromosomes are required for encoding the major subunit of human red cell G-6-PD. *Cell.* 1989;58(3):595-606.
33. Rinaldi A, Filippi G, Siniscalco M. Variability of red cell phenotypes between and within individuals in an unbiased sample of 77 certain heterozygotes for G-6-PD deficiency in Sardinia. *Am J Hum Gen.* 1976;28(5):496-505.
34. Peters AL, Van Noorden CJF. Glucose-6-phosphate Dehydrogenase Deficiency and malaria: Cytochemical detection of heterozygous G6PD deficiency in women. *J Histochem Cytochem.* 2009;57(11):1003-1011.
35. Compri MB, Saad ST, Ramalho AS. Genetico-epidemiological and molecular investigation of G-6-PD deficiency in a Brazilian community. *Cad Saude Publica.* 2000;16:335-342.
36. Castro S, Weber R, Dadalt V, Tavares V, Giugliani R. Prevalence of G6PD deficiency in newborns in the south of Brazil. *J Med Screen.* 2006;13(2):85-86.
37. Schneider H, Guerreiro JF, Santos SE, Weimer TA, Schneider MPC, Salzano FM. Isolate breakdown in Amazonia. The blacks of the Trombetas river. *Rev Bras Genet.* 1987;10:565-574.
38. Estrada M, Gutiérrez A, Palacios B, Pérez G, Rovira A, Vives JL. Estudio bioquímico y molecular de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 1995;11:115-120.
39. Acquatella G. Deficiencia de glucosa-6-fosfato dehidrogenasa en diferentes grupos raciales de Venezuela. *Acta Med Venezol.* 1967;4:269-276.
40. Müller A. Anemias hemolíticas en Venezuela. Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Médicas, Universidad del Zulia, Maracaibo, 1984.
41. Betke K, Brewer GJ, Kirkman HN, Luzzatto L, Motulzky AG, Ramot B, et al. Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase. Report of a WHO Scientific Group. WHO Tech Report Series No. 366, 1967:1-53.
42. Mohanty D, Mukherjee MB, Colah RB. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in India. *Indian J Pediatr.* 2004;71:525-529.
43. Beutler E. G6PD deficiency. *Blood.* 1994;84:3613-3636.
44. Frigerio R, Sole G, Lovicu M, Passiu G. Molecular and biochemical data on some G6PD variants from southern Sardinia. *Haematologica.* 1994;79:319-321.
45. Calabró V, Mason PJ, Filosa S, Civitelli D, Cittadella R, Tagarelli A, et al. Genetic heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency revealed by single-strand conformation and sequence analysis. *Am J Hum Genet.* 1993;52:527-536.
46. Viglietto G, Montanaro V, Calabro V, Vallano D, D'Urso M, Persico MG, et al. Common glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants from the Italian population: Biochemical and molecular characterization. *Ann Hum Genet.* 1990;54:1-15.
47. Beutler E, Yoshida A. Genetic variation of glucose-6-phosphate dehydrogenase: A catalog and future prospects. *Medicine (Baltimore).* 1988;67:311-334.
48. Bang-Ce, Hongqiong L, Zhensong L. Rapid detection of common Chinese glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations by microarray-based assay. *Am J Hematol.* 2004;76:405-412.
49. Fonseca D, Mateus H, Silva C, Contreras N, Restrepo C. Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

- Aspectos generales de la eritroenzimopatía más frecuente en el mundo. *Acta Med Colomb.* 2005;30(2):15-19.
50. Minucci A, Moradkhani K, Hwang MJ, Zuppi C, Giardina B, Capoluongo E: Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutation database: Review of the "old" and update of the new mutations. *Blood Cells Mol Dis.* 2012;48(3):154-165.
 51. Yoshida A. Glucose-6-phosphate dehydrogenase of human erythrocyte. Purification and characterization of normal "B" enzyme. *J Biol Chem.* 1966;241:4966.
 52. Luzzatto L, Paggi V. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. En: Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg DE, Look AT, Fisher D, Lux SE, editores. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood.* 7ª edición. Amsterdam: Elsevier Inc.; 2008.p.833-910.
 53. Takizawa T, Yoneyama Y, Miwa S, Yoshida A. A single nucleotide base transition is the basis of the common human glucose-6-phosphate dehydrogenase variant A (+). *Genomics.* 1987;1(3):228-231.
 54. Hirono A, Beutler E. Molecular cloning and nucleotide sequence of cDNA for human glucose-6-phosphate dehydrogenase variant A (-). *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988;85:3951-3954.
 55. Vulliamy TJ, D'Urso M, Battistuzzi G, Estrada M, Foulkes NS, Martini G, et al. Diverse point mutations in the human glucose-6-phosphate dehydrogenase gene cause enzyme deficiency and mild or severe hemolytic anemia. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1988;85:5171-5175.
 56. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. En: Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman MA, editores. *Hematology.* 3ª edición. Nueva York: McGraw-Hill, Inc.; 1983.p.561-574.
 57. Fermi C, Martinetti P. Studio sul favismo. *Ann Igiene Sper.* 1905;15:75-86.
 58. Odièvre MH, Daněková N, Mesples B, Chemouny M, Couque N, Perez N, et al. Unsuspected glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency presenting as symptomatic methemoglobinemia with severe hemolysis after fava bean ingestion in a 6-year-old boy. *Int J Hematol.* 2011;93(5):664-666.
 59. Al-Alimi AA, Kanakiri N, Kamil M, Al-Rimawi HS, Zaki AH, Yusoff NM. Mediterranean glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD (C563T)) mutation among Jordanian females with acute hemolytic crisis. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2010;20(12):794-797.
 60. Kaplan M, Bromiker R, Hammerman C. Severe neonatal hyperbilirubinemia and kernicterus: Are these still problems in the third millennium? *Neonatology.* 2011;100(4):354-362.
 61. Bisoi S, Chakraborty S, Chattopadhyay D, Biswas B, Ray S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase screening of babies born in a tertiary care hospital in West Bengal. *Indian J Public Health.* 2012;56(2):146-148.
 62. Tanphaichitr VS, Hirono A, Pung-amritt P, Treesucon A, Wanachiwanawin W. Chronic nonspherocytic hemolytic anemia due to glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: Report of two families with novel mutations causing G6PD Bangkok and G6PD Bangkok Noi. *Ann Hematol.* 2011;90(7):769-775.
 63. Honig GR, Habacon E, Vida LN, Matsumoto F, Beutler E. Three new variants of glucose-6-phosphate dehydrogenase associated with chronic nonspherocytic hemolytic anemia: G-6-PD Lincoln Park, G-6-PD Arlington Heights, and G-6-PD West Town. *Am J Hematol.* 6(4):353-360.
 64. Ruwende C, Hill A. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria. *J Mol Med (Berl).* 1998;76(8):581-588.
 65. Wajcman H, Galactéros F. Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: A protection against malaria and a risk for hemolytic accidents. *F C R Biol C R Biol.* 2004;327(8):711-720.
 66. Ronquist G, Theodorsson E. Inherited, non-spherocytic haemolysis due to deficiency of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Scand J Clin Lab Invest.* 2007;67(1):105-111.
 67. Luzzatto L. G-6-PD deficiency and hemolytic anemia. En: Nathan DG, Oski FA, editores. *Hematology of Infancy and Childhood.* 4ª edición. Baltimore: W.B. Saunders Co.; 1993.p.674-687.
 68. Beutler E. *Red Cell Metabolism: A Manual of Biochemical Methods.* 2ª edición. Nueva York: Grune and Stratton, 1975.
 69. Beutler E, Mitchell M. Special modifications of the fluorescent screening method for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood.* 1968;32:816-818.
 70. Bernstein RE. A rapid screening dye test for the detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in red cells. *Nature.* 1962;194:192-193.
 71. Gemignani F, Perra C, Landi S, Canzian F, Kurg A, Tönissson N, et al. Reliable detection of beta-thalassemia and G6PD mutations by a DNA microarray. *Clin Chem.* 2002;48(11):2051-2054.
 72. Xu W, Westwood B, Bartsocas CS, Malcorra-Azpiazu JJ, Indrak K, Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations and haplotypes in various ethnic groups. *Blood.* 1995;85:257-263.
 73. Du CS, Ren X, Chen L, Jiang W, He Y, Yang M. Detection of the most common G6PD gene mutations in Chinese using amplification refractory mutation

- system. *Human Heredity*. 1999;49:133-138.
74. Gorlin JB, Stossel T. The Phagocyte System: Structure and function. En: Nathan DG, Oski FA, editores. *Hematology of infancy and childhood*. 4ª edición. Filadelfia: W.B Saunders Co.; 1993.p.435-442.
 75. Müller-Soyano A, Tami I, Soyano A, Miliani E. Defectos de la función fagocitaria en pacientes con infecciones bacterianas recurrentes. *Acta Cient Venez*. 1980;31(Supl. 1):266.
 76. Tami I, González E, Müller-Soyano A. Evaluación de la función fagocítica en infecciones. *Sangre*. 1981;25:280.
 77. Müller-Soyano A, Somoza R. Glycolytic, Glucose-6-phosphate dehydrogenase and related erythroenzymopathies in Venezuelan patients with congenital hemolytic anemias or cyanosis. *Blood*. 1990;76:42.
 78. Müller-Soyano A, Méndez G, Ponte B, Soyano AE, Soyano A. La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en Venezuela. ASOVAC 98, XLVIII Convención Anual Universidad Rafael Belloso Chacín Maracaibo 9-14 nov, 1998. *Acta Científ Venez*. 1998;49(2):268.
 79. Müller A. Anemia hemolítica por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. En: Pérez Requejo JL, editor. *Hematología*. 3ª edición. Caracas: Editorial Disinlimed, C.A., 1995.p.221-236.
 80. Müller-Soyano A, Gross A, Méndez G, Ponte B, Soyano A, Travieso B, et al. Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en Venezuela. Asociación con enfermedad granulomatosa crónica. *Acta Cient Venez*. 1994;45(Supl. 1):217.
 81. Müller A, Carneiro M, Colloca de Moreno M, Soyano AE, Soyano A. Anemia hemolítica por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PD) asociada con clínica de enfermedad granulomatosa crónica. *HEMOS*. 2004;2:86-88.
 82. Somoza R, Montiel N, Tapia T, González E, Tami I, Müller-Soyano A. Estudio cinético de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en pacientes venezolanos. *Sangre*. 1980;25:281.
 83. Müller A, Soyano A, Méndez G, Somoza R, Soyano AE. Detección de variantes bioquímicas de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-PD) en Venezuela. *HEMOS*. 2004;2:55-60.

VARIOS

Gac Méd Caracas 2013;121(4):339-340

La Gaceta Médica de Caracas hace 100, 50, 25 años

Dr. J M Avilán Rovira

Individuo de Número

Octubre-Diciembre 1913

En la sesión ordinaria No. 318 del 30 de octubre de 1913, se leyó una carta de fecha 25 del mismo mes del bachiller Enrique Tejera Guevara. para el doctor Emilio Conde Flores, en la cual describía **un caso de verruga del Perú** diagnosticado en el Hospital Vargas de Caracas.

Se trataba de un paciente de origen alemán, quien después de un largo periplo que lo llevó a Estados Unidos, Méjico, Brasil y Perú, país donde estuvo

algún tiempo, pasó a Ecuador, Colombia y finalmente llegó a Venezuela. Llegó a Colombia en enero de 1913, fecha hasta la cual no había tenido ninguna enfermedad. En Perú, después de Lima había estado en las regiones de “Las Quebradas” y “Río Santo”, durante los meses de octubre y noviembre de 1912. Al llegar a Colombia se le presentó una fiebre por la cual fue hospitalizado en Bogotá. Según informa, como sospecharon paludismo, fue tratado con quinina sin ningún efecto. Presentó luego dolores reumáticos