

Deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa en maláricos del Estado Bolívar

Drs. GA Godoy, J Valero, R Rivas

Departamento de Parasitología y Microbiología. Escuela de Medicina. Universidad de Oriente, y Servicio de Malariología, Zona III. Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social, Ciudad Bolívar, Estado Bolívar, Venezuela.

RESUMEN

Es importante conocer la tasa de individuos deficientes de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6FD), que viven en zonas endémicas de malaria, por el riesgo, a que esta población está expuesta, de experimentar crisis de anemia hemolítica, por varias causas, entre otras, por la acción de drogas antimaláricas. Por esta última razón, se investigó, en muestras de sangre periférica de adultos de uno y otro sexo, la presencia de la enzima citada en personas que concurrieron, voluntariamente, a Servicios de Malariología, demostrándose, en el 2,9% de las muestras, colectadas al azar en un total de 650 personas, deficiencia evidente en individuos sospechosos de malaria adquirida en zonas endémicas del Estado Bolívar.

Palabras clave: Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa. Malaria.

SUMMARY

It is important to know the rate of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in individuals from endemic areas of malaria, because this population is exposed to risk, and to suffer hemolytic crisis, for various causes, including antimalaric drugs. For this reason, the presence of this enzyme was investigated in blood samples from adults, males and females, that assisted voluntarily to the Malariology Services. Deficiency was present in 2,9% of the samples from 650 patients, with suspected malaria in endemic areas of the Bolivar State.

Key words: Glucose-6-phosphate dehydrogenase. Malaria

Parte de este trabajo fue financiado por el Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente. Proyecto: CI-2-009-00525/92. Consejo de Investigación. Universidad de Oriente. Cumaná, Estado Sucre, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6FD), ha sido demostrada en varias poblaciones humanas (1,2), como un marcador genético, sobre el cual las evidencias acumuladas, mediante investigaciones genéticas y ambientales (2-6), indican que, procesos infecciosos tales como la malaria, han venido condicionando la prevalencia de esta deficiencia, en poblaciones de algunos países. En el caso de la malaria, por ejemplo, que cepas de *Plasmodium falciparum*, se desarrollan mal dentro de glóbulos rojos deficientes de G6FD (5-7). En algunos países, en los que la malaria ha sido endémica por siglos, como son los casos de Nigeria y Angola, la tasa de esta deficiencia afecta al 27% o más de la población, mientras que en países, en los que la malaria no ha existido o ha sido muy rara, como en Australia y Yugoslavia, los porcentajes de personas deficientes a la enzima, son muy bajos o no existen (1,7,10).

Se ha demostrado, que en los glóbulos rojos de personas deficientes en G6FD, hay lisis fácil, cuando son expuestos a varias sustancias, entre ellas, a algunas drogas que son utilizadas con frecuencia, en forma masiva en programas nacionales de salud pública, para tratar la infección malárica en zonas endémicas, por ejemplo, drogas como sulfas, primaquina y pamaquina, entre otras (1,11). En el Estado Bolívar, con la aparición de cepas de *P. falciparum* resistentes a varias drogas antimaláricas y utilizadas con eficacia en el pasado, las autoridades sanitarias se han visto obligadas a modificar esquemas de tratamiento, de uso masivo, introduciendo nuevos o modificando los esquemas anteriores, con drogas tales como primaquina y pirimetamina + sulfadoxina capaces de inducir cuadros hemolíticos (1,12,13), en pacientes G6FD

deficientes, razón por la cual, es necesario conocer con anterioridad, el riesgo que se corre al modificar esquemas de tratamiento de uso masivo, en la población de un área endémica de malaria. El presente trabajo, tiene el propósito de contribuir con la información pertinente, a fin de dar a conocer los niveles de riesgo que representa la administración en el Estado, de drogas antimaláricas, a la población que vive en las áreas endémicas de malaria, determinando en ellas, la tasa de individuos deficientes de G6FD.

MATERIAL Y MÉTODOS

Durante el período comprendido, entre octubre de 1992 y octubre de 1994, se estudiaron muestras de sangre, de individuos febriles que, por sospecha de malaria asistieron voluntariamente a los Servicios de Malariología Zona III, provenientes de áreas endémicas situadas en el sur-este del Estado, residentes temporales o domiciliados permanentemente en esas comunidades. Para la toma de las muestras de sangre, se seleccionaron al azar, personas mayores de 14 años edad, de uno y otro sexo, con gota gruesa positiva a *P. falciparum* o a *P. vivax*. Cada muestra de sangre, identificada en forma correlativa, se colectó en tubos siliconizados y heparinizados o con EDTA, transportadas en refrigeración hasta el laboratorio y conservadas en refrigeración hasta su procesamiento, realizado usualmente dentro de las siguientes 72 horas posteriores a la toma. Se procuró incluir en el estudio, únicamente aquellas muestras provenientes de personas que no habían recibido ningún tratamiento presuntivo, antimalárico. Para la demostración de la enzima, se utilizó un método basado en la reducción de la metahemoglobina (14-16). Se aplicó un método semi-cuantitativo, visual y práctico, descrito por Molstulsky y Campbell-Kraut, en 1962 (15), el cual consiste en la reducción de un sustrato conocido que contiene glucosa-6 fosfato, NADP y diclorofenol-indofenol, en concentraciones de 4,6, 0,13 y 0,55 mmol/l, respectivamente. Este reactivo, obtenido comercialmente de Sigma Chem. Co. (Sigma Diagnostics. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G-6-PDH) deficiency. Procedure N° 400), contiene, además, metasulfato de fenazina. Al sustrato así constituido, se le agrega un volumen de la muestra de sangre hemolisada. El NADPH, producido en la mezcla sustrato-hemolisado, reducirá

el diclorofenol indofenol, decolorándolo. La velocidad con que el colorante es reducido en la mezcla final, es proporcional a la concentración de la enzima G6FD presente en el volumen de glóbulos rojos hemolisados que se agregue al sustrato.

De cada muestra de sangre, se hemolisaron 0,05 ml, en 2,5 ml de agua destilada, desmineralizada. De este hemolisado, se tomó 1 ml, para agregarlo a un vial especial que contenía 0,5 ml del sustrato comercial. Al vial que contenía el sustrato-hemolisado, se le agregaron, posteriormente, 2 ml de aceite mineral y se procuró no alterar, el color azul oscuro de la mezcla. Inmediatamente, se colocaron los viales, en baño de María, a 37°C, registrando, cada 15 minutos, los cambios de color. Las mezclas, preparadas con hemolisado de glóbulos rojos deficientes en G6FD, no logran cambiar el color azul inicial, a rojo intenso. Las muestras parcialmente deficientes cambian el color azul a un color pardo. Para los efectos del presente trabajo, solamente se tomaron en consideración las muestras claramente deficientes. Aquellas cuyos resultados indicaron ser parcialmente deficientes, también se registraron, pero para ser objeto de un análisis posterior.

RESULTADOS

Durante el período que comprendió el estudio, se analizaron un total de 650 muestras de sangre provenientes de igual número de personas, 507 del sexo masculino y 143 del femenino, atendidas en Servicio de Malariología, a quienes se les demostró infección activa producida por *P. falciparum* en 420 (64,6%), y por *P. vivax*, en el resto (35,4%). Por lo menos, en seis ocasiones se demostraron infecciones mixtas. Ninguna de las personas, cuyas muestras de sangre fueron incluidas en este estudio, presentaba ictericia, ni cuadro clínico grave para el momento de la toma de la muestra.

En el total de las muestras analizadas, fue posible demostrar, en 19 de ellas (2,9%), 17 hombres y 2 mujeres, evidencia clara de deficiencia de la enzima G6FD. En 16 muestras adicionales, 12 provenientes de hombres y 4 de mujeres, se obtuvieron resultados catalogados como deficiencias parciales (2,4 %); se registraron los números correlativos, nombres y direcciones de las personas a quienes pertenecían estas muestras, con el propósito de analizarlas en un estudio posterior en el cual se puede repetir la prueba semicuantitativa de Molstulsky y Campbell-Kraut

(15), cuantificar la actividad enzimática y realizar determinaciones electroforéticas, de variantes enzimáticas que, eventualmente, pudieran estar presentes en cada una de estas muestras.

Cuadro 1

Muestras de sangre, número, porcentajes y totales de deficientes a G6FD demostrados en maláricos de ambos sexos

Fuente	Muestras		Deficientes				Totales	
	N°		Evidente N°	%	Parcial N°	%	N°	%
Hombres	507		17	3,3	12	2,3	29	5,7
Mujeres	143		2	1,3	4	2,7	6	4,1
Totales	650		19	2,9	16	2,4	35	5,3

DISCUSIÓN

Trabajos anteriores realizados por distintos autores en el país (1,16,17), relacionados con la deficiencia de G6FD en Venezuela, han reportado cifras que varían desde un cero por ciento, entre población indígena hasta el 11%, en poblaciones negroides. Fernández (no publicado), en 1987, estudió electroforéticamente, una muestra de población mestiza del Estado Bolívar, y logró demostrar variantes de deficiencia enzimática, en el 3,6% de hombres homocigotos. Más recientemente, Martínez y col. (no publicado), encontraron que el 35,4% de familiares de maláricos deficientes en G6FD, también eran deficientes a la misma enzima.

No hay duda de que un 2,9% de las personas incluidas en este estudio fueron francamente deficientes en G6FD, y que esta cifra aumentaría hasta alcanzar un 5,3%, si tomáramos en consideración, además de las anteriores, aquellas muestras cuyos resultados indicaron deficiencias parciales. En todo caso, tales valores, pueden considerarse altamente significativos (1,7,10), para cualquier área endémica de malaria.

En el presente estudio, un alto porcentaje de las muestras de sangre analizadas (78%), pertenecieron a personas del sexo masculino, debido a que la

mayoría que asiste a los Servicios de Malariología, son adultos dedicados a las labores de minería informal y a la agricultura, actividades predominantes en las zonas endémicas de malaria en el Estado. En esta población de varones, se demostró deficiencia franca en el 3,3% de ellos (17 de 507 personas), contrastando con la tasa demostrada entre 143 mujeres (1,3 %). La suma total, de deficiencias, francas y parciales, fue de 35, de las cuales 19 fueron evidentes y 16 deficiencias parciales, entre las cuales 29 (17+12), se detectaron entre personas del sexo masculino, y las restantes (2+4), en muestras de personas del sexo femenino.

Parece ser que los datos reportados, sobre prevalencias de esta deficiencia genética recesiva, ligada al cromosoma X (1,5,16,17) no son comparables entre sí, por cuanto los resultados demostrados para la zona y para el país, han sido tasas obtenidas en análisis de pequeñas muestras distintas, ejecutadas en sitios también distintos y se utilizaron procedimientos diferentes. No obstante, en el presente trabajo, los valores demostrados en una muestra de personas, cuidadosamente seleccionada, son útiles para los propósitos del estudio realizado, dada la importancia que esta deficiencia reviste, cuando ella se demuestra en más de un 3% de los pobladores de comunidades de áreas endémicas de malaria (1,6,10,11,16).

REFERENCIAS

1. WHO Working Group. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Bull World Health Organ 1989;67:601-611.
2. Roth E FJ, Raventos-Suárez C, Rinaldi A, Nagel RL. Glucose-6-phosphate dehydrogenase inhibits "in vitro" growth of Plasmodium falciparum. Proc Nat Acad Sc 1983;80:298-299.
3. Luzzato L. Genetics of red cells and susceptibility to malaria. Blood 1979;54:961-976.
4. Tzoneva I, Bulanov AG, Mavrudietta M, Lalchev S, Toncheva D, Ianey I. Frequency of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in relation to altitude: A malaria hypothesis. Bull World Health Organ 1980;58:659-662.
5. González G, Rico G, Ibarra B, Vaca G, Garza R. Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G-6-FD) en una familia. Arch Invest Med Mex 1989;20:229-232.

6. Martin SK. Modified G-6-PD malaria hypothesis (Carta) Lancet 1980;I:51.
7. Bienzle V, Guggenmoos-Holzman, Luzzato L. Malaria and erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase variants in west Africa. *Am J Trop Med & Hyg* 1979;28:619-621.
8. Martin SK, Miller LH, Alling D, Okoye VC, Esan GJF, Osunkoya BO, Deane M. Severe malaria and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a reappraisal of the malaria/G-6-PD hypothesis. *Lancet* 1979:524-526.
9. Luzzatto L, Bienzle U. The malaria/G-6-PD hypothesis. *Lancet* 1979;2:1193-1194.
10. Barraviera B, Meira DA, Machado PE de A, Curi PR. Malaria en el municipio de Humaita, Estado Amazonas. XXI. Prevalencia da deficiencia de glicose-6-fosfato desidrogenasa (G-6-PD) em a mostra da populacao e em doentes com malaria causada pelo Plasmodium falciparum. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1987;23:374-380.
11. Brewer GJ, Tarlov AR, Alving AS. The methaemoglobin reduction test for primaquine type sensitivity of erythrocytes. *JAMA* 1962;180:386-388.
12. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS). Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. Quimioterapia en el programa de erradicación de la malaria. División de Endemias Rurales. Maracay, Aragua, Venezuela.
13. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social (MSAS). Dirección de Malariología y Saneamiento Ambiental. Esquema de tratamiento radical por 2 días para Plasmodium falciparum. Dosis única. Servicio de Endemias Rurales. Ciudad Bolívar, Edo. Bolívar, Venezuela 1992.
14. Brewer G, Taylor AR, Alving AS. Methaemoglobin reduction test. A new simple "in vitro" test for identifying primaquine sensitivity. *Bull World Health Organ* 1960;22:633-640.
15. Molstulsky AG, Campbell-Kraut JM. Population genetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency of the red cell. En: Blumberg B, editor. Proceedings of the conference on genetic polymorphysm and geographic variation disease. New York: Grune and Stratton, 1962:109.
16. Organización Mundial de la Salud (OMS). Normalización de las técnicas de estudio de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Serie de Informes Técnicos N° 366. OMS Ginebra, Suiza. 1967.
17. Arends T. Estructura genética de la población indígena de Venezuela. Caracas, Venezuela: Edit Organización de las Naciones Unidas 1989.