

Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa eritrocitaria en Rosario*

Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Rosario

Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase eritrocitária em Rosario

► Irma del Luján Acosta¹, Ángela Cristina Milani², Susana Mabel Pérez³, Olga Lanza⁴, Germán Detarsio⁵

Resumen

Se estudió la actividad enzimática (AE) de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa eritrocitaria (G6PD) y la movilidad electroforética (ME) en una población de hombres y mujeres de la ciudad de Rosario (provincia de Santa Fe), Argentina y zona de influencia. Para la determinación de AE se utilizó la técnica cinética de Glock y McLean y para la electroforesis de la enzima, la técnica de M.C. Rattazzi y L.C. Bernini en acetato de celulosa. Los valores normales de actividad enzimática (AE) para hombres y mujeres adultos fueron de $8,1 \pm 1,4$ UI G6PD/g Hb. Se demostró que los valores de AE son independientes de la edad, sexo y concentración de hemoglobina. En todos los grupos etarios estudiados no se observaron diferencias significativas de AE con respecto a los adultos normales a excepción de los neonatos que presentaron un significativo aumento de la misma, lo cual está directamente relacionado con las características fisiológicas de los eritrocitos del recién nacido. Entre los 686 individuos estudiados se detectaron 2 pacientes deficientes de G6PD, lo que dio una prevalencia de 0,3% y el patrón electroforético correspondiente a esta población fue 98% (n: 672) para G6PD B y 2% (n: 14) para G6PD con movilidad rápida tipo A.

Palabras clave: deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenada * prevalencia * movilidad electroforética

Summary

Enzymatic activity (EA) of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) and electrophoretic mobility (EM) have been studied in a population of males and females in the city of Rosario and its area of influence. To determine EA, the Glock and McLean kinetic technique was used. Electrophoretic mobility assay was performed by M.C. Rattazzi and L.C. Bernini technique in cellulose acetate gel. Results demonstrated that the EA values in normal individual are independent of age, sex and hemoglobin values. The normal values of EA were: 8.1 ± 1.4 IU of G6PD/g Hb. There were no significant differences

¹ Doctora de la Universidad Nacional de Rosario. Especialista en Hematología. Docente Investigador PID. Prof. Adjunto de la Cátedra de Hematología del Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR).

² Doctora de la Universidad Nacional de Rosario. Especialista en Hematología. Docente Investigador PID. Prof. Asociado de la Cátedra de Hematología del Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR).

³ Doctora de la Universidad Nacional de Rosario. Especialista en Hematología. Docente Investigador PID. Prof. Adjunto de la Cátedra de Hematología del Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR).

⁴ Bioquímica. Especialista en Hematología. Docente Investigador PID. Docente de la Cátedra de Hematología del Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR).

⁵ Bioquímico. Especialista en Hematología. Docente de la Cátedra de Hematología del Departamento de Bioquímica Clínica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas (UNR).

* Departamento de Bioquímica Clínica. Cátedra de Hematología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531. Rosario, Argentina.

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

in different age groups studied regarding healthy adults, except for neonatal group that yielded a significant EA increase which is directly related to the physiological characteristics of newborn erythrocytes. Two patients out of 686 individuals bearing G6PD deficiency were detected, corresponding to 0.3% prevalence. The electrophoretic mobility pattern was 98% (n: 672) for G6PD B, and 2% (n: 14) for G6PD A fast mobility variant.

Keywords: *glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency * prevalence * electrophoretic mobility*

Resumo

Foi estudada a atividade enzimática (AE) da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase eritrocitária (G6PD) e a mobilidade eletroforética (ME) numa população de homens e mulheres da cidade de Rosario, província de Santa Fe, Argentina e zona de influência. Para a determinação da AE foi utilizada a técnica cinética de Glock e Mc Lean e para a eletroforese da enzima a técnica de M.C. Rattazzi e L.C. Bernini em acetato de celulose. Os valores normais de atividade enzimática (AE) para homens e mulheres adultos foram de $8,1 \pm 1,4$ UI G6PD/g Hb. Foi demonstrado que os valores da AE são independentes da idade, sexo e concentração de hemoglobina. Em nenhum dos grupos etários estudados foram observadas diferenças significativas de AE no que diz respeito aos adultos normais, com exceção dos neonatos que apresentaram um significativo aumento da mesma, o qual está diretamente relacionado com as características fisiológicas dos eritrócitos do recém-nascido. Entre os 686 indivíduos estudados foram detectados 2 pacientes deficientes de G6PD, o que deu uma prevalência de 0,3% e o padrão eletroforético correspondente a esta população foi de 98% (n: 672) para a G6PD B e 2% (n: 14) para G6PD com mobilidade rápida tipo A.

Palavras chave: *deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase * prevalência * mobilidade eletroforética*

Introducción

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) es la enzima esencial que cataliza la primera reacción del mecanismo de la vía de las hexosas monofosfato siendo la responsable de la producción de NADPH, el cual es requerido para la actividad de la glutatión reductasa y para mantener los niveles de glutatión reducido (GSH) dentro de la célula. La G6PD está presente en todos los organismos, desde procariotas, protozoarios, plantas y animales. La actividad enzimática (AE) normal de la G6PD es vital para todas las células del organismo, especialmente para los eritrocitos ya que éstos no tienen capacidad de síntesis de la enzima. La vida media de la G6PD eritrocitaria es de 60 días y la AE es función de la senectud del GR. Existen una variante ancestral, G6PD B con AE normal y otra variante que presenta una frecuencia de 20 -25% en la población africana, la G6PD A. Esta última difiere de la G6PD B en el nucleótido 376 A→G, lo cual provoca el cambio del aminoácido asparagina por aspártico (Asn→Asp) y hace que la variante A tenga una movilidad electroforética (ME) más rápida en gel de agarosa. (1-3). El gen que codifica la G6PD está localizado en el cromosoma X por lo cual la deficiencia de G6PD se hereda ligada al sexo. El déficit produce disminución de la formación de NADPH, imposibilidad de regenerar GSH y oxidación de los grupos sulfidrilos de la hemoglobina (Hb), de la membrana eritrocitaria

y de otras enzimas citoplasmáticas. La desnaturalización de la Hb y consecuente formación de cuerpos de Heinz desencadenan la hemólisis eritrocitaria (4).

En este trabajo se obtuvieron los valores normales de actividad enzimática de G6PD, la prevalencia del déficit y la ME de las variantes predominantes normales y deficientes de la población de Rosario, Argentina.

Materiales y Métodos

Se estudiaron 608 individuos de sexo masculino que fueron divididos en tres grupos etarios: 484 adultos, 78 niños entre 1 y 12 años y 46 neonatos; y 78 mujeres adultas no embarazadas. Todos ellos provenían del Banco de Sangre del Hospital Provincial del Centenario de Rosario, del Servicio de Hematología Patológica de la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario y de otros Servicios especializados de Hematología de la ciudad. Las muestras se obtuvieron en forma consecutiva. Los pacientes firmaron su correspondiente consentimiento.

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE G6PD

Las muestras fueron obtenidas con EDTA y procesadas dentro de las 72 horas (5). La AE se determinó

mediante técnica cinética en hemolizados de eritrocitos (6) y se expresó en Unidades Internacionales por gramo de Hemoglobina (UI G6PD/g.Hb a 37 °C. La concentración de hemoglobina fue determinada según el método internacional recomendado (7).

Determinación de la Movilidad electroforética:

La ME se realizó en acetato de celulosa a pH 7,5 (8). Se utilizó como control un hemolizado de eritrocitos con ME tipo G6PD B tipificados en el Instituto *Centre des Recherches sur les Enzymopathies, Hôpital Beaujon, París*.

Resultados

VALORES NORMALES DE ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA POBLACIÓN

Se determinó la AE de todos los individuos de la población estudiada. Para establecer los valores de referencia se dividieron en subgrupos según la edad, sexo y presencia o ausencia de anemia según se observa en la Tabla I. Los valores de hemoglobina que se toman como corte son los que establece la OMS (9)

Se aplicaron estudios estadísticos para evaluar si existían diferencias significativas de los resultados de AE entre el grupo de varones normales *versus* el resto de los grupos analizados. Para ello se aplicó el estudio ANOVA y los resultados se muestran en la Tabla II.

De los resultados estadísticos se observa que no existen diferencias significativas entre los varones adultos con anemia; niños con y sin anemia y mujeres con y sin anemia *versus* varones adultos sin anemia. En cambio, se observaron diferencias significativas con la población de neonatos normales cuya AE fue superior a la de todos los grupos: $13,5 \pm 3,3$ UI/g Hb, por lo tanto este grupo fue excluido para la estimación de los valores normales. No se tuvo en cuenta el grupo de neonatos anémicos debido al número insuficiente de muestras. El estudio estadístico con los valores de las mujeres normales, no demostró diferencias significativas con los va-

rones ni con los niños pero resultó significativamente diferente con el grupo de neonatos.

Tabla II. *Variancias de los grupos versus adultos normales N=402*

Grupo	N	p
Hombres con Hb<13 g/dL	80	>0,05
Niños con Hb >12 g/dL	49	>0,05
Niños con Hb<12 g/dL	29	>0,05
Neonatos con Hb>14 g/dL	46	<0,01
Mujeres con Hb>12 g/dL	58	>0,05
Mujeres con Hb<12 g/dL	20	>0,05

En función de los resultados estadísticos y considerando a todos los grupos que no presentaron diferencias significativas, se establecieron los valores de referencia para la población de Rosario:

- Adultos hombres y mujeres: $8,1 \pm 1,4$ UI G6PD/g Hb. Rango: 6,7-9,5 UI G6PD/g Hb. Porcentaje de AE: 82,7% - 117 %. IC 95%
- Neonatos: $13,5 \pm 3,3$ UI G6PD/g. Hb. Rango: 12,3-16,7 UI G6PD/g Hb. Porcentaje de AE: 91% - 123%. IC 95%.

PREVALENCIA DE LA DEFICIENCIA DE G6PD EN LA POBLACIÓN DE ROSARIO

La prevalencia fue calculada de la población de varones (N: 608), de la cual, dos resultaron deficientes para G6PD con AE de 0,3 UI G6PD/g Hb (4% de AE) y 1,7 UI G6PD/g Hb (20% de AE) respectivamente. Esto representa una prevalencia de 0,3% de la deficiencia en la ciudad de Rosario.

MOVILIDAD ELECTROFORÉTICA

De 686 individuos, 672 (98%) presentaron un patrón de movilidad electroforética tipo G6PD B (Fig. 1) y 14 (2,0%) tuvieron ME rápida Tipo G6PD A (en estos se incluyen los 2 deficientes) (Fig. 2).

Tabla I. *Resultados de AE obtenidos en los distintos grupos etarios.*

Grupos	N	UI.G6PD/ g Hb	Rango
Hombres adultos Hb>13 g/dL	402	$8,1 \pm 1,4$	6,7 - 9,5
Hombres adultos Hb<13 g/dL	80	$8,2 \pm 1,5$	6,7 - 9,7
Niños (1-12 años) Hb >12 g/dL	49	$9,5 \pm 2,8$	6,7 - 12,3
Niños (1-12 años) Hb <12 g/dL	29	$9,9 \pm 3,3$	6,6 - 13,2
Neonatos Hb>14 g/dL	43	$13,5 \pm 3,3$	10,2 - 16,8
Neonatos Hb<14 g/dL	3	$14,3 \pm 2,2$	12,3 - 16,7
Mujeres adultas Hb>12 g/dL	58	$7,8 \pm 2,0$	5,8 - 9,8
Mujeres adultas Hb<12 g/dL	20	$7,6 \pm 1,8$	5,8 - 9,4
Hombre con deficiencia de G6PD	1	0,3	
Hombre con deficiencia de G6PD	1	1,7	
Total	686		

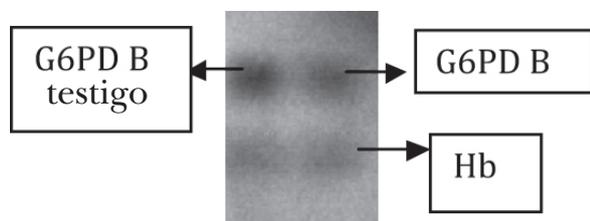


Fig. 1. Patrón de ME de G6PD B, comparado con testigo normal de G6PD B.

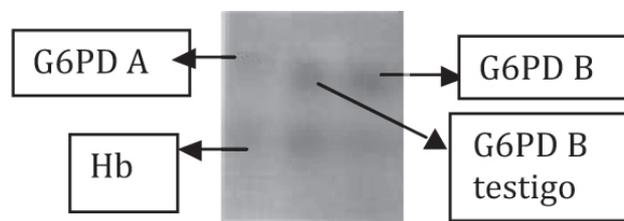


Fig. 2. Patrón de ME rápido tipo G6PD A comparado con un testigo normal de G6PD B.

Discusión

El valor de referencia obtenido para la población de Rosario fue: $8,1 \pm 1,4$ UI G6PD/ g Hb, siendo similar a los obtenidos por otros autores tanto para varones adultos normales como para mujeres y niños (10).

Existen pocos estudios epidemiológicos o sanitarios sobre la deficiencia de G6PD en Argentina, siendo éste uno de los primeros trabajos donde se determinó que la prevalencia del gran Rosario es de 0,3% (11).

En el mapa mundial de distribución de la deficiencia de G6PD de la Organización Mundial de la Salud, se ubica a la República Argentina con una frecuencia entre 0,5 a 2,9% (12).

Si se compara la prevalencia obtenida con la de otros países americanos, se observa que en Brasil, Barraviera *et al.* (13), determinaron que la prevalencia de la deficiencia en individuos de la zona amazónica era de 4,98%, menor que la encontrada en la población negra (7,0%) y mayor que la población caucásica. Weimer *et al.* en 1998, investigando 3 grupos étnicos: a) Descendientes de europeos; b) Mestizos entre blancos, indios y negros, y c) Indígenas autóctonos, no encontraron variantes autóctonas en indios nativos, lo que corrobora estudios anteriores en los cuales no se ha hallado deficiencia en nativos en América (14).

En la población afroamericana estadounidense el 11% es deficiente y el 20% de los cromosomas traen la mutación G6PD A africana. En los norteamericanos nativos de origen caucásico el déficit es excepcional (15).

Los países tropicales y subtropicales, en donde el paludismo es endémico, son los que tienen mayor prevalencia de la deficiencia América, lo cual refleja la influencia que tuvo el ingreso de gran cantidad de africanos de etnia negra en esa zona, como así también la influencia de las corrientes colonizadoras españolas y portuguesas del siglo XVI.

En España, la prevalencia del déficit oscila entre 0,1 y 0,5% siendo más frecuente en las regiones del sur, Andalucía, Extremadura, País Vasco y Baleares con 0,6%. Distintas regiones de España han aportado gran cantidad de inmigrantes a la Argentina (16) (17).

En Italia la prevalencia tiene una distribución distinta según las áreas geográficas, en el centro-norte italia-

no de 0,7 a 7%, observándose mayor frecuencia en el sur de Italia (20%) y en Cerdeña (35%) (18) (19).

No existen en Argentina trabajos de prevalencia en la población aborigen autóctona, pero los realizados en otros países no han encontrado deficiencia en indígenas. De modo que la llegada de la deficiencia a América es posible que se haya producido por los primeros colonizadores españoles, portugueses y esclavos africanos.

Con respecto a la ME de las variantes normales y deficientes estudiadas, se halló alta similitud con una revisión de las variantes de G6PD en diferentes poblaciones de Sudamérica. En ella se demuestra una clara distribución étnica, reportando a la variante B como predominante en mestizos y blancos y a la variante G6PD A- como la causante de deficiencia más frecuente en la población mestiza. En cambio, en los caucásicos la frecuencia es similar para G6PD A- y G6PD mediterránea. También informaron que la mayoría de los amerindios presentaban la variante B y prácticamente no existen variantes deficientes. En este estudio se determinó que la variante predominante en el gran Rosario es la G6PD B (98%) con respecto a G6PD A (2%). Hasta este momento sólo se han detectado variantes deficientes de ME rápida: G6PD A- (0,3%). Conclusiones similares han sido documentadas en diversos trabajos realizados en poblaciones autóctonas e inmigrantes de la zona mediterránea de España e Italia.

Conclusiones

En este trabajo se halló el valor de referencia de la AE de G6PD eritrocitaria en individuos adultos normales de sexo masculino (n: 402): $8,1 \pm 1,4$ UI G6PD/ g Hb.

Se demostró que la AE de G6PD eritrocitaria es independiente del sexo, edad y la coexistencia o no de anemia, a excepción de los neonatos cuyos valores promedios de AE son superiores debido a sus propias características fisiológicas.

Del análisis estadístico de las AE de 686 individuos de la población estudiada se estableció una prevalencia de 0,3% para el déficit de G6PD.

Mediante el estudio de la ME de la enzima se encontró que la variante predominante de la población

es la G6PD B (98%) con respecto a G6PD A (2%). Hasta este momento solo han hallado variantes deficientes de movilidad rápida: G6PD A- (0,3%). Dada las características de la población estudiada se podría decir que las corrientes colonizadoras e inmigratorias de España, Italia y Portugal han tenido una importante influencia genética sobre el tipo de variantes de G6PD halladas.

CORRESPONDENCIA

DRA. IRMA DEL LUJÁN ACOSTA
Departamento de Bioquímica Clínica.
Cátedra de Hematología.
Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas.
Universidad Nacional de Rosario.
Suipacha 531. ROSARIO. Argentina
iacosta@fbioyf.unr.edu.ar

Referencias bibliográficas

1. Yoshida A. A simple aminoacid substitution (asparagine to aspartic acid) between (B+) and the common Negro variant (A+) of human glucose 6 phosphate dehydrogenase. *Proc Nat Acad* 1967; 57: 835.
2. Hirono A, Beutler EF. Molecular cloning and nucleotide sequence of cDNA for human glucose 6 phosphate dehydrogenase variant A (-). *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85(11): 3951-4.
3. Yoshida A. Human glucose-6-phosphate dehydrogenase: purification and characterization of Negro type variant (A+) and comparison with normal enzyme (B+). *Biochem Genet* 1967; 1: 81-99.
4. Beutler E. Glucose 6 phosphate deficiency: a historical perspective. *Blood* 2008; 111: 16-24.
5. Beutler E. Red cell metabolism: A manual of Biochemical Methods. 3d ed. New York: Grune & Stratton; 1984.
6. Betcher K, Beutler E, Brewer GJ, *et al.* Standardization of procedures for the study of glucose 6 phosphate dehydrogenase. Report of WHO Scientific Group Ald Hlth Org Tech Rep Ser N° 366 (1967).
7. Mitchell Lewis, Bain B, Balts I. Hematología Práctica 10ª edición. Madrid. España: Elsevier; 2008.
8. Rattazzi MC, Bernini LF, Fiorelli G, Mannucci PM. Electrophoresis of glucose-6-phosphate dehydrogenase: A new technique. *Nature* 1967; 213: 79-80.
9. Beutler E, Wallen J. The definition of anemia: What is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? *Blood* 2006; 107(5): 1747-50.
10. Cappellini MD, Foresto G. Glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Lancet* 2008; 371: 64-74.
11. Acosta I del L. Investigaciones en glucosa 6 fosfato deshidrogenasa eritrocitaria. G-6PD. Tesis doctoral. 2004.
12. WHO working group. G6PD Deficiency. *Bull WHO* 1989; 67: 601.
13. Compri MB, Saad STO, Ramalho AS. Investigación genético-epidemiológica e molecular da deficiência de G-6-PD em uma comunidade brasileira. *Cad Saúde Pública* 2000; 16: 335-42.
14. Weimer TA, Salzano FM, Westwood, B, Beutler E. G6PD Variants in Three South American Ethnic Groups: Population Distribution and Description of Two New Mutations. *Human Hered* 1998; 48: 92-6.
15. Beutler E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: 1953-1992. *Sangre* 1992; 2: 159-67.
16. Rovira A, Vives Corrons JL, Estrada M, Gutierrez MA, Pujades MA, Colomer D, *et al.* Identificación de variantes moleculares de la enzima G6PD mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa. *Med Clin (Barc)* 1994; 102: 281-4.
17. Mañú Pereyra M del M, Cabotf A, Martínez González A, Sitjà Navarra E, Cararachb V, Sabriac J, *et al.* Cribado neonatal de hemoglobinopatías y déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) en Cataluña. Estudio molecular de la anemia falciforme asociada a alfaalasemia y déficit de G6PD. *Med Clin (Barc)* 2007; 129(5): 161-4.
18. Xu W, Westwood B, Bartsocas CS, Malcorra-Azpiazu JJ, Indr KK, Beutler E. Glucose-6 phosphate dehydrogenase mutations and haplotypes in various ethnic groups. *Blood* 1995; 85: 257-63.
19. Alfinito F, Cimmino A, Ferraro F, Cubellis M, Vitagliano M, Zagar A, Rotolo B, Filosa S, Martini G. Molecular characterization of G6PD deficiency in Southern Italy: heterogeneity, correlation genotype-phenotype and description of a new variant (G6PD Neapolis) *British J Haematol* 1997; 98: 41-6.

Aceptado para su publicación el 17 de abril de 2012