

ANGELA CLEUZA BENATE VALENTE

**GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE
ESTUDO EM DOADORES DE SANGUE DO CENTRO
DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE
MATO GROSSO DO SUL — HEMOSUL**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FORTALEZA-CEARÁ

1994

ANGELA CLEUZA BENATE VALENTE

FARMACÊUTICA-BIOQUÍMICA, ALUNA DO VIII CURSO DE
ESPECIALIZAÇÃO EM HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA

***GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE
ESTUDO EM DOADORES DE SANGUE DO CENTRO
DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE
MATO GROSSO DO SUL — HEMOSUL***

TRABALHO APRESENTADO COMO REQUISITO
FINAL DO CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM
HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FORTALEZA-CEARÁ

1994

ORIENTADORA

Dra. Maria da Silva Pitombeira
Professora Titular do Departamento
de Medicina Clínica. CCS/UFC

A G R A D E C I M E N T O S

- Ao Dr. Paulo Siufi que possibilitou minha participação neste curso.
- Às Dras. Luciney Pettengill Galvão e Virgínia Inácio Rosa e a todos os funcionários do HEMOSUL que auxiliaram na realização deste trabalho.
- Aos diretores e funcionários do Instituto de Hematologia e Hemoterapia de Campo Grande - MS, pela amizade dispensada durante o período que lá permaneci.
- Ao Dr. José Murilo de Carvalho Martins pelo exemplo de dedicação e perseverança como mestre e diretor.
- À Dra. Francisca Vânia Barreto Aguiar Ferreira Gomes pelo apoio no decorrer da especialização.
- À Dra. Elizabeth Soares da Silva pela contribuição de importância fundamental na realização deste trabalho.
- Aos professores, pelos conhecimentos transmitidos, e aos funcionários do HEMOCE, em especial à Célia e Jeovani pela prontidão em nos auxiliar.

- Ao Dr. Mário Rigatto pelos valiosos ensinamentos a nós oferecidos.
- Aos professores João Maurício Araújo Mota e Rosa Maria Salani Mota que orientaram na análise estatística.
- Às Dras. Fátima Marques Barros de Lima, Rita Marinei de Vasconcelos Coelho e ao setor de Hematologia do HEMOCE pela colaboração nas atividades de laboratório.
- Aos colegas Jesamar e Eudes.
- À Clarice Bezerra pelo acompanhamento e incentivo durante todo o curso.
- Ao Sr. Mário Sérgio de Oliveira, funcionário da Transbrasil (Fortaleza) pela boa vontade em despachar as amostras por via aérea.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

- A Deus, luz presente em todos os momentos da minha vida.
- Aos meus irmãos pelo apoio constante e por confiarem em mim.
- A Saulo, pelo total incentivo, dedicação e carinho.
- Às três Marias do curso: Célia, de Fátima e das Mercês, pela amizade maravilhosa e solidariedade nos momentos difíceis dessa jornada.

Aos meus pais Mário e Alda pelo apoio incondicional e por dedicarem suas vida à educação dos filhos.

Aquele que habita no esconderijo do Altíssimo,
à sombra do Onipotente descansará.

Direi do Senhor: Ele é o meu Deus, o meu re-
fúgio, a minha fortaleza, e nele confiarei.

Salmo 91, 1-2

Í N D I C E

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 Breve Discorrer sobre a Ocupação do Estado de Mato Grosso do Sul e da Capital.....	3
2.2 A Estrutura da Enzima.....	5
2.3 A Deficiência Enzimática.....	5
2.4 Histórico.....	5
2.5 Genética.....	6
2.6 Distribuição Geográfica.....	7
2.7 Localização Tecidual.....	8
2.8 Características Metabólicas da Enzima.....	9
2.9 Propriedades da Enzima.....	11
2.10 Tipos de Variantes da G6PD.....	12
2.11 Fisiopatologia.....	13
2.11.1 Mecanismos da hemólise.....	13
2.12. Manifestações Clínicas.....	16
2.12.1 Anemia hemolítica induzida por drogas.....	16
2.12.2 Anemia hemolítica que ocorre durante infecções.....	17
2.12.3 Favismo.....	17

2.12.4 Icterícia neonatal.....	18
2.12.5 Anemia hemolítica não esferocítica congênita.....	18
2.13 Elementos Laboratoriais.....	19
2.14 O Deficiente de G6PD como Doador.....	20
3. MATERIAL E MÉTODO.....	22
4. RESULTADOS.....	27
5. DISCUSSÃO.....	44
6. CONCLUSÃO.....	49
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

Glicose-6-fosfato desidrogenase - Estudo em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Mato Grosso do Sul - HEMOSUL*

*Angela Cleuza Benate Valente***

R E S U M O

Realizamos uma pesquisa sobre a deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Mato Grosso do Sul - HEMOSUL. No período de setembro a novembro de 1993, foram analisadas um total de 1.114 amostras nos laboratórios do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará - HEMOCE.

No presente trabalho utilizamos o teste da redução da metemoglobina de Brewer, um dos métodos preconizados pela Organização Mundial de Saúde - OMS para estudos populacionais de deficiência de G6PD.

Observamos uma freqüência de 1,89 de deficientes de G6PD do total de 1114 doadores estudados, sendo que para brancos, foi de 1,40%, para os negróides de 1,84 e para os negros de 12,5%.

* Trabalho apresentado como requisito final ao VIII Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

** Farmacêutica-Bioquímica, aluna do Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia.

S U M M A R Y

We carried out a study on the glucose-6-phosphatase deficiency (G6PD) in blood donors of the Hematology and Hemotherapy Center of Mato Grosso do Sul - HEMOSUL. In the period from september to november, 1993, a total 1.114 samples were analyzed in the laboratories of the Hematology and Hemotherapy Center of Ceará - HEMOCE.

In this study, tests were done using Brewer's reduction of methemoglobin, as recommended by the WHO for population - based studies of G6PD.

We detected a frequency of 1,89% from all donors studied, while rates for whites was 1,40%, for negroids 1,84%, and for negros was 12,5%.

1. INTRODUÇÃO

A deficiência de G6PD é um erro inato do metabolismo (17). O defeito possui ampla distribuição geográfica, atingindo diversas populações em todo o mundo (30). É uma das alterações enzimáticas mais prevalentes e geneticamente informativas do homem (9, 20, 21).

É clinicamente importante por causa de sua associação com icterícia neonatal, sensibilidade a drogas, anemia hemolítica durante infecções, favismo e anemia hemolítica não esferocítica congênita (9).

Ao contrário de outras eritroenzimopenias, como por exemplo a fosfofrutoquinase, a incidência de G6PD é maior em determinadas raças como a negra, a caucasóide da região do Mediterrâneo e a asiática (22), sendo portanto, de interesse o estudo nessas regiões.

No Brasil, o estudo é importante nas regiões do país que receberam grande número de imigrantes italianos, como é o caso dos Estados de São Paulo, Rio Grande do Sul, Paraná e Santa Catarina, por causa da presença da variante mediterrânea deficiente de G6PD. Por outro lado, em relação à variante A-, sua importância se estende para a maioria dos bancos de sangue do país, uma vez que um número considerável de doadores são negróides (43).

Com a finalidade de estabelecer dados sobre a prevalência desta eritroenzimopenia em Campo Grande-Mato Grosso do Sul, resolvemos realizar um estudo nos doadores do HEMO-SUL.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Breve Discorrer sobre a Ocupação do Estado de Mato Grosso do Sul e da Capital

Os primeiros dados sobre a região de Campo Grande-MS datam de 1870, quando, devido à guerra da Tríplice Aliança, chegaram notícias aos habitantes do Triângulo Mineiro (Monte Alegre) da existência de terras férteis para lavoura e criação de gado no chamado Campos de Vacaria (33).

Tais notícias estimularam o mineiro José Antônio Pereira (fundador de Campo Grande), a empreender viagem em direção às terras de Mato Grosso (33).

Em 1879, a região recebe novas caravanas de mineiros que vão distribuindo-se através das marcações de posses e estabelecendo as primeiras fazendas (33).

Santo Antônio de Campo Grande, depois Campo Grande, devido à posição estratégica, e por ser ainda a passagem obrigatória para quem fosse do extremo sul do Estado a Campuã-MS, ou ao Triângulo Mineiro; atraía novos desbravadores. A região desenvolvia-se em função de seu clima e de sua privilegiada situação geográfica, tornando-se ponto de atração

para os habitantes de Minas Gerais, São Paulo e Rio Grande do Sul (33).

No início do século XX, rio-grandenses migraram para o sul do Estado de Mato Grosso e muito contribuíram para o seu povoamento (53).

Em 1909, chegam através do Porto de Corumbá, grande número de imigrantes libaneses que povoaram a atual rua 14 de Julho com suas casas comerciais (53).

Com a inauguração da estrada de ferro, em 1914, novos imigrantes entraram no Estado de Mato Grosso, entre eles, os japoneses, que fazem hoje de Campo Grande, um grande centro de tradições Okinawa (53).

Nas décadas de 60 e 70, a ocupação de extensas áreas de terra no sul do Estado de Mato Grosso por agricultores oriundos do Rio Grande do Sul, Paraná, São Paulo e Santa Catarina, deu maior desenvolvimento ao setor primário da economia do Estado (53).

Depois de 1964, o Estado sofreu um grande incremento populacional, originado pela vinda de brasileiros, de vários locais do país, principalmente do Nordeste e do Sul, em busca de boas terras ou para refúgio político (53).

Atualmente, o Estado de Mato Grosso do Sul ainda está sendo ocupado. Sua população é formada em 36%, por imigrantes, desses a maioria vindos de São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul (53).

2.2 A Estrutura da Enzima

A G6PD consiste de várias subunidades idênticas, cada qual com um peso molecular de 55.000 Daltons. A seqüência de aminoácidos da enzima já foi estabelecida. Na sua forma ativa, a G6PD liga-se fortemente ao NADP. *In vivo* a enzima provavelmente só existe na forma de dímero. Muitas variantes têm sido caracterizadas com respeito à substituição de aminoácidos e de bases do DNA (30).

2.3 A Deficiência Enzimática

A deficiência de G6PD é uma anormalidade hereditária na qual a atividade da enzima G6PD está reduzida. Os eritrócitos estão afetados, e a deficiência de G6PD pode resultar em anemia hemolítica, sobretudo após a administração de alguns medicamentos, ou sob certas condições de estresse (4, 12).

A suscetibilidade para hemólise varia com o grupo étnico e depende em parte de características cinéticas da variante enzimática da G6PD (34).

2.4 Histórico

A raiz da introdução das 8 aminoquinoleínas no tratamento do paludismo, a cerca de 40 anos, não tardou a observação, que em determinados pacientes suscetíveis, esses medicamentos provocavam anemias hemolíticas agudas (54).

Em 1926 Cordes descreveu os primeiros casos de anemia hemolítica causada pela primaquina, em trabalhadores de plantações no Panamá (10). Posteriormente, casos de hemólise induzida por 8 aminoquinoleínas, foram observados em todo o mundo. Diversas tentativas foram feitas para se determinar porque alguns indivíduos eram muito sensíveis a estes medicamentos (12).

Durante a Guerra da Coréia, com o desenvolvimento de um antimalárico mais eficiente, a primaquina, a reação hemolítica foi pela primeira vez detalhadamente estudada com o emprego da técnica de marcação dos eritrócitos como cromo radioativo (^{51}Cr), quando foi possível mostrar que a causa da hemólise era um defeito intrínseco do eritrócito (12,18).

2.5 Genética

O Gene para G6PD é recessivo e está localizado no cromossomo X (banda Xq28), e assim, o homem apresenta deficiência nítida, mas a mulher pode apresentar heterozigose sem manifestação clínica (7, 12, 41, 48, 50).

Conseqüentemente, a expressão total da deficiência é encontrada nos homens e nunca é transmitido de pai para filho, mas só de mãe para filho. Nas mulheres apenas um dos cromossomos é ativo, sendo assim as mulheres heterozigóticas para deficiência têm uma população de eritrócitos normais e outra deficiente, sendo que a proporção de células deficientes pode variar muito (12). Algumas mulheres heterozigotas

parecem ser completamente normais, e outras parecem estar inteiramente afetadas (7, 12, 29, 45).

Para explicar este paradoxo, Beuther propôs o princípio da inativação ao acaso do cromossomo X (7, 12, 30), onde um dos dois cromossomos de cada célula do embrião feminino é inativado, permanecendo assim durante toda a vida e resultando num mosaico de atividade do cromossomo X (30, 22).

Por ser ligado ao cromossomo X, o gene da deficiência de G6PD tem servido como importante marcador genético para estudos populacionais e para estudo do mecanismo de inativação do cromossomo X, sendo que este último tem facilitado a demonstração clonal de muitos tumores (12, 30).

2.6 Distribuição Geográfica

A distribuição geográfica da deficiência de G6PD tem sido estudada em vários países do mundo (4, 40, 54), e relacionada a fatores étnicos e ambientais.

Embora possua uma vasta distribuição em todo o mundo (15), a deficiência de G6PD é encontrada com grau maior de freqüência nas zonas tropical e subtropical do Hemisfério Oriental (30).

Entre os Caucásios o defeito está particularmente concentrado na área mediterrânea. O gene mutante raramente ocorre em pessoas do Norte Europeu. A deficiência de G6PD ocorre em grupos da Sardenha, judeus asiáticos e mediterrâneos, porém é raro nos judeus europeus. A incidência é tam-

bém descrita em negros americanos masculinos, negros africanos, iranianos, indianos asiáticos, chineses, filipinos e muitos outros (51, 30).

A distribuição da deficiência de G6PD está estreitamente relacionada à do *Plasmodium falciparum* no sentido em que todas as regiões onde é freqüente algum tipo de deficiência de G6PD, são ou foram regiões endêmicas para a malária. O fato que em algumas regiões endêmicas não se encontre deficiência de G6PD não é importante, pois acredita-se que a malária só possa atuar como agente seletivo se o gene da deficiência estiver presente (4, 22, 30, 45, 54).

2.7 Localização tecidual

Embora o mesmo gene da G6PD seja expresso em todos os tecidos, o efeito da deficiência da enzima é mais severo no eritrócito, possivelmente por causa de seu longo tempo de vida mononucleada e talvez por conter proteases que degradam a mutante enzimática mais que as proteases de outros tecidos (7).

A G6PD está presente em praticamente todos os tecidos animais, do ser humano e em certos microorganismos. As maiores concentrações no homem estão presentes nos eritrócitos, no tecido adiposo e na mama durante a lactação. Menores concentrações são encontradas no fígado, pâncreas, rins, pulmão e cérebro (50).

2.8 Características Metabólicas da Enzima

A energia disponível para o eritrócito humano é derivada do catabolismo da glicose realizado por duas vias do metabolismo (Figura 1). A via de Embden-Meyerhoff, metaboliza aproximadamente 90% da glicose e produz energia sob a forma de ATP (46, 51).

A glicose-6-fosfato desidrogenase cataliza o passo inicial na via das pentose e funciona para reduzir o NADP, enquanto oxida o substrato G6P (7, 30). Esta via normalmente metaboliza aproximadamente 10% da glicose e constitui o único mecanismo para regeneração do NADPH, elemento essencial para os processos óxido-redutores da célula (30, 46).

Entre estes, o mais importante é a redução do glutathion, necessário para metabolizar os peróxidos orgânicos e os de hidrogênio e fundamental na manutenção da integridade celular (30). A G6PD pode controlar a taxa de NADPH por ser a primeira enzima do ciclo das pentoses (30).

Nos eritrócitos normais esta via pode ser estimulada por carreadores artificiais de elétrons, tais como drogas hemolíticas e ácido ascórbico, os quais oxidam o NADPH a NADP (25). Nos eritrócitos sensíveis, a deficiência de G6PD limita a atividade da via das pentoses, portanto sua habilidade para responder a compostos óxido-redutores é limitada. A atividade da G6PD nos eritrócitos de negros afetados é aproximadamente 10 a 15% do normal (25, 51).

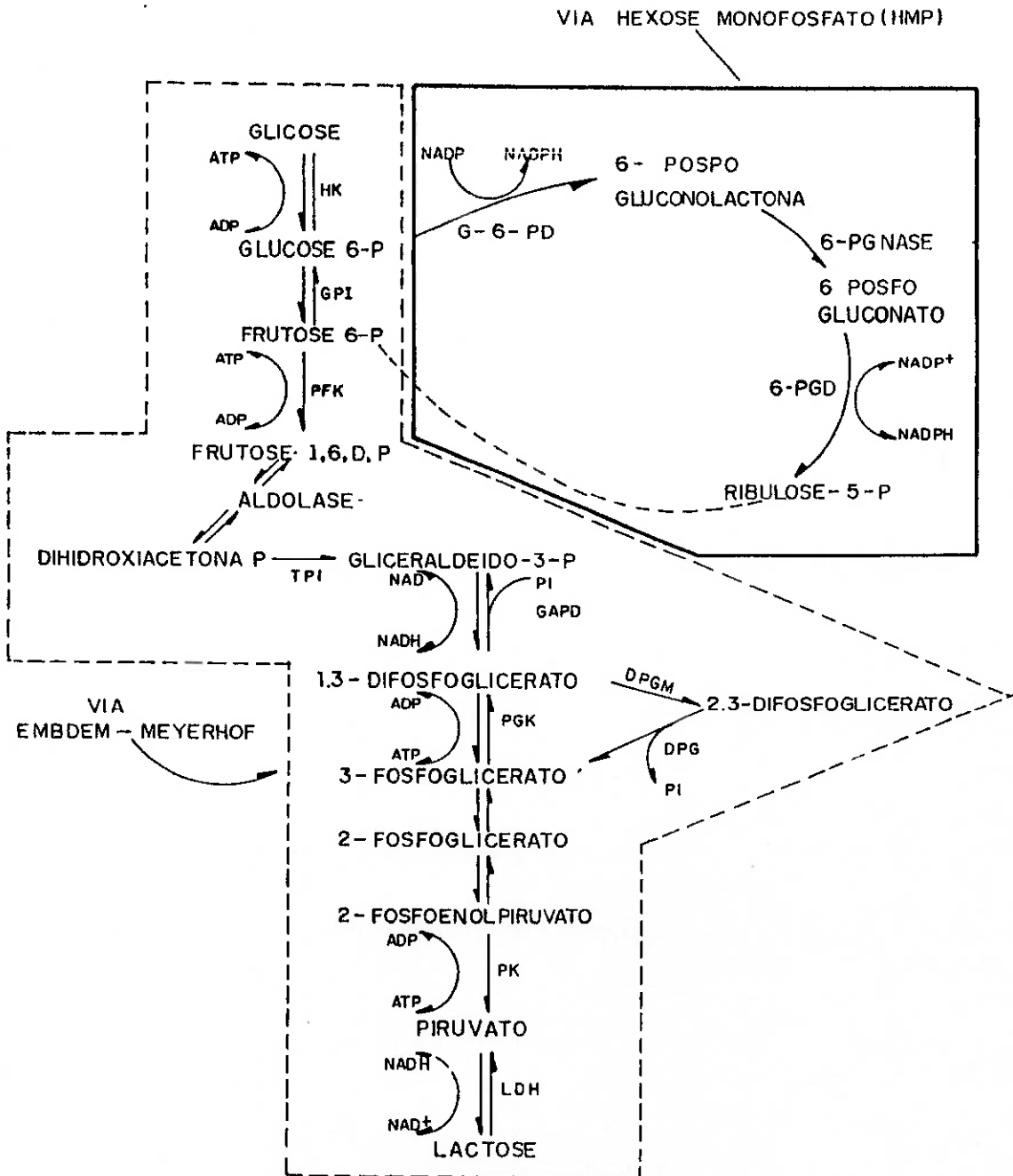


Figura 1: Vias glicolítica anaeróbica e hexose monofosfato (HMP). Abreviaturas utilizadas: DPGM - difosfogliceratomutase; DPGP - difosfoglicerato fosfatase; GAPD - Gliceraldeido-3-fosfato desidrogenase; GPI - glicose fosfato isomerase; G6PD - glicose-6-fosfato desidrogenase; Hk - Hexoquinase; LDH - Lactato desidrogenase; MPM - monofosfato glicerato mutase; Pi - Fosfato inorgânico; PFK - fosfofrutoquinase; 6 FGD-6-fosfogluconato desidrogenase; PGK: Fosfogliceratoquinase; 6PGLnase - 6-fosfogluconico lactonase; Pk - piruvatoquinase; TPI - triosefosfato isomerase.

2.9 Propriedades da Enzima

A deficiência de G6PD é devida a herança de qualquer uma das inúmeras anormalidades do gene estrutural que codifica a seqüência de aminoácidos da enzima G6PD (12, 30).

Na mutação tipo A-, a enzima é sintetizada em quantidade normal, mas tem baixa estabilidade *in vivo*. É o tipo mais comum de G6PD anormal na população negra norte-americana (30, 51).

A G6PD mediterrânea, parece resultar na formação de menor número de moléculas da enzima, cada qual com atividade enzimática próxima do normal, mas com propriedades fisiológicas não usuais, embora aparentemente não desvantajosas. É o tipo mais comum nas populações brancas (12, 30).

Finalmente, algumas variantes como a G6PD Oklahoma estão associadas à enzima que tem atividade muito reduzida por seus substratos, G6P e NADP, e por isso não têm função adequada. Também podem ser encontradas várias combinações destas enzimas (12).

A G6PD *normal* é chamada tipo B, e representa o tipo mais usual de enzima encontrado em todos os grupos populacionais estudados (12, 30).

A caracterização de uma variante deve ser baseada nos seguintes dados:

- 1) Atividade da G6PD eritrocitária;

- 2) Migração eletroforética;
- 3) Constante de Michaelis (km) da G6P);
- 4) Taxa relativa de utilização da 2-desoxiglicose-6-fosfato (2dG6P);
- 5) Estabilidade térmica (54).

2.10 Tipos de Variantes da G6PD

Atualmente, existem mais de 400 variantes de G6PD identificadas por propriedades eletroforéticas, estabilidade ao calor e atividade contra substratos (7, 24, 45). A grande maioria das variantes de G6PD são raras. As variantes comumente associadas com risco aumentado de hemólise são encontradas em pessoas de países tropicais ou subtropicais (45, 29, 30, 47).

As principais classes de variantes de G6PD são:

- 1) *Classe 1* - Variantes com deficiência enzimática severa e anemia hemolítica não-esferocítica.

Ex.: Baudelacque e Charleston.

- 2) *Classe 2* - Variantes com deficiência enzimática severa, geralmente sem anemia hemolítica.

Ex.: Ankara e Hualien.

- 3) *Classe 3* - Variantes com moderada a fraca deficiência enzimática.

Ex.: Betica e Debrousse.

- 4) *Classe 4* - Variantes com deficiência fraca ou com ausência de deficiência.

Ex.: Kiwa e Lorenzo.

- 5) *Classe 5* - Variantes com atividade enzimática aumentada.

Ex.: Hektoen.

Barreto e Nonoyama descreveram uma variante rara da enzima G6PD, Gd (-) Carapicuba, associada com deficiência enzimática moderada e hemólise crônica (5).

No Brasil, a variante africana ou A- da G6PD certamente é a responsável pela grande maioria dos casos de deficiência de G6PD (35, 48).

A figura 2 mostra as propriedades bioquímicas de duas variantes comuns de G6PD.

2.11 Fisiopatologia

2.11.1 Mecanismos da Hemólise

A hemólise provocada pelas drogas em células com deficiência de G6PD geralmente é acompanhada por formação de corpúsculos de Heinz, formados apenas na presença de oxigênio (12).

A exposição da hemoglobina dos eritrócitos deficientes a drogas redutoras leva a formação de radicais livres de GSH que são rapidamente oxidados à forma de dissulfuretos

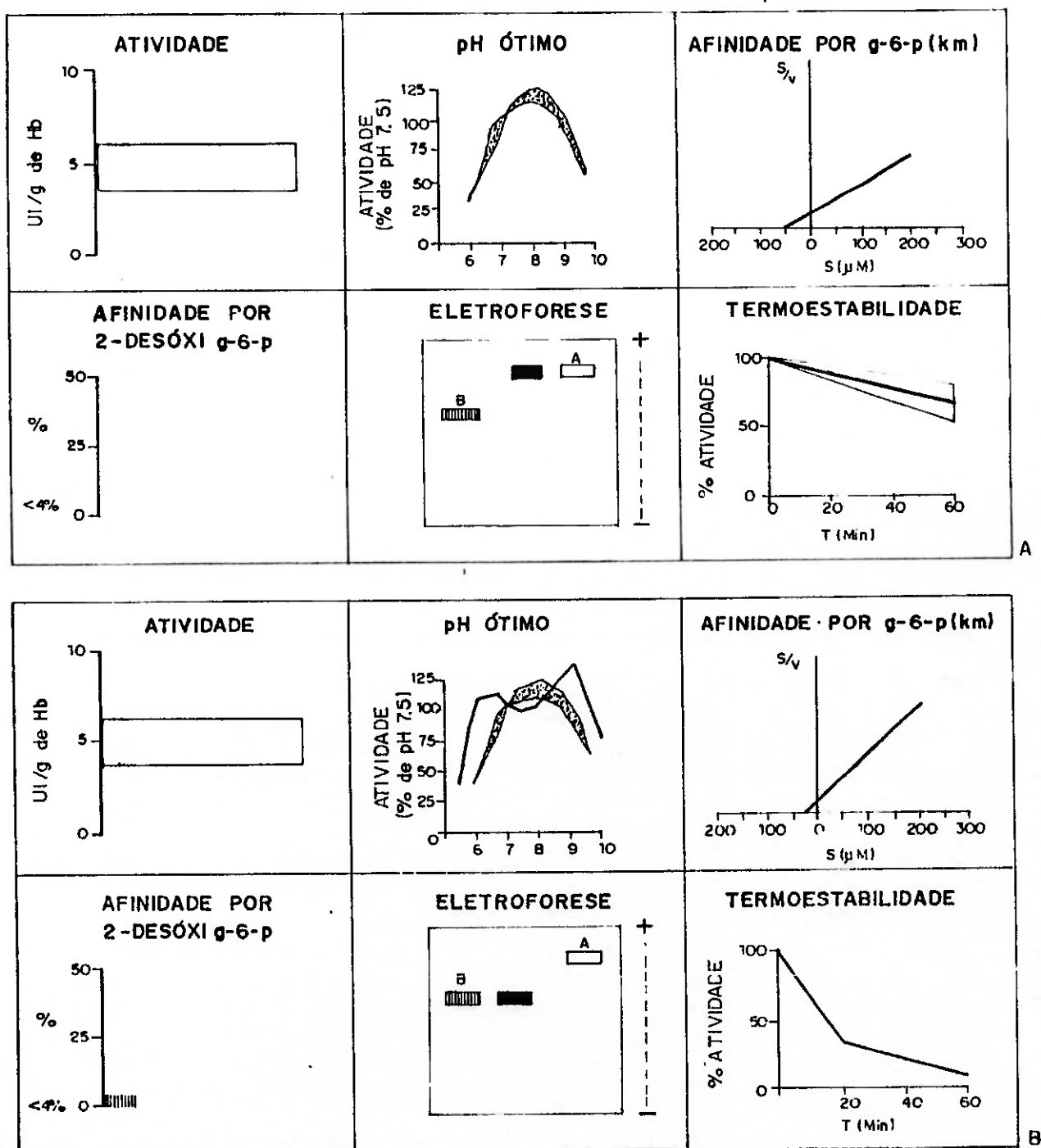


Figura 2: Propriedades bioquímicas de duas variantes comuns de G6PD. (a) As características bioquímicas de G6PD A-. (b) As características bioquímicas da G6PD mediterrânea. Em cada diagrama, as características da enzima (Tipos A e B) estão indicadas por áreas sombreadas .

(GSSH) ou formam complexos com a hemoglobina, chamados de dissulfuretos mistos. Estes são instáveis, e ao sofrer oxidação mudam de conformação expondo à oxidação, radicais internos de sulfidrila, originando dissulfureto. Nesse estágio a hemoglobina está irreversivelmente desnaturada e precipita na forma de corpúsculos de Heinz (12, 28, 30, 51).

A formação de metemoglobina quase sempre acompanha a administração de medicamentos que podem causar hemólise de células com deficiência de G6PD (12).

A suscetibilidade à icterícia neonatal em lactentes com escassez de G6PD pode ser o resultado da falta de G6PD com a baixa taxa de açúcar própria do período neonatal, e relativa imaturidade enzimática do recém-nascido, o que pode tornar o eritrócito suscetível ao estresse hemolítico (12, 51, 54).

No caso da hemólise provocada por infecção em pessoas com deficiência de G6PD, é possível que a atividade oxidante gerada por substâncias de origem natural como o ácido ascórbico e a cisteína, seja suficiente para desencadear o curso de um fenômeno hemolítico (12, 30).

Existem suspeitas da participação de fatores hemolíticos na anemia hemolítica induzida por feijões de fava, dos quais também se isolaram substâncias capazes de destruir o GSH dos eritrócitos (7, 12).

2.12 Manifestações Clínicas

Em geral, as manifestações clínicas da deficiência de G6PD são observadas só em indivíduos que herdam variantes nas quais a atividade enzimática das células vermelhas está abaixo de um quarto da normal.

Com raras exceções, a única manifestação clínica da insuficiência de G6PD é a anemia hemolítica, geralmente relacionada à administração de medicamentos, infecção, período neonatal e em certos indivíduos, com o favismo (2).

2.12.1 Anemia hemolítica induzida por drogas

A primaquina é uma das mais severas drogas que podem provocar hemólise. Outros antimaláricos, algumas sulfonamidas, sulfas, nitrofurantoínas e analgésicos podem ser responsáveis por episódios hemolíticos em pacientes deficientes de G6PD (7, 12, 22, 30, 51).

Um episódio de hemólise provocado por medicamento em pessoas com deficiência de G6PD começa de 1 a 3 dias após a sua administração. Os corpúsculos de Heinz aparecem na circulação e a hemoglobina cai rapidamente. Com o progresso da hemólise, os corpúsculos de Heinz desaparecem da circulação e a urina pode se tornar muito escura, nos casos mais graves.

Dentro de 4 a 6 dias aumenta a taxa de reticulócitos, embora possa estar suprimida no caso de uso de medicação para infecção ativa (12, 51).

De acordo com Cox, GMD, os efeitos hemolíticos da dapzona podem ser exacerbados nos pacientes com deficiência de G6PD (23).

2.12.2 Anemia hemolítica que ocorre durante infecções

Infecção é provavelmente um fator mais comum que a exposição a drogas no desencadeamento de eventos hemolíticos. Uma série de agentes infecciosos têm sido relacionados com processos hemolíticos: *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Streptococcus Beta hemolítico* e *richethsiae* (30).

Com exceção da hepatite viral, a anemia é relativamente ligeira, com uma queda na concentração de hemoglobina no sangue chegando a 3 a 4 g/dl. A icterícia não é proeminente e em geral não há reticulocitose (12, 30, 51).

2.12.3 Favismo

A exposição à *Vicia fava* é tóxica e potencialmente letal para alguns indivíduos deficientes de G6PD (30). O Favismo é mais prevalente entre os habitantes da Sardenha nos quais a deficiência de G6PD é mais severa que em negros, mas é também comum em muitas partes do litoral Mediterrâneo e nos países para os quais os habitantes desta região tenham migrado (51).

O início é quase sempre gradual, sendo notada a hemólise um a dois dias após a ingestão dos feijões. Nos casos graves pode ocorrer choque em curto tempo (12).

2.12.4 *Icterícia neonatal*

A ictericícia neonatal sem indícios de incompatibilidade imunológica ocorre em alguns lactentes com deficiência de G6PD. A ictericícia pode ser muito intensa e se não tratada pode resultar em *kernícterus* (12).

Uma alta incidência de hiperbilirrubinemia em bebês tem sido descrita na Grécia, Itália, Tailândia e China, áreas nas quais a G6PD Mediterrânea é prevalente (30).

Anemia hemolítica neonatal devido à deficiência de G6PD é mais freqüente em bebês prematuros (37). Em determinados grupos étnicos é a principal causa de hiperbilirrubinemia e encefalopatia bilirrubínica no recém-nascido (38).

Em algumas variantes de G6PD a deficiência enzimática é suficientemente grande para que ocorra hemólise na ausência de infecções ou exposição a drogas (20, 30).

2.12.5 *Anemia hemolítica não esferocítica congênita*

Essa anemia está associada com as variantes da classe 1, é clínica e hematologicamente indistinguível das outras síndromes hemolíticas não-esferocíticas congênitas relacio-

nadas com deficiência de outras enzimas glicolíticas (14, 30).

Variantes de G6PD responsáveis por hemólise crônica têm sido identificadas em negros americanos e em Caucasiões.

Anemia e icterícia freqüentemente são notadas inicialmente no período neonatal. Em função da hiperbilirrubinemia pode ser necessário exsangüíneotransfusão (12).

Anemia severa ocorre após exposição a drogas com propriedades oxidantes e às favas. Anemia fraca à moderada pode ocorrer, os reticulócitos podem aumentar de 4 a 35% e a meia vida das hemácias marcadas com cromo 51 é de 12 a 17 dias (12).

2.13 Elementos Laboratoriais

O diagnóstico da deficiência é efetuado com uma série de testes. A condição é fácil de ser detectada no homem e na mulher homozigótica. A detecção na mulher heterozigótica exige técnicas sofisticadas. A detecção imediatamente após as crises hemolíticas também oferecem dificuldades (25).

Os testes qualitativos para o ensaio da condição são baseados na descoloração do azul crezil brilhante, na reação do sangue com ascorbato e cianeto, em testes baseados na fluorescência do NADPH e na redução da metemoglobina (9, 16, 25, 26, 43).

Segundo Bapat, o teste da redução da metemoglobina de Brewer, quando usado sozinho pode dar resultados exagerados para a deficiência de G6PD. Dessa forma, recomenda que um método quantitativo seja usado para confirmação (3).

A caracterização exata da enzima, exige uma investigação mais qualificada, incluindo o ensaio da enzima, em condições ótimas de atividade e o estudo de sua cinética (25, 54).

O exame do sangue periférico é normal fora das crises hemolíticas. No decurso da crise observam-se glóbulos pequenos ou fragmentados, com contorno irregular. Os corpúsculos de Heinz não são habitualmente encontrados nos indivíduos portadores de baço, exceto de uma maneira muito fugaz (25).

2.14 O Deficiente de G6PD como Doador

Mc Curdy e Morse realizaram um trabalho na Universidade de Georgetown, no qual bolsas de sangue de doadores com deficiência de G6PD foram transfundidas em pacientes que posteriormente receberam drogas oxidantes. Esses pacientes receberam acompanhamento clínico e laboratorial (34).

Desse estudo concluíram que as transfusões de sangue de pacientes com a variante Sardenha pode ser prejudicial ao receptor que está sendo medicado com drogas hemolíticas como a nitrofurantoína, o que recomenda a exclusão de tais doadores (34).

No que diz respeito aos doadores gregos os autores entendem que os mesmos não necessitam ser tratados para deficiência de G6PD (34).

Tizianello considera que o uso de sangue de doadores com deficiência de G6PD deve ser evitado em emergências e em práticas cirúrgicas, pois nesses casos o receptor tem mais chances de receber drogas potencialmente hemolíticas (52).

Ramalho, A.S. identificou e seguiu clinicamente 29 pacientes de um hospital de Campinas que foram transfundidos com sangue deficiente de G6PD. As freqüências de reações transfusionais observadas neste grupo não diferiram significativamente daquelas observadas em um grupo controle (38).

3. MATERIAL E MÉTODO

No período de setembro a novembro de 1993 foram colhidas 1.114 amostras de sangue dos doadores do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Mato Grosso do Sul - HEMOSUL e enviadas para análise no HEMOCE, obedecendo a um intervalo de tempo de até 15 dias, da coleta à realização dos experimentos.

Dados relativos à identificação do doador, como nome, idade, sexo, cor, profissão, grau de escolaridade, procedência, endereço e informações sobre o uso de medicamentos, foram registrados em uma ficha conforme a Figura 3.

As amostras foram acondicionadas em um frasco de vidro com tampa no qual havia 0,75 ml de solução de Álsever e 5 ml de sangue, que as mantém viáveis para análise por 25 dias, à temperatura ambiente ou a 4°C. Assim conservadas, as amostras, foram enviadas em caixa de isopôr contendo gelo reciclável, por via aérea, de Campo grande para Fortaleza.

O anticoagulante de Álsever contém 20,5 g de glicose, 8 g de citrato de sódio, 5,5 g de ácido cítrico, 4,2 g de cloreto de sódio e a quantidade suficiente de água destilada para completar 1.000 ml de solução, a qual deve ser autoclavada por 15 minutos a 15 libras.

O método utilizado para a detecção dos doadores deficientes de G6PD foi o de Brewer (16, 17) que se baseia na capacidade de redução da metemoglobina à hemoglobina em condições de geração normal de NADPH. Usa-se o nitrito de sódio para oxidar o Fe^{++} da hemoglobina a Fe^{+++} e o azul de metileno para reverter este processo. Esta reação reflete a atividade da G6PD pelo fato de ser ela a primeira enzima do Shunt das pentoses, ciclo estimulado pelo azul de metileno.

Para determinação da deficiência de G6PD pelo método de Brewer utilizamos duas soluções, uma de nitrito de sódio a 18 M e dextrose a 0,28 M, que contém 5,0 e 1,25 g respectivamente e o restante de água destilada para atingir um volume de 100 ml; e outra solução, de azul de metileno a 0,0004 M que contém 0,15 g deste em um volume final de 1.000 ml.

A técnica consiste na preparação de três tubos de reação, identificados como controle negativo, controle positivo e teste. No primeiro, adicionar apenas 1 ml de sangue, no segundo, colocar 0,05 ml de nitrito de sódio-glicose e 1 ml de sangue, e no terceiro, 0,05 ml de nitrito de sódio-glicose, 0,05 ml de azul de metileno e 1 ml de sangue. Homogeneizar suavemente por inversão e colocar os tubos em banho-maria a 37°C por três horas.

Depois do período de incubação, retirar 0,1 ml de cada um dos tubos e diluir em 10 ml de água destilada contida em três outros tubos previamente preparados. A leitura deve ser feita entre dois e dez minutos após a diluição.

Na interpretação dos resultados teremos:

- 1) Coloração marrom escuro ou café, semelhante à do tubo controle positivo, o que indica persistência de mais de 70% de metemoglobina formada, caracterizando a expressão total do defeito;
- 2) coloração vermelho claro semelhante ao controle negativo, indicando capacidade de redução da metemoglobina e caracterizando o indivíduo normal;
- 3) Coloração variando de vermelho a café, dependendo da expressão genética, caracterizando as mulheres deficientes heterozigóticas.

Com o intuito de avaliar uma provável influência do transporte e da estocagem sobre os resultados dos testes para detecção da deficiência de G6PD, resolvemos realizar um ensaio com amostras de doadores do HEMOCE, submetidas às mesmas condições físicas e químicas estabelecidas anteriormente para as amostras do HEMOSUL.

Como a hemólise pode ser uma consequência do atrito mecânico ocorrido durante o transporte, bem como, do desgaste natural sofrido pela hemácia no decorrer do tempo de estocagem, avaliamos a influência da hemólise sobre os resultados dos testes.

As amostras que possuíam hemólise, e que puderam ser identificadas através de observação visual, foram retiradas da pesquisa de deficiência de G6PD. Portanto, o ensaio acima referido se presta à avaliação daquelas amostras que pos-

suiam traços de hemólise e que por isso, não foram identificadas por simples observação visual.

Foram colhidas 33 amostras, das quais 30 eram conhecidamente negativas e 3 positivas. Para avaliar o efeito mecânico ocasionado pelo transporte, as amostras foram submetidas, no dia da coleta, após determinação do número de células e do teste de redução da metemoglobina, a um número de horas de vôo* equivalente àquele a que foram submetidas as amostras originais.

Em um primeiro ensaio procuramos determinar a variação do número de hemácias em relação ao tempo de estocagem. Dessa forma determinamos o número de hemácias por mm^3 de cada uma das 33 amostras, em contador eletrônico, de 5 em 5 dias, a partir do primeiro, por um período total de 25 dias (o que corresponde ao tempo de conservação das hemácias na solução de Álsever). Calculamos a média do número de hemácias presentes nas 33 amostras, e relacionamos com o tempo em dias.

Concomitantemente, logo após a contagem das hemácias, realizamos a determinação da deficiência de G6PD pelo método de Brewer, obedecendo os mesmos intervalos de tempo descritos acima. Os resultados obtidos também foram relacionados com o tempo em dias.

Realizamos ainda um segundo ensaio com a finalidade de determinar o número mínimo de hemácias necessário para

* As amostras fizeram viagem de ida e volta a Salvador, cuja distância em quilômetros é comparável à distância entre Campo Grande e Fortaleza.

que a coloração dos controles positivo e negativo encontrasse dentro de uma faixa de leitura visível. Esse experimento avalia portanto, a influência da diminuição do número de hemácias sobre os resultados do teste de detecção de G6PD.

Para avaliar esta influência, reduzimos artificialmente o número de hemácias, diluindo o sangue em proporções variáveis de solução fisiológica, com a intenção de determinar o número mínimo de hemácias que devem existir em solução, para que seja possível a leitura dos controles, positivo e negativo.

Para tanto, realizamos uma bateria de exames composta de 10 tubos (sangue sem diluição, diluição 9/10, 8/10, 7/10, 6/10, 5/10, 4/10, 3/10, 2/10 e 1/10) de cada uma das 30 amostras negativas e das 3 positivas utilizadas no ensaio. Determinamos o número de hemácias/mm³ e depois fizemos o teste da redução da metemoglobina de Brewer em cada diluição. Os resultados obtidos nas leituras foram relacionados aos números de hemácias contidas nas diluições.

No tratamento estatístico, aplicamos o teste do X^2 sobre as variáveis deficiência de G6PD e sexo e deficiência de G6PD e caráter racial.

O valor de α fixado para o presente trabalho foi de 5%.

4. RESULTADOS

Foram examinadas 1.114 amostras de sangue dos doadores do Centro de Hematologia e Hemoterapia de Mato Grosso do Sul - HEMOSUL.

Entre as 1.114 amostras analisadas, 937 (84,11%) foram de doadores do sexo masculino, e 177 (15,89%), de doadores do sexo feminino. (Tabela I)

Com relação ao caráter racial dos doadores, tivemos 702 (63%) brancos; 380 (34,10%) negróides e 32 (2,9%) negros. (Tabela II)

Os resultados da investigação mostraram que dos 1.114 doadores analisados, 1.093 (98,11%) não apresentaram deficiência de G6PD e 21 (1,89%) apresentaram. (Tabela III)

Dentre os doadores deficientes de G6PD, 20 (95,24%) pertenciam ao sexo masculino e 1 (4,76%), ao sexo feminino (Tabela IV); sendo 10 (47,62%) brancos, 7 (33,33%) negróides e 4 (19,05%) negros (Tabela V).

Em relação à freqüência de deficientes de G6PD quanto ao sexo tivemos 20 (2,13%) masculinos e 1 (0,56%) feminino (Tabela VI).

A freqüência de deficientes de G6PD quanto ao caráter racial mostrou 10 (1,4%) brancos, 7 (1,84%) negróides e 4 (12,5%) negros.

Quanto a procedência dos portadores de deficiência de G6PD tivemos 11 de Mato Grosso do Sul, 6 de São Paulo, 2 de Minas Gerais, 1 da Bahia e 1 do Rio de Janeiro.

Quanto à caracterização do doador de acordo com o número de doações tivemos 7 doando pela primeira vez, 6 com mais de 1 doação e 8 doadores nos quais esta informação não foi obtida.

No tocante aos ensaios realizados para avaliar a influência do transporte e estocagem sobre os resultados do teste, tivemos:

- 1) Variação do número de hemácias com relação ao tempo de estocagem.

No dia da coleta encontramos 4 milhões e 20 mil hemácias/mm³, nos dias subseqüentes, houve diminuição do número de hemácias até atingir 3,12/mm³ no 25º dia (Figura 4).

- 2) Variação dos resultados positivos e negativos no decorrer do tempo de estocagem.

Quanto aos resultados positivos, não houve alteração no decorrer dos 25 dias, porém os resultados negativos sofreram modificação a partir do 20º dia quando obtivemos um resultado falso-positivo e no

25º dia quando obtivemos quatro resultados falsos-positivos (Figura 5).

- 3) Avaliação da influência da diminuição do número de hemácias sobre a leitura do teste.

Para os resultados positivos, não houve alteração até a diluição de 7/10 (2,81 milhões/mm³), a partir da diluição 6/10 não houve mais possibilidade de leitura. Por outro lado, os resultados negativos permaneceram inalterados até a diluição 5/10 (2,01 milhões/mm³), a partir da diluição 4/10 não foi mais possível fazer a leitura (Figura 6).

Portanto, a zona de visualização dos resultados positivos do teste de redução da metemoglobina de Brewer, situa-se no intervalo de 4,02 a 2,81 milhões de hemácias/mm³.

Por outro lado, a zona de visualização dos resultados negativos, situa-se no intervalo de 4,02 a 2,01 milhões de hemácias/mm³.

CURSO DE ESPECIALIZAÇÃO EM HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA

TEMA DA PESQUISA: **DEFICIÊNCIA DA GLICOSE-G-FOSFATO DESIDRO-
GENASE EM DOADORES DE SANGUE DO HEMOSUL**
PESQUISADORA: **ANGELA CLEUZA BENATE VALENTE**
ORIENTADORA: **DRA. MARIA DA SILVA PITOMBEIRA**

FICHA DE IDENTIFICAÇÃO

NOME DO DOADOR	_____				
DATA DA COLETA	_____ Nº DA AMOSTRA _____				
IDADE	_____ SEXO _____				
COR: BRANCA	<input type="checkbox"/>	PRETA	<input type="checkbox"/>	PARDA	<input type="checkbox"/>
PROFISSÃO	_____				
GRAU DE ESCOLARIDADE	_____				
LOCAL DE NASCIMENTO	_____				
ENDEREÇO	_____				
FAZ USO DE MEDICAMENTO?	SIM	<input type="checkbox"/>	NÃO	<input type="checkbox"/>	
QUAL?	_____				

Figura 3

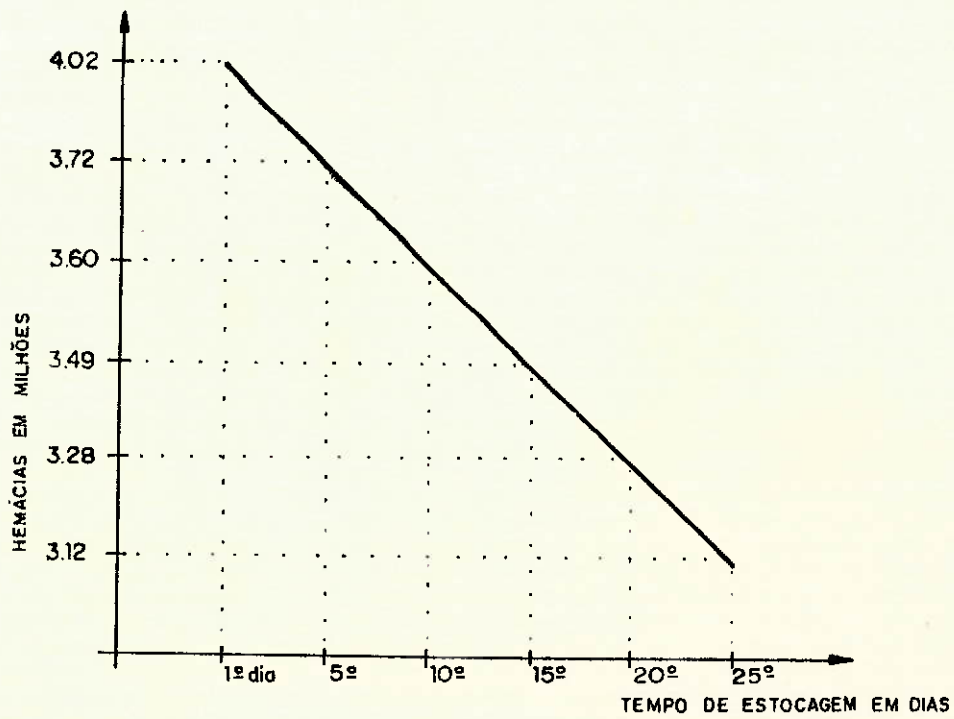


Figura 4: Avaliação da influência da hemólise sobre a determinação da deficiência de G6PD.

Variação do número de hemácias em relação ao tempo de estocagem das amostras.

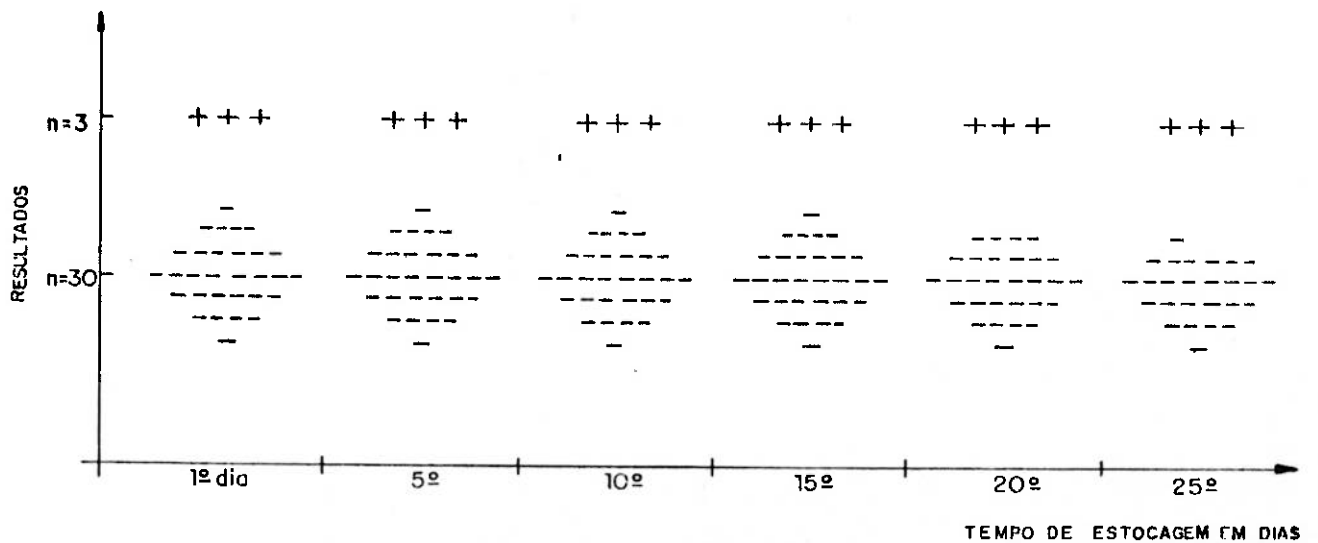
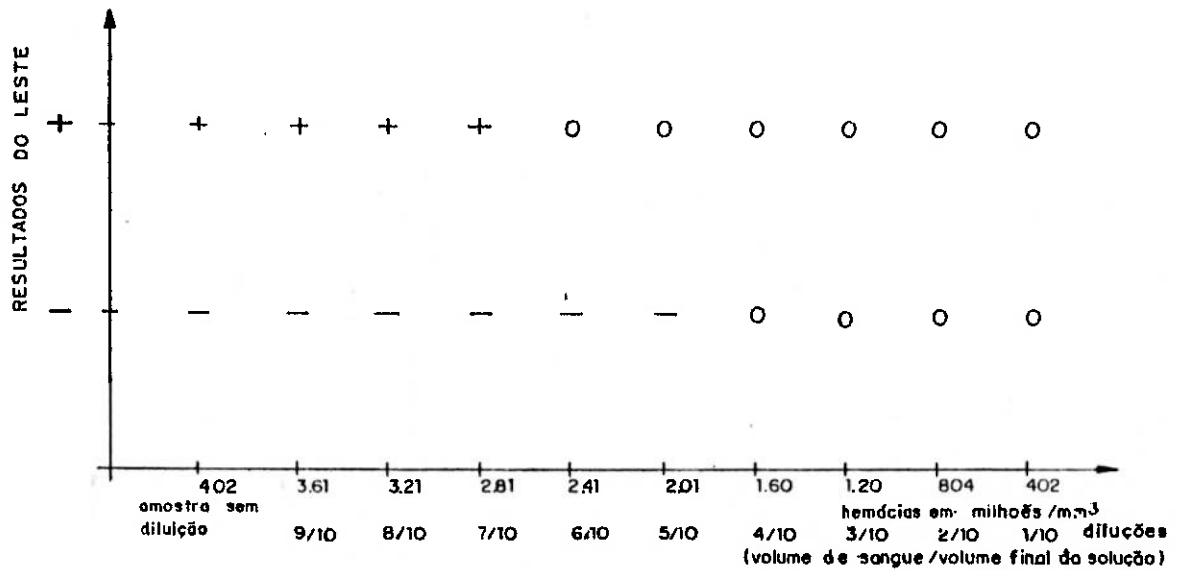


Figura 5: Avaliação da influência da hemólise sobre a determinação da deficiência de G6PD.

Varição dos resultados positivos e negativos da leitura do teste de redução da metemoglobina de Brewer, no decorrer do tempo de estocagem das amostras.



LEGENDA

(+) POSITIVO

(-) NEGATIVO

(0) IMPOSSIBILIDADE DE SE FAZER LEITURA

Figura 6: Avaliação da influência da diminuição do número de hemácias presentes na amostra sobre a leitura do teste da redução da metemoglobina de Brewer no 1º dia de conservação em solução de Álsever.

Tabela I - Distribuição dos doadores de sangue de acordo com o sexo

SEXO	NÚMERO DE DOADORES	%
MASCULINO	937	84,11
FEMININO	177	15,89
T O T A L	1.114	100,00

Tabela II - Distribuição dos doadores de sangue de acordo com o caráter racial

CARÁTER RACIAL	NÚMERO DE DOADORES	%
BRANCO	702	63,00
NEGRÓIDE	380	34,10
NEGRO	32	2,90
T O T A L	1.114	100,00

Tabela III - Distribuição dos doadores de sangue de acordo com a presença de deficiência de G6PD

RESULTADO	NÚMERO DE DOADORES	%
DEFICIENTE	21	1,89
NÃO DEFICIENTE	1.093	98,11
T O T A L	1.114	100,00

Tabela IV - Distribuição dos doadores de sangue positivos para a deficiência de G6PD de acordo com o sexo

SEXO	NÚMERO DE DOADORES DEFICIENTES PARA G6PD	%
MASCULINO	20	95,24
FEMININO	1	4,76
T O T A L	21	100,00

Tabela V - Distribuição dos doadores de sangue positivos para deficiência de G6PD de acordo com o caráter racial

CARÁTER RACIAL	NÚMERO DE DOADORES DEFICIENTES PARA G6PD	%
BRANCO	10	47,62
NEGRÓIDE	7	33,33
NEGRO	4	19,05
T O T A L	21	100,00

Tabela VI - Distribuição dos doadores de sangue de acordo com o sexo e o resultado da determinação

SEXO	NÚMERO DE DOADORES		
	NÃO DEFICIENTES	DEFICIENTES	TOTAL
MASCULINO	917 (97,87)	20 (2,13)	937
FEMININO	176 (99,44)	1 (0,56)	177
TOTAL	1.093 (98,11)	21 (1,89)	1.114

$$X^2 = 1,98, P > 0,05$$

Tabela VII - Distribuição dos doadores de sangue de acordo com o caráter racial e com a presença da deficiência de G6PD

CARÁTER RACIAL	NÚMERO DE DOADORES		
	NÃO DEFICIENTES	DEFICIENTES	TOTAL
BRANCO	692 (98,60)	10 (1,40)	702 (63,01)
NEGRÓIDE	373 (98,16)	7 (1,84)	380 (34,10)
NEGRO	28 (87,50)	4 (12,50)	32 (2,90)
TOTAL	1.093 (98,11)	21 (1,89)	1.114 (100,00)

$X^2 = 20,30, P = 0,00004$

Tabela VIII - Distribuição dos doadores de sangue de acordo com a procedência

ESTADO BRASILEIRO DE ORIGEM DOS DOADORES	D O A D O R E S		
	Nº	%	
ALAGOAS (AL)	4	0,36	
AMAZONAS (AM)	2	0,18	
BAHIA (BA)	14	1,25	
CEARÁ (CE)	11	1,00	
DISTRITO FEDERAL (DF)	1	0,09	
ESPÍRITO SANTO (ES)	2	0,18	
GOIÁS (GO)	7	0,63	
MINAS GERAIS (MG)	19	1,70	
MATO GROSSO DO SUL (MS)	688	61,76	
MATO GROSSO (MT)	22	1,97	
PARÁ (PA)	3	0,27	
PARANÁ (PR)	62	5,56	
PERNAMBUCO (PE)	24	2,15	
PIAUI (PI)	1	0,09	
RIO DE JANEIRO (RJ)	12	1,07	
RIO GRANDE DO NORTE (RN)	1	0,09	
RIO GRANDE DO SUL (RS)	36	3,23	
SANTA CATARINA (SC)	11	1,00	
SERGIPE (SE)	2	0,18	
SÃO PAULO (SP)	184	16,52	
OUTROS PAÍSES	ALEMANHA	1	16,52
	ITÁLIA	1	0,09
NÃO IDENTIFICADOS	6	0,54	
TOTAL	1.114	100,00	

Tabela IX - Distribuição dos doadores de sangue positivos para deficiência de G6PD de acordo com a procedência

ESTADO BRASILEIRO DE ORIGEM	D O A D O R E S	
	Nº	%
MATO GROSSO DO SUL (MS)	11	52,40
SÃO PAULO (SP)	6	28,56
MINAS GERAIS (MG)	2	9,52
BAHIA (BA)	1	4,76
RIO DE JANEIRO (RJ)	1	4,76
TOTAL	21	100,00

Tabela X - Distribuição dos doadores de sangue positivos para deficiência de G6PD de acordo com cidade de origem, no Mato Grosso do Sul

CIDADE DE ORIGEM	D O A D O R E S	
	Nº	%
CAMPO GRANDE	7	63,70
MIRANDA	2	18,10
ROCHEDO	1	9,10
TERENOS	1	9,10
TOTAL	11	100,00

Tabela XI - Incidência de doadores de sangue positivos para a deficiência de G6PD de acordo com a procedência e o caráter racial

EBO	D O A D O R E S					
	CARÁTER RACIAL	POSITIVOS	TOTAL	%	TOTAL	%
MS	BRANCO	5	422	1,18	688	1,59
	NEGRÓIDE	4	246	1,62		
	NEGRO	2	20	10,00		
SP	BRANCO	3	116	2,58	184	3,20
	NEGRÓIDE	2	65	3,07		
	NEGRO	1	3	33,33		
MG	BRANCO	1	11	9,09	19	10,50
	NEGRÓIDE	1	6	16,60		
	NEGRO	-	2	-		
BA	BRANCO	-	4	-	14	7,41
	NEGRÓIDE	-	8	-		
	NEGRO	1	2	50,00		
RJ	BRANCO	1	10	10,00	12	8,33
	NEGRÓIDE	-	1	-		
	NEGRO	-	1	-		

Legenda: EBO - Estado Brasileiro de Origem

Tabela XII - Distribuição dos doadores positivos de acordo com o número de doações

NÚMERO DE DOADORES	
NÚMERO DE DOAÇÃO	
PRIMEIRA	7
MAIS DE UMA DOAÇÃO	6
DADO NÃO CONHECIDO	8

Tabela XIII - Relação de trabalhos sobre deficiência de G6PD de acordo com o caráter racial, realizados no Brasil

AUTOR (ANO/REFERÊNCIA)	PROPORÇÃO DE DEFICIENTES (%)				
	N	BR	NBR	FT %	POPULAÇÃO
ALBUQUERQUE, R.A. (1986) (1)	576	1,89	5,14	4,10	Doadores de sangue do HEMOCE-CE
AZEVEDO <i>et alii</i> (1977) (2)	815	-	8,00	-	População negróide de Salvador-BA
BARRETO (1969) (4)	776	2,90	5,80	2,20	População de dois distritos de São Paulo-SP
LEWGOY & SALZANO (1964) (27)	300	-	10,00	-	População negróide de Porto Alegre-RS
MARQUES & CAMPOS (1975) (31)	1.000	-	7,80	-	População negróide de Belo Horizonte-MG
MARTINS, A.C.M. (1993) (32)	200	3,00	3,70	3,50	Recém-nascidos da Maternidade Escola de Fortaleza-CE
MENEZES, A.G. (1992) (36)	300	-	3,80	3,00	Doadores de sangue do HEMOCE-CE
RAMALHO (1980) (42)	440	1,50	10,30	3,18	Recém-nascidos de Campinas-SP
RAMALHO & BEILGUELMAN (1976) (43)	204	2,56	10,40	4,40	Doadores de sangue de Campinas-SP
ROCHA, M.M. (1994) (45a)	1.075	0,84	4,00	3,25	Doadores do HEMOCE Crato-CE
RODRIGUES <i>et alii</i> (1984) (46)	200	1,40	8,20	-	Doadores de sangue masculinos na cidade do RJ
SENA <i>et alii</i> (1986) (49)	719	2,00	3,00	2,60	Doadores de sangue de Natal-RN
VALENTE, A.C.B. (1994)-Presente trabalho	1.114	1,42	2,66	1,89	Doadores de sangue do HEMOSUL-MS

Legenda: N - Número de amostras NBR - Não branco
BR - Branco FT - Freqüência total

5. DISCUSSÃO

A deficiência de G6PD é a mais comum desordem metabólica da célula vermelha (9, 13, 19, 22,24). Uma estimativa conservadora é que mais de 130 milhões de pessoas sejam atingidas em todo o mundo (30). Possui uma grande variação em sua incidência para as diferentes populações, sendo alta em negros africanos, italianos e judeus asiáticos, embora existam algumas diferenças de acordo com o grupo étnico e o país de origem (4).

A incidência nos negros é próxima de 20% entre os homens africanos Bantus, 12% nos negros americanos e 8% nos negros brasileiros (30).

É certo que a incidência de G6PD é um distúrbio heterogêneo. Além de o defeito ser mais intenso em pessoas do Mediterrâneo do que em negros norte-americanos, existem diferenças significativas nas propriedades bioquímicas das enzimas residuais, entre as duas populações (12).

Nesse trabalho a frequência do defeito foi de 2,13 para sexo masculino e 0,56 para o feminino, ($p > 0,05$), mostrando que não existe significância estatística entre sexo e deficiência de G6PD.

Embora não exista significância estatística entre deficiência de G6PD e sexo, para os valores anteriormente descritos, a freqüência deste caráter no sexo feminino, por nós encontrada, foi muito menor que a do masculino.

Um fator que poderia explicar a baixa freqüência de deficiência de G6PD no sexo feminino, é que o número de indivíduos femininos na população estudada é consideravelmente menor.

Quanto ao caráter racial encontramos uma freqüência de 1,4% nos doadores brancos, 1,84% nos pardos e 12,5% nos negros. Quando comparamos doadores negróides com brancos, encontramos $P > 0,05$, não havendo portanto significância estatística.

Por outro lado, quando comparamos doadores negros com brancos e doadores negros com negróides, encontramos $P < 0,05$, havendo portanto significância estatística.

Nossos resultados são compatíveis com os da literatura em relação à cor branca. Barreto (4) encontrou 2,9% estudando a população de dois distritos de São Paulo. Ramalho e Beiguelmam (43) determinaram uma freqüência de 2,56% para doadores de sangue de Campinas. Rodrigues *et alii* definiram 1,4% de freqüência para doadores do Rio de Janeiro.

Os resultados anteriores pertencem à região Sudeste, onde a composição étnica é semelhante à de Mato Grosso do Sul, já que este Estado foi formado em parte por imigrantes vindos desta região do país (53).

A frequência da deficiência de G6PD nos doadores negróides (1,84%) foi menor quando comparada com a literatura. Ramalho e Beiguelmam (43) encontraram 10,4% e Rodrigues et alii (46), 8,2%. Esta diferença talvez possa ser atribuída à intensa miscigenação racial existente no Estado, o que contribuiria para diminuir a frequência da deficiência de G6PD nesta fração racial.

Os negros apresentaram uma frequência de 12,5%, também compatível com a de outras populações estudadas. Lewgoy & Salzano (27) encontraram um resultado parcial de 9 a 11% para a população negra de Porto Alegre, semelhante a encontrada por Motulsky & Campbell Kraut para a população negra norte-americana. Tarlov cita uma incidência de 13% para a mesma população (51).

No presente estudo, doadores brancos, negros e negróides apresentaram frequências significativas de deficiência de G6PD.

Embora a frequência de deficientes de G6PD seja maior em negróides do que em caucasóides, o grau da deficiência costuma ser bem maior nesses últimos do que nos primeiros. Nos negróides apenas as hemácias mais velhas é que estão sujeitas à hemólise (43).

Por outro lado, a atividade da G6PD mediterrânea pode ser nula ou possuir apenas 4% da atividade normal e tanto as hemácias velhas quanto as novas, se mostram afetadas.

Em relação ao exposto acima, chamamos a atenção sobre a importância da realização de testes para detecção de deficientes de G6PD na população estudada, naqueles casos em que o sangue é destinado à exsanguineotransfusão, pelo fato do volume de sangue ser grande, e para o caso de transfusão em pacientes que fazem uso de drogas potencialmente hemolíticas.

Obviamente os teste de triagem indicados para bancos de sangue devem ser seguros, mas também simples e de baixo custo como por exemplo o da redução da metemoglobina (16, 17), do ascorbato-cianeto (26), e o da descoloração do azul crezil brilhante (9, 43, 44).

Quanto aos ensaios por nós realizados para avaliar uma possível influência da hemólise sobre os resultados dos testes. A figura nº 4 mostra o decréscimo do número de hemácias no decorrer de 25 dias, representando dessa forma, a hemólise ocorrida durante este período; observamos que variou de 4,02 a 3,2 milhões de hemácias por mm^3 .

A figura nº 5 mostra a variação dos resultados positivos e negativos no decorrer do tempo de estocagem. Observamos que os resultados negativos não sofreram influência da hemólise até o 15º dia, a partir do 20º, 4 resultados negativo passaram a ser falsos-positivos. Os resultados positivos permaneceram constantes.

Do acima exposto concluímos que podemos trabalhar com uma certa segurança até o 15º dia. Como nossos experimentos foram realizados dentro deste período, ficou evidente que os resultados não foram influenciados pela hemólise.

Na figura nº 6 temos a representação da influência da diminuição do número de hemácias sobre a leitura do teste.

Através da redução artificial do número de hemácias, pela diluição do sangue em proporções decrescentes de solução fisiológica, observamos que para os resultados negativos é possível se fazer leituras com um número mínimo de hemácias de até 2,01 milhões/mm³.

Para os resultados positivos, a leitura é possível com um número mínimo de hemácias de até 2,81 milhões/mm³.

Os dados acima referidos sugerem que para uma amostra de sangue de um paciente anêmico e com deficiência de G6PD (amostra positiva), no qual o número de hemácias está abaixo de 2,81 milhões/m³; a leitura do resultado do teste se torna difícil (figura 6), pois com a redução do número de hemácias, a coloração deixa de ser marrom escuro, característica da amostra positiva.

Ramalho, et alii citam a importância da correção do hematócrito para cerca de 40 a 45%, quando este apresentar valor baixo (44).

Por outro lado, no caso de uma amostra de sangue de um paciente anêmico e negativa para deficiência de G6PD, a leitura será difícil com um número de hemácias abaixo de 2,01 milhões/mm³, pois com a redução do número de hemácias, a coloração da amostra tende a clarear, adquirindo uma tonalidade semelhante à da amostra positiva, o que pode acarretar um resultado duvidoso.

6. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, concluímos que a prevalência da deficiência de G6PD em 1.114 doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia, realizado no período de setembro a novembro de 1993, foi de 1,89% (21 doadores).

A frequência de portadores de deficiência de G6PD foi de 2,13% (20 doadores) no sexo masculino e 0,56% (1 doador) no sexo feminino. Determinamos ainda uma prevalência de 1,4% (10) brancos deficientes, 1,84% (7) negróides, e 12,5% (4) negros.

Além da pesquisa de deficiência de G6PD, realizamos um ensaio para avaliar a possível influência da hemólise sobre os resultados da pesquisa e observamos que para o período de tempo de conservação das amostras e nas condições de execução dos experimentos, os resultados do estudo não sofreram alteração pelo fator acima descrito.

Analisando os resultados obtidos no presente trabalho, concluímos pela importância da realização de testes de triagem para a deficiência de G6PD nos doadores de sangue do HEMOSUL, particularmente em condições especiais como exsanguineotransfusão, e na vigência do uso de drogas hemolíticas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, R.A. Glicose-G-fosfato desidrogenase - Estudo em doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará. Fortaleza: UFC/HEMOCE/Curso de Hematologia e Hemoterapia, 1986.
Monografia apresentada como requisito final ao curso.
2. AZEVEDO, W.C. et alii. Deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase em pacientes de um hospital geral de Salvador, BA, Brasil. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., v. 11, n. 1, p. 49-52, 1978.
3. BAPAT, J.P., BAXI, A.J., BATHIA. I methemoglobin reduction test true index of G6PD deficiency? Indian J. Med. Res., v. 64, n. 11, p. 1987-1989, 1976.
4. BARRETO, O.C.O. Erythrocyte glucose-G-phosphate dehydrogenase deficiency in São Paulo, Brazil. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., v. 3, n. 1-2, p. 61-63, 1970.
5. BARRETO, O.C.O. & NONOYAMA, K. Gd(-) Carapicuíba, a rare glucose-G-phosphate dehydrogenase variant associated with moderate enzyme deficiency and chronic hemolysis. Braz. J. Med. Biol. Res., v. 24, p. 133-139, 1991.

6. BEIGUELMAN, B. *et alii*. G6PD deficiency among lepers and healthy people in Brazil. Acta Genet., v. 18, n. 2, p. 159-162, 1968.
7. BEUTLER, E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. N. Engl. J. Med., v. 324, n. 3, p. 169-174, 1991.
8. ———. A series of new screening procedures for pyruvate kinase deficiency, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and glutathione reductase deficiency. Blood. v. 28, n. 4, p. 553-555, 1966.
9. ———. Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, Isr. J. Med. Science, v. 9, n. 9, 10, p. 1350-1352, 1973.
10. ———. The hemolytic effect of primaquine and related compounds: a review Blood, v. 14, n. 2, p. 103-139, 1959.
11. ———. E., BALUDA, M.C. Studies of the interaction between cell populations and the role of methylene blue. blood, v. 22, n. 3, p. 323-333, 1963.
12. ———. Distúrbios eritrocitários. Anemias causadas por aumento da destruição de eritrócitos com deficiência enzimática. In: WILLIAMS, W.J. *et al.* Hematologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1976. Cap. 10, p. 318-323.

13. ———. E. et alii. Internacional comitte for standartion in haematology: recommended test for glucose-6-phosphate dehidrogenase deficiency. Br.J. Haematol., v. 43, p. 469-477, 1979.
14. ——— E. et alii. Biochemical variants of glucose-6-phosphate dehidrogenase giving rise to congenital nonspherrocytic hemolytic disease. Blood, v. 31, n. 2, p. 131-150, 1968.
15. BRESSOLIN, N. et alii. Muscle G6PD deficiency. Lancet., v. 2, p. 212:213, 1987.
16. BREWER, G.J., TARLON, A.R., ALVING, A.S. The methemoglobin reduction test for primaquine. Type sensitivity of erythrocytes; A simplified procedure for detecting a especific hipersusceptibility to drug hemolyses. J. Americ. Med. Ass., v. 180, n. 5, p. 386-388, 1962.
17. ———. Methemoglobin reduction test. A new, simple, in vitro test for identifying primaquine - sensitivity - Bull. Who., v. 22, p. 633-640, 1960.
18. BURKA, E.K. WEAVER, Z., MARKS, P.A. Clinical spectrum of hemolytic anemia associated with glucose-6-phosphate dehidrogenase deficiency. Ann. Intern. Med., v. 64, n. 14, p. 817-825, 1976.
19. CHAVES, et al. Ictericia neonatal y deficiencia de la glucose-6-fosfato desigenenasa eritrocitica. Sangue, v. 32, n. 4, p. 428-435, 1987.

20. CHAVES, M. et al. Polimorfismo de la G6PD eritrocítica em Costa Rica. Sangue, v. 33, n. 1, p. 12-14, 1988.
21. CORRONS, I.L.L.V. Anemias hemolíticas - fisiopatología y diagnóstico. Anemias hemolíticas congénitas. In: SABRAFEN, J.S. Hematología Clínica, 2. ed., Barcelona: Doyma, 1988, Cap. 17, p. 255-257.
22. ————. La biología molecular del déficit de la glucosa-6-fosfato deshidrogenase. Sangue, v. 36, n. 3, p. 149-152, 1991.
23. COX, G., ROBERTS, M.S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. N. Engl. J. Med., v. 324, p. 1742, 1991.
24. DOXIADIS, S.A. et alii. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. A new aetiological factor of severe neonatal jaundice. Lancet, v. 1, p. 297-301, 1961.
25. HALLEY, P.O. Defeitos da membrana e do metabolismo do eritrócito. In: ————. Hematología clínica. 3. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1988. Cap. 8, p. 158-161.
26. JACOB, M.S., JANDL, J.H. A simple visual screening test for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and employing ascorbate and cyanide. N. Engl. J. Med., v. 274, n. 21, p. 1162-1167, 1966.

27. LEWGOY, F., SALZANO, F.M. Frequência de indivíduos deficientes em glicose-6-fosfato desidrogenase na população negra de Porto Alegre. Ciênc. e Cult., v. 16, n. 2, p. 248-249, 1964.
28. LILLYMAN, J.S., HANN, I.M. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Pedriatic Heamatology, 47-48.
29. LORENZI, T.F. Anemias hemolíticas enzimopáticas. In: _____ . Manual de hematologia - Propedêutica e clínica. Rio de Janeiro: Medsi, 1992, Cap. 3, p. 240-243.
30. LUKENS, J.N. Glucose-6-phosphate dehidrogenase deficiency and related deficiencies involving the pentose phosphate pathway and glutathione metabolism. In: LEE, G.R. et alii. Winhobe's Clinical Haematology. 9. ed. London: Leon e Febiger, 1993, Vol. 1, Cap. 35, p. 1006-1022.
31. MARQUES, J., CAMPOS, J.O. Incidência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em negros de Minas Gerais. Rev. Ass. Med. Bras., v. 21, n. 4, p. 111-112, 1975.
32. MARTINS, A.C.M. Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase-estudo em recém-nascidos da Maternidade Escola Assis Chateaubriand. Fortaleza: UFC/HEMOCE/ Curso de Hemoterapia, 7., 1993. (Monografia apresentada como requisito final ao Curso).

33. MATO GROSSO DO SUL - Secretaria de Estado de Educação. Perfil sócio-econômico de Campo Grande, 1985. (Trabalho elaborado pela equipe de currículo da Coordenadoria Geral de Educação).
34. Mc CURDY, P.R., MORSE, E.E. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and blood transfusion. Vox. Song., v. 28, n. 7, p. 230-237, 1975.
35. MEDEIROS, T.M.D., ABREU, A., ALBUQUERQUE, L.M.M. Hemoglobinas anormais e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em Natal-RN. Rev. Bras. de Pat. Clin., v. 28, n. 2, p. 43-47, 1992.
36. MENEZES, A.G.B. Estudo da deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) nos doadores de sangue do Centro de Hematologia e Hematoterapia do Ceará. Fortaleza: UFC/HEMOCE/Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia, 3., 1992. (Monografia apresentada como requisito final ao Curso)
37. MINOUMI, F., SHOHAT, S. RETSNER. G6PD deficiency donor blood as a cause of hemolysis in two preterm infants. Isr. J. Med. Sci., v. 22, n. 2, p. 120, 1986.
38. PAIXÃO, A.C. et alii. Testes de rastreamento da deficiência da enzima glicose-6-fosfato de desidrogenase. Rev. Bras. Pat. Clin., v. 22, n. 4, p. 118-121, 1986.

39. PANNACIULLI, J. *et alii*. The course of experimentally induced hemolytic anaemia in a primaquine - sensitive caucasian. Blood. v. 25, n. 1, p. 92-95. 1965.
40. PORTER, H. *et alii*. Variation of glucose-6-phosphate dehydrogenase in different populations. Lancet, v. 1, p. 895-899, 1964.
41. RAMALHO, A.S. Talassemia minor, traço falcêmico e deficiência de G6PD: Dados de prevalência e de mobilidade na região de Campinas, SP. Boletim. v. 7, n. 134, p. 133-136, 1985.
42. ———. Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G6PD) em recém-nascidos brasileiros. Rev. Ass. Med. Bras., v. 27, n. 12, p. 343-345, 1981.
43. RAMALHO, A.S. BAIGUELMAN, B. Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G6PD) em doadores de sangue brasileiros. Folha Méd., v. 73, n. 3, p. 281-283, 1976.
44. RAMALHO, A.S., SENA, L.L.A., BARRETO, O.C.D. Os testes de triagem para a deficiência de G6PD. Rev. Bras. Anal. Clin., v. 17, n. 1, p. 23-25, 1985.
- * 45. RAPAPORT, S.I. Metabolismo das hemácias: Relações com a função da hemácia e anemias hemolíticas. In: ———. Hematologia - introdução. 2. ed. San Diego, Califórnia: Roca, 1990. Cap. 7, p. 94-97.

- 45.a ROCHA, M.M. Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em doadores de sangue do HEMOCE-CRATO-CE. Fortaleza, 1994. VIII Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia, UFC-HEMOCE.
46. RODRIGUES, M.E.F et al. Triagem para deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em doadores de sangue na cidade do Rio de Janeiro, RJ, Brasil, Boletim, v. 11, n. 153, p. 73-75, 1989.
47. SALDANHA, P.A.M., MAIA, J.C.C., NÓBREGA, F.G. Distribution of erythrocytes glucose-6-phosphate dehydrogenase activity and electrophoretic variants among different racial groups in Brazil. Rev. Bras. Pesq. Med. Biol., v. 2, n. 5-6, p. 327-333, 1969.
48. SENA, L.L.A., BARRETO, O.C.O., RAMALHO, A.S. Variantes de G6PD em uma população brasileira. Rev. Bras. Pat. Clin., v. 20, n. 4, p. 113-115, 1984.
49. SENA, L.L.A. et al. Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato glicose (G6PD): dados de prevalência e de morbidade na região de Natal, RN. Rev. Bras. Med., v. 32, n. 42, p. 17-20, 1986.
50. SEVERO, L.G., NOGUEIRA, D.M., HOXTER, G. Determinação da atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase em eritrócitos humanos. Lals, n. 1, p. 22-30, 1985.
51. TARLOV, A.F. et al. Primaquine sensitivity. Arch. Intern. Med., v. 109, p. 137-163, 1962.

52. TIZIANELLO, A. et al. Erythrocytic glicose-6-phosphate desidrogenase deficiency as a problem in the selection of blood donors. Vox Sanguis. v. 8, p. 47-50, 1963.
53. TOLENTINO, L.T. Ocupação do sul do Mato Grosso antes e depois da Guerra da Tríplice Aliança. São Paulo: Fundação Escola de Sociologia e Política de São Paulo. 1986. 250 p. Dissertação apresentada para a obtenção do grau de mestre.
54. WHO-Sa. Group. Standartization of procedures for the study of G6PD, Wo Techn. Rep. Ser. 366. Geneva. 1987.