

Variante Bética da Glucose-6-fosfato-desidrogenase: a propósito de um caso clínico

Bética variant of Glucose-6 – phosphate dehydrogenase: case report

Anabela Pinto*, Madalena Dias**, Eugénio Teófilo***, Vítor Brotas§, M. Ermelinda Pereira§§

Resumo

O défice de Glucose-6-fosfato Desidrogenase (G6PD) é, provavelmente, a mutação clinicamente significativa mais frequente a nível mundial, sendo Portugal um país de baixa prevalência (cerca de 0,51%).

A G6PD é o enzima que catalisa o primeiro passo na via das pentoses fosfato transformando a glicose- 6- fosfato em 6- fosfogluconato com redução do NADP a NADPH. Apesar de ser expressa em todos os tecidos, a sua deficiência apenas se faz sentir nos eritrocitos, levando a hemólise dos mesmos em situações de stress oxidativo. Já foram descritas mais de 400 variantes da G6PD.

Os autores apresentam um caso de uma mulher portadora da variante Bética da G6PD, sendo a doença manifestada por favismo.

Palavras chave: Glucose-6-fosfato desidrogenase, variante bética, favismo

Abstract

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency is probably the most common clinically significant mutation in the world but there is a low prevalence in Portugal (about 0, 51%).

G6PD catalyses the first step in the pentose phosphate pathway. This enzyme is expressed in all tissues but its deficiency is noted only in erythrocytes when exposed to oxidative stress conducive to hemolysis. About 400 variants have been described.

The authors report the case of a female patient that has a Bética variant of G6PD.

Key words: Glucose-6 – phosphate dehydrogenase, bética variant, favism

Caso clínico

Sexo feminino, 57 anos de idade, eurocaucasiana, casada, natural de Angola, residente em Lisboa, empregada de escritório.

No dia anterior ao internamento, em aparente estado de saúde, inicia um quadro de lombalgia bilateral tipo moínha, constante, de moderada intensidade, sem factores de alívio ou agravamento, acompanhada de febrícula (temperatura axilar 37,2°C), sem disúria ou polaquiúria. A dor reverteu de modo espontâneo e, progressivamente, foi-se instalando icterícia e colúria, motivo pelo qual recorreu ao serviço de urgência. Re-

feria ingestão de favas dois dias antes do internamento e negava consumo de fármacos.

Objectivamente, havia marcada icterícia da pele e escleróticas, sem hepatoesplenomegalia.

Antecedentes pessoais: colecistectomia há 30 anos, episódio semelhante ao actual, há cerca de 10 anos, após toma de Cotrimoxazol.

Sem hábitos alcoólicos, tabágicos e farmacológicos, nem consumo de drogas recreativas.

Antecedentes familiares irrelevantes, negando anemias de transmissão hereditária e icterícia.

Analiticamente, hemoglobina de 11,7 g/dl, bilirrubinemia total de 13,83 mg/dl com bilirrubinemia directa de 0,88 mg/dl e LDH de 1019 UI/dl. A actividade das transaminases glutâmica e pirúvica, fosfatase alcalina e gama-glutamyl-transpeptidase dentro dos valores de referência, bem como os tempos de protrombina e de tromboplastina parcial activada. Não havia alterações nos valores de creatina quinase nem da função renal (*Quadro I*).

A ecografia abdominal revelou um fígado normodimensionado, de estrutura homogénea, sem dilatação

*Interna do Complementar de Medicina Interna

** Interna do Complementar de Oncologia

***Assistente Hospitalar de Medicina Interna

§ Assistente Hospitalar Graduado de Medicina Interna

§§ Chefe de Serviço de Medicina Interna

Serviço de Medicina 3 do Hospital de Santo António dos Capuchos, Lisboa

Recebido para publicação a 19.08.05

Aceite para publicação 17.11.05

QUADRO I

Exames laboratoriais efectuados

	19/5- S. Urgência	21/5- S. Medicina
Hemoglobina	11,7 g/dl	9,8 g/dl
Reticulocitos	2,84%	4%
Bilirrubina total	13,83 mg/dl	2,02 mg/dl
Bilirrubina directa	0,88 mg/dl	0,87 mg/dl
LDH	1019 UI/dl	825 UI/dl
SGOT	32 UI/dl	32 UI/dl
SGPT	12 UI/dl	14 UI/dl
Gama GT	12 UI/dl	11 UI/dl
Fosfatase alcalina	76 UI/dl	74 UI/dl
INR	0,96	0,98
APTT	30,3 S	31 S
Ureia-S	38 mg/dl	21 mg/dl
Creatinina-S	0,5 mg/dl	0,8 mg/dl
Creatina quinase	97 UI/dl	a)
Teste Coombs directo	a)	Negativo
T. Coombs indirecto	a)	Negativo
Haptoglobina	a)	27,9 mg/dl
Actividade de G6PD	a)	6,68 U/gHg
a) Análise não efectuada		

das vias biliares intra e extra-hepáticas. O baço tinha dimensões normais.

Durante o internamento, efectuaram-se outros exames laboratoriais, nomeadamente contagem de reticulocitos, teste de Coombs directo e indirecto, doseamento de haptoglobina e determinação da actividade da enzima eritrocitária Glucose-6-fosfato Desidrogenase. Esta última encontrava-se dentro dos valores normais (*Quadro I*).

Devido à forte suspeita de anemia hemolítica por défice de G6PD, contactou-se o laboratório de hematologia do nosso hospital, que sugeriu a realização de estudo molecular para as variantes da G6PD. Este estudo mostrou que a doente em questão era portadora em heterozigotia da variante Bética da G6PD.

A doente foi tratada apenas com fluidoterapia, tendo alta clinicamente estável, ainda com icterícia e com valor de hemoglobina de 11,4 g/dl.

Discussão

O défice de G6PD é provavelmente a mutação clinicamente significativa mais frequente.¹ Calcula-se que haja mais de 400 milhões de pessoas afectadas.² Portugal é um país de baixa prevalência de défice de G6PD, sendo esta estimada em 0,51%.^{3,4}

A descoberta desta mutação ocorreu nos anos 50, quando se procedeu ao estudo do fenómeno hemolítico decorrente da administração do anti-malárico Primaquina.² Encontrada inicialmente em África, foi posteriormente observada em todo o mundo. Nos últimos 25 anos foram encontradas cerca de 400 variantes.^{1,2}

Embora a maioria dos indivíduos afectados seja assintomática, o risco de icterícia neonatal e de anemia hemolítica grave após a toma de certos fármacos, durante infecções ou após a ingestão de favas, é real e bem conhecido. Há também uma forma grave e rara de anemia hemolítica não esferocítica associada a uma forma de deficiência de G6PD.^{2,5}

A G6PD é um enzima que catalisa o primeiro passo na via das pentoses fosfato transformando a glicose-6-fosfato (G6P) em 6-fosfogluconato com redução do NADP a NADPH. É expressa em todos os tecidos, embora a sua deficiência apenas se faça sentir nos eritrocitos afectados.^{2,3,5} A sua função principal no eritrocito é a obtenção de NADPH que mantém o glutatião na forma reduzida, protegendo o mesmo dos efeitos oxidativos dos radicais livres de oxigénio.

O gene localiza-se na região telomérica do braço longo do cromossoma X na banda Xq28, pelo que os indivíduos afectados são, predominantemente, do sexo masculino.^{2,3,5} Este gene compreende 13 exões ocupando perto de 20 Kb. Quase todas as mutações são simples substituições de uma única base levando à subsequente substituição de um aminoácido. Apenas uma variante de G6PD é devida a uma deleção (G6PD Geórgia), o que leva a pensar que deleções neste gene não sejam compatíveis com a vida.

Variantes da G6PD (5,6,7)

As variantes da G6PD identificam-se de acordo com a actividade enzimática, constante de Michaelis para os seus substratos (G6P e NADP), estabilidade ao

QUADRO II

Variantes da Glucose-6-fosfato-Desidrogenase

Classe	Clínica	Mobilidade electroforética			Actividade enzimática
		Rápida	Normal	Baixa	
1	AHNEC	Charlestone	Boston	Chicago	Muito deficiente
2	Hemólise	Markam	Mediterrânica	Panay	Muito deficiente
3		A-Canton Debrousse	Mahidol	Atenas	Moderadamente deficiente
4	Normal	A	B	Baltimore-Austin	Normal
5	Normal	Hektoen	—	—	Aumentada

AHNEC= Anemia hemolítica não esferocítica crónica

calor, mobilidade electroforética e pH óptimo de funcionamento.

O enzima normal (G6PD B) é o mais prevalente. A variante A tem uma actividade catalítica normal, mas é mais rápida electroforeticamente. A variante A- migra no mesmo local que a A mas a sua actividade é menor. Outra variante comum é a Mediterrânica.

A classificação fenotípica baseia-se em 3 critérios principais: actividade enzimática, mobilidade electroforética e significado clínico. Estes critérios permitem agrupá-las em 5 classes, como se encontra resumido no *Quadro II*.

Variantes de classe 1

Caracterizam-se por uma actividade enzimática extremamente baixa (inferior a 10%), levando a uma forma rara de anemia hemolítica não esferocítica hereditária.

Variantes de classe 2 e 3

Nelas se incluem 90% das deficiências de G6PD. Estas variantes não se associam a hemólise crónica, mas esta surge durante stress oxidativo. A variante Mediterrânica é variante de classe 2 mais comum. Não é apenas instável pois também é sintetizada em quantidades subnormais e tem baixa actividade. A variante A- é a variante de classe 3 mais representativa.

Variantes de classe 4

Têm actividade enzimática normal e não se associam a patologia. Nesta classe encontram-se as variantes ditas normais, A e B.

Variantes de classe 5

Têm actividade enzimática aumentada e não se en-

contra patologia associada. Um exemplo é a variante Hektoen.

A elevada prevalência do défice de G6PD tem sido atribuída ao seu papel protector na malária, pelo que a distribuição geográfica de ambas é sobreponível, com duas excepções: o sul da Europa e a América do Norte, nas quais a malária não é endémica. De facto, a malária foi erradicada da Europa já no século XX e, tal como a América do Norte, recebe emigrantes de zonas onde a malária é endémica. O papel protector do défice de G6PD parece ocorrer apenas nas mulheres heterozigóticas. Um estudo levado a cabo em África, nas regiões este e oeste, demonstrou que a variante G6PD A- está associada a uma diminuição de 46 a 58% no risco de malária grave associada a *Plasmodium falciparum*, quer em mulheres heterozigóticas quer em homens hemizigóticos.² Os mecanismos pelos quais a deficiência de G6PD confere protecção à infecção malárica são desconhecidos. Estudos *in vitro* demonstraram que os plasmódios são susceptíveis ao stress oxidativo e que o crescimento desses parasitas é menor em eritócitos com as variantes G6PD A- e G6PD Mediterrânica. Os eritócitos deficientes em G6PD são mais rapidamente removidos da circulação, impedindo, assim, o adequado desenvolvimento dos plasmódios.²

Mecanismos de hemólise^{2,5,7}

O mecanismo exacto não é conhecido e é variável consoante o estímulo desencadeante.

Hemólise desencadeada por infecção

A infecção é o desencadeante mais comum de hemólise e afecta, principalmente, indivíduos com deficiência tipo A-.

QUADRO III**Fármacos e químicos causadores de hemólise na deficiência de G6PD**

Grupo farmacológico	Exemplo de fármaco
Antimaláricos	Primaquina
Sulfamidas	Sulfanilamida, Sulfapiridina, Sulfametoxazol
Sulfonas	Dapsona
Fármacos de conteúdo sulfúrico	Glibenclamida
Nitrofuranos	Nitrofurantoína
Analgésicos	Acetanilida
Antipiréticos	Fenilhidrazina
Outros	Naftaleno, azul-de-metileno, azul de toluidina, Trinitrotolueno, ácido nalidíxico, fosfina, fenazopiridina, espiramicina

Os agentes mais frequentemente implicados são os coliformes, salmonelas, estreptococos beta-hemolíticos, rickettsias, vírus influenza e, de um modo particularmente importante, as hepatites virais.

Pensa-se que os eritrocitos deficientes em G6PD sejam menos resistentes à hipertermia mantida e não suportem o aumento de oxidantes produzidos pelos granulócitos durante a fagocitose.

Hemólise induzida por cetoacidose diabética

Pensa-se que a diminuição de pH, o aumento do piruvato e a hiperglicemia saturem a via das pentoses fosfato.

Desconhece-se o mecanismo exacto mas a hemólise termina habitualmente com a correcção da acidose.

Hemólise induzida por favismo

Nem todas as variantes são afectadas pela ingestão de favas e o grau de hemólise é variável de uma exposição para outra. Sabe-se que o favismo afecta, sobretudo, a variante Mediterrânica. Os indivíduos mais susceptíveis de sofrer de favismo são os mais jovens e aqueles que concomitantemente estão infectados.

No favismo, compostos como divicina e isouramil presentes nas favas, provocam a oxidação irreversível do glutatião e grupos sulfidrílo presentes nas pro-

teínas. Isto resulta em alterações electrolíticas que conduzem ao aumento de permeabilidade do eritrocito, e ao estabelecimento de pontes cruzadas entre a espectrina e a banda 3 presentes na membrana e a hemoglobina, conduzindo à diminuição na deformabilidade eritrocitária. Esta alteração na deformabilidade da membrana actua como um sinal para que os eritrocitos alterados sejam removidos da circulação pelo sistema reticuloendotelial. Além disso, há aumento dos níveis de cálcio intra-eritrocitário pela degradação da ATPase com actividade de bomba de cálcio, levando a alterações no metabolismo do cálcio e conseqüente diminuição de potássio. Os eritrocitos deficientes em G6PD são também mais susceptíveis a vesiculação induzida pelo cálcio, levando a hemólise mediada pelo complemento.

Classicamente, o episódio hemolítico caracteriza-se por palidez, icterícia e hemoglobinúria que surge 24 a 48 horas após ingestão de favas, como no caso apresentado.

Hemólise induzida por fármacos

Foi inicialmente descrita associada ao anti-malárico Primaquina. O risco e a gravidade da hemólise correlacionam-se com a dose e a duração do tratamento, assim como com a presença adicional de stress oxidativo, como uma infecção.

Tipicamente, a hemólise começa 2 ou 3 dias após o início da terapêutica, é predominantemente intravascular e pode associar-se a hemoglobinúria.

Os fármacos mais frequentemente associados a hemólise neste contexto encontram-se no Quadro III.

Outros precipitantes

Outros precipitantes encontrados na literatura são enfarte agudo de miocárdio, aplicação corporal de tinta de hena (usada por tribos beduínas) e rabdomiólise.

G6PD variante Bética

A variante Bética foi primeiramente descrita em 1982, durante um estudo levado a cabo em Espanha, tendo sido encontrada em 19 indivíduos do sexo masculino com proveniência da zona sudoeste de Espanha, nas regiões de Andaluzia, Extremadura e Múrcia.⁶ A actividade residual encontrada nestes doentes estava compreendida entre 2 e 13% e todos os doentes sofriam de favismo, estando assintomáticos no período inter-crítico.

Recentemente, esta variante foi também encontrada no México, para onde se pensa ter sido levada pela população espanhola.⁸

Esta variante caracteriza-se por uma primeira mutação no nucleótido 376 (A → G) que é característica das variantes A-, e por uma segunda mutação no nucleótido 968 (T → C).⁷

No caso apresentado, a doente em questão era portadora em heterozigotia das duas mutações que caracterizam a variante Bética da G6PD, determinação efectuada por estudo molecular por amplificação enzimática de ADN (PCR) seguida de restrição e sequenciação.

A actividade enzimática da G6PD encontrava-se dentro dos valores normais (6,68 U/gHb para valores de referência compreendidos entre 4,6 e 13,5U/gHb), facto que está de acordo com a literatura.² A análise molecular é, pois, o único método fiável para a determinação do estado de heterozigotia em indivíduos do sexo feminino, uma vez que a actividade enzimática é normal na maioria dos pacientes.⁷ No entanto, não é invulgar que ocorram episódios hemolíticos em mulheres visto que, segundo a hipótese de Lyon,⁸ terão uma percentagem significativa de eritócitos com défice em G6PD que são susceptíveis a hemólise.⁷

A doente havia tido anteriormente episódios hemolíticos causados pela toma de Cotrimoxazol, sendo este último conhecido como possível desencadeante de hemólise em indivíduos com défice de G6PD.^{2,5}

Não foi possível proceder ao estudo familiar neste caso porque a doente não tem descendentes e os ascendentes já haviam falecido. ■

Bibliografia

1. Beutler E, Kuhl W, Ramirez E, Lisker R. Some Mexican glucose-6-phosphate dehydrogenase variants revisited. *Hum Genet* 1991; 86 : 371-374.
2. Mehta A, Mason PJ, Vulliamy TJ. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Baillière's Clinical Haematology* 2000; 13 (1): 21-38.
3. Costa E, Cabeda JM, Abreu ME, et al. Déficit de Glicose-6-fosfato desidrogenase em duas crianças do sexo feminino. *Acta Médica Portuguesa* 1999;12: 283-286.
4. Martins MC, Olim G, Melo J, Magalhães HA, Rodrigues MO. Hereditary anaemias in Portugal: epidemiology, public health significance and control. *J Med Genet* 1993 ; 30 (3): 235-239.
5. Jandl James H. Heinz body hemolytic anemias, in *Blood: Text book of haematology*, second edition, Boston, Little-Brown 1996: 503-507.
6. Corrons JLV, Pujades A. Heterogeneity of "Mediterranean type" Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency in Spain and description of two new variants associated with favism. *Hum Genet* 1982; 60: 216-221.
7. Lichtman MA, Collier BS, Kipps TJ. Glucose-6-phosphate Dehydrogenase deficiency and related disorders in *Williams Hematology*, fifth edition; McGraw-Hill inc; 1995: 178-180.
8. Lyon M. Gene action in the X chromosome of the mouse. *Nature*, London 1961; 190: 372-373.