



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA
CAMPUS CAMPINA GRANDE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE FARMÁCIA
CURSO DE GRADUAÇÃO FARMÁCIA GENERALISTA**

KEYLLA MALBA DA COSTA E SILVA

**DEFICIÊNCIA DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE (G6PD) EM RECÉM-
NASCIDOS EM UMA MATERNIDADE PÚBLICA DA CIDADE DE CAMPINA
GRANDE - PB**

Campina Grande – PB

2016

KEYLLA MALBA DA COSTA E SILVA

**DEFICIÊNCIA DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE (G6PD) EM RECÉM-
NASCIDOS EM UMA MATERNIDADE PÚBLICA DA CIDADE DE CAMPINA
GRANDE - PB**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Farmácia Generalista da Universidade Estadual da Paraíba, em cumprimento à exigência para obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Ferreira Soares

Campina Grande – PB

2016

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

S586d Silva, Keylla Malba da Costa e.
Deficiência da Glicose-6-fosfato Desidrogenase (G6PD) em recém-nascidos numa maternidade pública na cidade de Campina Grande - PB [manuscrito] / Keylla Malba da Costa e Silva. - 2016.
26 p. : il. color.

Digitado.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, 2016.
"Orientação: Prof. Dr. Leonardo Ferreira Soares, Departamento de Farmácia".

1. Hematologia. 2. Deficiência de G6PD. 3. Eritroenzimopatias. I. Título.

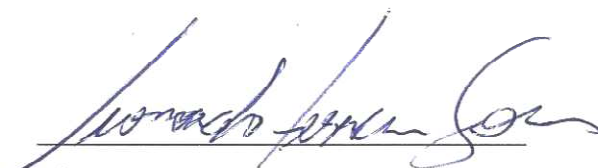
21. ed. CDD 616.15

KEYLLA MALBA DA COSTA E SILVA

**DEFICIÊNCIA DA GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE (G6PD) EM RECÉM-
NASCIDOS EM UMA MATERNIDADE PÚBLICA DA CIDADE DE CAMPINA
GRANDE - PB**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Curso de Graduação Farmácia Generalista
da Universidade Estadual da Paraíba, em
cumprimento à exigência para obtenção do
grau de Bacharel em Farmácia Generalista.

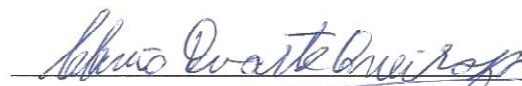
Aprovado em: 24 / 05 / 2016.....



Prof. Dr. Leonardo Ferreira Soares / UEPB

Depto Farmácia/CCBS/UEPB

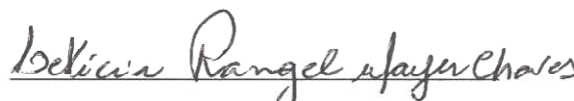
Orientador



Prof. Esp. Clênio Duarte Queiroga / UEPB

Depto Farmácia/CCBS/UEPB

Examinador



Profª Esp. Leticia Mayer Rangel/ UEPB

Depto Farmácia/CCBS/UEPB

Examinadora

**‘Nada do que vivemos tem sentido,
se não tocarmos o coração das pessoas.’**

Cora Coralina

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Deus, por me confiar a vida e me guiar em todos os momentos, me capacitando a realizar este sonho.

À meus pais, Antônio Alves e Ozaneide Trajano, por sempre acreditarem em mim e por todo esforço que sempre fizeram para me assegurar o melhor, me orientando e me dando condições emocionais e materiais de concluir o curso. Amo vocês infinitamente. A vocês dedico esta conquista. Em especial, ao meu anjo, que aqui na Terra desempenha papel de mãe. Quem divide comigo todos os sonhos e sempre me estimula e mostra o caminho por onde eles podem se tornar reais. A mulher mais forte que já conheci, e quem me motiva a buscar sempre ser uma pessoa melhor.

Ao meu irmão, Kleyton da Costa por todo amor e cuidado. À toda minha família, em especial minhas tias Maria da Paz e Ozeni Trajano, por todo apoio, e por terem servido de verdadeiras mães, quando necessário.

Aos amigos, Jocimar Santos, Suenia Soares, Fabrício Queiroz e Vandiará Martins, pela verdadeira irmandade formada ao longo da graduação.

Aos amigos Ceíça Farias, Mateus Wilker, Laís Costa, Simone Albuquerque, Vanessa Silva, Arimatéia Santiago, Wesley Dayvison, Rayanne Lima e Daniela Lehena, pela amizade, paciência e amor incondicional.

Ao meu orientador Leonardo Soares, pelas oportunidades disponibilizadas e por todo o conhecimento adquirido em todo esse tempo de trabalho conjunto. Ao Departamento de Farmácia, e todos os professores que contribuíram imensamente para minha formação.

A todos que de alguma forma contribuíram para a concretização deste sonho. Obrigada!

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	6
1.1 METABOLISMO ENERGÉTICO DA HEMÁCIA.....	8
2.2 VIAS METABÓLICAS DA GLICOSE	8
2.3 DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE.....	12
2 METODOLOGIA	14
2.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO.....	14
2.2 MÉTODO DE BREWER	15
2.3 REAGENTES	15
2.4 TÉCNICA	16
2.5 ASPECTOS ÉTICOS.....	16
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4 CONCLUSÃO	19
5 REFERÊNCIAS	21

RESUMO

Nos eritrócitos deficientes de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), a diminuição da redução de NADP em NADPH, leva a um baixo potencial redutor que interfere na capacidade metabólica oxidativa do organismo, ficando vulnerável a hemólise, com oxidação da membrana do glóbulo, podendo levar a crise hemolíticas. As manifestações clínicas da deficiência de G6PD são desencadeadas por fatores ambientais como drogas, feijão fava, infecções; e consistem em crises hemolíticas e icterícia neonatal. Estudos indicam que no Brasil a prevalência de G6PD está em torno de 1 a 10%, sendo os maiores índices em populações com ancestralidade africana. A finalidade do presente estudo foi pesquisar a prevalência da deficiência de G6PD, numa maternidade pública na cidade de Campina Grande, que atende pacientes de diversas cidades de toda a Paraíba. Trata-se de um estudo transversal, descritivo, exploratório e qualitativo, no qual foram coletados sangue do cordão umbilical de 147 recém-nascidos, entre agosto de 2014 e agosto de 2015. O diagnóstico da deficiência da G6PD foi realizado através do teste da redução da metahemoglobina (teste de Brewer). A cidade de Campina Grande, bem como todo o Compartimento da Borborema não apresentam nenhum dado relativo a prevalência da deficiência da G6PD. Foram identificados 07 deficientes (01 branco, 02 negros e 04 pardos) representando uma prevalência de 4,76 % na amostra como um todo e 5%, 7,14% e 4,04 % entre os brancos, negros e pardos, respectivamente. Em relação ao sexo, o estudo encontrou uma prevalência de 2,3% nas mulheres e 8,33% nos homens. Os dados refletem a importância do diagnóstico da deficiência de G6PD, na perspectiva de obter real conhecimento da prevalência desta eritroenzimopatia no estado da Paraíba, torna-se relevante também o conhecimento dos indivíduos deficientes nesta população.

Palavras-chave: Hematologia. Deficiência de G6PD. Eritroenzimopatias.

1 INTRODUÇÃO

A deficiência de G6PD é a enzimopatia eritrocitária mais frequente. Estima-se uma incidência de 400 milhões de pessoas afetadas no mundo, com alta prevalência do gene, entre 5 a 25%, na África, e regiões da Ásia e do Mediterrâneo (LUZZATTO *et al.*, 2001). Nos Estados Unidos estima-se uma prevalência de 11 a 13% entre os indivíduos da raça negra

(KAPLAN *et al.*, 2004). Vários são os métodos descritos na literatura para a determinação da atividade da G6PD, incluindo métodos qualitativos, quantitativos e moleculares (LUZZATTO, 2006).

A deficiência de G6PD é geneticamente heterogênea, com mais de 400 variantes bioquímicas. A herança é recessiva ligada ao cromossomo X havendo, portanto, homens hemizigóticos e mulheres homo e heterozigóticas. O gene determinante da produção de G6PD, denominado Gd, é único e está localizado na região telomérica do braço longo do cromossomo X - banda Xq28 (LUZZATTO *et al.*, 2001).

A maioria dos indivíduos deficientes apresenta-se inteiramente assintomáticos e desenvolvem sintomas apenas quando expostos a situações onde há uma condição de estresse. As manifestações clínicas mais comuns são anemia hemolítica não esferocítica crônica, anemia hemolítica aguda devido ao uso de fármacos (sulfas e sulfonas, antimaláricos, nitrofuranos e vários analgésicos e antipiréticos, como a acetanilida e a aspirina), hemólise induzida por infecção ou induzida pela ingestão de fava e icterícia neonatal (MEHTA *et al.*, 2000).

A deficiência de G6PD é assim, o exemplo de anemia hemolítica por interação entre causa intrínseca _ intracorporal, e meio ambiente _ extracorporal, porque a maioria dos casos de hemólise é desencadeada por agentes exógenos (LUZZATTO, 2006).

Stanton, em um trabalho de revisão, realizado em 2012, destaca ainda que a G6PD é o elo entre muitas vias metabólicas essenciais e que participa de muitos processos fisiológicos. Reforça que o nosso entendimento sobre seu papel é ainda incipiente, sendo este conhecimento crítico para o entendimento de muitos processos intracelulares e mecanismos de doenças.

O objetivo do trabalho foi o de realizar o diagnóstico da deficiência da G6PD em sangue de cordão umbilical de recém-nascidos em uma maternidade pública, na cidade de Campina Grande, na perspectiva da construção do perfil desta deficiência. O diagnóstico laboratorial empregado, foi o teste da redução da metahemoglobina, um teste de avaliação qualitativa. Juntamente ao teste, também foi realizado um levantamento de dados, por meio da aplicação de um questionário, para a obtenção de dados relativos ao sexo, idade, etnia, condição social, consanguinidade entre parentes, entre outros.

1.1 METABOLISMO ENERGÉTICO DA HEMÁCIA

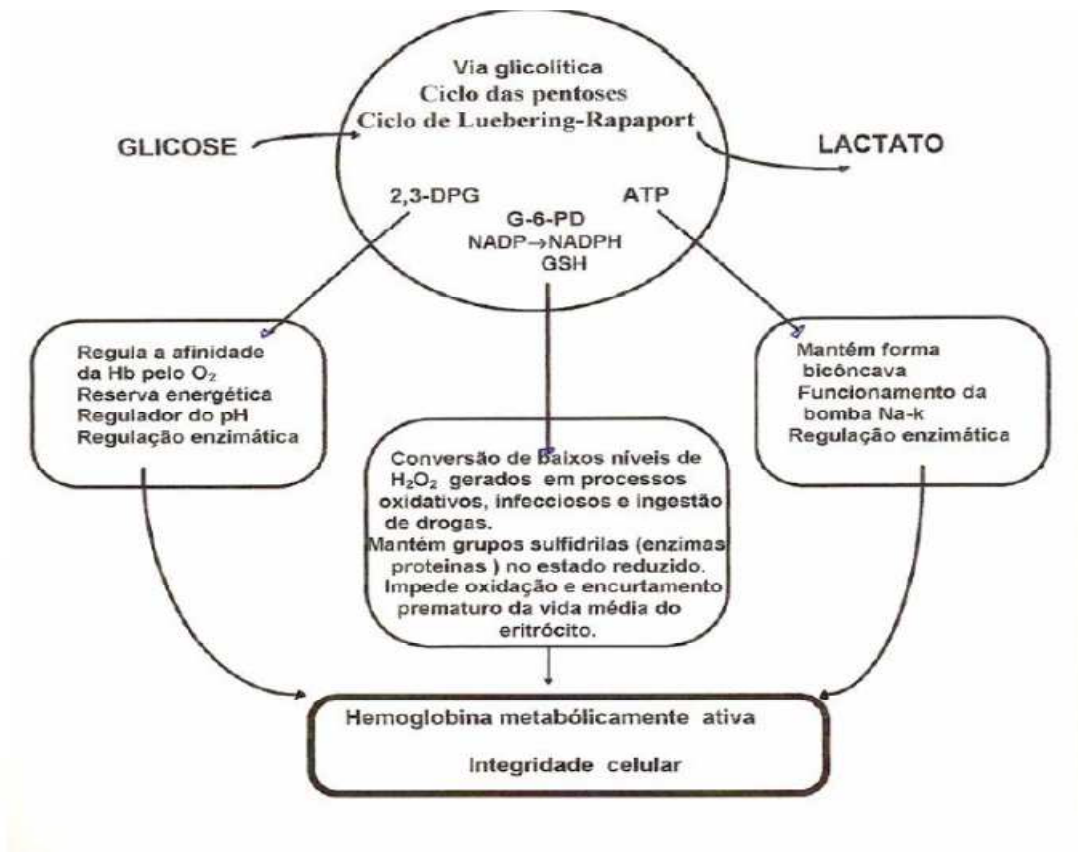
Embora o transporte, ligação, e fornecimento de oxigênio não requererem o gasto de energia metabólica pela hemácia, uma fonte de energia é necessária para a hemácia executar sua função de forma eficiente e para sobreviver na circulação por um período de vida útil de cerca de 120 dias. Esta energia é necessária para manter o ferro da hemoglobina na forma divalente e para manter a célula na forma bicôncava. Quando a hemácia é privada de uma fonte de energia, sua forma normal, bicôncava, é alterada para uma forma esférica. Tal célula é rapidamente removida da circulação através da ação da filtração do baço e por um sistema de macrófagos (JOHNSON *et al.*, 2000).

A glicose é a fonte de energia normal da hemácia. É metabolizado pelo eritrócito ao longo de duas rotas principais, a via glicolítica e a via das pentoses-fosfato. As etapas nestas vias são essencialmente as mesmas que as encontradas em outros tecidos e em outros organismos. Ao contrário da maioria de outras células, no entanto, a célula vermelha carece de um ciclo do ácido cítrico. Apenas os reticulócitos mantêm uma certa capacidade para a desagregação do piruvato em CO₂ com a produção altamente eficiente de ATP (KOTAKA *et al.*, 2005).

1.2 VIAS METABÓLICAS DA GLICOSE

A membrana celular, as enzimas necessárias ao metabolismo energético dos eritrócitos e a hemoglobina constituem um equilíbrio perfeito a sobrevivência do eritrócito (PINTO, 2008). Ver figura 01.

Figura 01: Metabolismo eritrocitário.



Fonte: PINTO, 2008.

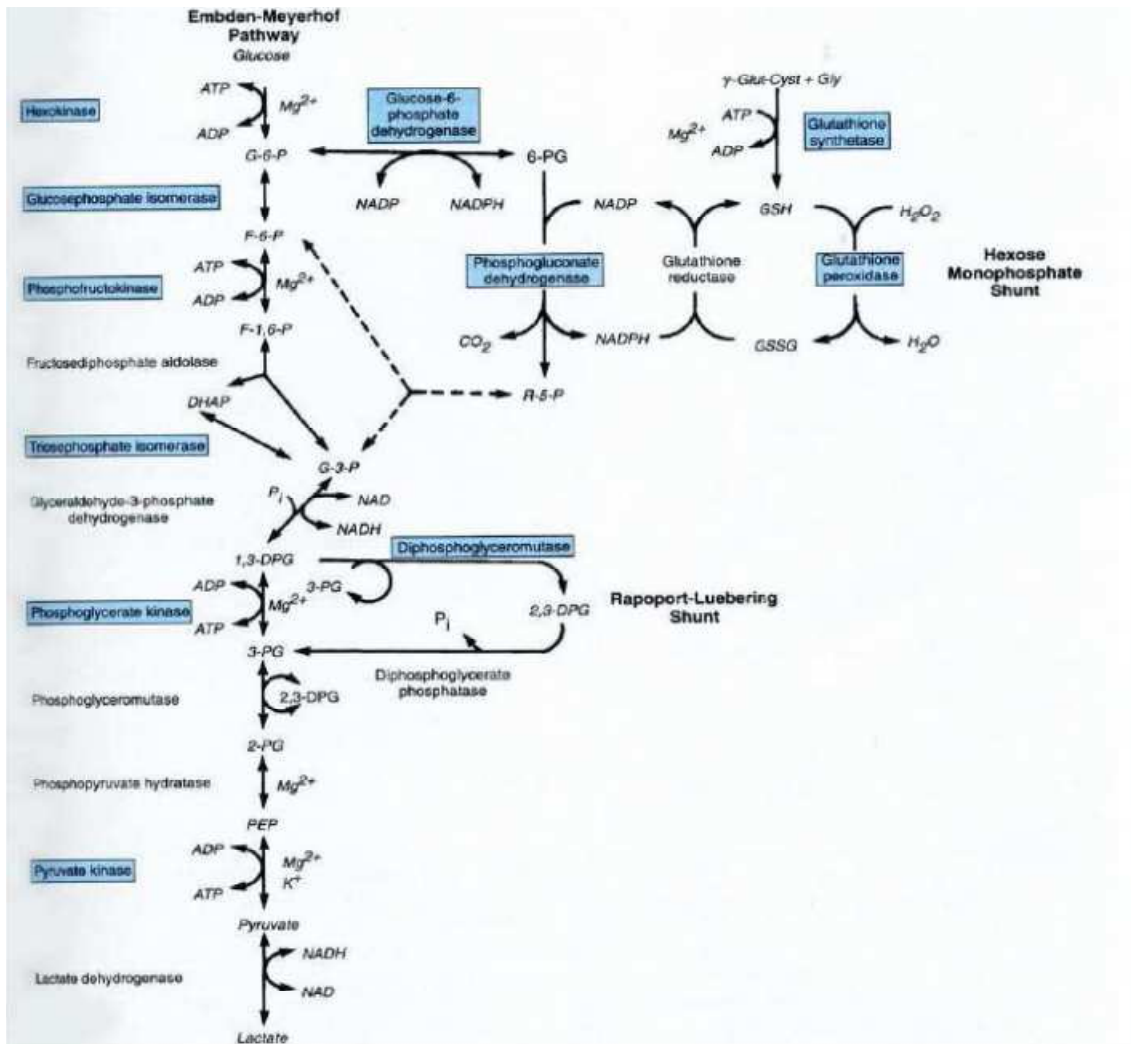
Uma vez que a glicose entra na célula, ela é fosforilada a glicose-6-fosfato (G6P) pela enzima hexoquinase (Hx). A G6P é então metabolizada pela via Embden-Meyerhof (via glicolítica) ou pela via das pentoses (LUZZATO, SMITH, 1999).

Segundo Berg (2004) e seus colaboradores, a via das pentoses fosfato, também denominada hexose monofosfato ou via oxidativa direta, é responsável pela produção de Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Reduzido (NADPH). Esta é uma via especial e particularmente importante em todas as células animais principalmente no eritrócito maduro que, por não ter núcleo e nem mitocôndria, é incapaz de obter energia a partir do ciclo de Krebs. Desta forma, esta célula metaboliza 90% da glicose pela via anaeróbica de Embden-Meyerhof e 10% pela via das pentoses-fosfato, na qual atua a glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD).

Através da via de Embden-Meyerhof são geradas duas moléculas de ATP (adenosina trifosfato). A principal ação do ATP se dará em manter o funcionamento da bomba de sódio-potássio (transporte ativo de íons). Desse modo, não haverá ingresso excessivo de água, o que provocaria turgor, rompimento de membrana e hemólise. Esta via também é responsável pela

formação de nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido (NADH). O NADH gerado nesta via é um importante agente redutor da metahemoglobina (forma oxidada da hemoglobina), onde o ferro está no estado férrico, impróprio para transportar oxigênio por intermédio da enzima metahemoglobina redutase (citocromo b5 redutase), é transformada em hemoglobina. (BEUTLER, 2001; TELLEN, KAUFMAN 1999; ZAGO, 2001). Figura 02.

Figura 02: Via de Embden-Meyerhof, e sua relação com outras vias metabólicas do eritrócito.



Fonte: PINTO, 2008.

A via glicolítica possui dois desvios: o ciclo de Rapoport-Luebering e o ciclo das pentoses. No ciclo de Rapoport-Luebering, as moléculas de 1,3-difosfoglicerato (1,3-DPG), produzidas pela reação da GAPD, podem ser utilizadas através da reação catalisada pela fosfogliceratoquinase (PGK) na via de Embden-Meyerhof ou podem ser convertidas em 2,3-DPG pela reação catalisada pela difosfoglicerato mutase (DPGM). Este ciclo mantém acúmulos de 2,3-DPG que exerce importante papel regulador na fixação de O_2 pela

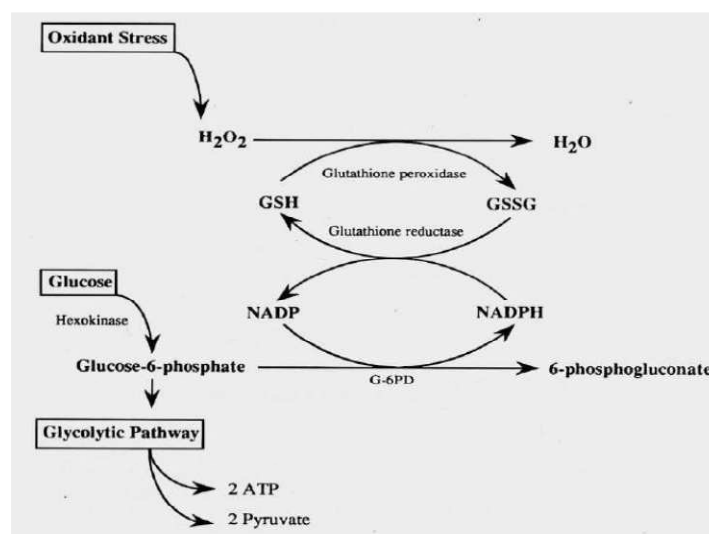
hemoglobina. A via do DPG (ciclo ou via de Rapaport-Luebering) desvia a glicólise do passo de geração de ATP, conseqüentemente, nenhum ATP é gerado quando a glicose é metabolizada por esta via (BEUTLER, 1995; LEE *et al.*, 1999).

Normalmente apenas uma porção (5 a 13%) da glicose metabolizada pelos eritrócitos é destinada para a via das pentoses (figura 3), mas isto pode ser acelerado significativamente por oxidantes. Os eritrócitos circulantes são expostos a oxidantes endógenos, incluindo o superóxido (O_2^-) e o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Como resultado, o dano causado por estes oxidantes pode desempenhar um papel importante no envelhecimento natural e na remoção de células da circulação pelos fagócitos mononucleares. É um ciclo eminentemente redutor, em que a nicotinamida dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH) produzido ocupa papel central neste esquema (LUKENS, 1998).

A NADPH gerada na via das pentoses é essencial na proteção contra oxidantes. É um importante agente redutor na célula juntamente com a glutathiona redutase (GR), reduz a glutathiona oxidada (GSSG); que por sua vez desempenha importante papel na proteção do glóbulo vermelho frente aos processos oxidantes, através da redução dos níveis de peróxidos de hidrogênio, formados nos processos infecciosos e ingestão de certos alimentos ou drogas (GRIMES, 1980).

Para que ocorra a formação de NADPH é necessária a transformação da glicose-6-fosfato em 6-fosfogliconato, reação catalisada pela enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), que promove a redução do NADP em NADPH. Portanto, a principal enzima da via das pentoses é a glicose-6-fosfato desidrogenase (BEUTLER, 1981). Figura 3.

Figura 03: Via das pentoses.



Fonte: PINTO, 2008.

1.3 DEFICIÊNCIA DE GLICOSE-6-FOSFATO DESIDROGENASE

Pitágoras, filósofo e matemático grego, já proibia seus seguidores de comerem feijões de fava, provavelmente por conta de seus efeitos patológicos. No início do século XX, vários pesquisadores da Itália Meridional e da Sardenha, descreveram um quadro clínico que denominavam de “favismo”. Cursava com sintomas iniciais de vômitos, diarreia que evoluía com urina escura, atribuída à hemoglobinúria, palidez e por vezes choque hipovolêmico, após a ingestão de fava. Naquela época, como se observava que a resposta à ingestão de feijões de fava era inconsistente, atribuíram o quadro a reações alérgicas ou a produtos tóxicos (CAPPELLINI, FIORELLI, 2008).

Durante a Guerra da Coreia (1950-1952), os soldados americanos recebiam tratamento profilático para malária com a primaquina, que atua na fase exoeritrocítica do plasmódio. Observou-se reação hemolítica intravascular em aproximadamente 10% dos soldados negros e cerca de 2% de soldados de origem mediterrânea (VOGEL & MOTULSKY, 2000).

A deficiência da G6PD é causada por uma alteração genética que causa diminuição na sua atividade e estabilidade. Em 1956, Carson e seus colaboradores, relataram esta patologia pela primeira vez em negros americanos, quando eram realizados estudos de sensibilidade ao efeito hemolítico da droga antimalárica primaquina.

As manifestações clínicas associadas à deficiência de G6PD são: hemólise intravascular induzida por algumas drogas, como antimaláricos (a exemplo da primaquina, o que explica o ocorrido com os soldados americanos, quando a droga foi administrada como tratamento profilático), sulfonamidas, sulfonas e outros. Entre os alimentos se destacam o feijão fava, os embutidos que contenham nitrito de sódio em sua composição (RAVEL, 1997; SRICHAIKUL, 1999; COMPRI *et al.*, 2000; REY, 2001; LIMA *et al.*, 2001).

Em 1967, um grupo de pesquisadores da Organização Mundial da Saúde (OMS) recomendou padronização dos métodos de análise para caracterização das diversas variantes da enzima: atividade enzimática nos eritrócitos, mobilidade eletroforética, constante de Michaelis (Km) para seu substrato (glicose-6-fosfato), uso de substratos análogos e estabilidade térmica (WHO, 1967).

Desde a descoberta desta enzima e da localização do gene na década de 50 mais de 100 mutações, correspondendo a mais de 400 variantes bioquímicas têm sido identificadas (BEUTLER, 1996; MCDADE *et al.*, 2008; TANPHAICHITR *et al.*, 2011).

Em 1989 as variantes foram agrupadas em cinco classes de acordo com critérios estabelecidos pela OMS, levando em consideração a atividade enzimática residual e manifestações clínicas da deficiência (WHO, 1989; OLIVEIRA *et al.*, 2009). Ver tabela 1.

Tabela 1: Classificação dos cinco grupos de variantes da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) de acordo com atividade enzimática e com critérios estabelecidos pela OMS.

Classe	Gravidade da deficiência enzimática	Atividade enzimática
I	Severa	< 1%; quadro de anemia hemolítica não esferocítica crônica.
II	Severa	< 10%; com quadros de hemólise intermitente
III	Moderada	10 a 60%; hemólise somente com estresse oxidativo
IV	Muito leve ou nenhuma	60 - 150% de atividade - sem alterações clínicas
V	Nenhuma	Atividade enzimática aumentada - sem alterações clínicas

Fonte: WHO, 1989.

Hoje se questiona a existência de variantes de classe V, que estariam associadas a um aumento da atividade enzimática. Só foi descrita apenas uma variante desta classe – a G6PD Hektoen (DERN *et al.*, 1969).

Como as variantes de classe I, são de ocorrência esporádica, são as de classe II e III as de maior importância clínica e epidemiológica. Tanto que Luzzato e Poggi (2009) apresentam as variantes correlacionando-as com as manifestações clínicas, agrupando as de classe II e III, por defender que essa separação é inútil. Ver tabela 2.

Tabela 2: Heterogeneidade e expressão clínica da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase.

Classe	Manifestação clínica	Atividade da G6PG	Alelos mutantes conhecidos (n)*	Exemplos	Comentários
IV	Nenhuma	> 85%	2	A, B	G6PD B é a "normal"
II + III	Assintomáticos em condições basais, mas risco de INN, AHA, Favismo,	< 30%	75	Mediterrâneo, A-, Orissa, Canton, Mahidol, Vanua Lava, Seattle	Maioria das variantes são polimórficas
I	INN severa, CNSHA com exacerbações agudas	< 10% na maioria dos casos	61	Sunderland, Nara, Guadalajara	Nunca polimórfica, mas algumas podem recorrer

Fonte: LUZZATTO, POGGI, 2009.

2 METODOLOGIA

Trata-se de um estudo transversal, descritivo, exploratório e qualitativo, realizado entre agosto de 2014 e agosto de 2015, no qual foram coletados no momento do parto, sangue do cordão umbilical de 147 recém-nascidos, numa maternidade pública na cidade de Campina Grande (ISEA – Instituto Elpídio de Almeida). A maternidade atende a pacientes não apenas de Campina Grande, como também de diversas cidades da Paraíba, e até de outros estados vizinhos.

No pré-parto, as mães foram abordadas, para uma conversa de mobilização, explicando no que consiste a deficiência de G6PD, o objetivo da pesquisa realizada e suas implicações. Para as mães que consentiram a pesquisa, foi aplicado em seguida um questionário sócio-econômico, além de realizar os devidos esclarecimentos a respeito de como se daria a realização do teste; tais ações só foram efetivadas após assinatura, por parte da mãe, do termo de consentimento livre e esclarecido (autorização do comitê de ética em pesquisa UEPB número 36241714.6.0000.5187).

Foram coletados 5 ml de sangue do cordão umbilical, pelo médico, no momento do parto. Em seguida, as amostras foram colocadas em tubos contendo EDTA na proporção de 1mg/ml de sangue. O sangue foi mantido sobre refrigeração e encaminhado para o laboratório de Hematologia Clínica do Laboratório de Análises Clínicas (LAC) do Curso de Farmácia da UEPB, onde foi realizado o teste da redução da metahemoglobina (Método de Brewer). O exame foi realizado no prazo máximo de 24 horas após a coleta. O teste segue o princípio de que a hemoglobina se oxida para metahemoglobina pela ação do nitrito de sódio, e é reconvertida por via enzimática na presença de azul de metileno. A coloração final castanha acusa uma amostra positiva para deficiência de G-6-PD enquanto que a coloração vermelho-vivo é de uma amostra normal (BREWER *et al.*, 1962).

Após a análise dos resultados, os pais dos recém-nascidos diagnosticados com a deficiência da G6PD, foram convocados para recebimento de orientações acerca do diagnóstico.

O dados foram tabulados e tratados com o pacote estatístico, SPSS 15.0.

2.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

A pesquisa terá como critério de inclusão os recém-nascidos na maternidade Instituto

Saúde Elpídio de Almeida (ISEA) no município de Campina Grande.

Será critério de exclusão recém-nascidos que não venham a termo nesta maternidade.

2.2 MÉTODO DE BREWER

O teste de redução da metahemoglobina, descrito técnica de Brewer, Tarlov e Alving (1962), consiste resumidamente no seguinte fundamento: a glicose-6-fosfato-desidrogenase é quem catalisa a oxidação da glicose-6-fosfato para 6-fosfogliconato(6PG), com a redução simultânea de nicotina-adenina dinucleotídeo fosfato (NADP) a NADP reduzido (NADPH). Desta maneira, as células de indivíduos deficientes, serão incapazes de converter um substrato oxidado ao estado reduzido. Sabendo disto, a amostra é colocada primeiro em contato com o nitrito de sódio, fazendo com que a hemoglobina presente seja oxidada para metahemoglobina. Logo em seguida, a mesma amostra é posta em contato com o azul de metileno, que neste caso atuará como estimulador das vias das pentoses, fazendo com que ocorra a reconversão enzimática, e a metahemoglobina seja reconvertida em hemoglobina. Se o indivíduo for deficiente, não ocorrerá a reconversão enzimática. Caso o resultado final uma coloração castanha, acusa resultado positivo para a deficiência da enzima. Quando o resultado final da amostra possui coloração vermelha, conclui-se resultado negativo, o indivíduo não possui a deficiência da enzima.

2.3 REAGENTES

Os reagentes foram preparados, na seguinte proporção:

Solução de nitrito de sódio 0,18M e glicose 0,28M

Glicose	0,50g
Nitrito de Sódio	0,125g
Água Destilada q.s.p.	10,0mL

Solução de azul de metileno 0,0004M

Cloreto de Azul de Metileno	0,0375g
Água destilada q.s.p	250,00 mL

2.4 TÉCNICA

De início, foram marcados tubos de ensaio grandes, como: positivo, negativo e tubo teste; para que fosse realizada a pipetagem da amostra e dos reagentes, procedendo como no esquema a seguir:

	Controle positivo	Controle negativo	Paciente Teste
Sol. Nitrito/Glicose	10µL	-	10µL
Sol. Azul de Metileno	-	10µL	10µL
Sangue em EDTA	100µL	100µL	100µL

Após a preparação dos tubos, incubou-se a 37 °C, durante 3 horas. Ao final foi adicionado 10 ml de água destilada em cada tubo, para facilitar a visualização. Efetua-se a leitura entre 5 e 10 minutos depois.

2.5 ASPECTOS ÉTICOS

Seguem as diretrizes da Resolução 466/12 CNS/MS.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para o presente estudo foi utilizado o método de Brewer (teste de redução da metahemoglobina), adotado por sua simples execução, baixo custo, eficiência. Apesar de ser um método qualitativo, oferece resultados satisfatórios e tem sido utilizado amplamente por diversos autores em triagem populacional inclusive, na detecção da hiperbilirrubinemia neonatal (RAMALHO, 1980; SANPAVAT *et al.*, 2001; COMPRI, 2000; GARLIPP, RAMALHO, 1988).

Foram analisadas 147 amostras, de sangue de recém-nascidos com menos de 24 horas de vida. De acordo com a localidade em que residem, 145 mães são naturais do estado da

Paraíba (destas, 47 residem na cidade de Campina Grande; e 98 são oriundas de 39 diferentes cidades paraibanas), e 2 são naturais do estado do Pernambuco.

Do total das 147 amostras avaliadas, 7 apresentaram resultados positivos, apontando uma prevalência de 4,76%, encontrando-se portanto, de acordo com estudos realizados em algumas regiões do Brasil. Pesquisas realizadas em diversas regiões brasileiras evidenciaram uma prevalência da deficiência enzimática variando de 1,7% a 4,97% (COMPRI, 2000; GARLIPP, RAMALHO, 1988; RAMALHO, 1980 ; RAMALHO, 1976, LIRIO *et al.*, 1980).

No que se refere ao sexo, o índice de prevalência para a deficiência foi de 2,3% para o sexo feminino e 8,33% para o sexo masculino, resultado próximo ao encontrado por Soares *et al.* (2013), em pesquisa realizada em Teresina, na qual, a deficiência da enzima foi identificada em 10% dos homens e 4,8% das mulheres.

Ainda em pesquisa feita por Medeiros (2006) em Natal-RN, a prevalência encontrada foi de 5,6% para o sexo masculino, e 2,5% para o sexo feminino. Assim, como esses estudos anteriores, a presente pesquisa se encontra de acordo com a literatura, visto que a deficiência de G6PD é transmitida como caráter recessivo ligado ao cromossomo X. Portanto, é mais frequente em indivíduos do sexo masculino do que no sexo feminino (RAMALHO, 1980).

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na prevalência dessa deficiência enzimática entre os sexos ($\chi^2 = 2,8512$ e $p = 0,091$), apesar de ser uma característica com padrão de herança ligada ao X. Ver quadro 01.

Quadro 1: Prevalência de G6PD nos recém-nascidos, de acordo com o sexo.

Sexo	Total de amostras analisadas	Atividade de G6PD			
		Normal		Deficiente	
		N	%	N	%
Masculino	60	55	91,67%	05	8,33%
Feminino	87	85	97,7%	02	2,3%
TOTAL	147	140	95,24%	07	4,76%
Análise estatística da diferença na prevalência da deficiência de G6PD, de acordo com o sexo (Teste do χ^2 de Pearson: $\chi^2 = 2,8512$ e $p = 0,091$).					

Fonte: Dados da pesquisa.

A distribuição dos casos, considerando a etnia, apontou que 5% dos deficientes pertenciam a cor branca, 4,04% eram pardos e 7,14% negros. Analisando por grupo étnico, verificou-se que a maior prevalência encontrada foi entre indivíduos negros (7,14%). A segunda maior prevalência encontrada foi entre indivíduos de raça branca (5%) e a menor prevalência obtida foi entre indivíduos pardos (4,04%).

Estudos populacionais têm mostrado variações significativas da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em diferentes grupos étnicos. Nas populações negróides e caucasóides brasileiras, a frequência de deficientes em G6PD alcança proporções consideráveis (COMPRI, 2000; GARLIPP, RAMALHO, 1988; RAMALHO, 1976). Estudos realizados na população brasileira revelaram uma prevalência de deficientes de G6PD em torno de 1% a 10%, com os maiores índices sendo encontrados entre os homens de ascendência africana (SILVA *et al.*, 2005).

Segundo Castro (2007), os dados disponíveis na literatura são discrepantes quanto a real prevalência da deficiência de G6PD em diferentes regiões do Brasil. Entretanto, diversos estudos anteriores demonstraram prevalência da deficiência de G6PD em torno de 1 a 10%. Lewgoy & Salzano (1965) estudando a população de Porto Alegre encontraram uma prevalência de 9,3% entre os homens negros. Enquanto Santos (2002) e seus colaboradores, em trabalhos de pesquisa realizados no estado de Rondônia, em populações de Bate Estaca, Portochuelo e Monte Negro, detectaram uma frequência de 12% de portadores da deficiência de G6PD.

Não foram observadas, novamente, diferenças estatísticas entre os grupos considerados ($\chi^2 = 0,4661$ e $p=0,7921$). Ver quadro 2.

Quadro 02: Prevalência de G6PD, de acordo com o grupo étnico.

Grupo étnico	Total de amostras analisadas	Atividade de G6PD			
		Normal		Deficiente	
		N	%	N	%
Branco	20	19	95%	01	5%
Pardos	99	95	95,96%	04	4,04%
Negros	28	26	92,86%	02	7,14%
TOTAL	147	140	95,24%	07	4,76%
Análise estatística da diferença na prevalência da deficiência de G6PD entre os grupos étnicos (Teste do χ^2 de Pearson: $\chi^2= 0,4661$ e $p= 0,7921$)					

Fonte: Dados da pesquisa.

Dentre as 147 mães entrevistadas, todas relataram total desconhecimento sobre o que é a deficiência de G6PD.

4 CONCLUSÃO

Foram identificados 07 deficientes (01 branco, 02 negros e 04 pardos) representando uma prevalência de 4,76 % na amostra como um todo e 5%, 7,14% e 4,04 % entre os brancos, negros e pardos, respectivamente. Em relação ao sexo, o estudo encontrou uma prevalência de 2,3% nas mulheres e 8,33% nos homens. A porcentagem de indivíduos portadores da deficiência neste estudo, é significativa. Apesar do resultado (4,76%), não exprimir a verdadeira prevalência no estado da Paraíba, tal porcentagem acusa a presença de portadores da deficiência da G6PD.

De maneira que mais estudos devem ser conduzidos nessa região, abrangendo uma maior parcela da população, favorecendo a delimitação de novos perfis epidemiológicos, bem como a implantação de políticas de saúde. Políticas estas, que incentivem a introdução do exame para detecção da deficiência como rotina, disponível na rede pública de saúde; e principalmente como exame de triagem neonatal. Além também, de políticas que promovam o

conhecimento e conscientização da população a respeito desta eritroenzimopatia, visto que 100% das mães que participaram do questionário informaram total desconhecimento sobre o que viria a ser deficiência de G6PD.

ABSTRACT

In erythrocyte deficiency of glucose 6 phosphate dehydrogenase (G6PD), the decrease of NADP reduction to NADPH leads to a low reducer potential that interferes with the oxidative metabolic capacity of the organism, being susceptible to hemolysis, with oxidation of blood cell membrane, which could lead to a hemolytic crisis. Clinical manifestations of G6PD deficiency are triggered by environmental factors such as drugs, fava beans, infections; and consist in hemolytic crises and neonatal jaundice. Studies indicate that the prevalence of G6PD in Brazil is around 1-10%, the highest rates are in populations with African ancestry. The purpose of this study was to investigate the prevalence of G6PD deficiency in a public maternity hospital in the city of Campina Grande, which attends patients from several cities across Paraíba. It is a cross-sectional, descriptive, exploratory, qualitative study, in which was collected umbilical cord blood of 147 newborns between August 2014 and August 2015. The diagnosis of G6PD deficiency was accomplished by the reduction of methemoglobin test (Brewer's test). Campina Grande city and also the entire region of Borborema have no data on the prevalence of G6PD deficiency. 07 G6PD deficient persons were identified (01 white, 02 black and 04 brown) representing a prevalence of 4.76% in the sample as a whole and 5%, 7.14% and 4.04% among white, black and brown, respectively. Regarding gender, the study revealed a 2.3% prevalence for women and 8.33% for men. The lack of knowledge among participants about G6PD deficiency was of 100%. This data reflects the importance of G6PD deficiency diagnosis, with the prospect of gaining real knowledge of the prevalence of this red cell enzymopathy in the state of Paraíba. It is also relevant the knowledge of G6PD deficient individuals in this population. The Ministry of Health strengthens through SUS the gathering of information about this disease with the perspective of a health care program implementation for patients detected by promoting improvements in their quality of life.

Keywords: Hematology, G6PD deficiency, erythro enzymopathy.

5 REFERÊNCIAS

BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYTER, L. **Bioquímica**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koog, pg. 256-261. 2004

BEUTLER, E. **G6PD: Population genetics and clinical manifestations**. *Bood Reviews*. 1996; 10(1): 45-52

BEUTLER, E. **Energy metabolismo and maintenance of erythrocytes**. In Beutler E, Litchman MA, Coller BS, Kippis TJ, Seligsohn U. *Willians Hematology*. 6th ed. New York: Mcgraw Hill; 2001. P. 319-332;

BEUTLER, E. **Glucose-6-phosphate desydragenase deficiency and other enzyme abnormalities**. In: Beutler E, editors. *Hematology*. New York: McGraw-Hill; 1995. P.564-580.

BEUTLER, E. **Deficiência de glicose-6-fostato desidrogenase**. In: Stanbury JB, Wyngaarden JB, Fredrickson DS. *Bases metabólicas das doenças hereditárias*. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1981.

BREWER, G.J.; TARLOV, A. R.; ALVING, A.S.; **The methemoglobin reduction test for primaquine-type sensitivity of erythrocytes: a simplified procedure for detecting a specific hypersusceptibility to drug hemolysis**. *JAMA* 1962;180:386-388.

CAPPELLINI, M.D; FIORELLI, G. **Glucose-6-phosphate Dehydrogenase deficiency**. *Lancet*. 2008; 371: 64-74.

CARSON, P.E; FLANAGAN, C.L; ICKES, C.E; ALVING, A.S. **Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes**. *Science* 1956; 124:484-485.

CASTRO, Simone M; WEBER. Raquel; MATTE, Úrsula; GIUGLIANI, Roberto. **Molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in patients from the southern Brazilian city of Porto Alegre, RS**. *Genet. Mol. Biol.*, São Paulo, v. 30, n. 1, 2007.

COMPRI, Mariane B. *et al.* **Investigação genético-epidemiológica e molecular da deficiência de G-6-PD em uma comunidade brasileira.** Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, v. 16, n. 2, June 2000.

DERN, R.J; MCCURDY, P.R; YOSHIDA, A. **A new structural variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase with a high production rate (G6PD Hektoen).** J Lab Clin Med. 1969;73:283-290.

GARLIPP, C.R; RAMALHO, A.S. **Aspectos clínicos e laboratoriais da deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) em recém-nascidos brasileiros.** Rev. Brasil. Genet. 1988;11:717-28.

GRIMES, A.T. **Human red cell metabolismo.** Oxford: Blackwell; 1980.

JOHNSON RM, GOYETTE G, RAVINDRANATH Y, HO YS. **Red cells from glutathione peroxidase-1-deficient mice have nearly normal defenses against exogenous peroxides.** Blood. 2000;96:1985-1988

KAPLAN, M; HERSCHEL, M; HAMMERMAN, C; HOYER, J.D; STVENSON, D.K. **Hyperbilirubinemia among African American, glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient neonates.** Pediatrics, 2004;114:e213-9.

KOTAKA M, GOVER S, VANDEPUTTE-RUTTEN L, AU SW, LAM VM, ADAMS MJ. **Structural studies of glucose-6-phosphate and NADP() binding to human glucose-6-phosphate dehydrogenase.** Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2005;61:495-504.

LEE, R; FOERSTER, J; LUKENS, J; PARASKEVAS, F; GREER, J; RODGERS, G. **Wintrobe's Clinical Hematology.** 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. P.196-217.

LEWGOY, F; SALZANO, F.M. **Dinâmica do gen que condiciona a deficiência em G-6-PD na população de Porto Alegre.** Ciência e Cultura, v(2):152, 1965.

LIMA, A Oliveira *et al.* **Métodos de laboratório aplicados à clínica: Técnicas e Interpretação.** 8. ed. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 2001.

LÍRIO, A.S., LÓPEZ, K.C., BERNARDO, M.A. **Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em doadores de sangue do estado do Rio de Janeiro.** *Folha médica*, v.80, n.5, p.705-707, 1980.

LUKENS, J.N. **Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase e deficiências relacionadas que envolvem a via da pentose fosfato e metabolismo da glutatona.** In: Lee RG, editors. *Wintrobe Hematologia Clínica.* São Paulo: Manole; 1998. P. 1101-1113.

LUZZATTO L, SMITH ECG, **Inherited haemolytic anemias.** In: Hoffbrand, AV, editors. *Postgraduate haematology.* 4th ed. Oxford: Butterworth Heinemann; 1999. P.120-143

LUZZATTO, L; METHA, A; VULLIAMY, T. **Glucose -6-phosphate dehydrogenase deficiency.** In: Scriver CR, Baudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, Vogelstein B. *The metabolic and molecular basis of inherited disease.* 8ª ed. McGraw-Hill Medical Publishing Division; 2001. v.III, p.4517-53.

LUZZATTO, L. **Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: from genotype to phenotype.** *Haematologica.* The Hematologic Journal 2006; 91(10):1303-1306.

LUZZATTO, L, POGGI, V **Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency.** In Orkin SH, Nathan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE. *Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood.* 7th ed, 2009, Saunders Elsevier, Philadelphia. 883-907.

MCDADE, J; ABRAMOVA, T; MORTIER, N; HOWARD, T; WARE, R.E; BRIEF. **Report: A Novel G6PD Mutation Leading to Chronic Hemolytic Anemia.** *Pediatr Blood Cancer.* 2008; 51(6): 816-819.

MEDEIROS, T.M; MAURÍCIO, C.R; MAIA, R; QUEIROS, S.M; ARAÚJO, M.V; MIRANDA, R.G. **Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase: dados de prevalência**

em pacientes atendidos no Hospital Universitário Onofre Lopes, Natal - RN. Rev Bras Anal Clín. 2006;38(1):57-9.

MEHTA A, MASON PJ, VULLIAMY TJ. **Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency.** Baillière's Clin. Hematol. 13(1): 21-38, 2000.

OLIVEIRA, R.A.G; OSHIRO, M; HIRATA, M.H; HIRATA, R.D.C; RIBEIRO, G.S; MEDEIROS, T.M.D; BARRETO, O.C.O. **A novel point mutation in a class IV glucose-6-phosphate dehydrogenase variant (G6PD São Paulo) and polymorphic G6PD variantts in São Paulo State, Brazil.** Genet Mol Biol. 2009;32(2):251-254.

PINTO, S. S. V. **Estudo complementar da glicose-6-fosfato desidrogenase eritrocitária do marsupial brasileiro *Didelphis marsupialis*.** Sheila Serra Vieira Pinto – São Paulo, 2008.

RAMALHO, A.S; BEIGUELMAN, B. **Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) em doadores de sangue brasileiros.** F. Méd., v.73(3): 281-283, 1976.

RAMALHO, A. S. **Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G-6-PD) em recém-nascidos brasileiros.** F. Méd., v.81, n.6, p.603-606, 1980.

RAVEL, Richard. **Laboratório Clínico – Aplicações Clínicas dos Dados Laboratoriais.** 6ª ed., Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, p. 44. 1997.

REY, Luis. **Parasitologia.** 3 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan. p. 335-396. 2001.

SANTOS, M.G; SANTOS, J.C; HOLANDA, F.J; ENGRACIA, V. **Deficiência de G-6-PD em Bate Estaca, Porto Velho.** 8ª Reunião Nacional de Pesquisa em Malária. Porto Velho – RO, 2002.

SANPAVAT, S., KITTICALAYAWONG, A., NUCHPRAYOON, I., UNGBUMNET, W. **The value of methemoglobin reduction test as a screening test for neonatal glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency.** J. Med. Assoc. Thai., v.84 (suppl. 1), p.S91-S98, 2001.

SILVA RT, IGLESIAS MAC, MEDEIROS ID, BEZERRA IM, MEDEIROS TMD.

Deficiências de glicose-6-fosfato desidrogenase em adultos. Newslab [Internet]. 2005

[citado 2009 Jul 27];79:96-102. Disponível em:

http://www.newslab.com.br/ed_antteriores/79/art03/art03.pdf

SOARES, L.F; LEAL, J.M.A; VIEIRA, J.F.P.M; BARROS, V.C; OLIVEIRA, E.H.

Atividade de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) em membros de povos de terreiros de umbanda na cidade de Teresina, Piauí. Ver Ciênc. Farm. Básica Apl., 2013. 34(3):363-367.

SRICHAIKUL, Tanomsri. **Hematologic Changes in Malaria.** Bangkok, Thailand. Oct p. 24-28. 1999

STANTON, R. C. **Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, NADPH, and Cell Survival.**

IUBMF Life. 2012; 64(5): 362-369.

TANPHAICHITR, V.S.; HIRONO, A.; PUNG-AMRITT, P; TREESUCON, A;

WANACHIWANAIWN, W. **Chronic nonspherocytic hemolytic due glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: report of two families with novel mutations causing G6PS Bangkok and G6PD Bangkok Noi.** Ann Hematol. 2011; 90(7): 769-775.

TELEN MJ, KAUFMAN RE. **The mature erythrocyte.** In: Lee RG, Foerster J, Lukens J,

Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM. *Wintrobe's Clinical Hematology.* 10 th ed.

Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1999. P.193-227.

VOGEL F.; MOTULSKY A. G. **Genética Humana – Problemas e Abordagens.** 3a ed.

revis. e amp. Traduzido por Paulo Armando Motta. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2000.

WHO Technical Report Series, No. 366. **Standardizations of procedures for the study of**

glucose-6-phosphate dehydrogenase: report of a WHO Scientific Group. Geneva, 1967, pp 56.

WHO Working Group. **Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency**. Bull World Health Organ 1989; 67(6): 601-611.

ZAGO, M.A. **Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase**. In: Zago MA, Falcão RP, Pasquini R. *Haematologia Fundamentos e Prática*. São Paulo: Atheneu; 2001. P.265-268.