

UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE
CAMPINAS

BC/5280
IB/80277

DOUTORADO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

1983

80277

LÉDA LUZIA ALVES DE SENÁ

ESTUDO MÉDICO DA DEFICIÊNCIA DA
DESIDROGENASE DE 6-FOSFATO DE
GLICOSE (G6-PD) NA REGIÃO DE
CAMPINAS, SP.

330

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual
de Campinas para a obtenção do
título de Doutor em Biologia

Orientador:

Prof. Dr. Antônio Sérgio Ramalho

T/UNICAMP

Se55_e

CAMPINAS

1983

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Classif.	T
Autor	Ne 55e
V.	Ex.
Tombo BC/	5280
IB/541	

IB/80277
B4 5280

Orientador: Prof.Dr. ANTONIO SÉRGIO
RAMALHO, Professor Livre Docente do
Departamento de Genética Médica da
Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas.

Ao Prof.Dr. Antonio Sêrgio Ramalho, que sempre me privilegiou com a sua gratificante amizade, irrestrito apoio e exemplos de honestidade e rigor científico, agradeço e dedico este trabalho.

Aos meus pais o meu mais profundo
reconhecimento pelos ensinamentos
de vida.

Agradecimento especial

Ao Prof.Dr. Bernardo Beiguelman, pelo estímulo e apoio à minha iniciação científica, pelas lições de vida pessoal e profissional e por sua atenciosa amizade.

AGRADECIMENTOS

A execução deste trabalho não teria sido possível se a autora não houvesse contado com a colaboração e amizade dos professores, colegas e funcionários das Universidades Estadual de Campinas e Federal do Rio Grande do Norte, e demais locais onde o estudo foi realizado.

Não tendo palavras que possam expressar, com justiça a todos e a cada um, a magnitude da minha gratidão, limito-me a mencioná-los com a certeza de que serei compreendida.

Prof. Dr. Genivaldo Barros, Magnífico Reitor da Universidade Federal do Rio Grande do Norte;

Prof. Francisco de Freitas Filho, Chefe do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte;

Prof. Francisco de Assis Maia de Lima, Sub-chefe do Departamento de Biologia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte;

Prof. Tarcísio José de Almeida Moura, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;

Profª Ceres Bittencourt Moura, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;

Prof.Dr. Walter Pinto Júnior, Chefe do Departamento de Genética Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas;

Profª Dra. Solange Bento Farah, Universidade Estadual de Campinas;

Profª Dra. Christine Hackel, Universidade Estadual de Campinas;

Prof. Luís Edmundo Venturelli, Diretor do Serviço de Hemoterapia da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade

Estadual de Campinas;

Prof. Leandro Celso Grilo, Universidade Estadual de Campinas;

Dra. Regina Chiavegatto de Marchi, Universidade Estadual de Campinas;

Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa, Universidade Estadual de Campinas, extensivo aos seus valiosos auxiliares;

Prof. Cármino Antônio de Souza, Universidade Estadual de Campinas;

Prof. Júlio Antônio Corrêa, Universidade Estadual de Campinas;

Prof. Dr. Orlando Cêzar Barreto, Universidade de São Paulo, extensivo aos seus auxiliares;

Prof. Dr. João Antonio Vozza, Universidade Estadual de Campinas;

Dr. Irineu Teixeira de Assunção, Diretor do Hospital de Dermatologia Sanitária "Francisco Ribeiro Arantes", extensivo aos seus auxiliares;

Dra. Liduina G.M. Simmelink, Chefe do Setor Científico da Hiplex S.A. Laboratório de Hipodermia, extensivo aos seus auxiliares Drs. Geraldo Merlin e Paulo Marcos Rodrigues Silva;

Profª Célia Regina Garlipp, Universidade Estadual de Campinas, extensivo aos seus colaboradores;

Prof. Jerônimo Rafael Medeiros da Universidade Federal do Rio Grande do Norte e sua esposa Ivone Brasil Lima de Gois Medeiros;

Corpo Clínico do Hospital das Clínicas da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas;

Assistente Social Maria Aparecida Penteado Pires, Universidade Estadual de Campinas;

Srta. Cleide Fátima Toledo, Banco de Sangue da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas;

Srta. Brasilina Maria F. de Oliveira, Banco de Sangue da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas;

Srta. Clarice Soares de Oliveira, Banco de Sangue da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas;

Srta. Nilva Aparecida Carvalho, Banco de Sangue da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas;

Dr. Mário Carbonari Filho, Secretaria de Saúde Pública do Estado de São Paulo;

Dra. Maria Antonieta de Freitas Bueno, Secretaria de Saúde Pública do Estado de São Paulo;

Sr. Aristides Taghetta, Secretaria de Saúde Pública do Estado de São Paulo;

Dr. Luís Alberto Magna, Universidade Estadual de Campinas;

Sra. Sônia Alípio dos Santos, Universidade Estadual de Campinas;

Srta. Inãra Ignacchitti, Universidade Estadual de Campinas;

Sr. Emílio Sambo Júnior, Universidade Estadual de Campinas;

Srta. Maria Cláudia Furlan, Universidade Estadual de Campinas;

Sr. Henry Norberto Ciolfi, Universidade Estadual de Campinas;

Sr. Antonio Conceição Costa, Universidade Estadual de Campinas;

Sra. Josimar Aparecida Alves do Nascimento, Universidade Estadual de Campinas;

Sra. Geralda Luzia Alves, Universidade Estadual de Campinas;

Srta. Edí Lúcia Sartorato, Universidade Estadual de Campinas;

Sra. Maria Madalena Vasconcelos Rosa, Universidade Estadual de Campinas;

Sr. Luís Aparecido Fontana, Universidade Estadual de Campinas;

Sra. Mara Alice Pereira da Silva, Universidade Estadual de Campinas;

Srta. Célia Aparecida Ribeiro Rosa, Universidade Estadual de Campinas;

Estatístico, Sr. Manoel Raimundo de Sena Júnior, Universidade Federal do Rio Grande do Norte;

Bióloga, Srta. Dinah Margarida Clemente, Universidade Estadual de Campinas;

Bióloga, Srta. Elizabeth Maria Costa de Oliveira, Universidade Estadual de Campinas;

Bióloga, Srta. Marilza de Souza Assis, Universidade Estadual de Campinas;

Prof.^a Rosa Chelminski Teixeira, Faculdade de Ciências de Araras.

ÍNDICE

I - <u>INTRODUÇÃO</u>	01
II - <u>OBJETIVOS</u>	12
III - <u>CASUÍSTICA E MÉTODOS</u>	16
IV - <u>RESULTADOS</u>	29
IV.1 - Verificação dos casos falsamente positivos pelo teste de redução da metemoglobina.....	29
IV.2 - Caracterização de uma amostra de deficientes de G6- PD detectados na região de Campinas quanto à procé- dência e grau de exposição a alguns fatores potên- cialmente hemolíticos do meio ambiente	29
IV.3 - Investigação dos antecedentes sugestivos de hemólise	31
IV.4 - Investigação clínica e laboratorial de uma amostra de deficientes de G6-PD submetidos no momento da de- tecção, à terapêutica potencialmente hemolítica	31
IV.5 - Caracterização de uma amostra de deficien- tes quanto às variantes de G6-PD	41
IV.6 - Investigação das conseqüências clínicas da transfusão de sangue deficiente de G6-PD ..	45
IV.7 - Estudo da eventual associação entre a defi- ciência de G6-PD e a hemoglobina S	45
V - <u>DISCUSSÃO</u>	49
VI - <u>SUMÁRIO E CONCLUSÕES</u>	65
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	68
<u>ANEXOS</u>	80

I - INTRODUÇÃO

A desidrogenase de 6-fosfato de glicose, também conhecida pela notação G6-PD (do inglês, glucose-6-phosphate dehydrogenase) e pela designação NADP oxiredutase de 6-fosfato de D-glicose (EC 1.1.1.49) é uma enzima que, apesar de ocorrer em vários tecidos, desempenha importante função no metabolismo das hemácias. Isso porque a reação que ela catalisa, ou seja, a transformação do 6-fosfato de glicose (G6-P) em 6-fosfogliconato, com a concomitante conversão do fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NADP) para a sua forma reduzida (NADPH), é o primeiro passo da via oxidativa direta da glicose, que é uma das vias glicolíticas utilizadas pelas hemácias para a obtenção de energia.

Como se sabe, as hemácias humanas são células extremamente peculiares, uma vez que não possuem núcleo, ribossomos, mitocôndrios ou aparelho de Golgi. Em decorrência desse fato, elas não sintetizam proteínas nem são capazes de obter energia a partir do ciclo de Krebs. Elas sintetizam apenas compostos simples, como o glutatíão, e obtêm energia por intermédio do metabolismo da glicose. Esse metabolismo é feito, fundamentalmente, por intermédio de duas vias alternativas. A principal delas é a chamada via não oxidativa ou de Embden-Meyerhof, na qual são produzidos o trifosfato de adenosina (ATP), que impulsiona as bombas de íons e fosforila as proteínas da membrana, e a nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH), que ajuda a manter a hemoglobina na sua forma reduzida. A segunda via metabólica pela qual a glicose pode passar é a via oxidativa direta ou das hexoses monofosfatadas (HMP), cuja reação inicial é catalisada pela G6-PD. Em condições normais, 90% da glicólise é feita nas hemácias pela via anaeróbica de Embden-Meyerhof e apenas 10% pela via oxidativa.

Embora a G6-PD participe ativamente apenas da via oxidativa direta da glicose, a deficiência dessa enzima irá

afetar as duas vias glicolíticas das hemácias, uma vez que o nível de G6-P é um dos fatores que contribui para a tomada de glicose por essas células (ROSE e O'CONNEL), 1964). Consequentemente, uma deficiência acentuada da atividade da G6-PD poderá afetar seriamente o processo de obtenção de energia por parte dos glóbulos vermelhos.

Além da sua participação nas vias glicolíticas dos eritrócitos, a G6-PD também desempenha importantíssimo papel na geração da NADPH, que é um composto imprescindível para a defesa das hemácias contra a agressão de agentes oxidantes de origem endógena ou exógena. Esses agentes oxidantes, representados sobretudo pelo peróxido de hidrogênio e, provavelmente, por outros peróxidos orgânicos, gerados durante os processos infecciosos, pela ação de drogas ou mesmo durante alguns processos metabólicos normais, oxidam principalmente os grupos sulfidrílicos ativos de várias enzimas eritrocitárias do citoplasma e da membrana, além do grupo sulfidrílico da posição β^{93} da hemoglobina A, favorecendo a hemólise (BEUTLER *et al.*, 1957; JACOB e JANDL, 1962 a,b, 1966; KOSOWER, 1968).

A NADPH protege as hemácias da ação de agentes oxidantes de forma apenas indireta, uma vez que essa proteção é exercida na verdade, pelo glutatião reduzido, que depende de NADPH.

O glutatião reduzido (GSH) protege os grupos sulfidrílicos da ação oxidante dos peróxidos, uma vez que tais compostos são reduzidos durante a oxidação do GSH para glutatião oxidado (GSSG). A reconversão do GSSG para GSH é feita por uma redutase que requer a NADPH como enzima.

Frente ao exposto, é fácil concluir que a atividade normal de G6-PD é indispensável para a manutenção da integridade das hemácias e que uma deficiência acentuada dessa enzima irá produzir sérias alterações no metabolismo eritrocita-

rio.

A G6-PD normal, conhecida como tipo B, tem a sua síntese determinada por um gene localizado no cromossomo X. Esse gene possui mais de cem alelos, que determinam a produção de variantes de G6-PD, algumas das quais com atividade normal, outras com atividade deficiente e outras, ainda, com atividade aumentada. De acordo com YOSHIDA e colaboradores (1971) essas variantes de G6-PD podem ser agrupadas em cinco classes, a saber:

- Classe 1: Variantes deficientes associadas à anemia hemolítica crônica.
- Classe 2: Variantes com deficiência grave da atividade enzimática (menos de 10% da atividade normal).
- Classe 3: Variantes com deficiência moderada ou suave da atividade enzimática (10% a 60% da atividade normal).
- Classe 4: Variantes com deficiência muito suave da atividade enzimática ou sem deficiência (60% a 100% da atividade normal).
- Classe 5: Variantes com atividade enzimática aumentada (mais do dobro da atividade normal).

Do ponto de vista clínico, são mais importantes, evidentemente, as variantes com atividade deficiente, decorrentes de mutações que determinam a diminuição da síntese enzimática, ou a produção de moléculas com atividade catalítica diminuída ou, ainda, a produção de moléculas instáveis (RUBINSTEIN *et al.*, 1956; LOHER *et al.*, 1958; PIOMELLI *et al.*, 1968; KIRKMAN *et al.*, 1968). Dentre essas variantes deficientes, são particularmente importantes as das classes 2 e 3, uma vez que as da classe 1, a despeito do seu significado médico, são muito raras nas populações.

A importância das variantes de G6-PD das classes 2 e 3 deve-se ao fato de elas, apesar de não determinarem geralmente anemia hemolítica crônica, poderem provocar crises hemolíticas em seus portadores, caso eles sejam expostos a determinados agentes desencadeantes, tais como drogas, favas,

acidose diabética ou infecções, conforme o especificado na ta
bela I.1.

Muitas drogas, como a primaquina, a fenil- hidrazina e o ácido ascórbico atuam, fundamentalmente, pelo aumento da solicitação à via oxidativa direta da glicose. Isso porque tais drogas, ou seus derivados, determinam a produção de peróxidos, que são destruídos às custas da oxidação do GSH. A redução do glutatião oxidado, por sua vez, consome muita NADPH, cuja reposição está seriamente prejudicada pela deficiência de G6-PD (COHEN e HOCHSTEIN, 1964). Outras drogas atuam provocando a transferência direta de elétrons do NADPH para o oxigênio molecular (JACOB e JANDL, 1966).

Dentre as variantes da classe 2, merece especial destaque a chamada variante Mediterrânea, que é encontrada, mais usualmente, em italianos, principalmente da Sardenha e da Sicília, em gregos, judeus orientais, árabes, persas e indus. Já o exemplo mais ilustrativo de variante de G6-PD da classe 3 é fornecido, sem dúvida alguma, pela variante Africana ou A⁻, ex
tremamente freqüente em populações negróides.

As hemácias jovens ou velhas que contêm a variante Mediterrânea da G6-PD apresentam uma atividade enzimática mui
to pequena, variando de 0% a 7% da normal, sendo, por essa ra
zão, muito suscetíveis à ação hemolítica de drogas, favas e outros fatores. A mobilidade eletroforética dessa variante é semelhante à da enzima B normal e as suas constantes de Michaelis para a G6-P e para a NADP situam-se entre 19 e 26 e 1,2 e 1,6, respectivamente. A sua estabilidade está diminuída frente ao calor e ela é sorologicamente distingüível da variante B normal (KIRKMAN *et al.*, 1965; WHO, 1967).

Já a variante Africana ou A⁻ de G6-PD apresenta, em hemácias com mais de 50 dias, atividade entre 8% e 20% da normal. A sua migração eletroforética é mais rápida que a da enzima normal e as suas constantes de Michaelis para a G6-P e para a NADP são normais. Além disso, ela apresenta estabilida
de normal frente ao calor, não se distingüe sorologicamente da variante B e a sua atividade é praticamente normal nos eritrô

Tabela I.1 - Fármacos que podem produzir crises hemolíticas em indivíduos com deficiência de G6-PD

EMPREGO	FÁRMACOS
Analgésicos e antipiréticos	Acetanilida, acetofenetidina*, ácido acetil salicílico*, aminopirina(C) antipirina(C).
Antibacterianos sulfonamídicos e sulfônicos	Diaminodifenilsulfona (DDS), salicilazulfapiridina(Azulfadina), sulfacetamida, sulfadiazina, sulfameracina, sulfametoxipiridazina, sulfanilamida, sulfapiridina, sulfatiazol, sulfisoxazol(Gantrisona), sulfoxona,tiazolsulfona.
Antibacterianos não sulfônicos	Ácido p-aminosalicílico (PAS), cloranfenicol, furadantina (Nitrofurantoina) furaltodona (Altofur), furazolidona, nitrofurazona (Furacina).
Antimaláricos	Pamaquina, pentaquina, primaquina, quinacrina, quinina, quinidina (C).
Diversos	Ácido ascórbico*, ácido nalidíxico, azul de metileno*, dimercaprol(BAL)* fenil-hidrazina, naftalina, nitritos*, trinitrotolueno, vitamina K ₁ *.

(C) - Apenas em indivíduos caucasóides.

* - Quando associados a infecções e outros fatores predisponentes, como doenças crônicas (BEIGUELMAN, 1979).

citados mais jovens (BOYER, 1962; KIRKMAN e HENDRICKSON, 1963 ; KIRKMAN *et al.*, 1964; YOSHIDA *et al.*, 1967; WHO, 1967).

A crise hemolítica dos deficientes de G6-PD inicia-se, geralmente, por volta de 24 a 48 horas após o contato com o fator desencadeante. Nos indivíduos com a variante A⁻, cuja hemólise limita-se às hemácias com mais de 50 dias, a gravidade da crise pode ser bastante variável. Em alguns casos, as alterações são sub-clínicas e nem chegam a ser percebidas pelo paciente. Muitas vezes, o escurecimento da urina pode ser o único sinal perceptível. Em outros casos, no entanto, a crise hemolítica pode ser grave, com franca icterícia, anemia acentuada, dores musculares, abdominais e lombares, febre, hemoglobinúria e reticulocitose. Essa fase hemolítica aguda termina espontaneamente em poucas semanas, mesmo se o contato com o fator desencadeante for mantido. Isso porque, após a destruição das hemácias mais velhas, os eritrócitos jovens remanescentes apresentam atividade de G6-PD suficiente para resistir à ação hemolítica dos medicamentos empregados (BEUTLER *et al.*, 1954; KIRKMAN *et al.*, 1968; PIOMELLI *et al.*, 1968). Parece desnecessário comentar, por outro lado, que a gravidade da crise dependerá muito das características de absorção e de outros passos do metabolismo da droga ministrada ao paciente (BEUTLER, 1981).

Nos indivíduos com a variante Mediterrânea de G6-PD a evolução do processo hemolítico é, em linhas gerais, semelhante à dos indivíduos com a variante A⁻. Como, no entanto, as hemácias jovens também são afetadas, a hemólise tende a ser mais acentuada nesses pacientes, além de não ser autolimitada (GROSS *et al.*, 1958; LARIZZA *et al.*, 1958; BERNARD e DREYFUS, 1962; PIOMELLI *et al.*, 1968; GEORGE *et al.*, 1967).

Os fatores desencadeantes de hemólise são praticamente os mesmos nas variantes Mediterrânea A⁻ de G6-PD. No entanto, algumas drogas, como é o caso do cloranfenicol, afetam de forma mais acentuada os portadores da variante Mediterrânea, enquanto que outras, como a aminopirina, a antipirina e a qui

nidina, afetam quase que exclusivamente os portadores dessa variante (BEIGUELMAN, 1979). Da mesma forma, o favismo, que é a crise hemolítica aguda observada em deficientes de G6-PD após a ingestão de favas (*Vicia faba*) ou a inalação do pólen dessa leguminosa, só é observada em indivíduos com a variante Mediterrânea (WHO, 1967). É importante mencionar que essa condição patológica, também conhecida por febre primaveril de Bagdá, pode ter evolução clínica grave, levando muitos pacientes a óbito (BEIGUELMAN, 1979).

A icterícia neonatal também costuma ser mais frequente e mais grave em crianças com a variante Mediterrânea de G6-PD, embora também possa ocorrer em recém-nascidos com a variante Africana (OSKI e NAIMAN, 1972; AZEVEDO e AZEVEDO, 1974; RAMALHO, 1980). Segundo OSKI e NAIMAN (1972), a hiperbilirrubinemia do deficiente de G6-PD pode chegar, em alguns casos, a 50 mg%, lembrando-se que, a partir de 20 mg%, já existe sério risco de *Kernicterus*. Essa icterícia pode ocorrer espontaneamente, ou, mais comumente, ser desencadeada por agentes do meio ambiente, como a transmissão de fatores hemolisantes pelo leite materno, contato com naftalina, medicação com drogas incompatíveis, sobretudo vitamina K, infecções, hipóxia, acidose, etc.

Outro aspecto clínico importante da deficiência de G6-PD, se bem que ainda bastante controvertido, é o da transfusão de sangues de doadores enzimopênicos. Ainda que os autores não sejam unânimes em contra-indicar tal procedimento, é inegável a existência de um risco, pelo menos teórico, de destruição das hemácias deficientes transfundidas a receptores medicados com drogas capazes de desencadear a hemólise. Também nesse caso, a transfusão de hemácias com a variante Mediterrânea de G6-PD oferece maiores riscos ao receptor, uma vez que, no caso da variante A⁺, a hemólise está limitada às hemácias mais velhas.

O ESTUDO DA DEFICIÊNCIA DE G6-PD NO BRASIL

As primeiras investigações a respeito da deficiência de G6-PD realizadas em populações brasileiras datam da primeira metade da década de 60. Nessa época, MORTON (1964) desenvolvia na Hospedaria de Imigrantes um extenso programa de estudo de populações nordestinas, no qual foi incluída a investigação da deficiência de G6-PD, realizada por NANCE (1964). Esse autor encontrou, entre os homens dessa população, uma proporção de enzimopênicos igual a, aproximadamente, 7%.

Ainda em 1964, LEWGOY e SALZANO, estudando negróides de Porto Alegre, encontraram, entre os homens, proporções de deficientes em torno de 10%, enquanto NEEL *et al.* não constatarem essa enzimopenia entre Índios Xavantes do Mato Grosso.

A essas investigações seguiram-se outras, com o mesmo enfoque populacional, visando, primordialmente, o estudo da frequência e da dinâmica do gene que determina a deficiência de G6-DP. Entre esses estudos, podem ser citados os de LEWGOY e SALZANO (1965, 1968), realizados no Rio Grande do Sul, o de BEIGUELMAN *et al.* (1968), o de SALDANHA *et al.* (1969) e o de BARRETO (1970), realizados em São Paulo, o de AZEVEDO e AZEVEDO (1974), realizado na Bahia e o de MARQUES e CAMPOS (1974), realizado em Minas Gerais. Na região de Campinas, SP, ainda foram realizados, além do estudo de BEIGUELMAN *et al.* (1968), os trabalhos de RAMALHO e BEIGUELMAN (1976) e de RAMALHO (1980). Como é possível verificar na Tabela I.2, na maioria desses estudos foram encontradas frequências de deficientes em torno de 10% entre os homens negróides e de 2% entre os homens caucasóides.

Vários trabalhos a respeito da atividade de G6-DP foram realizados ainda na Universidade de São Paulo pelo Professor Pedro Henrique Saldanha e por sua colaboradora, Professora Suely Bonder Itskan-Forshaid, infelizmente já falecida. Entre esses trabalhos, merecem destaque os realizados entre cau

Tabela I.2 - Relação de trabalhos sobre a frequência da deficiência de G6-PD entre caucasóides e negróides do sexo masculino realizados no Brasil.

Referência	Proporção de deficientes % Caucasóides	Negróides	Total exami- nado	Populações
1) NANCE, 1964	4,7	8,5	1783	Imigrantes nordestinos
2) LEWGOY e SALZANO, 1964	-	9 a 11	300	Porto Alegre, RS
3) LEWGOY e SALZANO, 1965	3,5	12,3	520	Porto Alegre, RS
4) LEWGOY e SALZANO, 1968	3,9	12,4	408	Porto Alegre, RS*
5) BEIGUELMAN <i>et al.</i> , 1968	2,7	9,6	306	Hansenianos de Bauru, SP
6) SALDANHA <i>et al.</i> , 1969	1,4	8,2	166	São Paulo, SP
7) BARRETO, 1970	2,9	5,8	275	São Paulo, SP
8) MARQUES e Campos, 1974	-	7,8	1000	Hospital Geral de Belo Horizonte, MG
9) RAMALHO e BEIGUELMAN, 1976	2,5	10,4	204	Doadores de sangue do Hospital das Clínicas de Campinas, SP
10) AZEVEDO <i>et al.</i> , 1978	-	8,09	815	Pacientes e acompanhantes de um Hospital Geral de Salvador, Ba
11) RAMALHO, 1979	1,16	12,4	646	Recrutas da Junta de Alistamento Militar e doadores de sangue de Campinas, S
12) RAMALHO, 1980	1,5	10,3	240	Recém-nascidos do Hospital das Clínicas de Campinas, SP

* - Pacientes do Instituto de Pesquisas Biológicas da Secretaria da Saúde do Estado do Rio Grande do Sul.

OBS.: Dois trabalhos foram realizados em populações indígenas do Mato Grosso (tribo Xavante), sem que se tenha detectado a deficiência enzimática em nenhum dos indivíduos examinados (NEEL *et al.*, 1964 e SALDANHA *et al.*, 1976).

casoïdes, negroïdes e descendentes de japoneses residentes na cidade de São Paulo e entre índios do Mato Grosso (SALDANHA *et al.*, 1969), entre pacientes com a síndrome de Down (ITSKAN e SALDANHA, 1974) e entre recém-nascidos (ITSKAN-FORSHAID *et al.*, 1980). O mesmo grupo publicou ainda vários estudos de G6-PD em animais (ITSKAN, 1977; ITSKAN *et al.*, 1979; ITSKAN *et al.*, 1980).

Os estudos da G6-PD realizados no Brasil permitiram a alguns pesquisadores descrever novas variantes dessa enzima. Assim, AZEVEDO e YOSHIDA (1969) descreveram a variante Gd Minas Gerais, enquanto que HUTZ *et al.* (1977) relataram a ocorrência da variante Gd Porto Alegre. Da mesma forma, WEIMER *et al.* (1980) relataram a possível ocorrência de uma nova variante Gd Guaíba. Esses autores não puderam confirmar, no entanto, se essa variante realmente nunca havia sido descrita anteriormente.

Ainda dentre os estudos brasileiros da G6-PD, merecem citação o realizado em pares de gêmeos por BEIGUELMAN *et al.* (1970) e os que investigaram a eventual associação entre a deficiência dessa enzima e hemoglobinopatias ou endemias, como a hanseníase e a malária (SALZANO *et al.*, 1968; BEIGUELMAN *et al.*, 1968; ITSKAN e SALDANHA, 1975; SALDANHA *et al.*, 1976).

Finalmente, alguns estudos clínicos a respeito da deficiência de G6-PD foram realizados na Bahia, pelo grupo da Professora Eliane Elisa de Souza Azevedo e em São Paulo, pelo grupo do Professor Orlando César Barreto e pelo Professor Antonio Sérgio Ramalho.

No primeiro desses estudos, publicado em 1974 por AZEVEDO e AZEVEDO, investigou-se a associação entre a deficiência de G6-PD e a icterícia neonatal em recém-nascidos mestiços de Salvador. Os resultados desse trabalho mostraram que a frequência de deficientes era praticamente a mesma entre recém-nascidos ictericos e não-ictéricos, afastando a possibilidade de a deficiência de G6-PD ser um fator etiológico impor

tante, nessa população, da hiperbilirrubinemia neonatal.

Posteriormente, outro estudo clínico a respeito da deficiência de G6-PD foi realizado entre adultos negróides de Salvador, investigando-se a associação entre essa enzimopenia e internações hospitalares anteriores, antecedentes mórvidos sugestivos de icterícia e vários dados hematológicos (AZEVEDO *et al.*, 1978). Os autores observaram que não havia diferença significativa entre as proporções de indivíduos deficientes nos grupos internados em enfermarias e sob tratamento ambulatorial e que as médias de hematócrito, hemoglobina e número de internações também não diferiam entre os deficientes e os seus controles. Os antecedentes mórvidos sugestivos de icterícia, no entanto, foram mais frequentes entre os enzimopênicos. Frente a esses resultados, os autores concluíram que a deficiência de G6-PD não é suficientemente grave no Nordeste do Brasil para provocar um aumento significativo do número de hospitalizações entre os seus portadores, embora seja capaz de causar icterícia clinicamente detectável.

Nos dois estudos clínicos realizados no Estado de São Paulo, a deficiência de G6-PD foi correlacionada com a icterícia neonatal. Assim, RAMALHO (1979, 1980), estudando recém-nascidos do Hospital das Clínicas de Campinas, encontrou um excesso de deficientes entre as crianças levadas à fototerapia por manifestarem icterícia moderada, embora não tenha constatado nenhum caso de icterícia grave entre os enzimopênicos. Curiosamente, todas as mães das crianças deficientes de G6-PD estavam sendo medicadas, durante o puerpério, com clo-ranfenicol. Já RIVERO *et al.* (1981), por seu lado, puderam constatar casos de *Kernicterus* entre deficientes de G6-PD matriculados no Instituto da Criança, na cidade de São Paulo.

II - OBJETIVOS

Analisando a literatura nacional a respeito da deficiência de G6-PD, é fácil constatar que, apesar do grande número de trabalhos publicados, ainda são poucos os que abordaram os aspectos médicos desse tema. De fato, a única avaliação de morbidade dessa enzimopenia em uma população brasileira foi a realizada por AZEVEDO *et al.* (1978) entre homens negróides de Salvador, já que as outras pesquisas clínicas sobre a deficiência de G6-PD abordaram, especificamente, a sua correlação com a icterícia neonatal (AZEVEDO e AZEVEDO, 1974; RAMALHO, 1979, 1980; RIVERO *et al.*, 1981).

Frente à situação exposta, é inevitável que ainda se disponha de poucas informações a respeito do real significado médico dessa enzimopenia em nosso país e que o raciocínio clínico sobre o assunto se apoie, muitas vezes, no perigoso terreno das suposições. Assim, na falta de mais avaliações de morbidade, corre-se o risco de subestimar ou de superestimar a importância clínica do problema.

Uma vez que a deficiência de G6-PD é freqüente nas populações brasileiras e as drogas capazes de desencadear hemólise nos deficientes são de uso comum em nosso meio, é atraente supor que essa enzimopenia constitua um problema médico importante no Brasil. Foi baseada nessa hipótese, aliás, que a Sociedade Brasileira de Hematologia incluiu a deficiência de G6-PD entre os assuntos prioritários do seu programa nacional de anemias, ao lado de outras condições patológicas de comprovada importância em termos de Saúde Pública no Brasil, como as anemias carenciais, as síndromes falcêmicas e a talassemia β .

É importante salientar, no entanto, que tal hipótese só poderá ser aceita como verdadeira quando se demonstrar, por intermédio de vários estudos clínicos bem conduzidos, que a

maioria dos deficientes de G6-PD realmente manifesta alterações clínicas significativas, quando exposta a fatores desencadeantes de hemólise. Isso porque a gravidade da hemólise apresentada pelos enzimopênicos pode ser muito variável, oscilando desde os níveis sub-clínicos até os casos fatais. Tal gravidade dependerá, entre outros fatores, do tipo de variante de G6-PD apresentada pelo paciente, do tipo de fator desencadeante da hemólise e da interação entre a deficiência enzimática e outros fatores genéticos e ambientes.

Outro aspecto que, apesar de óbvio, muitas vezes não é levado em conta ao analisar o problema da deficiência de G6-PD em nosso país é que as observações feitas em determinadas regiões do Brasil não podem ser generalizadas para outras, em virtude das diferenças ambientes e de composição étnica das populações. Assim, para que se tenha uma visão nacional do problema é forçoso que se analise um conjunto de trabalhos clínicos, realizados em diferentes populações brasileiras.

Com o intuito de iniciar o estudo médico sistematizado da deficiência de G6-PD em populações paulistas, estabeleceu-se um programa de investigação na região de Campinas, cujo passo inicial é representado por este trabalho.

As investigações anteriormente realizadas na população de Campinas permitiram estimar a frequência dessa enzimopenia em, aproximadamente, 10% dos homens negróides e 3% dos caucasóides (BEIGUELMAN *et al.*, 1968; RAMALHO e BEIGUELMAN, 1976; RAMALHO, 1979, 1980). Apesar dessas altas frequências, o número de casos sintomáticos de deficientes de G6-PD registrados nos vários serviços médicos de Campinas é surpreendentemente baixo. Assim, nos últimos dez anos não foram diagnosticados mais do que cinco casos de deficientes de G6-PD com manifestações hemolíticas nos vários serviços de hematologia da cidade, incluindo o da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP. Essa curiosa desproporção entre o número de casos sintomáticos registrados nos serviços médicos e de casos assintomáticos identificados nas pesquisas populacionais pode resul-

tar, evidentemente, tanto de uma baixa morbidade da enzimopénia, quanto da falta de diagnóstico de muitos pacientes. Caso essa última hipótese seja verdadeira, parece crucial que a classe médica seja alertada para o problema.

No presente trabalho foram investigados alguns aspectos de ordem prática que, em seu conjunto, pretendem fornecer uma contribuição ao estudo médico da deficiência de G6-PD em uma população paulista. Assim, dentre os objetivos a serem alcançados, podem ser enumerados os seguintes:

- 1) Verificar a validade do uso do teste de redução da metemoglobina (BREWER *et al.*, 1962) na identificação dos deficientes de G6-PD, uma vez que existem algumas controvérsias na literatura especializada quanto à eficiência desse exame (BAPAT *et al.*, 1976). Essa verificação possui grande interesse prático, uma vez que o teste de redução da metemoglobina, por ser simples e econômico, é passível de ser usado em larga escala em nosso meio, enquanto que os outros exames são excessivamente dispendiosos ou complexos para serem aplicados em grandes estudos populacionais.
- 2) Caracterizar uma amostra de deficientes de G6-PD detectados na região de Campinas quanto à sua procedência e grau de exposição a fatores potencialmente hemolíticos do meio ambiente.
- 3) Verificar a frequência de antecedentes sugestivos de hemólise em uma amostra de deficientes, comparando-a com a de um grupo controle.
- 4) Investigar clínica e laboratorialmente uma amostra de deficientes que já estavam sendo submetidos, no momento da detecção, à terapêutica potencialmente hemolítica. Considerando que a lepra é uma infecção endêmica no Estado de São Paulo, julgou-se importante examinar nesse item um grupo de hansenianos deficientes de G6-PD que estavam sendo tratados com diaminodifenilsulfona (DDS), já que esse

antibacteriano é capaz de desencadear hemólise tanto em pacientes com a variante Mediterrânea quanto naqueles com a variante Africana de G6-PD e, dependendo da quantidade de DDS, em indivíduos com G6-PD de atividade normal.

- 5) Caracterizar uma amostra de deficientes quanto às variantes de G6-PD.
- 6) Investigar as consequências clínicas de transfusão de sangues deficientes de G6-PD, uma vez que os serviços de hemoterapia de Campinas não contra-indicam tal tipo de transfusão sangüínea.
- 7) Verificar a eventual associação entre a deficiência de G6-PD e a hemoglobina S, já que essa alteração genética também é freqüente na população de Campinas (RAMALHO, 1979, 1980, 1983).

III - CASUÍSTICA E MÉTODOS

Para a realização do presente trabalho, foram examinados 3.339 indivíduos do sexo masculino, todos residentes na região de Campinas, SP. Dentre eles, 2.653 eram doadores de sangue do Serviço de Hemoterapia do Hospital das Clínicas da UNICAMP, 503 eram pacientes internados nas diferentes enfermarias de clínica ou de cirurgia do mesmo hospital ou de hospitais particulares (Casa de Saúde Campinas e Real Sociedade de Beneficência Portuguesa) e 183 eram pacientes portadores de hanseníase, internados no Hospital de Dermatologia Sanitária "Francisco Ribeiro Arantes" (Itu, SP), ou sob assistência ambulatorial no Centro de Saúde de Campinas.

Todos esses indivíduos foram submetidos à punção venosa, para a coleta de 5 ml de sangue, acondicionados em frascos contendo uma solução anticoagulante de sal potássico do ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) a 10%, na proporção de 1 mg por ml de sangue (DACIE e LEWIS, 1970). Esses frascos foram mantidos sob refrigeração e imediatamente transportados para o Departamento de Genética Médica da UNICAMP, onde foram realizados os exames iniciais.

A identificação dos deficientes de G6-PD foi feita sistematicamente pelo método de redução da metemoglobina, conforme preconizado por BREWER *et al.* (1962).

Para tanto, adicionou-se 1 ml de sangue a tubos identificados pelas letras a, b e c. Após adicionar 0,05 ml de solução de nitrito de sódio/glicose (5 g de glicose e 1,25g de de nitrito de sódio em 100 ml de água destilada) aos tubos b e c, e 0,05 ml de solução de cloreto de azul de metileno (150 mg de cloreto de azul de metileno tri-hidratado "Carlo Erba" em 1000 ml de água destilada) ao tubo c, misturou-se gentilmente o sangue com os reagentes e incubou-se os tubos de ensaio em banho-maria a 37°C durante 3 horas. Em seguida, transferiu-se uma alíquota de 0,1 ml de cada tubo para outros con-

tendo 10 ml de água destilada. Após a hemólise, a cor do tubo c (tubo teste) foi comparada visualmente com as dos tubos a e b. Os casos em que a cor do tubo teste mostrou-se igual à do tubo a (vermelho claro) foram considerados normais. Já aqueles em que a cor do tubo teste mostrou-se igual à do tubo b (marrom acastanhado) foram considerados como deficientes de G6-PD.

Para a realização desse exame, os sangues com hematócrito baixo tiveram esse valor corrigido para cerca de 40% a 45%, por remoção da quantidade necessária de plasma.

Com o intuito de verificar a possível ocorrência de casos falsamente positivos com o teste da redução da metemoglobina (objetivo 1 do trabalho), 57 indivíduos diagnosticados como deficientes de G6-PD após as clássicas 3 horas de incubação do sangue, foram submetidos a nova leitura após 4 horas de incubação, conforme o recomendado por BAPAT *et al.* (1976), bem como foram re-examinados pelo teste do descoramento do azul cresil brilhante (MOTULSKY e CAMPBELL-KRAUT, 1961) e, posteriormente, submetidos à dosagem enzimática e à eletroforese de G6-PD, para a comparação dos resultados dos 5 exames.

Para a realização do teste do descoramento do azul cresil brilhante, adicionou-se 0,02 ml de sangue a tubos de ensaio contendo 1 ml de água destilada. Após a hemólise, adicionou-se a esses tubos 0,1 ml de solução de G6-P (825 mg de sal sódico de 6-fosfato de glicose em 100 ml de água destilada), 0,1 ml de solução de NADP (50 mg de NADP em 100 ml de água destilada), 0,25 ml de corante (32 mg de azul cresil brilhante da "National Aniline Dye" em 100 ml de água destilada) e 0,2 ml de tampão (8,96 g de tris-hidroximetil-aminometano, 3 ml de ácido clorídrico concentrado e 97 ml de água destilada). Os tubos foram homogeneizados por inversão, incubados em banho-maria a 37°C e observados após 40, 60 e 90 minutos de incubação. Foram considerados como deficientes de G6-PD as amostras que não tiveram sua cor inicial modificada após 90 minutos de incubação, já que nas amostras com atividade normal dessa enzima o descoramento do azul cresil brilhante é

observado entre 40 e 65 minutos. Para melhor controle, usou-se, em cada bateria de tubos, amostras de sangue com atividade de G6-PD seguramente normal.

As dosagens enzimáticas e a eletroforese de G6-PD desses 57 casos foram realizadas no Setor de Enzimopatias do Laboratório de Hematologia do Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo (São Paulo, SP), conforme será especificado mais adiante.

Para a caracterização de uma amostra de deficientes de G6-PD da região de Campinas quanto à procedência e quanto ao grau de exposição a fatores potencialmente hemolíticos do meio ambiente (objetivo 2), 66 enzimopênicos e 217 controles normais foram submetidos a uma consulta médica, na qual foi preenchida uma ficha clínica (anexo 1) da qual constavam, além dos dados pessoais, como nome, cor, idade, naturalidade, profissão e endereço, outras informações úteis, como profissões anteriores, ingestão de sulfas, contato com naftalina, etc. Na mesma ficha foram registrados os antecedentes mórbitos sugestivos de hemólise, para que a frequência pudesse ser comparada entre deficientes e controles (objetivo 3). Esses controles foram escolhidos dentro dos mesmos grupos a que pertenciam os deficientes (doadores de sangue, pacientes de enfermagem e hansenianos), procurando-se dentro do possível, equilibrar as amostras quanto à cor, faixa etária, nível social e, se fosse o caso, diagnóstico clínico. Na Tabela III.1 estão especificados os números de deficientes e controles dentro de cada grupo de indivíduos.

Vale a pena comentar que, durante essa consulta, os deficientes receberam orientação médica e um documento explicativo da sua alteração enzimática, no qual estavam relacionadas as principais drogas capazes de desencadear hemólise nos deficientes de G6-PD.

Para o estudo de uma amostra de deficientes de G6-PD que já estivessem ingerindo, no momento da detecção, alguma droga potencialmente hemolítica (objetivo 4), investigou-se a

Tabela III.1 - Deficientes de G6-PD e controles normais submetidos a consulta médica para a avaliação de antecedentes mórbitos sugestivos de hemólise.

G R U P O S	Deficientes de G6-PD		Controles normais	
	Negróides	Caucasóides Total	Negróides	Caucasóides Total
Doadores de sangue	34	15 49	73	80 153
Pacientes de enfermaria	5	5 10	19	12 31
Hansenianos	6	1 7	20	13 33
Total	45	21 66	112	105 217

presença dessa enzimopenia entre 183 hansenianos do sexo masculino (38 negróides e 145 caucasóides), que estavam sendo medicados com diaminodifenilsulfona (DDS). Foram identificados, então, 7 deficientes de G6-PD, que foram examinados clínica e laboratorialmente, sendo os seus dados comparados com os de 9 controles normais, escolhidos dentre os hansenianos com atividade normal de G6-PD. Assim sendo, foram colhidos 10 ml de sangue venoso desses 16 pacientes, distribuídos em frascos contendo EDTA e em frascos sem anticoagulante. A amostra colhida com anticoagulante foi encaminhada para o Setor de Hematologia do Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP para a realização do hemograma, contagem de reticulócitos, dosagem de metemoglobina e pesquisa de corpúsculos de inclusão, sob a supervisão do Prof. Dr. Fernando Ferreira Costa. Já a amostra colhida sem anticoagulante foi encaminhada ao Setor de Bioquímica do mesmo Departamento para a dosagem de bilirrubinas no soro dos deficientes (bilirrubinas direta e indireta), realizada sob a supervisão do Prof. Dr. Quivo Schwartzburd Tahin. Além dos exames laboratoriais, esses 16 pacientes foram submetidos, também, a anamnese e ao exame físico.

• O hemograma, a contagem de reticulóides e as dosagens de bilirrubinas no soro, também foram realizados em 8 deficientes de G6-PD não hansenianos, internados em diferentes hospitais de Campinas, embora tais pacientes não estivessem, necessariamente, sendo medicados com drogas incompatíveis no momento da detecção. Na Tabela III.2 são apresentados maiores detalhes a respeito desses pacientes.

Para a caracterização de uma amostra de deficientes quanto às variantes de G6-PD (objetivo 5), 57 enzimopênicos identificados pelos métodos da redução da metemoglobina e do descoramento do azul cresil brilhante (41 negróides e 16 caucasóides) foram submetidos à dosagem enzimática e à eletroforese de G6-PD em gel de amido, pH 8,8. Tais exames foram realizados no Setor de Enzimopatias do Laboratório de Hematologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Uni-

Tabela III.2 - Descrição da amostra de deficientes de G6-PD
internados em hospitais de Campinas - SP.

Paciente	Idade	Cor	Diagnóstico	Medicação em uso
B.R.R.	42	C	Colelitíase	Aminofilina, KCl, ampicilina, Garamicina, Sedalene e Plasil
P.I.F.	27	N	Crises comi- ciais e anemia	Gardenal, Decadron e Neosal- dina
N.M.J.	34	C	Fratura expos- ta de membro inferior	Keflin, Doloxene*
J.C.V.	42	N	Gastrite? Abscesso hepá- tico? Tubercu- lose intesti- nal?	Rifampicina, Isoniazida, Pira- zinamida, Aldrox e Oncoron
J.D.S.	52	C	Sinusite fron- tal	Ambozin, Decadron, Clindomici- na, Quimotripsina e Ribonu- clease
J.A.S.	46	N	Varizes de mem- bro inferior (tratamento ci- rúrgico)	Meperidina e Algafan
J.G.	78	N	Insuficiência arterial peri- férica	Bufedril
P.M.S.	37	N	Insuficiência cardíaca con- gestiva	Digoxina, KCl(xarope), Pireta- mida, Oncoron, SG+ Xilocaína
J.C.C.	40	N	Quadro comi- cial sub-en- trante	Epelin, Gardenal, Nootropil e Citoneurin

OBS. (*) medicação capaz de desencadear hemólise em deficientes de G6-PD

versidade de São Paulo, sob a orientação do Prof. Dr. Orlando Cesar Barreto.

Para tanto, foram colhidas novas amostras de sangue desses 57 indivíduos, as quais foram armazenadas em frascos esterilizados contendo ACD como anticoagulante (ACD da Hiplex S. A. - Laboratório de Hipodermia) na proporção de 1 ml de anticoagulante para 3 ml de sangue. Esses frascos foram conservados sob refrigeração (4°C) e, posteriormente, transportados para São Paulo.

O ensaio enzimático para a medida da atividade de G6-PD foi feito de acordo com a técnica de BEUTLER (1975). Tal teste baseia-se no aumento da densidade óptica determinado pela geração de NADPH.

Já a eletroforese de G6-PD foi realizada de acordo com a técnica recomendada pela Organização Mundial da Saúde (1967). Para tanto, preparou-se uma suspensão de 13% de amido hidrolisado (Connaught) em 150 ml de solução 0,5M de tris-cloreto, pH 8,8 (a 25°C), 15 ml de solução 0,27M de EDTA sódico, pH 7,0 e 1.350 ml de água destilada. Tal suspensão foi homogeneizada sob alta temperatura e agitação constante, até a formação do gel de amido. Após o resfriamento a aproximadamente 60°C , adicionou-se NADP até uma concentração final de $10\mu\text{M}$. A seguir o gel foi depositado em um recipiente retangular de bordos elevados, que permaneceu por 40 minutos em câmara fria e que foi, em seguida, mantido em temperatura inferior a 4°C durante 4 horas.

As amostras de sangue total foram centrifugadas a 3.000 rpm, durante 5 minutos, retirando-se, a seguir, o plasma sobrenadante. O concentrado de hemácias foi lavado 3 vezes com solução de cloreto de sódio 0,9%. Ao volume final de hemácias, foi, então adicionado 30 volumes de solução hemolisante (NADP $10\mu\text{M}$, betamercaptoetanol $7\mu\text{M}$ e EDTA sódico $2,7\mu\text{M}$). A mistura foi homogeneizada por agitação e, em seguida, centrifugada a 900 rpm durante 30 minutos. O hemolisado sobrenadante foi diluído em água e tampão em concentração igual à usada

na dissolução do amido, mantendo-se sempre a concentração de hemoglobina inferior a 1 g%.

As amostras de hemolisado foram embebidas em tiras de papel de filtro, que foram colocadas em fendas feitas no gel. Toda a superfície do gel foi, em seguida, recoberta por uma película plástica.

A corrida eletroforética foi realizada a 20°C, durante 16 horas, sob a diferença de potencial de 2 volts por centímetro, valendo-se de um sistema horizontal. Utilizou-se na cuba de eletroforese um litro da mesma solução tampão usada na preparação do gel, acrescida de 3 g de cloreto de sódio. No compartimento do cátodo, adicionou-se NADP em quantidade suficiente para obter-se uma solução 10µM.

Após a corrida eletroforética, a placa de gel de amido foi cortada em duas, com a ajuda de um fio de cobre, retirando-se a camada superior. A camada inferior foi levada, então, para a câmara escura, onde se procedeu à identificação das zonas de atividade de G6-PD. Para tanto, recobriu-se o gel com a solução corante (10 mg de sal sódico de G6P, 2mg de MTT tetrazólio, 2 mg de metassulfato de fenazina, 2 mg de NADP e 10 ml de tampão tris-HCl 0,1 M, pH 8,0), procedendo-se à leitura após 2 horas.

A distância entre a banda de G6-PD e o ponto de aplicação foi medida em centímetros e comparada com a migração de um padrão normal (Gd B+), à qual se atribuiu o valor de 100%.

Para o estudo dos efeitos clínicos da transfusão de sangues deficientes de G6-PD (objetivo 6), foram examinados clinicamente 161 pacientes internados em hospitais de Campinas, os quais haviam recebido 1 ou 2 dias antes uma ou mais transfusões sanguíneas. Dentre esses pacientes, 29 haviam recebido sangue de doadores deficientes de G6-PD e 132 haviam recebido sangue com atividade normal dessa enzima. Para cada um desses receptores foi preenchida uma ficha especial (anexo 2) na qual foram registrados dados de identificação do paciente e do doador de sangue e várias informações úteis, tais co-

mo o tempo de estocagem do sangue transfundido, data da transfusão, diagnóstico clínico do receptor, sinais e sintomas sugestivos de reação hemolítica, outras reações pós-transfusio- nais, medicação em uso, etc. Posteriormente, a frequência das diferentes reações pós-transfusionais foi comparada nos dois grupos. Na Tabela III.3 são apresentados maiores detalhes a respeito dos 29 pacientes que receberam transfusão de sangue deficiente de G6-PD.

A eventual associação, em nosso meio, entre a deficiência de G6-PD e a hemoglobina S (objetivo 7) foi investigada em uma amostra de 70 enzimopênicos negróides. A presença da hemoglobina S foi investigada nesses indivíduos por intermédio da eletroforese de hemoglobinas em pH alcalino, sendo confirmada pelo teste de solubilidade. A frequência da hemoglobina anômala entre os deficientes de G6-PD foi comparada, posteriormente, com a esperada ao acaso entre negróides do Sul e Sudeste do Brasil (RAMALHO e BEIGUELMAN, 1977; PINTO Jr., 1978; RAMALHO, 1983).

Assim sendo, preparou-se com o sangue de cada indivíduo examinado uma solução de hemoglobinas a 10%, que foi utilizada para a eletroforese em fitas de acetato de celulose ("Sartorius Membranfilter", GMBH, Alemanha). Usou-se o tampão tris-glicina, pH 9,1 (14,1 g de tris-hidroximetil-aminometano e 22,6 g de glicina em 1.500 ml de água destilada), realizando-se a corrida eletroforética sob a diferença de potencial de 250 volts, durante 60 minutos (RAMALHO, 1980, 1983).

As fitas de acetato de celulose foram coradas pelo amido negro 10B a 0,5% em solução de metanol (45%) e ácido glacial (10%) em água destilada.

A presença de hemoglobina S foi confirmada pelo teste "Sickle-ID", que é uma prova de solubilidade que diferencia a hemoglobina siclêmica de outras hemoglobinas anômalas que ocupam a mesma posição eletroforética em pH alcalino (LOUDERBACK *et al.*, 1974; RAMALHO e LORAND, 1977). Para a realização desse exame adicionou-se 0,1 ml de sangue total a 2ml

Tabela III.3 - Dados clínicos dos pacientes que receberam transfusão de sangue deficiente de G6-PD

RECEPTOR	SEXO	IDADE	DIAGNÓSTICO	MEDICAÇÃO EM USO	TEMPO DE ESTOQUE DO SANGUE TRANSFUNDIDO EM DIAS	COR DO DOADOR
01) M.O.E.	F	43	Leucemia mieloide crônica	Bactrin*, Ziloric, Micostatin, Flagil, Lonvis, Daunoblastina, Aracytin	1	N
02) M.B.F.R.	F	41	Estenose mitral (tratamento cirúrgico)	Staficilin, Garamicina, Tylenol, Sonix e Algafan.	3	C
03) M.M.S.	F	50	Hemorragia digestiva	KCl, Vi-syneral*, Tagamet, Aldrox Kanakion*, Novalgina e Plasil	7	N
04) L.C.	M	54	Cardiopatia (tratamento cirúrgico)	Cedilanide, Digoxina, Quinidine*, Staficilin, Garamicina, MM expectorante, Plasil e Aminofilina.	5	C
05) C.O.H.	M	28	Fratura exposta de membro inferior	Sedalene e Anador	6	N
06) D.O.K.	M	10ms	Desnutrição, desidratação e Broncopneumonia	Micostatin, KCl, Vi-syneral*, Aminofilina, Novalgina, Staficilin, Larocin, Soluortef, Questran	5	N
07) E.A.	M	25	Compressão medular (tratamento cirúrgico)	SG+NaCl, Parenzime, Lisador, Dipirona	0	N
08) M.R.	M	78	Anemia megaloblástica?	Ácido fólico	21	N
09) M.B.P.	F	62	Neoplasia gástrica	Vitamina C*, Albumina, Sol.de Ringer, Keflin, Kanakion*, Garamicina, Algafan Dextrovitase*	9	N

RECEPTOR	SEXO	IDADE	DIAGNÓSTICO	MEDICAÇÃO EM USO	TEMPO DE ESTOQUE DO SANGUE TRANSFUNDIDO EM DIAS	COR DO DOADOR
10) B.M.M.B.	F	30	Hemorragia subdural	Dienpax, Doloxene* Setrex, Vi-syneral*	3	N
11) J.A.M.	M	83	Hepatite	Flagil, Tagamet, Meticorten Novalgina	7	C
12) J.P.P.	M	52	Cirrose hepática + varizes de esôfago+hemorragia	SF+KCl, SG+Vitamina C*, gluconato, NaCl, Complexo B, Tagamet Keflin	15	N
13) E.O.	M	3ms	Hepatite	Reidrat, Micostatin, Fluviral, Vi-syneral*, Fosfocina, Ques-tran	0	N
14) M.C.	M	63	Leucemia Mielóide aguda	SG, Decadron, Tagamet, Insulina	5	C
15) P.F.G.	M	20	Politraumatizado (tratamento cirúrgico)	Keflin, Salurin, Sedalene, Novamin, SG, Bufedril	5	N
16) P.F.P.	M	20	Politraumatizado (tratamento cirúrgico)	Sedalene, Salurin, Novamin, SG	5	C
17) J.E.	M	42	Cistite purulenta, orquiopididimite bacteriana, nefrite	Ampicilina, Parenzime, Buscopan, Doloxene*, NaCl, Urobactrin*	4	N
18) C.R.J.A.	M	23	Politraumatizado	Ringer simples, SG, Bicarbonato, Gluconato de cálcio, Keflin, Kanakion*	4	N
19) M.E.E.O.	F	19	Politraumatizada	Anatox tetani, Benzetacil, SGF, Vi-syneral*, Garamicina, Novalgina	4	C

RECEPTOR	SEXO	IDADE	DIAGNÓSTICO	MEDICAÇÃO EM USO	TEMPO DE ESTOQUE DO SANGUE TRANSFUNDIDO EM DIAS	COR DO DOADOR
20) D.L.S.	F	17	Parto cesariano	Quimicetina*, Aldomet, Sulfato ferroso.	4	N
21) J.B.P.	M	26	Adenoma de brônquios	Metronix, Algafan	0	C
22) J.R.A.	M	37	Cardiopatia (Tratamento cirúrgico)	Staficilin, Garamicina, Lasix, Revivan, Vi-syneral*, SGF	6	C
23) I.B.H.R.	M	55	Insuficiência cardíaca congestiva	Aldomet, Minipress, Cedilanide, Aldactone, Benzotol, Lasix, Aminofilina, Durabolin	6	N
24) A.C.B.	M	70	Hemorragia digestiva	Kanakion*, Propanalol	2	N
25) A.N.R.	F	15	Leucemia mielóide	Staficilin, SG, Tobramicina, Flagil, Ziloric, Novalgina	1	N
26) W.M.	M	26	Acidentado (Cirurgia neurológica)	Decadron, Vi-syneral*, Policilin, Staficilin, Quimicetina*, Tagamet, Lisador, Dienpax, Dipirona	10	C
27) J.P.G	M	1	Retinoblastoma (Tratamento cirúrgico)	Vincristina, Metotrexato, IT, Amplacilina, Otobiótico, Tylenol	5	C
28) A.N.	M	39	Acidentado (Tratamento cirúrgico)	Anador, Sedalene, Anatox tetanizante, Benzetacil, Dispacilina	2	C
29) S.S.	M	4ms	Hérnia inguinal (Tratamento cirúrgico)	SGF	2	N

OBS. (*) Medicação capaz de desencadear hemólise em deficientes de G6-PD

de uma solução de trabalho preparada com 1 g de ditionito de sódio, 1 g de saponina, e 100 ml de tampão de sulfato de amônio fosfato (280 g/l de sulfato de amônio, ajustando-se o pH para $7 \pm 0,1$ com K_2HPO_4). Após deixar o tubo de ensaio em repouso por 5 minutos à temperatura ambiente, procedeu-se a centrifugação do mesmo a 5.000 rpm durante 5 minutos para, posteriormente, verificar a presença de um precipitado vermelho indicativo da hemoglobina S.

Tratamento Estatístico das Variáveis Estudadas.

Para a análise comparativa dos diferentes dados do presente trabalho, foi utilizado o teste de qui - quadrado, com ou sem correção de YATES.

A comparação das médias das variáveis quantitativas foi feita pelo teste t de STUDENT, levando-se em conta a igualdade ou a desigualdade significativas das variâncias, verificadas pelo teste F de SNEDECOR (cf. BEIGUELMAN, 1981).

As correlações entre os dados quantitativos da amostra foram verificadas por intermédio da estimativa dos coeficientes de correlação simples entre essas medidas, tomadas duas a duas, os quais foram calculados a partir de

$$r = \frac{\sum xy - n \bar{x} \bar{y}}{(n-1) \cdot s(x) \cdot s(y)}$$

onde $\underline{x}$ e $\underline{y}$ são as duas variáveis em estudo e $\bar{x}$ e $\bar{y}$ as médias aritméticas dessas variáveis e $s(x)$ e $s(y)$ os desvios padrão dessas variáveis e $\underline{n}$ o número de pares de variáveis.

A significação dos coeficientes de correlação foi estimada por intermédio do teste t proposto por FISHER (1950) (cf. BEIGUELMAN, 1981), no qual $t = r \sqrt{\frac{n-2}{1-r^2}}$ com $n-2$ graus de liberdade.

IV - RESULTADOS

Foram identificados, durante a fase de triagem, 104 indivíduos deficientes de G6-PD (67 negrões e 37 caucasóides), a partir dos quais foi realizado o presente trabalho.

Visando a uma melhor clareza na apresentação dos resultados obtidos, subdividiu-se o presente tópico em sete itens, de acordo com os objetivos a serem alcançados:

IV.1 - *Verificação dos casos falsamente positivos pelo teste de redução da metemoglobina.*

Em todos os 57 casos analisados observou-se concordância absoluta entre os resultados positivos do teste de redução da metemoglobina e os demais procedimentos (leitura após 4 horas de incubação, teste do descoramento do azul cresil brilhante, ensaio enzimático e eletroforese de G6-PD). Não foram observados, portanto, casos falsamente positivos pelo teste de redução da metemoglobina, nem constatada nenhuma vantagem em aumentar o tempo de incubação desse teste ou em substituí-lo pelo descoramento do azul cresil brilhante.

IV.2 - *Caracterização de uma amostra de deficientes de G6-PD detectados na região de Campinas quanto à procedência e grau de exposição a alguns fatores potencialmente hemolíticos do meio ambiente.*

Como é possível observar na tabela IV.1, cerca de 40% dos deficientes de G6-PD detectados na região de Campinas não nasceram no Estado de São Paulo. Quanto a esse aspecto vale a pena ressaltar a importante contribuição dos Estados de Minas Gerais e Bahia, de onde provieram 23% dos deficientes de G6-PD analisados.

O grau de exposição a fatores potencialmente hemolíticos do meio ambiente foi avaliado nos 66 deficientes que puderam ser submetidos a uma consulta médica com a autora. Den-

Tabela IV.1 - Distribuição da amostra de deficientes de G6-PD
de acordo com os seus locais de nascimento

Local de nascimento	Número de Paciente	%
São Paulo	63	60,5
Minas Gerais	13	12,5
Bahia	11	10,5
Pernambuco	3	2,9
Alagoas	3	2,9
Mato Grosso	2	1,9
Piauí	2	1,9
Paraná	2	1,9
Rio de Janeiro	2	1,9
Sergipe	1	0,9
Ceará	1	0,9
Chile	1	0,9

tre esses indivíduos, 32 (48,5%) relataram ter tido contato frequente com naftalina e 11 (16,6%) já haviam sido medicados com sulfas.

O tratamento prévio de infecções importantes foi referido por 44 (66,6%) deficientes, as internações hospitalares por 39 (59,09%) e o contato profissional com substâncias químicas por 33 (50,0%).

IV.3 - *Investigação dos antecedentes sugestivos de hemólise.*

A frequência dos antecedentes sugestivos de hemólise (icterícia, "hepatite", urina escura e anemia) não diferiu significativamente entre os 66 deficientes e os seus 217 controles normais (Tabela IV.2).

Analizando separadamente os três grupos de deficientes de G6-PD (doadores de sangue, pacientes de enfermaria e hansenianos), também não se observou diferença significativa entre as frequências de indivíduos que relataram histórias de icterícia, "hepatite" e urina escura entre os enzimopênicos e seus controles. Já a frequência de indivíduos que relataram anemia, embora não tenha diferido entre os deficientes e controles pertencentes aos grupos de doadores de sangue e pacientes de enfermaria, mostrou-se significativamente superior entre os deficientes hansenianos (Tabela IV.3). A frequência com que ocorreu pelo menos uma internação hospitalar prévia, não decorrente de acidentes, não diferiu entre pacientes e controles dos três grupos (Tabela IV.4).

O contato com naftalina e/ou o uso de sulfas não mostrou-se associado aos antecedentes sugestivos de hemólise nos grupos de doadores e pacientes de enfermaria (Tabelas IV.5-IV.8), bem como às internações prévias, não decorrentes de acidentes, desses dois grupos (Tabela IV.9 e IV.10).

IV.4 - *Investigação clínica e laboratorial de uma amostra de deficientes de G6-PD submetidos no momento da detecção, à terapêutica potencialmente hemolítica.*

Nenhum dos sete hansenianos deficientes de G6-PD apre

Tabela IV.2 - Comparação das proporções de indivíduos que referiram antecedentes sugestivos de hemólise (anemia, icterícia, "hepatite" e urina escura) entre os deficientes de G6-PD e seus controles normais.

Anemia			Icterícia			"Hepatitis"			Urina escura			
Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	
Sim	11	24	35	9	17	26	3	3	6	9	30	39
Não	55	193	248	57	200	257	63	214	277	57	187	244
Total	66	217	283	66	217	283	66	217	283	66	217	283
$\chi^2_1 = 1,46; 0,20 < P < 0,30$			$\chi^2_1 = 2,04; 0,10 < P < 0,20$			$\chi^2_1 = 2,43; 0,10 < P < 0,20$			$\chi^2_1 = 0,001; 0,95 < P < 0,98$			

OBS.: Def. = deficiente
Cont. = controle

Tabela IV.3 - Comparação das proporções de indivíduos que referiram antecedentes sugestivos de hemólise (anemia, icterícia, "hepatite" e urina escura) entre os deficientes de G6-PD e seus controles normais nos três grupos analisados (doadores de sangue, pacientes de enfermaria e hansenianos)

	Anemia		Icterícia		"Hepatitis"		Urina escura	
	Def.	Cont. Total	Def.	Cont. Total	Def.	Cont. Total	Def.	Cont. Total
Doador	Sim	1 2 3	4 4 8	1 1 2	3 8 11			
	Não	48 151 199	45 149 194	48 152 200	46 145 191			
	Total	49 153 202	49 153 202	49 153 202	49 153 202			
	$\chi^2 = 0,13; 0,70 < P < 0,80$		$\chi^2 = 3; 0,05 < P < 0,10$	$\chi^2 = 0,72; 0,30 < P < 0,50$	$\chi^2 = 0,05; 0,80 < P < 0,90$			
Paciente de Enfermaria	Sim	3 6 9	2 2 4	1 0 1	3 9 12			
	Não	7 25 32	8 29 37	9 31 40	7 22 29			
	Total	10 31 41	10 31 41	10 31 41	10 31 41			
	$\chi^2 = 0,50; 0,30 < P < 0,50$		$\chi^2 = 1,58; 0,20 < P < 0,30$	$\chi^2 = 3,18; 0,05 < P < 0,10$	$\chi^2 = 0,003; 0,95 < P < 0,98$			
Hansenianos	Sim	7 16 23	3 11 13	1 2 3	3 13 16			
	Não	0 17 17	4 22 26	6 31 37	4 20 24			
	Total	7 33 40	7 33 40	7 33 40	7 33 40			
	$\chi^2_{cor.} = 4,34; 0,02 < P < 0,05$		$\chi^2 = 0,23; 0,50 < P < 0,70$	$\chi^2 = 0,77; 0,30 < P < 0,50$	$\chi^2 = 0,02; 0,80 < P < 0,90$			

OBS.: Def. = deficiente
Cont. = controle

Tabela IV.4 - Comparação das interações prévias entre deficientes de G6-PD e seus controles normais nos três grupos estudados (doadores de sangue, pacientes de enfermaria e hansenianos).

Doadores	Internações			
	Def.	Cont.	Total	
	Sim	19	53	72
	Não	30	100	130
	Total	49	153	202
$\chi^2_1 = 0,27; 0,50 < P < 0,70$				
Enfermaria	Sim	7	21	28
	Não	3	10	13
	Total	10	31	41
	$\chi^2_1 = 0,01; 0,80 < P < 0,90$			
	Hansenianos	Sim	0	9
Não		7	24	31
Total		7	33	40
$\chi^2_1 = 2,46; 0,10 < P < 0,20$				

OBS.: Def. = deficiente

Cont. = controle

Tabela IV.5 - Comparação das proporções de indivíduos que referiram antecedentes sugestivos de hemólise (anemia, icterícia, "hepatite" e urina escura) entre doadores deficientes de G6-PD que fizeram uso de sulfas e/ou naftalina e doadores deficientes que não o fizeram.

Anemia			Icterícia			"Hepatite"			Urina escura		
Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total
Sim	0	1	3	0	3	1	1	2	3	0	3
Não	28	48	25	21	46	27	20	47	25	21	46
Total	28	49	28	21	49	28	21	49	28	21	49
$\chi^2_1 = 1,36; 0,20 < P < 0,30$			$\chi^2_1 = 2,45; 0,05 < P < 0,10$			$\chi^2_1 = 0,04; 0,90 < P < 0,95$			$\chi^2_1 = 2,39; 0,05 < P < 0,10$		

OBS.: Def. = deficiente com contato

Cont. = controle sem contato

Tabela IV.6 - Comparação das proporções de indivíduos que referiram antecedentes su-
gestivos de hemólise (anemia, icterícia, "hepatite" e urina escura) en-
tre deficientes de G6-PD de enfermarias que fizeram o uso de sulfas e/
ou naftalina e os deficientes que não o fizeram.

OBS.: A proporção de indivíduos que referiu anemia e icterícia, foi e-
xatamente a mesma nos dois grupos.

	"Hepatite"			Urina escura		
	Def. c/contato	Def. s/contato	Total	Def. c/contato	Def. s/contato	Total
Sim	1	0	1	2	1	3
Não	3	4	7	2	3	5
Total	4	4	8	4	4	8
$\chi^2_1 = 1,14; 0,20 < P < 0,30$			$\chi^2_1 = 0,53; 0,30 < P < 0,50.$			

OBS.: Def. = deficiente

Tabela IV.7 - Comparação das proporções de indivíduos que referiram antecedentes sugestivos de hemólise (anemia, icterícia, "hepatite" e urina escura) entre deficientes de G6-PD doadores de sangue que fizeram uso de sulfas e/ou naftalina e os seus controles normais para a enzima que também o fizeram.

Anemia			Icterícia			"Hepatite"			Urina escura		
Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total
Sim	0	1	3	2	5	1	0	1	3	3	6
Não	28	41	25	40	65	27	42	69	25	39	64
Total	28	42	28	42	70	28	42	70	28	41	70
$\chi^2_1 = 0,67; 0,30 < P < 0,50$			$\chi^2_1 = 0,89; 0,30 < P < 0,50$			$\chi^2_1 = 1,52; 0,20 < P < 0,30$			$\chi^2_1 = 0,27; 0,50 < P < 0,70$		

OBS.: Def. = deficiente
Cont. = controle

Tabela IV.8 - Comparação das proporções de indivíduos que referiram antecedentes sugestivos de hemólise (anemia, icterícia, "hepatite", e urina escura), entre os pacientes de enfermaria deficientes de G6-PD que fizeram uso de sulfas e/ou naftalina e seus controles normais que também o fizeram.

Anemia			Icterícia			"Hepatite"			Urina escura			
Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	Def.	Cont.	Total	
Sím	1	2	3	1	1	2	1	0	1	2	4	6
Não	3	13	16	3	14	17	3	15	18	2	11	13
Total	4	15	19	4	15	19	4	15	19	4	15	19
$\chi^2_1 = 0,32; 0,50 < P < 0,70$			$\chi^2_1 = 1,12; 0,20 < P < 0,30$			$\chi^2_1 = 3,75; 0,05 < P < 0,10$			$\chi^2_1 = 0,79; 0,30 < P < 0,50$			

OBS.: Def. = deficiente

Cont. = controle

Tabela IV.9 - Comparação das proporções de indivíduos com pelo menos uma internação hospitalar prévia entre deficientes de G6-PD doadores de sangue e pacientes de enfermaria que fizeram uso de sulfas e/ou naftalina e deficientes dos mesmos grupos que não o fizeram.

OBS.: As proporções de indivíduos internados no grupo de pacientes de enfermaria foi exatamente a mesma.

Doadores	Internações			
	Def. c/contato	Def. s/contato	Total	
	Sim	11	9	20
	Não	17	12	29
	Total	28	21	49
$\chi^2_1 = 0,06; P = 0,80.$				

OBS.: Def. = deficiente

Tabela IV.10 - Comparação das proporções de indivíduos com pelo menos uma internação hospitalar prévia entre deficientes de G6-PD doadores de sangue e pacientes de enfermarias que fizeram uso de sulfas e/ou naftalina e seus controles normais que também o fizeram.

Doadores	Internações			
	Def. c/contato	Normal c/contato	Total	
	Sim	11	14	25
	Não	17	28	45
	Total	28	42	70
$\chi^2_1 = 0,26; 0,50 < P < 0,70$				
Pac.enfermaria	Sim	4	8	12
	Não	0	7	7
	Total	4	15	19
	$\chi^2_1 = 2,85; 0,05 < P < 0,10$			

OBS.: Def. = deficiente

sentou, ao exame físico, um quadro icterico relevante. Apenas um paciente manifestou discretíssima icterícia de conjuntiva.

Quanto às alterações laboratoriais, o grupo de deficientes não diferiu significativamente do grupo controle quanto à concentração de hemoglobina, número de hemácias, hematócrito, metemoglobinemia, número de corpúsculos de inclusão e contagem de reticulócitos (Tabela IV.11). Dentre eles, um apresentou bilirrubina total maior que 0,8 mg%, quatro apresentaram bilirrubina direta superior a 0,4 mg% e bilirrubina indireta superior a 0,7 mg% (vide Anexo 3).

Na amostra de deficientes de G6-PD os valores de bilirrubina indireta mostraram-se correlacionados significativamente e negativamente com a concentração de hemoglobina, com o número de hemácias e com o hematócrito, enquanto que, os das bilirrubinas totais apresentaram correlações também negativas com o número de hemácias e com o hematócrito. Correlações significativas e positivas foram observadas entre a concentração de hemoglobina e o número de hemácias, entre a concentração de hemoglobina e o hematócrito e entre os valores de bilirrubinas totais e os de bilirrubinas indiretas (Tabela IV.12).

Entre os hansenianos com atividade normal de G6-PD, foram observadas correlações significativas e positivas entre a concentração de hemoglobina e o hematócrito, entre a concentração de hemoglobina e o número de hemácias e entre este último e o hematócrito (Tabela IV.13).

Dentre os nove deficientes de G6-PD, não hansenianos internados em diferentes hospitais de Campinas, nenhum apresentou alteração clínica indicativa de anemia hemolítica importante.

IV.5 - *Caracterização de uma amostra de deficientes quanto às variantes de G6-PD.*

Dentre os 57 deficientes de G6-PD submetidos ao en-

Tabela IV.11 - Comparação das proporções de indivíduos cujos exames laboratoriais mostraram-se anormais (concentração de hemoglobina menor que 13 g%, número de hemácias menor que $4,4 \times 10^6/\text{mm}^3$, hematócrito menor que 40%, metemoglobina maior que 2,5g%, reticulócitos acima de 2% e corpúsculos de inclusão presentes entre deficientes de G6-PD hansenianos e seus controles normais, na vigência do uso de DDS.

Hb <13 g%	Hemácias<4,4x10 ⁶ /mm ³		Hematócrito<40%		Metemoglobina>2,5g%		Reticulócitos>2%		Corp.de incl. ≠ 0		
	Def.	Cont. Total	Def.	Cont. Total	Def.	Cont. Total	Def.	Cont. Total	Def.	Cont. Total	
Sim	7	8 15	6	4 10	4	6 10	1	1 2	1	0 1	
Não	0	1 1	1	5 6	3	3 6	6	6 12	6	8 14	
Total	7	9 16	7	9 16	7	9 16	7	7 14	7	9 16	
$\chi^2_1 = 0,82; 0,30 < P < 0,50$		$\chi^2_1 = 2,86; 0,05 < P < 0,10$		$\chi^2_1 = 0,15; 0,50 < P < 0,70$		$\chi^2_1 = 0; P = 1$		$\chi^2_1 = 0,03; 0,80 < P < 0,90$		$\chi^2_1 = 1,37; 0,20 < P < 0,30$	

OBS.: Def. = deficiente

Cont. = controle

Tabela IV.12 - Coeficientes de correlação entre as variáveis quantitativas referentes ao hemograma e a idade dos pacientes hansenianos deficientes de G6-PD. Os coeficientes de correlação significativos aos níveis de 0,05%, 0,01% e 0,001% estão assinalados respectivamente por *, ** e ***.

	Idade	Hemoglobina	Nº de Hemácias	Hematócrito	Reticulócitos	Ativ.enzimática	Bil.totais	Bil.direta
Hemoglobina	-0,299							
Nº de hemácias	-0,266	0,757*						
Hematócrito	-0,224	0,974***	0,772*					
Reticulócitos	0,394	-0,467	-0,710	-0,517				
Ativ.enzimática	-0,503	0,039	0,052	0,165	-0,247			
Bil. totais	0,438	-0,713	-0,801*	-0,778*	0,533	-0,422		
Bil. direta	0,369	-0,027	0,077	-0,050	-0,116	-0,274	0,460	
Bil. indireta	0,370	-0,778*	-0,908**	-0,843**	0,624	-0,381	0,961***	0,197

OBS.: Ativ. = atividade

Bil. = bilirrubina

Tabela IV.13 - Coeficientes de correlação entre as variáveis quantitativas referentes ao hemograma e a idade dos pacientes hansenianos com atividade normal de G6-PD. Os coeficientes significativos aos níveis de 0,05%, 0,01% e 0,001% estão assinalados respectivamente por *, ** e ***.

	Idade	Hemoglobina	Nº de Hemácias	Hematócrito
Hemoglobina	-0,096			
Nº de Hemácias	-0,073	0,896***		
Hematócrito	-0,124	0,967***	0,939***	
Reticulócitos	0,407	0,041	-0,117	0,035

saio enzimático e a eletroforese de G6-PD, 55 (41 negróides e 14 caucasóides) apresentaram uma variante deficiente de G6-PD com migração eletroforética rápida, compatível com a A⁻. Apenas 2 deficientes caucasóides apresentaram características eletroforéticas altamente sugestivas da variante Mediterrânea. Assim sendo, tal variante foi observada em 12,5% dos deficientes caucasóides examinados (vide Anexo 4).

Dentre os 16 caucasóides, 6 (37,5%) eram descendentes de italianos, inclusive os com a provável variante Mediterrânea. Dessa forma, tal variante foi observada em 33,3% dos deficientes caucasóides descendentes de italianos.

IV.6 - *Investigação das consequências clínicas da transfusão de sangue deficiente de G6-PD.*

A ocorrência de febre, tremores e urina escura não diferiu entre os 29 pacientes que receberam transfusão de sangue deficiente de G6-PD e os 133 controles que foram transfundidos com sangue com atividade normal dessa enzima. A icterícia, no entanto, foi mais frequente entre os pacientes que receberam sangue deficiente de G6-PD (Tabela IV.14).

O tempo médio de estocagem dos sangues deficientes de G6-PD transfundidos (5,03 dias; $s(x)=4,41$) não diferiu significativamente daquele dos sangues normais (5,64 dias; $s(x)=4,64$) ($t_{c 160 \text{ G.L. } 1,96}$ e t calculado 0,64).

Da mesma forma, as outras possíveis causas de hemólise (politransfusões e hemólise mecânica) também ocorreram igualmente nos dois grupos (Tabela IV.15).

A frequência de reações pós-transfusionais não se mostrou associada, também, à cor dos doadores deficientes de G6-PD (Tabelas IV.16 e IV.17)

IV.7 - *Estudo da eventual associação entre a deficiência de G6-PD e a hemoglobina S.*

Dentre os 70 negróides deficientes de G6-PD submetidos à investigação da hemoglobina S, foram diagnosticados 4

Tabela IV.14 - Comparação das proporções de indivíduos que apresentaram reações pós-transfusionais entre os que receberam sangue normal e sangue deficiente de G6-PD. SN(sangue normal) SD (sangue deficiente)

Tremores			Febre			Icterícia			Urina escura		
SN	SD	Total	SN	SD	Total	SN	SD	Total	SN	SD	Total
Sim	14	4	14	7	21	Sim	1	3	Sim	1	1
Não	119	25	119	22	141	Não	132	26	Não	132	28
Total	133	29	133	29	162	Total	133	29	Total	133	29
$\chi^2_1=0,25; 0,50 < P < 0,70$			$\chi^2_{1\text{cor.}}=2,79; 0,05 < P < 0,10$			$\chi^2_{1\text{cor.}}=5,55; 0,01 < P < 0,02$			$\chi^2_1=1,42; 0,10 < P < 0,20$		

Tabela IV.15 - Comparação das proporções com que ocorreram outras possíveis causas de hemólise durante a transfusão de sangue normal e deficiente para G6-PD

Politransfusões			Hemólise mecânica		
SN	SD	Total	SN	SD	Total
Sim	19	7	Sim	1	2
Não	114	22	Não	132	28
Total	133	29	Total	133	29
$\chi^2_1=1,71; 0,10 < P < 0,20$			$\chi^2_1=1,41; 0,10 < P < 0,20$		

Tabela IV.16 - Comparação das proporções de reações sugestivas de hemólise (tremor, febre, icterícia e urina escura) entre pacientes que receberam sangue deficiente de G6-PD provenientes de doadores de negróides e caucasóides.

Tremor			Febre			Icterícia			Urina escura			
	Negróide	Caucasóide	Total	Negróide	Caucasóide	Total	Negróide	Caucasóide	Total	Negróide	Caucasóide	Total
Sim	2	2	4	4	2	6	2	1	3	1	1	2
Não	16	9	25	14	9	23	16	10	26	17	10	27
Total	18	11	29	18	11	29	18	11	29	18	11	29
$\chi^2_1 = 0,28; 0,50 < P < 0,70$			$\chi^2_1 = 0,06; P = 0,80$			$\chi^2_1 = 0,30; 0,50 < P < 0,70$			$\chi^2_1 = 0,13; 0,70 < P < 0,80$			

Tabela IV.17 - Comparação das proporções com que ocorreram outras prováveis causas de hemólise entre os pacientes que receberam sangue deficiente de G6-PD proveniente de doadores negróides e caucasóides.

Politransfusões			Hemólise mecânica			
	Negróide	Caucasóide	Total	Negróide	Caucasóide	Total
Sim	5	2	7	0	2	2
Não	13	9	22	18	9	27
Total	18	11	29	18	11	29
$\chi^2_1 = 2,40; 0,10 < P < 0,20$			$\chi^2_1 = 3,51; 0,05 < P < 0,10$			

portadores do traço siclêmico (5,7%). Tal proporção de heterozigotos AS não difere significativamente da esperada ao acaso entre negróides do Sul e Sudeste brasileiros, uma vez que a frequência do traço siclêmico nessas populações pode ser estimada em 6,6% quando se reúnem os dados a respeito de 4.499 indivíduos investigados por TONDO e SALZANO (1962), ARAÚJO (1965), SALZANO *et al.* (1968), CÉZAR *et al.* (1974) e RAMALHO (1979, 1983) ($\chi^2_1 = 0,08$; $0,70 < P < 0,80$).

V - DISCUSSÃO

Ao analisar qualquer problema relacionado à farmacogenética e/ou à ecogenética em uma população humana, é imprescindível que se leve em conta três variáveis, ou seja:

- a) a frequência da alteração genética na população;
- b) o grau de exposição aos fatores desencadeantes da reação indesejada;
- c) a gravidade das manifestações clínicas apresentadas pela maioria dos afetados.

Essas três variáveis irão definir, em conjunto, se a heredopatia analisada constitui um problema médico importante ao nível da população ou ao nível de indivíduos e famílias. Ambas as situações, evidentemente, são relevantes do ponto de vista médico.

Quanto à deficiência de G6-PD, a única informação consistente que se dispunha na região de Campinas dizia respeito à sua alta prevalência na fração masculina da população. Por esse motivo, ao idealizar-se o presente trabalho, julgou-se importante investigar, fundamentalmente, o grau de exposição a alguns fatores potencialmente hemolíticos do meio ambiente e, sobretudo a morbidade da enzimopenia em nosso meio. Julgou-se interessante, também, obter algumas informações complementares a respeito da população de deficientes, tais como a sua procedência, origem étnica, variantes de G6-PD mais comumente apresentadas, etc. Em nenhum momento, no entanto, deixou-se de ter em mente que a deficiência de G6-PD seria um problema médico importante na região de Campinas, mesmo se os dados obtidos no trabalho não sugerissem uma importância ao nível de Saúde Pública. Por esse motivo, também julgou-se de grande interesse prático avaliar a eficiência de um método simples e econômico de identificação de deficientes de G6-PD, passível de ser usado em larga escala na população.

A realização de um trabalho dessa natureza exigia, antes de mais nada, a identificação de um bom número de deficientes de G6-PD na região de Campinas, já que a casuística dessa enzimopenia ainda era extremamente limitada nos serviços médicos da cidade. É interessante comentar, aliás, que essa situação é comum a praticamente todo o resto do território nacional, de forma que os pacientes diagnosticados e examinados no presente trabalho já permitem classificar a casuística do Departamento de Genética Médica da UNICAMP dentre as maiores do país.

Frente à necessidade de definir as características das populações nas quais os deficientes de G6-PD seriam triados, julgou-se conveniente escolher, para o presente trabalho três situações:

- 1) uma população extra-hospitalar adulta, em condições de saúde compatíveis com as atividades normais da vida diária;
- 2) uma população hospitalar adulta, representada por pacientes internados para tratamento clínico e/ou cirúrgico;
- 3) uma população de doentes adultos, submetidos a tratamento com alguma droga capaz de desencadear hemólise nos deficientes de G6-PD.

Feitas essas considerações iniciais, torna-se mais fácil, agora, discutir alguns aspectos médicos da deficiência de G6-PD, a partir das informações obtidas na presente pesquisa.

A triagem dos deficientes de G6-PD nas populações

A investigação sistemática dos deficientes de G6-PD na população e a sua orientação médica são imprescindíveis para a prevenção de complicações hemolíticas nesses indivíduos. Tais procedimentos, aliás, vêm sendo sugeridos em nosso meio já há algum tempo por vários autores (RAMALHO e BEIGUELMAN, 1976; BEIGUELMAN, 1979; AZEVEDO, 1978, RAMALHO, 1979, 1980, en

tre outros)), embora poucos programas assistenciais nesse sentido tenham se concretizado em nosso país.

Dentre os exames laboratoriais disponíveis para a detecção dos deficientes de G6-PD, o teste de redução da metemoglobina (BREWER *et al.*, 1962) é um dos mais adequados para estudos populacionais, por ser extremamente simples e econômico, já que utiliza apenas reagentes de baixo custo, ou seja, nitrato de sódio, glicose e azul de metileno.

Segundo BAPAT *et al.* (1976), no entanto, tal teste apresenta a desvantagem de diagnosticar muitos casos falsamente positivos, superestimando a frequência real da enzimopenia nas populações estudadas. Tal conclusão gerou controvérsias na literatura, já que outros autores, como é o caso de OSKI e NAIMAN, (1972), por exemplo, afirmam que o teste da redução da metemoglobina é extremamente confiável.

Frente a essa situação, julgou-se conveniente verificar a eficiência do teste em discussão em uma amostra de brasileiros deficientes de G6-PD, já que os outros testes de triagem da enzimopenia são pouco adequados para o uso em larga escala em nosso meio, seja por utilizarem reagentes muito tóxicos, como é o caso do teste do ascorbato cianeto, ou senão, muito caros, como é o caso do teste do descoramento do azul cresil brilhante.

Os dados obtidos no presente trabalho sugerem que o teste de redução da metemoglobina é, realmente, um teste confiável, uma vez que não foram observados resultados falsamente positivos em uma amostra de 57 indivíduos cuja deficiência de G6-PD foi confirmada pelos outros métodos, inclusive pela dosagem enzimática. É interessante comentar, aliás, que tal amostra é bem maior que a analisada por BAPAT *et al.* (1976), na qual haviam 14 casos certamente deficientes de G6-PD.

Várias críticas podem ser tecidas ao trabalho de BAPAT *et al.* (1976). Assim, por exemplo, os casos falsamente deficientes de G6-PD constatados por esses autores eram todos

recém-nascidos, entre os quais, como se sabe, pode realmente ocorrer uma deficiência transitória de várias enzimas eritrocitárias, como a NADH-redutase de metemoglobina (ROSS, 1963), a catalase (JONES e McCANCE, 1949), a anidrase carbônica (HAUT *et al.*, 1962) a peroxidase do glutatião (NECHELES *et al.*, 1968) e a própria G6-PD (VULLO e TUNIOLI, 1961). Tal "deficiência fisiológica" é devida, evidentemente, à imaturidade enzimática.

Além disso, as conclusões de BAPAT *et al.* (1976) baseiam-se, em grande parte, em alguns conceitos equívocos, como, por exemplo, o de que os indivíduos com metemoglobinemia congênita poderiam ser confundidos com os deficientes de G6-PD no teste de redução da metemoglobina. Isso na verdade, não ocorre, já que na metemoglobinemia congênita existe uma deficiência hereditária de NADH-redutase de metemoglobina, e não de NADPH-redutase, como supõem os autores acima citados. É interessante comentar que a redução da metemoglobina é feita, *in vivo*, quase que exclusivamente às custas do sistema enzimático da NADH-redutase, apresentando o sistema de NADPH redutase papel fisiológico praticamente nulo (SCOTT *et al.*, 1965; SCHWARTZ e JAFFE, 1981). Já o teste de BREWER *et al.* (1962) baseia-se na estimulação, *in vitro*, do sistema da NADPH-redutase pelo azul de metileno, sistema esse, evidentemente, conservado nos indivíduos com metemoglobinemia hereditária. Cumpre ressaltar, também, que a deficiência da NADPH-redutase é extremamente rara, tendo sido descrita em um único indivíduo, que não apresentava nenhuma alteração clínica digna de registro (SASS *et al.*, 1967).

Os resultados do presente trabalho não evidenciaram, portanto, nenhuma vantagem em substituir o teste de redução da metemoglobina por outros exames de triagem ou, mesmo, em aumentar seu tempo de incubação de 3 para 4 horas. É interessante lembrar, no entanto, que tal exame sofre restrições quando usado em recém-nascidos, sobretudo prematuros, e que a sua execução exige alguns cuidados especiais, tais como o uso de sangue recém-colhido, a conservação das amostras sob refrigeração e a correção do hematócrito, quando necessário, para 40-

45%.

A população de deficientes de G6-PD

Ao analisar algumas características dos deficientes de G6-PD detectados no presente trabalho, chama a atenção, em primeiro lugar, o fato de 40% desses indivíduos serem imigrantes, oriundos, sobretudo, dos Estados Nordestinos (20%) e de Minas Gerais (12,5%).

Como seria de esperar, os 41 deficientes de G6-PD negróides submetidos à eletroforese revelaram possuir a variante A⁻. Curiosamente, no entanto, essa variante também foi observada em 87,5% dos deficientes caucasóides examinados, sendo a variante Mediterrânea encontrada na minoria desses indivíduos. Considerando, no entanto, a origem étnica dos deficientes, tal variante passou a ocupar lugar de maior destaque entre os descendentes de italianos, já que foi encontrada em 33,3% desses indivíduos.

Tais resultados indicam que, na população caucasóide estudada, a miscigenação com negróides foi mais importante que a com italianos. Esse dado possui, evidentemente, notável valor prático, uma vez que, a variante Mediterrânea de G6-PD determina, em geral, manifestações clínicas mais sérias que a variante A⁻.

Cumprе lembrar, no entanto, que a amostragem utilizada no presente trabalho, embora reflita uma considerável parcela da população de Campinas, não a representa como um todo, uma vez que estiveram excluídas as minorias de nível sócio-econômico mais elevado.

As características da população de deficientes de G6-PD detectados na região de Campinas não podem ser comparadas, por motivos óbvios, com as de deficientes detectados em outras regiões do país. No entanto, é curioso mencionar que dentre os 9 deficientes de G6-PD caucasóides examinados por

WEIMER *et al.* (1981) em Porto Alegre, RS, 5 apresentavam a variante Mediterrânea, 3 apresentavam a variante A⁻ e 1 apresentava a variante "Seattle-like" (GdSL-). Já dentre os 18 deficientes negróides examinados nesse trabalho, 17 apresentava a variante A⁻ e 1 apresentava a variante Mediterrânea. Por outro lado, dentre os 30 deficientes de G6-PD detectados por AZEVEDO e AZEVEDO (1974) em uma população de recém-nascidos mestiços de Salvador, Ba, 29 apresentavam a variante A⁻ e 1 apresentava a variante Mediterrânea (Gd B-).

Os fatores do meio ambiente capazes de desencadear hemólise nos deficientes de G6-PD.

A naftalina talvez seja, dentre os fatores do meio ambiente capazes de desencadear hemólise nos deficientes de G6-PD, o de uso mais generalizado em nosso meio. De fato, na amostra examinada no presente trabalho, praticamente 50% dos enzimopênicos relataram ter contato freqüente com essa substância. Curiosamente, a naftalina, facilmente encontrada em qualquer supermercado brasileiro, é capaz de desencadear hemólise nos deficientes tanto pelo contato direto, quanto pelo uso de roupas guardadas em armários que a contenham.

Além disso, 50% dos deficientes examinados mantinham contato freqüente com diversas substâncias químicas em sua atividade profissional diária. Dessa forma, tais indivíduos corriam maior risco, evidentemente, de ter contato com alguma substância incompatível com a deficiência de G6-PD, como é o caso, por exemplo, dos nitritos voláteis. Por essa razão, o problema da deficiência de G6-PD também deveria ser levado em conta, em nosso meio, em Medicina do Trabalho, já que é possível que pessoas com enzimopenia sofram crise hemolítica em consequência da absorção de certos produtos pela pele ou pelas vias respiratórias (RAMALHO e BEIGUELMAN, 1976; BEIGUELMAN, 1979).

Já dentre os produtos farmacêuticos capazes de desen

cadear hemólise nos deficientes de G6-PD, o ácido acetil salicílico e as sulfas são, sem dúvida alguma, os de uso mais frequentes no nosso meio. O AAS é de uso praticamente universal. Já as sulfas, sobretudo a sulfadiazina, são muito usadas entre nós no tratamento das infecções, por serem eficientes e apresentarem, em geral, baixo preço. De fato, 16,6% dos enzimopênicos examinados no presente trabalho relataram já terem sido certamente medicados uma ou mais vezes com sulfas.

Vários outros antibacterianos, como é o caso do cloranfenicol, de furadantina, de furazolidina, do ácido nalidíxico, etc., também são de uso relativamente frequente em nosso meio. Quanto a esse aspecto, é importante comentar que 66,6% dos enzimopênicos examinados no presente trabalho já haviam sido tratados anteriormente de infecções importantes, embora não soubessem informar o nome dos produtos farmacêuticos empregados.

Ainda em relação aos fármacos potencialmente prejudiciais aos deficientes de G6-PD, é importante comentar que vários deles fazem parte de elenco de medicamentos CEME* elaborado pela equipe de assistência farmacêutica do INAMPS, para atender aos segurados da Previdência Social. Dentre eles, merecem destaque, a sulfadiazina, cloranfenicol, a nitrofurantoína, ácido nalidíxico, a quinidina, etc. (Elenco de Medicamentos CEME para Assistência Farmacêutica, 1981).

Da mesma forma, 12,5% dos produtos constantes da relação de medicamentos do CEME existentes na farmácia do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas por ocasião da realização do presente trabalho eram potencialmente prejudiciais aos deficientes de G6-PD.

Do exposto, é fácil concluir que os deficientes de G6-PD têm alta probabilidade de serem medicados, durante um eventual tratamento médico, com substâncias capazes de desencadear hemólise. Evidentemente, tal risco será ainda maior nas internações hospitalares, quando, em geral os pacientes recebem medicação mais intensiva. Quanto a esse aspecto vale

*CEME = Central de medicamentos, órgão oficial encarregado da produção de medicamentos essenciais.

a pena comentar que quase 60% dos deficientes de G6-PD examinados no presente trabalho já haviam tido uma ou mais internações hospitalares anteriores.

A morbidade da deficiência de G6-PD na região de Campinas

Como um dos critérios adotados no presente trabalho para avaliar a morbidade da deficiência de G6-PD na região de Campinas foi investigar a frequência de antecedentes sugestivos de hemólise em uma amostra de enzimopênicos, teve-se o cuidado de triar tais indivíduos em uma população hospitalar e em outra extra-hospitalar, representada por doadores de sangue.

Quanto a esses últimos, é importante lembrar que são voluntários que fazem uma doação não remunerada de sangue, muitas vezes para parentes internados em diversos hospitais de Campinas. Dessa forma, tais indivíduos não têm qualquer interesse em fornecer informações incorretas ao entrevistador. Mesmo assim, foram tomados alguns cuidados na obtenção dos antecedentes sugestivos de hemólise, como, por exemplo, o da própria autora colher as informações durante uma consulta médica. Além disso, apesar de o significado dos termos médicos ter sido explicado para os pacientes, incluiu-se a "hepatite" dentre os antecedentes sugestivos de hemólise, pelo fato de esse termo ser frequentemente usado pelos leigos como sinônimo de icterícia.

Tal critério de investigação não evidenciou, no entanto, maior ocorrência de episódios hemolíticos entre os deficientes de G6-PD examinados no presente trabalho. Curiosamente, a ocorrência dos antecedentes sugestivos de hemólise independeram do tipo de amostra (hospitalar ou extra-hospitalar) ou do contato prévio com naftalina e/ou sulfas. Esse fato indica que a intensidade de contato dos enzimopênicos com essas drogas foi insuficiente para provocar hemólise importante.

É importante ressaltar, no entanto, que as informações referentes dos antecedentes mórbitos não excluem a possi

bilidade de a hemólise ter ocorrido a nível subclínico. Tal eventualidade, contudo, apresenta pequeno interesse médico.

Ao discutir a ocorrência dos antecedentes sugestivos de hemólise, é necessário tecer alguns comentários no que diz respeito dos doadores de sangue. Assim, é importante esclarecer que a triagem da deficiência de G6-PD foi feita em todos os indivíduos que compareceram ao Serviço de Hemoterapia para doar sangue, independentemente de qualquer seleção prévia. Dessa forma, os voluntários com antecedentes de icterícia ou de "hepatite" não foram excluídos da triagem para a deficiência de G6-PD, embora fossem, posteriormente, dispensados da doação de sangue. Tal cuidado, evidentemente, evitou que a morbidade da deficiência de G6-PD fosse subestimada na amostra extra-hospitalar.

A avaliação dos antecedentes sugestivos de hemólise em doadores de sangue ainda oferece, teoricamente, outra possibilidade de subestimar a morbidade da deficiência de G6-PD, ou seja, a de que muitos indivíduos gravemente afetados no passado não se oferecessem para doar sangue. No entanto, se isso fosse verdade, a frequência dos enzimopênicos entre doadores de sangue deveria ser menor que a observada na população masculina em geral, o que parece não ocorrer na região de Campinas. De fato, analisando os dados de RAMALHO (1979), é fácil constatar que as frequências da deficiência de G6-PD encontradas entre 48 doadores de sangue negróides (10,42%) e 156 caucasóides (2,56%) não diferem significativamente das encontradas entre 81 recrutas negróides (13,58%) ($\chi^2_1=0,27; 0,50 < P < 0,70$) e 156 caucasóides (0,55%) ($\chi^2_1=3,82; 0,05 < P < 0,10$) da Junta de Alistamento Militar. Esse fato, por si só, também, fala a favor de uma baixa morbidade da deficiência de G6-PD na região de Campinas.

A ocorrência de internações hospitalares também pode ser usada como um critério indireto de avaliação do grau

morbidade de uma determinada entidade clínica, critério esse aliás, usado por AZEVEDO *et al.* (1978) em seu estudo a respeito da deficiência de G6-PD feito em Salvador, Ba. De acordo com esse critério, os dados obtidos no presente estudo também sugerem uma baixa morbidade de deficiência de G6-PD na região de Campinas, uma vez que a ocorrência de pelo menos uma internação hospitalar prévia não foi freqüente entre os enzimopênicos. Esse resultado concorda com os de AZEVEDO *et al.* (1978), se bem que esses autores tenham constatado um excesso de icterícia entre os deficientes de G6-PD. Segundo esses autores, a deficiência de G6-PD não é suficientemente grave no Nordeste do Brasil para provocar um aumento significativo do número de hospitalizações entre seus portadores, embora seja capaz de causar icterícia clinicamente detectável.

Os resultados do estudo da amostra de hansenianos tratados com DDS também concordaram com os obtidos pelos outros critérios de avaliação da morbidade da deficiência de G6-PD em nosso meio, ou seja, que tal enzimopenia não deve causar alterações clínicas graves na maioria dos casos.

De fato, se o tratamento com DDS determinasse hemólise clinicamente importante na maioria dos hansenianos com deficiência de G6-PD, é lógico que seriam esperados os seguintes dados:

- 1) Os antecedentes sugestivos de hemólise seriam freqüentes entre esses indivíduos;
- 2) Caso a hemólise fosse suficientemente grave para levar muitos pacientes a óbito, a frequência da enzimopenia seria menor entre os hansenianos que na população geral;
- 3) Os exames clínicos e laboratoriais dos doentes acusariam uma anemia hemolítica importante.

Essas três situações, no entanto, não foram verificadas no presente trabalho.

Realmente, dentre os antecedentes sugestivos de hemólise, apenas a anemia foi mais freqüente entre os hansenianos

deficientes de G6-PD, não tendo sido constatado aumento da ocorrência das outras manifestações que geralmente acompanham um episódio hemolítico grave, ou seja, a icterícia ou "hepatite" e o aparecimento da urina escura.

É importante lembrar, no entanto, que um certo grau de hemólise pode ocorrer sem o aparecimento de icterícia e urina escura. É plausível supor, portanto, que os deficientes de G6-PD apresentem, no início do tratamento com DDS, uma hemólise leve, suficiente para causar um certo grau de anemia, mas incapaz de determinar manifestações clínicas evidentes de icterícia e escurecimento da urina. Com o decorrer do tratamento, no entanto, poderia ocorrer um processo adaptativo, que permitiria à hemólise transcorrer totalmente a nível sub-clínico, sem manifestações de anemia, icterícia ou urina escura.

Da mesma forma, o tratamento com DDS não deve constituir um fator seletivo importante entre os hansenianos deficientes de G6-PD, uma vez que a frequência da enzimopenia não difere significativamente entre doentes e controles da mesma região. De fato, as frequências de deficientes encontrados no presente trabalho entre os 145 hansenianos caucasóides (0,69%) e 38 negróides (15,8%) não diferiram significativamente das encontradas por RAMALHO (1979) entre 517 doadores de sangue e recrutas caucasóides (1,16%) ($\chi^2=0,24$; $0,50 < P < 0,70$) e 129 negróides (12,4%) ($\chi^2=0,29$; $0,50 < P < 0,70$) da região de Campinas. Esses dados concordam com os de BEIGUELMAN, *et al.* (1968), bem como com os obtidos em outros países (LANGUILLON, *et al.*, 1973). Esses resultados indicam, evidentemente, que o tratamento com sulfonas não determina o aparecimento de crises hemolíticas fatais na maioria dos hansenianos deficientes de G6-PD, sejam eles caucasóides ou negróides.

Esses dados são concordantes, também, com os verificados durante o exame físico e laboratorial dos hansenianos deficientes de G6-PD medicados com DDS. Isso porque, além de não se constatar nenhum caso com sinais indicativos de anemia hemolítica grave entre esses indivíduos, também não se verifi

cou, entre eles, excesso de casos com diminuição da concentração de hemoglobina, com diminuição do hematócrito, com diminuição do número de hemácias, com metemoglobinemia, com reticulocitose ou presença de corpúsculos de inclusão, em comparação a seus controles.

A diminuição do hematócrito também não foi constatada entre os hansenianos deficientes de G6-PD tratados com sulfonas examinadas por LANGUILLON, *et al.* (1973) e por BEIGUELMAN *et al.* (1978) embora esses últimos autores tenham verificado a presença de corpúsculos de inclusão em 46% dos pacientes. Da mesma forma, PEITTIT e CHIN (1964), trabalhando na Malásia, apesar de terem encontrado uma média de hematócrito ligeiramente menor entre os hansenianos deficientes de G6-PD, também não constataram manifestações sugestivas de hemólise entre seus pacientes. Assim sendo, os dados do presente trabalho, somados aos da literatura especializada, indicam que a deficiência de G6-PD não deve, realmente, interferir significativamente no curso do tratamento da hanseníase com sulfonas.

A ausência de manifestações hemolíticas exuberantes não exclui, no entanto, a possibilidade de que um certo grau de hemólise esteja, na verdade, ocorrendo a nível subclínico. Aliás, as correlações significativas e inversas da bilirrubina indireta com o número de hemácias, com o hematócrito e a concentração da hemoglobina, sugerem que um certo grau de hemólise possa estar ocorrendo entre os hansenianos deficientes de G6-PD examinados no presente trabalho. Da mesma forma, os dados de BEIGUELMAN *et al.* (1968) também sugerem que uma hemólise subclínica tenha ocorrido em seus pacientes.

Já os dados referentes aos deficientes de G6-PD internados em hospitais de Campinas são menos informativos, em termos de morbidade de enzimopenia, que os verificados entre os hansenianos, uma vez que tais indivíduos não se encontravam, necessariamente, submetidos à terapêutica potencialmente hemolítica no momento da detecção. De qualquer forma, nenhum

desses pacientes apresentou ao exame físico qualquer alteração sugestiva de hemólise.

Reunindo os dados averiguados pelos diversos critérios de avaliação de morbidade, é possível concluir, portanto, que a deficiência de G6-PD não determinou o aparecimento de alterações clínicas graves na amostra de enzimopênicos examinados no presente trabalho. Transpondo esses dados para a população, é plausível supor que a deficiência de G6-PD não deva constituir, realmente, um problema de Saúde Pública no nosso meio, embora não esteja excluída a possibilidade de um ou outro enzimopênico manifestar, esporadicamente, complicações clínicas graves ou até mesmo fatais.

Nunca seria demais insistir, também, que os dados do presente trabalho devem ser complementados com os de outros estudos, realizados em frações diferentes da população de Campinas, como, por exemplo, em recém-nascidos, em camadas de nível sócio-econômico mais elevados, etc.

A transfusão do sangue deficiente de G6-PD

A contra-indicação do emprego de sangue de doadores deficientes de G6-PD em transfusões é bastante controvertida na literatura especializada. De fato, embora a Organização Mundial de Saúde não tenha registrado, pelo menos até 1967, dados suficientemente convincentes para fazer objeções a esse procedimento e alguns autores, como BEUTLER (1981), por exemplo, não fazerem restrições sérias a esse tipo de transfusão, a não ser em algumas situações especiais, outros autores como MOLLISON (1974), a contra-indicam formalmente. Além disso, existem evidências de diminuição de viabilidade das hemácias deficientes durante a estocagem do sangue (ORLINA *et al.*, 1970).

No Brasil, apesar de a investigação da deficiência de G6-PD ter sido recomendada por alguns autores na seleção de doadores de sangue (RAMALHO e BEIGUELMAN, 1976; AZEVEDO ,

1978; RAMALHO, 1979; BEIGUELMAN, 1983), tal conduta ainda não está incluída na rotina da grande maioria dos Serviços de Hemoterapia. Assim, por exemplo, no Banco de Sangue do Hospital das Clínicas da UNICAMP, não é feita nenhuma restrição ao uso do sangue deficiente de G6-PD em transfusões, o que aliás, permitiu a que a investigação das consequências clínicas de tal procedimento fosse incluída no presente trabalho.

Comparando-se, neste estudo, as frequências de reações pós-transfusionais nos 29 pacientes que receberam sangue com atividade normal dessa enzima, encontrou-se, entre os primeiros, um excesso, apenas, de icterícia leve de conjuntiva, não se constatando diferença quanto a ocorrência de tremores, febre e urina escura. Em nenhum caso constatou-se o aparecimento de sinais e sintomas sugestivos de uma intercorrência hemolítica grave no receptor, durante o período em que os pacientes permaneceram internados. A cor do doador de sangue enzimopênico não influenciou na ocorrência de reações pós-transfusionais.

Curiosamente, não foram observadas complicações hemolíticas nos pacientes transfundidos com sangue deficiente de G6-PD que estavam sendo medicados com drogas incompatíveis.

Esses dados sugerem que na maioria das transfusões de sangues deficientes de G6-PD realizadas em nosso meio não devam ocorrer, realmente, complicações hemolíticas importantes. Isso talvez se deva, pelo menos em parte, ao fato de a maioria dos doadores de sangue apresentar a variante A⁻ de G6-PD. Aqui também é importante ressaltar que a possibilidade da ocorrência de reações pós-transfusionais graves em casos esporádicos de uso de sangue deficiente de G6-PD não está excluída, sobretudo se o doador apresentar a variante Mediterrânea e o receptor estiver sendo medicado com drogas incompatíveis.

Além disso, convém lembrar que a investigação da deficiência de G6-PD entre doadores de sangue é importante não apenas para a proteção do receptor, mas também para a iden

tificação de deficientes de G6-PD na população e prevenção de eventuais complicações hemolíticas nesses indivíduos.

A associação entre hemoglobina S e a deficiência de G6-PD

A existência ou não de uma associação entre a hemoglobina S e a deficiência de G6-PD também é um assunto bastante controvertido na literatura. Assim, enquanto a associação entre essa enzimopenia e a anemia falciforme mostrou-se bastante evidente nos trabalhos de LEWIS e HATHOR (1963, 1965) realizados em Gana, ela não foi constatada em vários outros trabalhos realizados nos Estados Unidos, na África e na Jamaica (NAYLOR *et al.*, 1960; MILNER e SERJEANT, 1969; LUZATTO, 1973; STEINBERG e DREILING, 1973; BEUTLER *et al.*, 1974; HELLER *et al.*, 1979).

De acordo com PIOMELLI *et al.* (1972), no entanto, esses resultados discordantes podem dever-se, pelo menos em parte, a diferença na metodologia empregada no diagnóstico da deficiência de G6-PD, já que a reticulocitose normalmente presente na anemia falciforme pode determinar um aumento na atividade dessa enzima, mascarando o genótipo deficiente. Esses autores, empregando técnicas citoquímicas e estudos familiares, encontraram uma associação significativa entre a anemia falciforme e a deficiência de G6-PD.

Outro aspecto ainda controvertido da interação entre essas duas entidades diz respeito às suas consequências clínicas, já que alguns autores concluem que ela atenua as manifestações da anemia falciforme (LEWIS *et al.*, 1966; PIOMELLI *et al.*, 1972), enquanto que outros defendem justamente a possibilidade do efeito inverso (SERJEANT, 1974).

Do exposto, fica claro que os pacientes com anemia falciforme, ou seja, os homozigotos do gene da hemoglobina S, não constituem a casuística ideal para a investigação da eventual associação entre a hemoglobina S e a deficiência de G6-PD,

uma vez que manifestam uma anemia hemolítica acompanhada, portanto, de reticulocitose e de diminuição da vida média das hemácias. Tal investigação é verificada com maior vantagem, evidentemente, entre os heterozigotos do gene da hemoglobina S, portadores do traço ou estigma falciforme, já que esses indivíduos são clinicamente assintomáticos e não manifestam alterações capazes de interferir na atividade de G6-PD (PIOMELLI *et al.*, 1972).

Os resultados obtidos no presente trabalho, não favoreceram a hipótese de existir, em nosso meio, uma associação entre a hemoglobina S e a deficiência de G6-PD, uma vez que a prevalência de portadores do traço falciforme na amostra de negróides deficientes de G6-PD não diferiu significativamente do esperado ao acaso entre negróides da mesma região. Esse resultado concorda com os obtidos por SALZANO *et al.* (1968), em Porto Alegre, e por ITSKAN e SALDANHA (1975), em Iguape, SP.

VI - SUMÁRIO E CONCLUSÕES

Apesar de a deficiência da desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G6-PD) ser uma alteração genética frequente em populações brasileiras, ainda se dispõe de poucas informações a respeito do significado clínico dessa enzimopenia em nosso meio.

Assim sendo, pretendeu-se com o presente trabalho iniciar o estudo sistemático da deficiência de G6-PD na região de Campinas, SP, investigando vários aspectos dessa enzimopenia importantes do ponto de vista genético-clínico.

Para tanto, a deficiência de G6-PD foi investigada em uma amostra de 3.339 indivíduos do sexo masculino residentes na região de Campinas, representados por doadores de sangue, pacientes internados em hospitais e hansenianos medicados com sulfona.

Foram detectados 104 deficientes de G6-PD, a partir dos quais foram investigados os objetivos propostos, ou seja:

- 1) verificar a validade do uso do teste de redução da metemoglobina (BREWER *et al.*, 1962) na identificação da deficiência de G6-PD, já que esse teste, por ser simples e econômico, é passível de ser usado em larga escala em nossas populações;
- 2) caracterizar uma amostra de deficientes de G6-PD detectados na região de Campinas quanto à sua procedência e grau de exposição a fatores potencialmente hemolíticos do meio ambiente;
- 3) avaliar a morbidade da enzimopenia em nosso meio:
 - a) verificando a frequência de antecedentes sugestivos de hemólise em uma amostra de deficientes, comparando-a com a de um grupo controle;
 - b) investigando clínica e laboratorialmente uma amostra de deficientes que já estavam sendo submetidos, no mo-

mento da detecção, à terapêutica potencialmente hemolítica, ou seja, uma amostra de hansenianos medicados com diaminodifenilsulfona (DDS);

- 4) caracterizar uma amostra de deficientes quanto às variantes de G6-PD;
- 5) investigar as consequências clínicas da transfusão de sangues deficientes de G6-PD;
- 6) verificar a eventual associação entre a deficiência de G6-PD e a hemoglobina S.

Para atender a esses objetivos, os enzimopênicos, seus controles normais e pacientes transfundidos com sangues deficientes de G6-PD foram submetidos a vários exames clínicos e/ou laboratoriais, que permitiram à autora chegar às seguintes conclusões:

1) O teste de redução da metemoglobina é um método confiável de triagem dos deficientes de G6-PD, desde que observados os pré-requisitos necessários para a realização desse exame. Não foram observados no presente trabalho os casos falsamente deficientes de G6-PD referidos por BAPAT *et al.* (1976), razão pela qual não se constatou nenhuma vantagem em modificar esse teste ou em substituí-lo por outros exames mais dispendiosos, como o teste do descoramento do azul cresil brilhante;

2) grande parte dos deficientes de G6-PD na região de Campinas são imigrantes, oriundos, sobretudo, dos Estados Nordestinos e de Minas Gerais;

3) os deficientes de G6-PD da região de Campinas mantêm contato frequente com fatores ambientes capazes de desencadear hemólise, tais como a naftalina, a sulfa e outros medicamentos. A intensidade de contato dos enzimopênicos com essas substâncias, no entanto, parece ser insuficiente para desencadear, na maioria dos casos, hemólise importante;

4) a maioria dos deficientes de G6-PD da região de Campinas, sejam negróides ou caucasóides, apresenta a varian-

te A⁻ dessa enzima, mais benigna do ponto de vista clínico;

5) a deficiência de G6-PD não determina o aparecimento de alterações clínicas graves na maioria dos enzimopênicos da região de Campinas. Assim sendo, essa enzimopenia não deve constituir um problema de Saúde Pública em nosso meio, embora, seja importante a nível individual e familiar, já que não pode ser excluída a possibilidade de um ou outro deficiente manifestar, esporadicamente, complicações clínicas graves, ou até mesmo fatais;

6) na maioria das transfusões de sangues deficientes de G6-PD realizadas em nosso meio não devem ocorrer complicações hemolíticas importantes no receptor. Isso talvez se deva ao fato de a maioria dos doadores de sangue apresentar a variante A⁻ de G6-PD. Aqui também é importante ressaltar que a possibilidade de ocorrência de reações pós-transfusionais graves em casos esporádicos do uso de sangues deficientes de G6-PD não está excluída, sobretudo se o doador apresentar a variante Mediterrânea e o receptor estiver sendo medicado com drogas incompatíveis;

7) a deficiência de G6-PD não deve estar associada, em nosso meio, à hemoglobina S.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - ARAÚJO, J.T.- Hemoglobinas anormais em São Paulo. *J. Bras. Med.* 9: 1264-1283, 1965.
- 2 - AZEVEDO, E.S. e AZEVEDO, T.F.S.- Glucose -6-Phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal jaundice in Bahia, Brazil - *Ciência e Cultura* 26(11): 1044-47, 1974.
- 3 - AZEVEDO, E.S. e YOSHIDA, H.- Brazilian Variant of Glucose-6-Phosphate dehydrogenase (Gd Minas Gerais) - *Nature* 222 (26): 380-382, 1969.
- 4 - AZEVEDO, E.S.- Deficiência da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6-PD). *Ciência e Cultura* 30: 318-319, 1978.
- 5 - AZEVEDO, W.C.; SILVA, M.L.F.; GRASSI, C.B. e AZEVEDO, E.S. Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em pacientes de um hospital de Salvador, Bahia, Brasil-*Rev. Bras. de Pesquisas Med. e Biol.*, 11 (1): 49-52, 1978.
- 6 - BAPAT, J.P.; BAXI, A.J. e BHATIA, H.M.- Is methemoglobin reduction test a true index of G6-PD deficiency? *Blood Group Reference Centre (ICMR) and Seth G.S. Medical College, Parel, Bombay, 1687-1690, 1976.*
- 7 - BARRETO, O.C.O.- Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in São Paulo, Brazil. *Rev. Bras. de Pesquisa Med. e Biol.* 3 (1-2): 61-65, 1970.
- 8 - BEIGUELMAN, B.; PINTO Jr., W.; DALL'AGLIO, F.F.; SILVA, E da e VOZZA, J.A.- G6-PD deficiency among lepers and healthy peoples in Brazil - *Acta genet, Basel* 18:159-162, 1968.

- 9 - BEIGUELMAN, B.; COLLI-INGLEZ, G.; BONDER-ITSKAN, S. e SALDANHA, P.H.- Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity among caucasoid twins - *Human heredity* 20:535-539, 1970.
- 10 - BEIGUELMAN, B.- *Farmacogenética e sistemas sangüíneos eritrocitários*. Coleção Genética Médica, vol. 3, São Paulo, EDART, 1979.
- 11 - BEIGUELMAN, B.- *Dinâmica dos genes nas famílias e nas populações*. Coleção Genética Médica, vol. 2, São Paulo, EDART, 1981.
- 12 - BEIGUELMAN, B.- A deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose. In: *Farmacogenética e sistemas sangüíneos eritrocitários*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 13-24, 1983.
- 13 - BERNARD, J. e DREYFUS, J.C.- Hémolyse aiguë familiale et déficit de la glucose-6-phosphate deshydrogénase des erythrocytes. *Norw Rev. Fr. Hématol.*, 2: 135-138, 1962.
- 14 - BEUTLER, E.; DERN, R.J. e ALVING, A.S.- The hemolytic effect of primaquine. III. A study of primaquine sensitive erythrocytes. *J. Lab. Clin. Med.*, 44 (2): 177-184, 1954.
- 15 - BEUTLER, E.; ROBSON MELBA e BUTTENWIESER.- The mechanism of glutathione destruction and protection in drug-sensitive and non-sensitive erythrocytes, *in vitro*, studies. *J. Clin. Invest.*, 36: 617-628, 1957.
- 16 - BEUTLER, E.; JOHNSON, C.; POWARS, D. e WEST, C. - Prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in sickle cell disease. *N. Engl. J. Med.*, 290: 826-828, 1974.

- 17 - BEUTLER, E.- Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6-PD) and 6-phosphogluconate dehydrogenase (6-PGD). In: *Red cell metabolism - a manual of biochemical methods*. 2ª ed. p. 66-69, 1975.

- 18 - BEUTLER, E.- Deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase. In: Stanbury, J.B.; Wingaarden, J.B. e Fredrickson, D.S. (Eds) *Bases metabólicas das doenças hereditárias*, 4ª ed. vol. 2: p.1485-1506, 1981.

- 19 - BOYER, S.H.; PORTER, I.H. e WEILBACHER, R.G.- Electrophoretic heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase and its relationship to enzyme deficiency in man. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 48: 1868-1876, 1962.

- 20 - BREWER, G.J. ; TARLOV, A.R. e ALVING, A.S. - The methemoglobin reduction test of primaquine type sensitivity of erythrocytes (A simplified procedure for detecting a specific. Hypersusceptibility to drug hemolysis) . *J. A. M. A.* 5: 126-128, 1962.

- 21 - CÉZAR, P.C.; MIZUSAKI, K.; PINTO Jr., W.; OPRMOLLA, D.V.A. e BEIGUELMAN, B.- Hemoglobina S e lepra, *Rev. Bras. Pesq. Med. Biol.* 7: 151-167, 1974.

- 22 - COHEN, G. e HOCHSTEIN, P.- Generation of hydrogen peroxide in erythrocytes by hemolytic agents. *Biochemistry*, 3: 895-900, 1964.

- 23 - DACIE, J.V. e LEWIS, S.M.- *Hematologia prática*, 2a. ed., Barcelona, Toray, 1970.

- 24 - GEORGE, J.N.; SEARS, D.A.; McCURDY, P.R. e CONRAD, M. E.- Primaquine sensitivity in caucasians. Hemolytic reactions induced by primaquine in G6-PD deficient subjects. *J. Lab. e Clin. Med.* 70(1): 80-93, 1967.

- 25 - GROSS, R.T.; HURWITZ, R.E. e MARKS, P.A.- An hereditary enzymatic defect in erythrocyte metabolism: glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency - *J. Clin. Invest.*, 37: 1176-1184, 1958.

- 26 - HAUT, A.; TUDHOPE, C.R.; CARTWRIGHT, C.E. e WINTROBE, M.M.- The nonhemoglobin erythrocytic proteins, studies by electrophoresis on starch gel. *J. Clin. Invest.*, 41 : 579, 1962.

- 27 - HELLER, P.; BEST, W.R.; NELSON, R.B. e BECKTEL, J. - Clinical implications of sickle-cell trait and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in hospitalized black male patients. *N. Engl. J. Med.*, 300:1001-1005, 1979.

- 28 - HUTZ, M.H.; YOSHIDA, A. e SALZANO, F.M.- Three rare G6-PD variants from Porto Alegre, R.S., Brazil. *Hum. Genet* 39: 191-197, 1977.

- 29 - ITSKAN, S.B. e SALDANHA, P.H.- Atividade da glicose- 6 - fosfato desidrogenase eritrocitária na Síndrome de Down. *Ciência e Cultura* 27(2): 211-216, 1974.

- 30 - ITSKAN, S.B. e SALDANHA, P.H.- Atividade da glicose- 6 - fosfato desidrogenase eritrocitária em população de área malarígena de São Paulo (Iguape). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 17(2): 83-91, 1975.

- 31 - ITSKAN, S.B.- *Estudo comparativo da glicose-6-fosfato desidrogenase (G6-PD) eritrocitário de macacos Bugios (Alouatta fusca clomitans CABRERA) Tese de doutoramento - Universidade de São Paulo, SP, 1977.*

- 32 - ITSKAN, S.B.; NOBREGA, F.G.; MAIA, J.C.C. e SALDANHA, P.H.-
Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase activity
in Brazilian monkeys. *J. Hum. Evol.* 8: 243-250,
1979.
- 33 - ITSKAN-FORSHAID, S.B.; GONZALEZ, C.H. e SALDANHA, P. H.-
Associação de atividade de glicose-6-fosfato desidro-
genase com parâmetros hematológicos e cromatina X em
recém-nascidos normais. *Rev. Paul. Med.*, 95: 51-53 ,
1980 a.
- 34 - ITSKAN-FORSHAID, S.B.; MAIA, J.C.C.; NOBREGA, F.G. e SALDANHA, P.H.-
Red-cell glucose-6-phosphate dehydrogenase of "Brown-
howler" Monkeys (*Alouatta fusca*). *J. Hum. Evol.* 9: 565-
571, 1980 b.
- 35 - JACOB, H.S. e JANDL, J.H.- Effects of sulfhydryl inhibi-
tion on red blood cells I - Mechanism of hemolysis .
J. Clin. Inv. 41: 779-792, 1962 a.
- 36 - JACOB, H.S. e JANDL, J.H.- Effects of sulfhydryl inhibi-
tion on red blood cells II. Studies *in vivo*. *J. Clin.*
Invest , 41: 1514-1523, 1962 b.
- 37 - JACOB, H.S. e JANDL, J.H.- Effects of sulfhydryl inhibi-
tion on red blood cells II. Glutathione in the regu-
lation of the hexose monophosphate pathway. *J. Biol.*
Chem., 241(18): 4243-4250, 1966.
- 38 - JONES, P.E.H. e McCANCE, R.A.- Enzyme activities in the
blood of infants and adults. *Biochem. J.*, 45: 464-
467, 1949.

- 39 - KIRKMAN, H.N. e HENDRICKSON, E.M.- Glucose-6-phosphate dehydrogenase from human erythrocytes II - Subactive states of enzyme from normal persons. *J. Biol. Chem.* 237: 2371-2376, 1963.

- 40 - KIRKMAN, H.N.; DOXIADIS, S.A.; VALAES, T.; TASSOPOLOS, N. e BRINSON, A.G.- Diverse characteristics of G6-PD from Greek children. *J. Lab. Clin. Med.*, 65: 212-221, 1965.

- 41 - KIRKMAN, H.N.; KIDSON, C. e KENNEDY, M.- Variants of human glucose-6-phosphate dehydrogenase. Studies of samples from New Guinea; In: Beutler, E.(Ed.) *Hereditary Disorders of Erythrocytes Metabolism*, p.126-145 N. York, Grune and Stratton, 1968.

- 42 - KOSOWER, N.D.- Discussion of "Glutathione deficiency" by H.K. Prins, J.A. Loos and C. Zuercher. In: Beutler, E. (Ed.) *Hereditary Disorders of Erythrocyte Metabolism*, p.176-178, N. York, Grune and Stratton, 1968.

- 43 - LANGUILLON, J.; LINHARD, J.; DIEBOLT, G. e PEYROT, N.- *Maladie de Hansen et génétique. M dicine Tropicale*, 33 (1): 9-18, 1973.

- 44 - LARIZZA, P.; BRUNETTI, P.; GRIGNANI, F. e VENTURA, S. - I fabici sono sensibili alla primachina. *Minerva Med.*, 49: 3769-3773, 1958.

- 45 - LEWIS, R.A. e HATHORN, M.- Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency correlated with S hemoglobin. *Ghana Med. J.*, 2: 131, 1963.

- 46 - LEWIS, R.A. e HATHORN, M.- Correlation of S hemoglobin with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and its significance. *Blood*, 26: 176, 1965.

- 47 - LEWIS, R.A.; KAY, R.W. e HATHORN, M.- Sickle cell disease and glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Acta Haemat*, 36: 399, 1966.
- 48 - LEWGOY, F. e SALZANO, F.M.- Frequência de indivíduos deficientes em glicose-6-fosfato desidrogenase na população negra de Porto Alegre - *Ciência e Cultura*, 16 : (2), 248-249, 1964.
- 49 - LEWGOY, F. e SALZANO, F.M.- Dinâmica do gene que condiciona a deficiência de G6-PD na população de Porto Alegre. *Ciência e Cultura* 17(2):p.152, 1965.
- 50 - LEWGOY, F. e SALZANO, F.M. - G6-PD deficiency gene dynamics in a Brazilian Population. *Acta Genet. Med. Gemel.* 17(4), 595-606, 1968.
- 51 - LOEHR, G.L.; WALLER, H.D.; KARGES, O.; SCHLEGEL, B. e MUELLER, A.A.- Zur Biochemie der alternating menschlicher Erythrocyten. *Klin wochenschr*, 36: 1008-1013, 1958.
- 52 - LOUDERBACK, A.L.; YOUNG, Y.; FONTANA, A. e NATLAND, M.- Clinical evaluation of a rapid screening test for sickle cell trait (S⁻) and sickle cell anemia (SS). *Clin Chem.*, 20: 761, 1974.
- 53 - LUZZATTO, L. - New developments in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Isr. J. Med. Sci.*, 9: 1484-1498, 1973.
- 54 - MARQUES, J. e CAMPOS, G.O. - Incidência da deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase em negros de Minas Gerais. *Rev. Ass. Med. Brasil*, 21(4): 111-112, 1975.

- 55 - MILNER, P.F. e SERJEANT, G.R.- Laboratory studies in sickle cell anemia. *Blood*, 34: 729, 1969.
- 56 - MOLLISON, P.L.- *Blood transfusion in clinical medicine*. 5ª ed. Oxford, Blackwell, 883 p., 1974.
- 57 - MORTON, N.E. - Genetic Studies of Northeastern Brazil . *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 29: 69 - 79 , 1964.
- 58 - MOTULSKY, A.G. e CAMPBELL-KRAUT, I.M.- Population genetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency of the red cells. *Proc. conf. Genet. Polymorphism and Geographical variations in Disease*, 23, 24, 25: 258-292, 1960.
- 59 - NANCE, W.E. - Genetic Tests with a sex-linked marker: Glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 29: 415-425, 1964.
- 60 - NAYLOR, J.; ROSENTHAL, I.; GROSSMAN, A.; SCHULMAN, I. e HSIA, D. Y-Y.- Activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase in erythrocytes of patients with various abnormal hemoglobins. *Pediatrics*, 26: 285-292, 1960.
- 61 - NECHELES, T.F.; BOLES, T.A. e ALLEN, D.M.- Erythrocyte glutathione-peroxidase deficiency and hemolytic disease of the newborn infant. *J. Pediatr.*, 72: 319-324, 1968.
- 62 - NEEL, J.V.; SALZANO, F.M.; JUNQUEIRA, P.C.; KEITER, F. e MAYBURY-WEWIS, D.- Studies on the Xavantes Indians of the Brazilian Mato Grosso. *Hum. Genet.*, 16 (1): 52-140, 1964.

- 63 - ORLINA, A.R.; JOSEPHSON, A.M. e Mc DONALD, B.J. - The poststorage viability of G6-PD deficient erythrocytes. *J. Lab. Clin. Med.*, 75: 930-936, 1970.
- 64 - OSKI, F.A. e NAIMAN, J.L.- *Hematologic problems in the newborn*. Philadelphia, Sunders, 1972.
- 65 - PETTIT, J.H.S. e CHIN, J.- Does glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency modify the course of leprosy or its treatment? *Leprosy Rev.*, 35: 149-156, 1964.
- 66 - PINTO Jr., W.- *Hemoglobina S e tuberculose pulmonar*. Tese de Livre Docência, Universidade Estadual de Campinas, SP, 1978.
- 67 - PIOMELLI, S.; CORASH, L.M.; DAVENPORT, D.D.; MIRAGLIA, J. e AMOROST, E.L.- *In vivo* lability of glucose-6-phosphate dehydrogenase in Gd A⁻ and Gd^{mediterranean} deficiency. *J. Clin. Invest.*, 47: 940-948, 1968.
- 68 - PIOMELLI, S.; REINDORF, C.A.; ARZANIAN, M.T. e CORASH, L.M.- Clinical and biochemical interations of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and sickle-cell anemia. *New Engl. J. Med.*, 287: 213-217, 1972.
- 69 - RAMALHO, A.S. e BEIGUELMAN, B.- Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G6-PD) em doadores de sangue brasileiros. *Folha Médica*, 73(3): 281-283, 1976.
- 70 - RAMALHO, A.S. e LORAND, I.G.H.- Reconhecimento laboratorial da hemoglobina S pelo teste SICKLE-ID. *Rev. Bras. Patol. Clin.*, 18: 7-8, 1977.
- 71 - RAMALHO, A.S.- *Estudo médico de polimorfismos genéticos de importância clínica no Brasil*. Tese de Livre Docência, Universidade Estadual de Campinas, SP, 1979.

- 72 - RAMALHO, A.S.- Deficiência de desidrogenase de 6-fosfato de glicose (G6-PD) em recém-nascidos brasileiros - *Fo_lha Médica*, 81(6): 603-606, 1980.
- 73 - RAMALHO, A.S.- *As hemoglobinopatias hereditárias de importância médica no Brasil*. Campinas, Ed. Cunha Matos, 1983.
- 74 - RIVERO, M.E.J.; DINIZ, E.M.A.; NONOYAMA, K.; BARRETO, O. C.O. e VAZ, F.A.C. - Deficiência de glicose-6-fosfato de desidrogenase em recém-nascidos - *Pediat* (São Paulo) 3: 214-216, 1981.
- 75 - ROSE, I.A. e O'CONNEL, E.L. - The role of glucose-6-phosphate in regulation of glucose metabolism in human erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, 239: 12-17, 1964.
- 76 - ROSS, J.D. - Deficient activity of DPNH - dependent methemoglobin diaphorase in cord blood erythrocytes. *Blood*, 21: 51-62, 1963.
- 77 - RUBINSTEIN, D.; OTTOLENGHI, P. e DENSTEDT, O.F.- The metabolism of the erythrocyte XIII. Enzyme activity in the reticulocyte. *Can. J. Biochem.*, 34:222-235, 1956.
- 78 - SALDANHA, P.H.; NOBREGA, F.G. e MAIA, J.C.C. - Distribution and heredity of erythrocyte G6-PD activity and electrophoretic variants among different racial groups at São Paulo, Brazil - *J. Med. Genet.*, 6: 48-54, 1969.
- 79 - SALDANHA, P.H.; LEBENSZTAJN, B. e ITSKAN, S. B. - Activity of glucose-6-phosphate dehydrogenase among indians living in a malariae regran of Mato Grosso and its implications to the Indian - Mixed populations in Brazil. *Hum. Hered.*, 26: 241-251, 1976.

- 80 - SALZANO, F.M.; LEWGOY, F.; TONDO, C.V. e ROCHA, F.J. - G6-PD deficiency and abnormal hemoglobins in a Brazilian Population. *Acta Genet. Med. Gemel.*, 17(4): 607-612, 1968.
- 81 - SALZANO, F.M.; ROCHA, F.J. e TONDO, C.V.- Hemoglobin types and gene flow in Porto Alegre, Brazil. *Acta Genet. Basel.*, 18: 449-457, 1968.
- 82 - SASS, M.D.; CARUSO, C.J. e FARHANGI, M.- TPNH - Methemoglobin reductase deficiency: A new red cell enzyme defect. *J. Lab. Clin. Med.*, 70: 760-767, 1967.
- 83 - SCHWARTZ, J.M. e JAFFÉ, E.R.- Metemoglobina hereditária com deficiência de NADH- desidrogenase. In: Stambury, J.B.; Wigaarden, J.B. e Fredrickson, D.S. - 1981, op cit.
- 84 - SCOTT, E.M.; DUNCAN, I.W. e EKSTRAND, V. - The reduced pyridine nucleotide dehydrogenase of human erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, 240: 481, 1965.
- 85 - SERJEANT, G.R.- *The clinical features of sickle cell disease*. N. York, Elsevier, 357 p., 1974.
- 86 - STEINBER, M.H. e DREILING, B.J.- Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Isr. J. Med. Sci.* 9: 1484-1498, 1973.
- 87 - TONDO, C.V. e SALZANO, F.M. - Abnormal hemoglobins in a Brazilian Negro Population. *Amer. J. Hum. Genet.*, 14: 401-409, 1962.
- 88 - VULLO, C. e TUNIOLI, A.M.- Ittero neonatale con difetto transitório della G6-PD eritrocitaria. *Pediatrics*, 69: 327, 1961.

- 89 - WEIMER, T.A.; SALZANO, F.M. e HUTZ, M.H.- Erythrocyte Isozymes and Hemoglobin types in a southern Brazilian population. *J. Hum. Evol.* 10: 319-328, 1981.

- 90 - W.H.O.- Technical Report series - nº 366 - Standardization of procedures for study of glucose-6-phosphate dehydrogenase. *World Health Organization*, Genova, 56 p, 1967.

- 91 - YOSHIDA, A.; STAMATOYANNOPOULOS, G. e MOTULSKI, A.G.- Negro variant of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency (A^-) in man. *Science* 155: 97-99, 1967.

- 92 - YOSHIDA, A.; BEUTLER, E. e MOTULSKI, A.G. - Human glucose-6-phosphate dehydrogenase variants. *Bull. W.H.O.* , 45: 243-253, 1971.

Nome: _____

Idade: _____ Cor: _____ Naturalidade: _____

Descendente de Italiano? SIM _____ NÃO _____

Profissão Atual: _____

Profissões Anteriores: _____

Endereço: _____

Fone: _____

Medicação em uso: _____

Já apresentou reação a medicamentos? SIM _____ NÃO _____

Quantas vezes? _____ Descrever: _____

Já teve anemia? SIM _____ NÃO _____ QUANTAS VEZES? _____

Já apresentou icterícia? SIM _____ NÃO _____ QUANTAS VEZES? _____

Já teve hepatite? SIM _____ NÃO _____ QUANTAS VEZES? _____

Já apresentou urina escura? SIM _____ NÃO _____ QUANTAS VEZES? _____

Já foi internado alguma vez? SIM _____ NÃO _____ QUANTAS VEZES? _____

Porque? _____

Já fez tratamento para infecções? SIM _____ NÃO _____ QUANTAS VEZES? _____

Qual? _____ Sulfa? _____ SIM _____ NÃO _____

Contato frequente com naftalina? SIM _____ NÃO _____

Já trabalhou com substâncias químicas? SIM _____ NÃO _____

Agricultura? _____ Faxina? _____ Laboratório? _____ Outros _____

Diabetes? SIM _____ NÃO _____

Reação a medicamentos em outras pessoas da família? SIM _____ NÃO _____

Especificar: _____

DOADORES: Hb _____ ABO _____ Rh _____

INTERNOS: Hb _____ GV _____ Ht _____ Pigmentos biliares na urina _____

DEFICIENTES: Eletroforese de Hb _____ RO _____

DEFICIENTES COM FATOR INCOMPATÍVEL: GV _____ Hb _____ Ht _____

Reticulócitos _____

BT _____ BD _____ BI _____

OBSERVAÇÕES: _____

Nome: _____ Idade: _____ Sexo: _____

Data da transfusão: _____

Tempo de estoque do sangue transfundido: _____

Medicação em uso: _____

Reações: Dores musculares _____

Dores de cabeça _____

Tremores _____

Febre _____

Icterícia _____

Vômitos _____

Dispneia _____

Urina escura _____

Anúria _____

Uremia _____

Colapso geral _____

Outras possíveis causas de hemólise:

Politransfusões _____

Incompatibilidade de ABO ou Rh _____

Hemólise mecânica _____

Laboratório:	Antes	Depois da transfusão
--------------	-------	----------------------

Bilirrubinas Totais	_____	_____
---------------------	-------	-------

Bilirrubina Direta	_____	_____
--------------------	-------	-------

Bilirrubina Indireta	_____	_____
----------------------	-------	-------

Hemoglobina	_____	_____
-------------	-------	-------

Hematócrito	_____	_____
-------------	-------	-------

Grupo sanguíneo - A, B e O _____

Fator Rh _____

Diagnóstico: _____

ANEXO 3 - Dados referentes à identificação e aos exames laboratoriais de 16 hansenianos submetidos ao tratamento com DDS. Os 7 primeiros (*) apresentam deficiência da atividade da G6-PD e os 8 últimos têm a enzima com atividade normal.

NOME	COR	IDADE (anos)	HEMOGLOBINA (g%)	Nº DE HEMÁCIAS (x10 ⁶ /mm ³)	HEMATÓCRITO (%)	RETICULÓCITOS CORRI- GIDOS P/HEMATÓCRITO(%)	ATIV.ENZIMÁTICA (ui./g Hb/min.ã 37°C)	BT. (mg%)	BD (mg%)	BI (mg%)
*J.F.S.	N	60	10,5	4,04	35,8	1,43	2,90	1,0	0,4	0,6
*M.P.B.	N	81	10,1	3,56	35,5	1,18	2,13	2,0	0,6	1,4
*W.C.S.	C	50	12,6	4,15	40,5	0,50	2,35	1,0	0,4	0,6
*J.F.S.	N	75	11,2	3,52	36,3	2,42	1,11	2,2	0,6	1,6
*P.T.S.	N	72	10,7	4,17	35,3	1,02	0,65	1,6	0,5	1,1
*M.L.S.	N	70	12,7	4,69	41,3	0,46	1,75	1,2	0,9	0,3
*B.M.	N	63	9,2	3,44	31,0	1,31	1,76	2,8	0,8	2,0
J.M.S.	N	54	12,1	4,61	39,1	0,43	-	-	-	-
L.C.S.	N	33	7,9	3,20	26,7	0,71	-	-	-	-
J.R.S.	N	43	11,1	3,51	35,6	1,19	-	-	-	-
A.F.S.	N	42	12,3	5,70	45,7	1,01	-	-	-	-
E.L.R.	N	53	5,4	1,88	19,4	0,34	-	-	-	-
S.B.S.	N	50	12,0	4,57	38,8	1,38	-	-	-	-
J.A.N.	N	54	12,8	5,53	40,4	0,62	-	-	-	-
A.C.S.	N	28	13,0	4,57	41,5	0,46	-	-	-	-
H.S.	N	58	10,4	3,45	34,1	4,17	-	-	-	-

ANEXO 4 - Dados referentes à identificação, à atividade enzimática em unidades internacionais por grama de hemoglobina por minuto à 37°C e corrida eletroforética em gel de amido em milímetros por cento de um padrão Gd B (normal) da G6-PD de 57 indivíduos diagnosticados como deficientes pelos testes de redução da metemoglobina e descoloração do azul cresil brilhante.

<u>NOME</u>	<u>COR</u>	<u>ATIVIDADE ENZIMÁTICA</u> <u>u.i./g Hb/min. à 37°C</u>	<u>CORRIDA ELETROFORÉTICA</u> <u>(%)</u>
R.B.	N	1,72	107,6
J.J.S.	N	1,76	112,3
A.F.	N	2,61	113,8
J.S.	N	2,04	110,7
L.F.	N	1,17	112,3
V.F.A.	N	1,54	109,2
A.C.	C	2,06	107,6
P.I.F.	N	1,49	110,7
N.F.	C	0,87	107,7
M.S.	N	2,07	112,3
M.O.	N	0,98	115,4
L.F.R.	N	1,75	113,8
J.C.M.	N	1,68	115,4
A.D.	N	1,54	112,3
B.R.R.	C	3,65	107,7
A.A.S.	N	1,26	106,2
M.A.P.	N	2,91	110,1
J.C.M.	N	0,42	105,8
A.F.C.	N	2,41	107,3
V.G.C.	N	1,36	101,4

<u>NOME</u>	<u>COR</u>	<u>ATIVIDADE ENZIMÁTICA</u> <u>u.i./g Hb/min. $\bar{a}$ 37°C</u>	<u>CORRIDA ELETROFORÉTICA</u> <u>(%)</u>
J.B.	C	1,33	102,9
J.P.S.	N	1,45	107,3
L.P.	C	1,62	110,1
O.T.	N	2,51	108,8
S.E.A.	C	2,85	106,5
W.M.	C	0,35	<100,0
W.F.S.	N	1,18	105,0
L.C.C.	N	2,54	106,3
D.H.	C	1,25	106,4
P.B.	N	1,57	103,8
A.S.F.	N	1,56	107,5
M.R.	N	1,68	107,5
J.T.S.	N	1,82	105,0
J.S.C.	N	1,41	106,3
F.J.P.	N	0,86	103,8
D.R.	C	1,95	102,5
P.G.N.	C	1,01	105,0
W.L.P.	N	1,30	103,8
A.J.S.	N	1,60	102,5
A.J.P.	N	0,98	101,0
O.B.S.	C	1,47	101,4
J.A.C.	N	1,95	104,1
P.P.J.	C	0,39	<100,0
O.A.	N	2,33	108,1
J.L.G.	N	2,35	116,2

<u>NOME</u>	<u>COR</u>	<u>ATIVIDADE ENZIMÁTICA</u> <u>u.i./g Hb/min.ã 37°C</u>	<u>CORRIDA ELETROFORÉTICA</u> <u>(%)</u>
A.F.	C	2,05	109,5
A.G.S.	N	1,31	101,9
J.V.S.	C	1,35	105,7
C.J.R.	C	2,03	109,6
J.C.S.	N	2,00	107,7
M.L.S.	N	1,75	109,9
B.M.	N	1,76	111,0
J.F.S.	N	1,11	107,3
J.F.S.	N	2,90	107,3
P.T.S.	N	0,65	113,0
W.S.	C	2,35	104,0
M.P.B.	N	2,13	111,0