



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO TEORICO SOBRE LAS ENZIMAS
GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA Y
PIRUVATO CINASA EN EL METABOLISMO
ENERGETICO DE LOS ERITROCITOS

TRABAJO ESCRITO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO
P R E S E N T A :
SALVADOR LOPEZ ORNELAS



MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO:

	Página
I) INTRODUCCIÓN.....	3
II) METABOLISMO ENERGÉTICO DE LOS ERITROCITOS.....	6
A) Glucólisis anaeróbica.....	6
B) Vía alterna de la hexosa monofosfato.....	13
C) Derivación 2,3-difosfoglicerato.....	17
III) PRINCIPALES ALTERACIONES ENZIMÁTICAS DE LOS ERITROCITOS.....	18
III.A) Deficiencia de la Piruvato Cinasa.....	19
III.A.a.) Genética.....	20
III.A.b.) Incidencia.....	21
III.B) Deficiencia de la Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa.....	22
III.B.a.) Genética.....	22
III.B.b.) Variantes enzimáticas.....	23
III.B.c.) Incidencia.....	25
IV) CONSECUENCIAS DE LAS ALTERACIONES ENZIMÁTICAS PC Y G6PD.....	27
IV.A) Anemia.....	27
IV.A.a.) En la alteración enzimática de la PC.....	27
IV.A.b.) En la alteración de la G6PD.....	28
IV.A.b.1.) Anemia hemolítica inducida por fármacos.....	28
IV.A.b.2.) Anemia hemolítica asociada a infecciones u otras enfermedades.....	29

	Página
IV.A.b.3.)Anemia hemolítica asociada al consumo de ciertas especies de habas comestibles.....	30
IV.B)Ictericia.....	30
IV.C)Esplenomegalia.....	31
IV.D)Colecistitis.....	31
IV.E)"Crisis hemolíticas".....	31
V) HALLAZGOS DE LABORATORIO Y DIAGNÓSTICO.....	35
V.A)Hallazgos que indican destrucción incrementada de eritrocitos.....	35
V.B)Hallazgos relacionados con la eritropoyesis aumentada.....	36
V.C)Hallazgos relacionados con el diagnóstico diferencial.....	36
VI) TRATAMIENTO.....	39
VII) CONCLUSIÓN.....	41
Número asignado por la Comisión de Enzimas para las enzimas mencionadas en este trabajo.....	43
Bibliografía y referencias.....	44

1) INTRODUCCIÓN:

Los glóbulos rojos, hematíes o eritrocitos, constituyen, junto con las plaquetas y los leucocitos, los elementos --
formos de la sangre humana y contienen hemoglobina lo que
le proporciona el color rojo característico a la misma.

Desde el punto de vista citológico los eritrocitos son células relativamente sencillas con un alto grado de especialización funcional; están formados por una membrana lipoprotéica que engloba a una solución acuosa de electrolitos y proteínas, necesarios para mantener su forma y función eficientes y su propia subsistencia energética. La --
forma normal de un glóbulo rojo en reposo es la de un "disco bicóncavo", en la que la depresión central bilateral se manifiesta -cuando está seco y teñido- como una zona mas -
clara; en estas condiciones el diámetro promedio de los hematíes se ha calculado entre 7.2 y 7.9 μm con variaciones -
hasta de $\pm 3.5 \mu\text{m}$, para el espesor medio se han indicado datos de 1.64, 1.84 y 2.05 μm , el volumen medio es de 37 μm^3 , -
con un área de superficie de unas 140 μm^2 .

Los glóbulos rojos maduros normales no poseen núcleo ni

organelos celulares, puesto que se han perdido, por proceso de maduración en la médula ósea roja; esta característica, lejos de ser un inconveniente, facilita las grandes variaciones en la forma, que necesita para circular por el reducido diámetro de los capilares, así como en el desempeño de su función, que consiste en llevar oxígeno y recoger dióxido de carbono de las células del organismo. Para la realización de estas funciones la hemoglobina juega un papel indispensable y activo y constituye algo más del 95% del total de las proteínas protoplásmicas del hematíe. En los aproximadamente 120 días que tiene de vida media, el eritrocito necesita constantemente fuentes de energía biológicamente aprovechables, como son: el NADH, el ATP y el NADPH, que permitirán mantener a la hemoglobina en un estado reducido funcional, conservar el equilibrio electrolítico y las propiedades físicas de la célula para su trabajo normal en el organismo.

Al carecer los eritrocitos de los organelos mitocondriales, son células incapaces de realizar la fosforilación oxidativa por la vía del Ciclo de los Ácidos Tricarboxílicos (Ciclo de Krebs), dependiendo del funcionamiento correcto de la Glucólisis Anaeróbica para la obtención de ATP y NADH y de la vía alterna aerobia de la Hexosa Monofosfato para obtener NADPH. La ausencia del Ciclo de Krebs, es también consecuencia del alto grado de especialización funcional

del glóbulo rojo, pues al utilizar éste una cantidad insignificante de oxígeno para sí mismo, evita que se produzca una competencia entre su mantenimiento energético y su función transportadora del oxígeno para todas las demás células del cuerpo.

Prácticamente en cada una de las diferentes enzimas que participan en la Glucólisis Anaerobia y en la derivación de la Hexosa Monofosfato, se han detectado alteraciones con consecuencias clínicas, todas ellas relacionadas con una alteración genética y en la mayoría de los casos localizadas en genes autosómicos recesivos y otras en el cromosoma sexual. Afortunadamente la mayoría de estas alteraciones genéticas son extremadamente raras, siendo las más frecuentes las alteraciones en: la Glucosa Fosfato Isomerasa (EC 5.3.1.9.), la Piruvato Cinasa (EC 2.7.1.40.) y la Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa (EC 1.1.1.49.). A continuación hacemos la revisión de las dos últimas.

11) METABOLISMO ENERGÉTICO DE LOS ERITROCITOS:

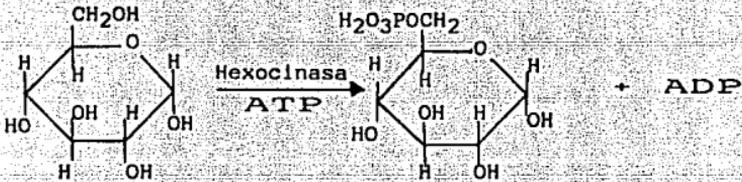
Los glóbulos rojos necesitan de la energía del ATP y de las moléculas reductoras para mantener normalmente sus funciones y conservar su integridad celular, de aquí que dicha energía se aplique para mantener el hierro de la hemoglobina en su forma reducida, conservar en actividad constante la "bomba" de cationes, proteger a las enzimas y otras proteínas de la membrana eritrocitaria de las oxidaciones intracelulares y para mantener la forma bicóncava funcional del eritrocito

A) GLUCÓLISIS ANAERÒBICA:

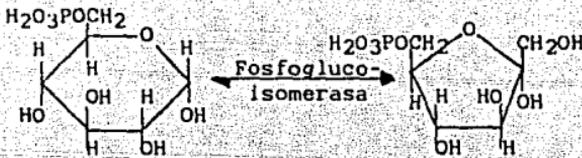
La vía metabólica que degrada a la glucosa hasta dos moléculas de ácido pirúvico en condiciones de anaerobiosis y que es conocida también como vía de Embden-Meyerhof-Parnás, es el camino por el que se degrada aproximadamente el 90% de la glucosa que penetra al glóbulo rojo; aunque en éste existen las enzimas para degradar al glucógeno, las necesidades energéticas del eritrocito son tales, que no se llegan a acumular cantidades importantes de glucógeno dentro del glóbulo rojo, por lo que se necesita una entrada constante de glucosa al hematis; procedente del plasma. La entrada de

glucosa a la célula roja no necesita de la insulina, no tiene lugar contra un gradiente de concentración y se realiza a una gran velocidad por medio de un sistema de "difusión facilitada", gracias a un "sistema transportador" presente en la membrana del eritrocito; el conjunto global de la vía de Embden-Meyerhof-Parnás se muestra en el esquema II.A , haciéndose a continuación un breve comentario de cada uno de los pasos de esta vía metabólica:

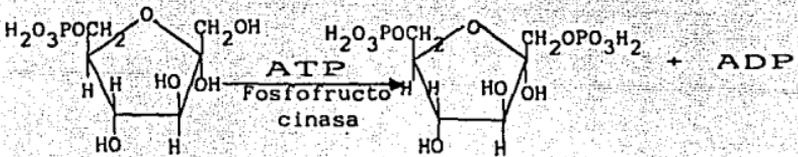
A.1) La glucosa se fosforila en posición 6, en una reacción irreversible, por la acción de la enzima Hexocinasa (EC 2.7.1.1.) y con el consumo de una molécula de ATP:



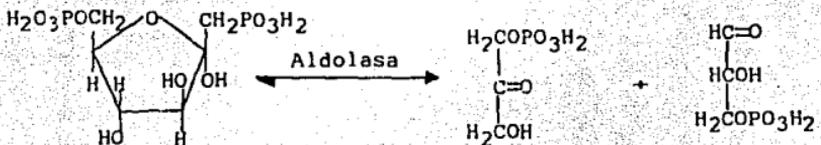
A.2) La glucosa-6-fosfato (éster de Robinson) por acción de la enzima fosfoglucoisomerasa (EC 5.3.1.9.) es transformada a fructosa-6-fosfato (éster de Neuberg), el equilibrio se produce cuando el 30% de la G6P se ha transformado en F6P:



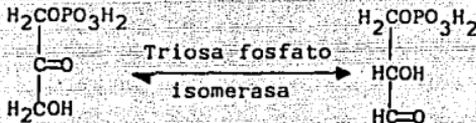
A.3) La fructosa-6-fosfato se fosforila nuevamente, ahora en el carbono (1), con consumo de ATP y la participación de la fosfofructocinasa (EC 2.7.1.11.) y de iones magnesio, para formar fructosa-1,6-difosfato (éster de Harden y Young):



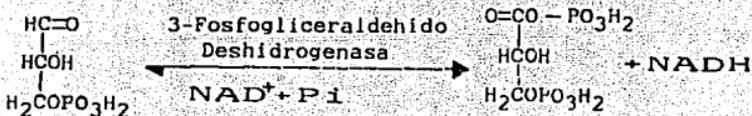
A.4) Por acción de la aldolasa (EC 4.1.2.13.), la fructosa-1,6-difosfato se rompe formando dos triosas fosforiladas, el gliceraldehido-3-fosfato y la dihidroxiacetona fosfato:



A.5) La dihidroxiacetona fosfato producida, es transformada a gliceraldehído-3-fosfato por acción de la triosa fosfato isomerasa (EC 5.3.1.1.):

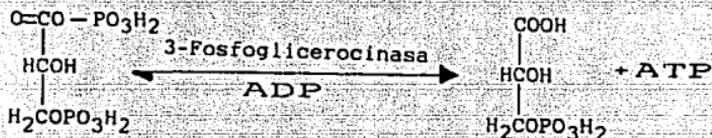


A.6) La conversión del gliceraldehído-3-fosfato a 1,3-difosfoglicerato, por acción de la enzima fosfogliceraldehído deshidrogenasa (EC 1.2.1.12), es una reacción en la que ocurre una oxidación por pérdida de 2H y fosforilación con fósforo inorgánico. La deshidrogenasa activa presenta grupos SH en su molécula, además en esta reacción se forma el NADH :

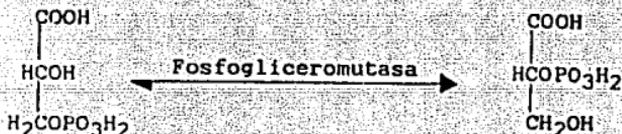


A.7) El compuesto rico en energía obtenido en la reacción anterior, se utiliza para sintetizar dos moléculas de ATP,

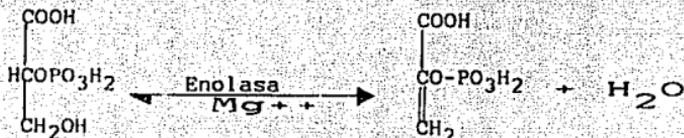
una por cada 3-fosfoglicerato formado, participando la enzima 3-fosfoglicerocinasa (EC 2.7.2.3.):



A.8) La enzima fosfogliceromutasa (EC 2.7.5.3.) produce la transfosforilación del grupo fosfato de posición 3 a posición 2:



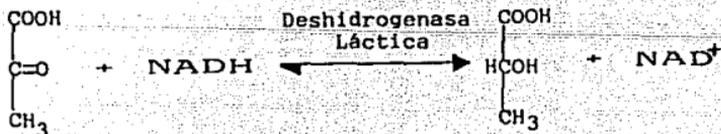
A.9) Se produce una deshidratación del 2-fosfoglicerato por acción de la enolasa (EC 4.2.1.11.), generándose un enlace de alta energía, por la estructura electrónica del fosfoenolpiruvato que se forma:



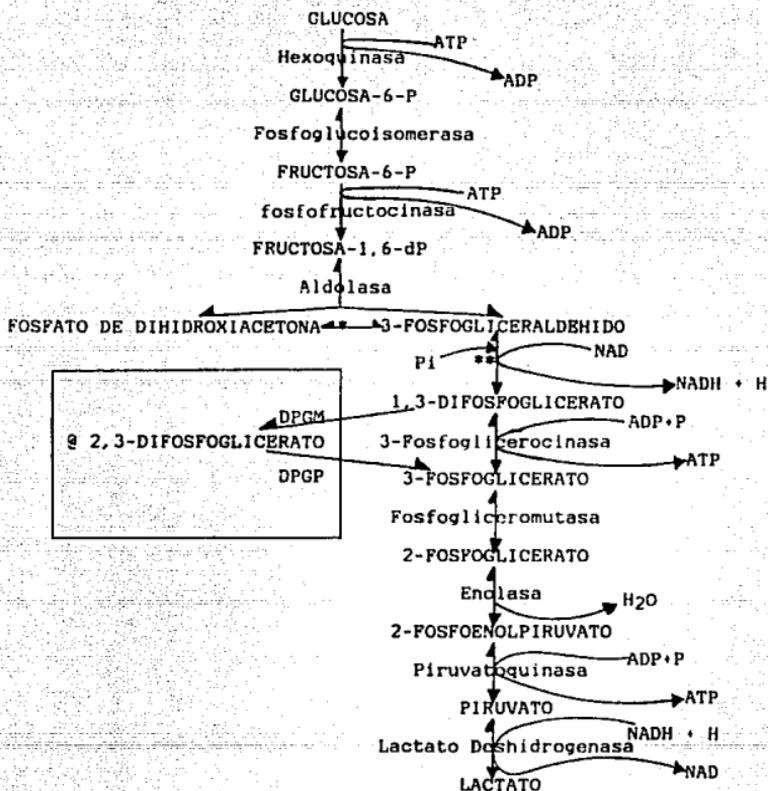
A.10) EL fosfoenolpiruvato es desfosforilado a piruvato, por acción de la piruvatocinasa (EC 2.7.1.40.) y obtención de 2 moléculas de ATP, una por cada molécula de piruvato formado:



A.11) La última reacción de la vía es la formación de lactato a partir de piruvato, por la acción de la enzima lactato deshidrogenasa (EC 1.1.1.28), que cataliza las reacciones en ambos sentidos; en este paso se necesita de la acción reductora de moléculas de NADH :



Esquema 11.A: Glucólisis Anaerobia o Vía de Embden-Meyerhof



* Triosa Fosfato Isomerasa

** Fosfogliceraldehido Deshidrogenasa

@ DERIVACIÓN RAPAPORT-LUEBERING

DPGM Difosfogliceromutasa

DPGP Difosfoglicerato Fosfatasa

B) VÍA ALTERNA DE LA HEXOSA MONOFOSFATO:

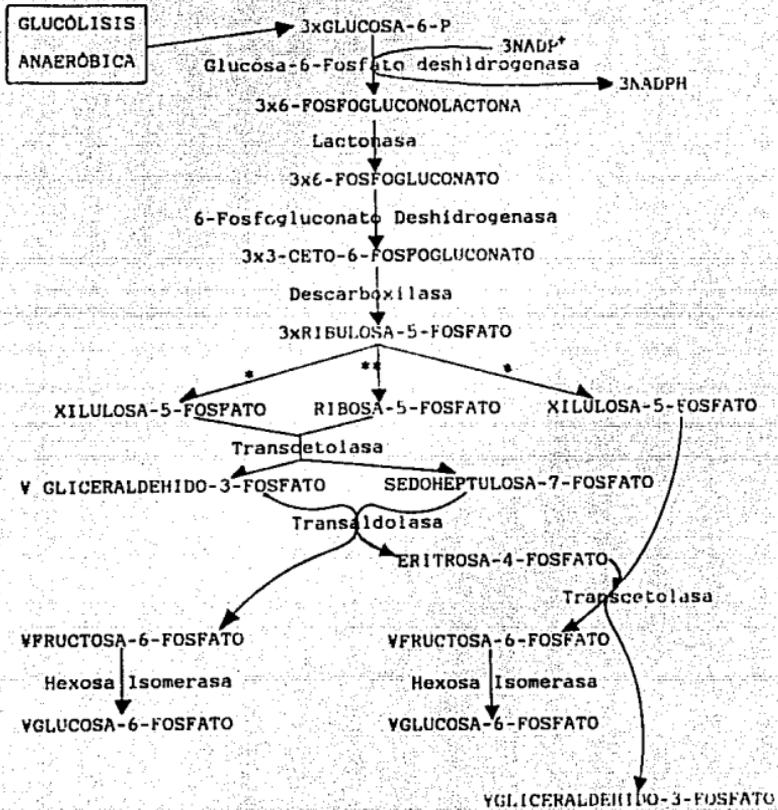
Es una derivación aerobia de la vía de Embden-Meyerhof-Parnás y también se conoce como Ciclo del Fosfato de Pentosa o como ciclo de Warburg-Dickens-Horeker. Aunque sólo un 10% de la glucosa metabolizada por el eritrocito sigue esta vía, es muy importante para el funcionamiento del mismo, pues así se produce el fosfato del dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido (NADPH), necesario para que el glóbulo rojo lleve a cabo la reducción del glutatión, indispensable para proteger algunas moléculas funcionales - (hemoglobina, enzimas, proteínas de la membrana eritrocitaria) del hemátie, de los efectos nocivos de la oxidación.

En el diagrama del Ciclo de las Pentosas (esquema B.I), se observa que éste comienza a partir de tres moléculas de glucosa-6-fosfato, produciéndose el NADPH al ser oxidado a fosfogluconolactona, por acción de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; el ciclo se continúa formando en su parte terminal fructosa-6-fosfato y gliceraldehído-3-fosfato los cuales se pueden integrar a la vía de Embden-Meyerhof-Parnás. En el Ciclo de Warburg-Dickens-Horeker se produce también ribosa-5-fosfato, pentosa necesaria para la formación de nucleótidos importantes para el eritrocito.

La molécula que interesa para el presente trabajo es el

NADPH, cuya energía reductora es empleada para reducir directamente la metahemoglobina, por acción de la enzima metahemoglobina reductasa-NADPH; pero sobre todo para mantener reducido el glutatión, el cual reduce la metahemoglobina y protege los grupos sulfhidrilo de las proteínas de la membrana eritrocitaria, o eliminando el peróxido de hidrógeno inducido por ciertos fármacos o alimentos (ver esquema B.2).

Esquema B.1: Vía de la Hexosa Monofosfato
(Ciclo de Warburg-Dickens-Horecker)

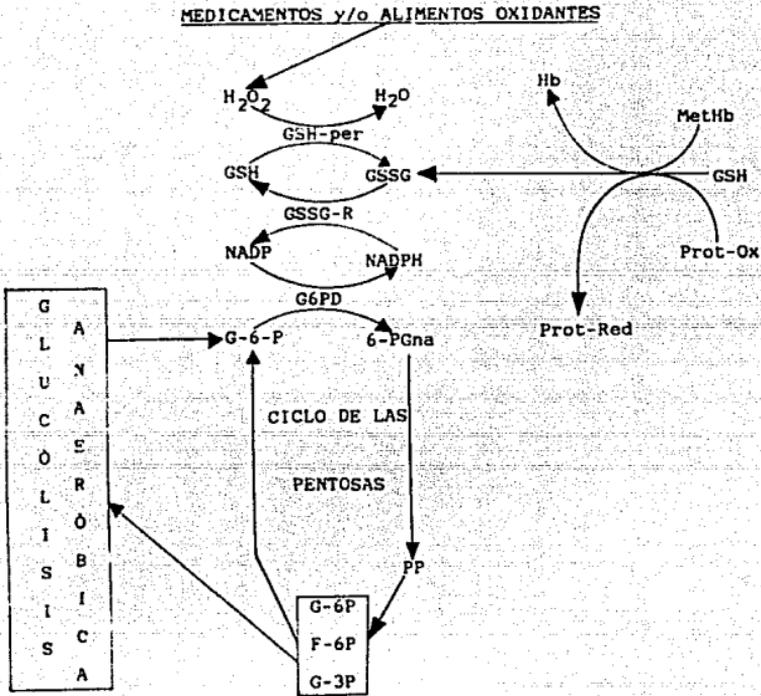


* Fosfopentosa Epimerasa

** Ribosa-5-Fosfatoisomerasa

✓ Rumbo a la Vía de Embden-Meyerhof

ESQUEMA B. 2.



- PP- Pentosa Fosfato
- GSH-per- Glutación Peroxidasa
- Hb- Hemoglobina
- MetHb- Metahemoglobina
- GSH- Glutación Reducido
- GSSG- Dímero Oxidado de Glutación
- GSSG-R- Clutación Reductasa
- NADP- Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina
- NADPH- Dinucleótido de Nicotinamida y Adenina Reducido
- Prot-Ox- Proteínas en estado oxidado
- Prot-Red- Proteínas en estado reducido
- G6PD- Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa
- G-6P- Glucosa-6-Fosfato
- 6-PGna- 6-Fosfogluco lactona
- F-6P- Fructosa-6-Fosfato
- ** - Metahemoglobina reductasa NADPH

C) DERIVACIÓN 2, 3-DIFOSFOGLICERATO:

Constituye un "corto circuito" en la vía de Embden-Meyerhof-Parnás, al cual se le conoce también como derivación Rapaport-Luebering y consiste en el paso de 1,3-difosfoglicerato por acción de la enzima difosfogliceratomutasa y - aunque el 2,3-difosfoglicerato llega a perder fósforo formando el 3-fosfoglicerato, que continúa la glucólisis anaerobia (esquema II.A), la verdadera importancia del 2,3-difosfoglicerato consiste en que éste constituye más del 70% de las reservas de polifosfato orgánico del glóbulo rojo, que funciona favoreciendo la oxigenación de los tejidos, pues al combinarse reversiblemente con la hemoglobina disminuye la afinidad de la misma por el oxígeno.

III) PRINCIPALES ALTERACIONES ENZIMÁTICAS
DE LOS ERITROCITOS:

Como ya se ha anotado, aunque se han comunicado alteraciones en todas las enzimas de la vía de Embden-Meyerhof-Parnás y en el ciclo alterno de la Pentosa Monofosfato, ocasionadas por fallas genéticas que se manifiestan por alteraciones clínicas, solamente a dos de ellas les corresponde la mayor frecuencia de los casos: la Piruvatoquinasa en la vía de Embden-Meyerhof-Parnás y la Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en el ciclo alterno del Fosfato de Pentosa, presentando los siguientes 4 rasgos característicos:

- ** Provocan trastornos hemolíticos, clasificados dentro de las Anemias Hemolíticas Congénitas no Esferocíticas (AHCNE).**
- ** Son heredadas como trastornos recesivos.**
- ** No producen alteraciones específicas, características en la morfología de los hematíes.**
- ** La esplenectomía puede llegar a reducir la gravedad**

de la hemólisis, pero ésta persiste en forma clínicamente significativa.

III. A) DEFICIENCIA DE LA PIRUVATOCINASA:

Desde 1950 se había sugerido el término de "Anemia Hemolítica Congénita no Esferocítica", para designar un tipo de anemia hemolítica, observada en ciertos sujetos y que se distinguía de la esferocitosis hereditaria, en que en aquélla no se detectaba una esferocitosis significativa, ni aumento en la fragilidad osmótica de los eritrocitos frescos o anomalías en las hemoglobina; además de que la esplenectomía producía un beneficio pobre. En 1954 Selwyn y Dalcie, al hacer su prueba de autohemólisis en pacientes con anemia hemolítica congénita no esferocítica, pudieron distinguir entre una hemólisis de "Tipo 1", que se corregía adicionando glucosa a la muestra incubada y autohemólisis de "Tipo 2" que no se corregía al adicionar la glucosa, - pero que podía ser modificada positivamente al adicionar ATP; se sugirió entonces que una posible causa de este tipo de anemias hemolíticas podría ser una deficiencia enzimática en la producción de ATP por el eritrocito. Finalmente en 1961 Valentine y sus colaboradores demostraron la

deficiencia en la actividad enzimática de la Piruvatocinasa en tres pacientes que presentaban la anemia hemolítica congénita no esferocítica; a partir de este hallazgo y hasta nuestros días se ha demostrado que la deficiencia de la Piruvatocinasa es la más frecuente en la glucólisis anaeróbica de los glóbulos rojos, en tanto que las de otras enzimas de dicha vía metabólica son extraordinariamente raras (con excepción tal vez de la Glucosa Fosfato Isomerasa).

III.A.a) Genética:

Los estudios realizados para tratar de determinar el origen genético de esta anomalía han sido interpretados en general como una alteración cromosómica recesiva, de tal forma que sólo los sujetos que son homocigotas para esta aberración van a presentar las manifestaciones clínicas, consecuentes a la anomalía, que afecta exclusivamente a los eritrocitos. También se ha encontrado que puede haber diferentes mutantes en las que existen por lo menos tres formas isoenzimáticas normalmente para la Piruvatocinasa, lo que hace que esta alteración sea genéticamente muy heterogénea.

La actividad enzimática de la Piruvatocinasa en pacientes heterocigotos deficitarios oscila entre el 10% y el 50% de lo normal y del 5% al 25% en individuos homocigotos; pe-

ro este solo dato de valoración de la actividad in vitro no explica el grado de hemólisis de las personas afectadas, o la existencia de individuos clínicamente normales en familias donde existen personas afectadas; por ello se ha propuesto que junto con la heterogeneidad de las enzimas, existen condiciones in vivo que alteran la actividad de las mismas, en concentraciones determinadas de sustrato.

III.A.b.) INCIDENCIA:

La alteración de la Piruvatocinasa se presenta por igual en varones y mujeres y aunque la mayoría de los casos se ha detectado en individuos de origen europeo, se ha reportado también la deficiencia enzimática en individuos de origen étnico muy diverso, como son italianos, españoles, mexicanos, negros estadounidenses, japoneses y chinos, éstos últimos con alta incidencia de la enfermedad, por lo que se ha concluido que la alteración puede estar presente en cualquier grupo humano, explicándose los mayores hallazgos en pacientes noreuropeos por su condición de países desarrollados.

III.B.) DEFICIENCIA DE LA GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGE-

NASA:

En 1926 Cordes había informado ya sobre casos de crisis hemolíticas en individuos tratados con antipalúdicos; después de este primer informe se comunicaron casos en diferentes partes del mundo en donde no sólo la administración de antipalúdicos había desencadenado las crisis, sino también el consumo de ciertas especies comestibles de habas (favismo). No fue sino hasta mediados de la década de los cincuenta, cuando se demostró en individuos de raza negra tratados con el antipalúdico Primaquina, que la manifestación de la crisis hemolítica en estos individuos estaba relacionada con la alteración de la enzima Glucosa-6-Fosfato Deshidrogenasa. Como se indicó, la G6PD es necesaria para que se genere el NADPH en el ciclo de la Pentosa Monofosfato, única vía capaz de producirlo en el glóbulo rojo.

III.B.a.) GENÉTICA:

El gen que codifica para la producción de la G6PD se localiza en los cromosomas "X", por lo cual la deficiencia se clasifica como recesiva sexual. Esto determina que la enfermedad sólo pueda ser transmitida de madre a hijo, el cual al ser hemocigoto, presentará siempre la manifestación clínica. Para el caso de una mujer existe la posibilidad de ser heterocigota, si sólo uno de los padres pre-

sentará la mutante deficiente, o bien puede ser homocigota si ambos progenitores estuvieran afectados. Aún cuando en la mujer existan dos cromosomas "X", el nivel de actividad enzimática no es el doble que en el hombre, puesto que uno de dichos cromosomas es "inactivo", esta inactivación es un proceso que se produce al azar desde los inicios de la vida embrionaria, por lo que todas las células femeninas, incluyendo los eritrocitos formarán un "mosaico genético", al azar, de cromosomas "X" activos e inactivos. Esto explica porque una mujer heterocigota para el gen deficiente, presenta eritrocitos con la enzima normal y eritrocitos con la alteración en la G6PD.

III.B.b.) VARIANTES ENZIMÁTICAS:

Se ha encontrado que la G6PD en su forma activa y en condiciones óptimas, está formada por dos subunidades, cada una de las cuales contiene Ácido Piroglutámico en el grupo amino terminal y glicina en el extremo carboxílico. La causa responsable de la anemia hemolítica relacionada con la G6PD no es la falta de la enzima o una baja producción de la misma, sino la síntesis de la enzima anormal lo que produce la deficiencia en la actividad enzimática de la G6PD.

Desde que se identificó la primera variante enzimática anormal de G6PD relacionada con problemas hemolíticos, no

ha cesado de informarse sobre diferentes variantes en prácticamente todas las regiones del mundo donde se ha estudiado a individuos con crisis hemolíticas desencadenadas por el uso de medicamentos oxidantes. Se ha llegado a acordar un sistema basado en estudios de movilidad electroforética, termostabilidad y medición de la actividad enzimática con variaciones experimentales, que permite la tipificación de todas las variantes.

Dentro de las variantes normales estudiadas se han encontrado 2 con diferente movilidad electroforética, designadas como "A" y "B", siendo "A" la más rápida. Asociadas a estas letras se emplean además signos que indican el porcentaje de la actividad enzimática en relación a la enzima "B" normal: (+) indica una actividad normal enzimática de un 65% a un 150%; (++) para una actividad de más de un 150%; (±) para una actividad entre 25% y 65% y el signo (-) para una actividad menor del 25%. El símbolo "Gd" se usa para designar la enzima en un genotipo y fenotipo específicos.

Se ha establecido además una clasificación general para las diferentes variantes de la G6PD, que hasta la fecha suman más de 170. Esta clasificación comprende: 5 clases, según sea la alteración de la actividad de la enzima; la "clase 1" incluye las enzimas con deficiencia severa asociada con anemia hemolítica congénita no esferocítica (AHC-

NE); la "clase 2" agrupa a las variantes con deficiencia severa pero que generalmente no manifiesta AHCNE, ya que se presenta un 10% de actividad residual; la "clase 3" incluye las variantes con deficiencia enzimática moderada o leve con un 10% a 60% de actividad residual; la "clase 4" incluye las variantes normales con actividad entre 60% y 150%; finalmente la "clase 5" agrupa hasta ahora a una sola variante con actividad superior a un 150%. Cada una de las clases se subdivide en tres subgrupos, de acuerdo a su movilidad electroforética: rápida, normal o lenta. A cada una de las variantes se le conoce con un nombre trivial, generalmente por la ciudad donde se encontró o el investigador que la identificó, por ejemplo en la República Mexicana se han conocido las variantes: Gd Guadalajara (clase 1), Gd Chiapas y Gd México (clase 3).

III.B.c.) INCIDENCIA:

Las variantes anormales de G6PD, asociadas a problemas de anemia hemolítica congénita no esferocítica, se manifiestan en ambos sexos en diferentes zonas del mundo, pero es un hecho que existe una elevada incidencia en ciertas poblaciones y en regiones tropicales o subtropicales donde el paludismo es o fue un problema de salud, por lo que se ha sugerido que la aparición de estas variantes enzimáticas podrían representar una selección que confiere una mayor resistencia al parásito del paludismo (polimorfismo equi-

librado). Porcentajes especialmente altos se han calculado en poblaciones como judios curdos (50%), la población de la costa mediterranea de Europa y Africa, China, Tailandia, Filipinas, Brasil, Puerto Rico, Cuba, negros estadounidenses y en México se ha considerado que no es un problema de salud pública.

IV) CONSECUENCIAS DE LAS ALTERACIONES ENZIMÁTICAS

PC Y G6PD:

Las consecuencias clínicas de las deficiencias en las enzimas PC y G6PD, se manifiestan como destrucción extravascular de los eritrocitos, en grado variable, relacionada con la aparición de anemia, ictericia, esplenomegalia y colelitiasis. En este tipo de trastornos es característica la aparición de crisis hemolíticas causadas por factores desencadenantes extrínsecos, como son los medicamentos oxidantes (para la G6PD) o por infecciones recurrentes (en la PC). Las manifestaciones clínicas aunque tienen razgos en común con otro tipo de anemias hemolíticas, presentan a su vez razgos distintivos, que pueden orientar al médico hacia el tipo de etiología por deficiencia enzimática. Algunos de los signos clínicos más frecuentes en las anemias hemolíticas por deficiencia en la PC o en la G6PD son los siguientes:

IV. A.) ANEMIA:

IV. A. a.) EN LA ALTERACIÓN ENZIMÁTICA DE LA PC:

Comunmente la anemia varía de moderada a leve, pudiendo pasar desapercibida en las primeras etapas de la vida o manifestarse por el desenlace de una exacerbación de la en-

fermedad. Normalmente el estado crónico de destrucción eritrocitaria se encuentra parcialmente compensado por una mayor actividad eritropoyética. En los individuos homocigotos con la enfermedad severa, la anemia se detecta desde el periodo neonatal por las manifestaciones cardiovasculares propias de la anemia y una marcada palidez.

IV.A.b.) EN LA ALTERACIÓN DE LA G6PD:

En general las alteraciones de la G6PD con manifestaciones de anemia más graves se encuentran relacionadas con las variantes enzimáticas de la clase I, según la clasificación por nombres triviales, pero por norma la enfermedad permanece asintomática hasta que no se manifiesta por alguno de estos patrones:

IV.A.b.1) Anemia hemolítica inducida por fármacos:

Cuando un individuo con deficiencia en la actividad enzimática de la G6PD, es expuesto a cierto tipo de fármacos oxidantes se presenta una crisis hemolítica aguda, de naturaleza moderada, observándose en el sujeto debilidad general, orina oscura, ictericia escleral y ocasionalmente dolor abdominal y/o de espalda. Es notable que al seguir administrando el fármaco, la destrucción eritrocitaria no continúa, lo que se puede explicar si se admite que el problema real de la G6PD consiste en una disminución funcional más rápida de la enzima, a medida que el hematíe envejece; de esta forma al iniciar la administración del fármaco, se induce la destrucción de los glóbulos rojos

que tienen un mayor tiempo en circulación, pero los más jóvenes no son sensibles, así una vez destruidos los primeros y reemplazados con nuevos glóbulos rojos, la hemólisis deja de hacerse manifiesta.

Los fármacos de tipo oxidante asociados a este tipo de crisis hemolíticas son: Antipalúdicos (primaquina, pamaquina, pentaquina, quinocida, atebriña, quinina); Sulfonamidas (sulfanilamida, sulfapiridina, salicilazosulfapiridina, sulfametoxipiridazina, sulfacetamida, N-acetilsulfanilamida, 2-amino-5-sulfaniltiazol, sulfisoxazol); Sulfonas (tiazolsulfona, diaminodifenilsulfona, sulfoxona); Nitrofuranos (nitrofurantoina, furazolidona, nitrofurazona); Analgésicos y Antipiréticos (acetanilida, antipirina, aminopirina); y otros como la fenilhidrazina, isoniacida, cloramfenicol, dimercaptol, vitamina K, quinidina, ácido para-aminosalicílico.

IV. A. b. 2.) Anemia hemolítica asociada a infecciones u otras enfermedades:

En infecciones recurrentes bacterianas o virales se han presentado casos de hemólisis aguda en individuos con actividad enzimática deficiente de la G6PD, sin que se haya administrado medicamento alguno y lo mismo se ha observado en la cetoacidosis diabética o en la hepatitis, lo cual se ha explicado por la producción de sustancias asociadas

a la enfermedad.

IV.A.b.3.) Anemia hemolítica asociada al consumo de ciertas especies de habas comestibles:

El consumo de ciertas especies de habas comestibles (favismo), ha producido graves crisis hemolíticas en individuos con ciertas variantes G6PD con actividad enzimática deficiente, en conjunción con factores inmunológicos individuales, siendo una variante especialmente sensible la Gd mediterráneo.

IV.B.) ICTERICIA:

En la deficiencia enzimática de la PC la ictericia no se manifiesta en el período neonatal, con excepción de casos especialmente graves en individuos homocigotos; lo común es que se manifieste en forma discreta, o de manera evidente en etapas posteriores de la vida, asociada a una hemólisis desencadenada por infección interrecurrente. Es característica de la hemólisis congénita crónica presentar ictericia carente de prurito.

En la deficiencia enzimática de la G6PD es frecuente que se presente ictericia en el período neonatal para ciertos tipos de variantes anormales, haciéndose en ocasiones necesario una exanguineotransfusión. Por lo demás la ictericia severa estará asociada al consumo de fármacos oxi-

dantes, a infecciones, a la diabetes mellitus, a la hepatitis o al consumo de algunos alimentos oxidantes como ciertas especies comestibles de habas (favismo).

IV.C.) ESPLENOMEGALIA:

Es rara en la deficiencia enzimática de la G6PD y generalmente no es importante. La deficiencia de la PC, manifiesta una esplenomegalia de leve a moderada y sólo en pocas ocasiones es severa y con dolor.

IV.D.) COLELITIASIS:

La formación de cálculos biliares de tipo pigmentario, por la sobrecarga de bilirrubina vesicular, como consecuencia de la incrementada destrucción de glóbulos rojos, se presenta en individuos adultos que han cursado la enfermedad en forma subclínica. Los problemas asociados a la formación de dichos cálculos pueden ser clínicamente muy importantes.

IV.E.) "CRISIS HEMOLÍTICAS":

Como ya se ha indicado estas crisis se asocian a factores extrínsecos a la característica deficitaria de la variante enzimática. Generalmente las crisis son de tipo "aplástico" por un periodo transitorio de 5 a 12 días, con una reticulocitopenia brusca asociada a leucopenia y trombocitopenia discretas. La "crisis hemolítica" esta expli-

cada por una mayor actividad esplénica, desencadenada por anomalías en los eritrocitos, como consecuencia de la falla en la función de la PC o la G6PD. Finalmente las "crisis megaloblásticas", asociadas a la deficiencia de ácido fólico es frecuente en pacientes con deficiencia enzimática de la PC o la G6PD.

Los glóbulos rojos tienen una vida media en circulación relativamente limitada, la cual está determinada por el tiempo que tardan las enzimas en perder su funcionalidad y eficiencia. Aproximadamente a los 120 días de mantenerse activo en circulación, el glóbulo rojo manifiesta alteraciones físicas y químicas que lo hacen incapaz de mantener su forma y función, por lo que es identificado por las células reticuloendoteliales del bazo y del hígado para ser eliminado, o para sufrir inclusive una hemólisis intravascular. Normalmente el 90% del mecanismo de eliminación de los eritrocitos normales envejecidos es de tipo extravascular y sólo un 10% intravascular. La hemólisis incrementada de tipo crónico o agudo en las anemias hemolíticas congénitas no esferocíticas por deficiencia en la PC o en la G6PD, se pueden explicar por un proceso de "envejecimiento prematuro" por la existencia de estas enzimas defectuosas, por lo que en este tipo de anemias hemolíticas la destrucción extravascular sigue siendo el mecanismo predominante.

En la deficiencia enzimática de la Piruvatocinasa, existe una falla en la regeneración del ATP, por lo que al faltar esta molécula energética indispensable deja de funcionar con eficacia la "bomba" de sodio-potasio, el eritrocito no podrá introducir potasio ni sacar el sodio que entra libremente, lo que explica las alteraciones en la forma del eritrocito, que lo hacen ser identificado como célula envejecida y eliminado por el sistema retículo endotelial.

Para la deficiencia enzimática de la G6PD, la destrucción de los glóbulos rojos se encuentra relacionada con falla en la producción del NADPH, molécula necesaria para la reducción del glutatión. Cuando los eritrocitos normales están expuestos a sustancias oxidantes, el glutatión en forma reducida pasa a la forma dimérica oxidada, la hemoglobina pasa a metahemoglobina junto con la oxidación de grupos sulfhidrilo de la hemoglobina, siendo estas reacciones reversibles si existe un aporte normal de NADPH en el eritrocito; no obstante, en los eritrocitos con deficiencia enzimática de la G6PD, al mantenerse el estado oxidante se afecta en forma irreversible la globina, alterándose su estructura protéica terciaria y formando sulfhemoglobina y hemoglobina precipitada que se une por puentes disulfuro a las proteínas de la membrana, manifestándose como cuerpos de Heinz que alteran la consistencia

de la membrana eritrocitaria, haciendo que los glóbulos rojos sean reconocidos como defectuosos y eliminados por el bazo y el hígado.

V) HALLAZGOS DE LABORATORIO Y DIAGNÓSTICO:

La historia clínica y sintomatología del paciente con anemia hemolítica, puede proporcionar datos que permitan sospechar de una etiología congénita, pero el diagnóstico diferencial sólo podrá ser establecido con base a los datos del laboratorio. Los hallazgos de laboratorio se referirán a tres tipos de datos: los que indican un incremento en la destrucción de los glóbulos rojos, los que indican un incremento en la actividad eritropoyética de la médula ósea (como mecanismo compensatorio de la destrucción acelerada) y los que son específicos para el tipo de anomalía en estudio y que tienen valor de diagnóstico diferencial.

V.A) HALLAZGOS QUE INDICAN DESTRUCCIÓN INCREMENTADA DE ERITROCITOS:

** En el frotis de sangre periférica se encuentra macrocitocis policromatófila de grado variable, anisocitosis o poikilocitosis leve. En casos graves pueden observarse células fantasmas como resultado de destrucción intravascular. La esferocitosis no es importante. El recuento de leucocitos y plaquetas es normal pero puede estar ligeramente

alterado.

** Los niveles de hemoglobina son bajos (entre 6 y 12 g/dl), al igual que el hematocrito que puede ir en rápido descenso, aunque es frecuente una estabilización de los valores.

** En el suero se encuentra bilirrubina indirecta moderadamente aumentada. La haptoglobina sérica no se encuentra o está disminuida. La orina presenta urobilinógeno aumentado. Las heces muestran también aumento del urobilinógeno.

V. B) HALLAZGOS RELACIONADOS CON LA ERITROPOYESIS AUMENTADA:

** En frotis de sangre periférica se observa la presencia variable de glóbulos rojos nucleados, así como reticulocitos.

** En estudios de médula ósea se encuentra aumentada la celularidad, por la hiperplasia eritroide presente.

V. C) HALLAZGOS RELACIONADOS CON EL DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL:

** Las reacciones de la prueba de Coombs son negativas.

** Se observa la presencia de cuerpos de Heinz, que indica hemoglobina desnaturalizada. Deben hacerse pruebas para descartar la presencia de hemoglobina inestable.

** La prueba de autohemólisis de Selwin y Dacie, pueden tener un carácter confirmatorio para diagnosticar la deficiencia enzimática de PC o G6PD. Al incubarse la sangre problema desfibrinada a 37°C durante 48 horas, se observa un aumento de la hemólisis. Si existe deficiencia enzimática de la PC la hemólisis no se corrige al agregar glucosa previamente a la incubación, pero si se produce la corrección si se adiciona ATP (patrón tipo 2). Por el contrario si la deficiencia enzimática es de la G6PD, la hemólisis se encuentra moderadamente aumentada y se corrige sólo parcialmente al adicionar tanto glucosa como ATP (patrón tipo 1). Desafortunadamente esta prueba no es 100% específica y existen deficiencias en la actividad de una u otra enzima que no se ajustan a estos patrones.

** Para identificar la presencia específica de la PC, se puede hacer una prueba simple para medir la actividad de la enzima: la prueba mas usada se basa en el acoplamiento de la reacción de la PC a la transformación del piruvato en lactato, por la deshidrogenasa láctica dependiente

de NADH. Para ésto, se agrega a la sangre problema fosfoenolpiruvato, NADH y deshidrogenasa láctica, monitoreándose la reacción por la propiedad del NADH de fluorescer cuando se irradia con luz ultravioleta de onda larga, en tanto que el NAD⁺ no lo es. Si la PC es normal la fluorescencia desaparece al cabo de unos 15 minutos, al utilizarse el NADH para formar el lactato; por el contrario si existe deficiencia enzimática la fluorescencia persiste hasta por 45-50 minutos.

** Para la evaluación de la actividad específica de la G6PD se han propuesto varios métodos, uno de ellos denominado "prueba de mancha", utiliza una mezcla de saponina, amortiguador, G6P y NADP⁺ a la cual se le agrega sangre problema y después de 5 a 10 minutos se pasa por papel filtro observándose la presencia de fluorescencia con una lámpara ultravioleta, siendo positiva en caso de haberse formado NADPH.

También se utiliza la prueba de ascorbato-cianuro, que al mezclarse con la sangre problema, produce un amarronamiento por formación de metahemoglobina, lo que no sucede si la G6PD es normal.

V) TRATAMIENTO:

Independientemente de que el carácter genético hace imposible una curación definitiva de las anemias hemolíticas por alteraciones en la PC o la G6PD, no existe un tratamiento específico que proporcione una remisión conveniente de la hemólisis crónica o de las crisis.

En la deficiencia de la actividad enzimática de la Piruvatocinasa, aunque la destrucción es preferentemente en el hígado, en casos graves de la enfermedad la esplenectomía, sobre todo en infantes, puede permitir la sobrevida. Las transfusiones de sangre no son recomendables, pero en el caso de hemólisis aguda grave llegan a hacerse necesarias, tomando todas las precauciones que el caso amerita. Como terapia de profilaxis debe evitarse la exposición del paciente a fármacos o alimentos oxidantes que pudieran desencadenar una crisis hemolítica, manejándose siempre las infecciones de manera rápida y específica.

Finalmente la administración de ácido fólico por vía oral (de 2 a 5 mg al día), es recomendable para evitar la aparición de crisis megaloblásticas.

Para la deficiencia en la actividad enzimática de la G6PD, la esplenectomía no produce una mejoría apreciable y el uso de transfusiones sólo es recomendable en casos graves de hemólisis por consumo de ciertas especies de ha-
bas comestibles. En este caso la terapia profiláctica men-
cionada en líneas anteriores es de especial importancia.

V) CONCLUSIÓN:

El diagnóstico por el laboratorio, para las deficiencias en la actividad enzimática de la PC y la G6PD, debe ser realizado siempre que existan casos de anemia hemolítica asociada a la administración de medicamentos oxidantes o infecciones recurrentes, así como en neonatos con ictericia que denote hemólisis aguda y no existan antecedentes para pensar en una enfermedad hemolítica del recién nacido.

Aún cuando la alteración de la PC es poco frecuente, no sucede lo mismo para el caso de la G6PD, pues si consideramos que se ha calculado que más de 100 millones de individuos presentan actualmente problemas de hemólisis que pueden estar relacionados con variantes deficientes de G6PD, la preocupación por un diagnóstico oportuno y correcto es justificable. Esto resulta válido en nuestro país, donde existieron o existen zonas endémicas de paludismo y en las que se sabe la alteración de la G6PD es relativamente frecuente, por lo que los estudios de rastreo para detectar esta deficiencia debe ser estricto en hospitalización o no, en los pacientes de zonas palúdicas o provenientes de ellas, esto es doblemente obligado para los bancos de san-

gre, pues en ellos no solamente se compromete la salud del afectado, sino la de otros individuos que por su condición de enfermos graves, pueden tener consecuencias fatales al ser trasfundidos con sangre deficiente en actividad enzimática de la G6PD.

NÚMERO ASIGNADO POR LA COMISIÓN DE ENZIMAS PARA LAS
ENZIMAS MENCIONADAS EN ESTE TRABAJO

- Hexocinasa EC: 2.7.1.1.
Fosfoglucoisomerasa EC: 5.3.1.9.
Fosfofructocinasa EC: 2.7.1.11.
Aldolasa EC: 4.1.2.13.
Triosa Fosfato Isomerasa EC: 5.3.1.1.
Fosfogliceraldehído Deshidrogenasa EC: 1.2.1.12.
Fosfoglicerocinasa EC: 2.7.2.3.
Fosfogliceromutasa EC: 2.7.5.3.
Enolasa EC: 4.2.1.11.
Piruvatocinasa EC: 2.7.1.40
Lactato Deshidrogenasa EC: 1.1.1.28.
Glucosa-6-fosfato Deshidrogenasa EC: 1.1.1.49.
Lactonasa (6-fosfogluconolactonasa) EC: 3.1.1.31.
6-fosfogluconato Deshidrogenasa EC: 4.2.1.12.
Descarboxilasa (Fosfogluconato deshidrogenasa) EC: 1.1.1.44.
Fosfopentosa Epimerasa EC: 5.1.3.1.
Ribosa-5-fosfato Isomerasa EC: 5.3.1.6.
Transcetolasa EC: 2.2.1.1.
Transaldolasa EC: 2.2.1.2.
Hexosa Isomerasa EC: 5.3.1.9.

BIBLIOGRAFÍA Y REFERENCIAS

- 1.- Ayala, Fco. J.
Genética Moderna
ed. Fondo Educativo Interamericano (1984).
Barcelona, España.
- 2.- Da Silva Filho
Glúcidos é Glucometabolismo
ed. Libreria Luso-Espanhola (1980).
Lisboa, Portugal.
- 3.- Karlson, P.
Manual de Bioquímica
ed. Marinsa, 4a. edición (1973).
Barcelona, España.
- 4.- Lehninger, Albert L.
Bioquímica, las bases moleculares de la estructura
y función celular.
ed. Omega, 10a. reimpresión (1985).
Barcelona, España.
- 5.- Louisot, Pierre
Bioquímica Estructural
ed. AC., 1era. edición española (1977).
- 6.- Rapaport, Samuel I.
Introducción a la Hematología
ed. Salvat, 2a. reimpresión (1977)
México.
- 7.- Williams, J. Williams y otros autores
Hematology
ed. Mc. Graw Hill, 3rd. edition (1983).
USA.
- 8.- Wintrobe, Maxwell M. y otros autores
Hematología Clínica
ed. Interamericana, 7a. edición norteamericana (1979).
Buenos Aires, Arg.
- 9.- Yudkin, Michael
Bioquímica
ed. Omega (1976).
Barcelona, España.
- 10.- Arese P. and De Flora A.
Pathophysiology of Hemolysis in Glucose-6-Phosphate
Dehydrogenase Deficiency
Seminars in Hematology. 27(1):1-90. January, 1990.

- 11.- De Flora A. et. al.
Alterations of red blood cell proteolysis in favism.
Biomed.Biochim. Acta (46):184-189.1987.
- 12.- Golenser J. and Chevion M.
Oxidant Stress and Malaria: Host-Parasite Interrelationships in Normal and Abnormal Erythrocytes.
Seminars in Hematology.26(4):313-325,october.1989.
- 13.- Meloni T., et. al.
Acute hemolytic anemia in two G6PD-deficient children with viral hepatitis.
Haematologica.73:397-399.1988.
- 14.- Morales Rodriguez Moises, et. al.
Anemia hemolitica por antipalúdicos: estudio en 38 casos. Rev.Cuba Med.25(6):609-13. jun.1986.
- 15.- Sena Leda Lucía Álvarez de. et. al.
Clinical evaluation of G6PD deficiency in brazilian population. Rev.Bras.Genet.(8):89-96,mar.1985.
- 16.- Vaca G., et. al.
Las eritroenzimopatías hereditarias. Aspectos bioquímicos y genéticos. Bol.Ofic.Sanit.Panam.
97(3):225-39.1984.
- 17.- Velázquez, Ana Lilia, et. al.
Eritroenzimopatías hereditarias en neonatos con hiperbilirrubinemia.Bol.Med.Hosp. Infant.Mex.
42(8):466-9.ago.1985.
- 18.- Webb, Edwin and Dixon, Malcolm
Enzymes
Academic Press. Third edition.1979.
USA.

FE DE ERRATAS:

Hoja 3, renglón 18, dice: superficie de "unas", debe decir superficie de unos

Hoja 12, en el paso de glucosa a glucosa6P, dice: "Hexoquinasa", debe decir Hexocinasa

Hoja 16, después del esquema, renglón 14, dice: 6-PGna="6-Fosfogluconolactona", debe decir 6-PGna=Fosfogluconolactona

Hoja 19, renglón 10, dice: en "las" hemoglobina, debe decir en la hemoglobina

Hoja 21, renglón 12, dice: la deficiencia enzimática "en en" individuos, debe decir la deficiencia enzimática en individuos