



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MÉXICO

**INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

**DIFERENCIAS EN GÉNERO EN LA CONCENTRACIÓN DE G6PD
EN EL TAMIZ NEONATAL**

T E S I S

Que para obtener el título de:

ESPECIALISTA EN NEONATOLOGÍA

P R E S E N T A

DRA. TANIA MARCELA SIFUENTES AGUILAR

DRA. IRMA ALEJANDRA CORONADO ZARCO
PROFESORA TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN
NEONATOLOGÍA

DR. HÉCTOR A. BAPTISTA GONZÁLEZ
ASESOR DE TESIS



Ciudad de México Febrero, 2020



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 esta 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.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

Título de tesis

Diferencias en género en la concentración de G6PD en el tamiz neonatal



Dra. VIRIDIANA GORBEA CHÁVEZ

Directora de Educación en Ciencias de la Salud.
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"



Dra. IRMA ALEJANDRA CORONADO ZARCO

Profesora titular del Curso de Especialización en Neonatología.
Instituto Nacional de Perinatología "Isidro Espinosa de los Reyes"



Dr. HÉCTOR A. BAPTISTA GONZÁLEZ

Director de Tesis y Asesor Metodológico
Departamento de Hematología Perinatal
Instituto Nacional de Perinatología
"Isidro Espinosa de los Reyes"

DEDICATORIAS

A mis padres, Bertha Aguilar Guerrero y Gerardo Sifuentes Castañeda, quienes me han brindado apoyo incondicional y me han motivado a cumplir mis metas. A mis hermanos Laura y Gerardo, quienes me alentaron a seguir adelante. A mi asesor de tesis Dr. Héctor Baptista González quien me apoyo en todo momento durante la realización de este proyecto.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo se desarrolló con fondos federales al Instituto Nacional de Perinatología "*Isidro Espinosa de los Reyes*".

INFORMACIÓN DE LOS AUTORES

Tania Marcela Sifuentes Aguilar

Médico Residente

Especialidad de Neonatología

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, 11000.

Ciudad de México, México

Correo electrónico: tania.sifuentes.a@gmail.com

Héctor A. Baptista González

Departamento de Hematología Perinatal

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, 11000.

Ciudad de México, México

5520 9900 extensión

Correo electrónico: baptistagh@gmail.com

Octavio Villegas Martínez

Departamento de Hematología Perinatal

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, 11000

Patricia Bouchan Valencia

Departamento de Hematología Perinatal

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, 11000

Georgina Coeto Barona

Departamento de Hematología Perinatal

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, 11000

Rocío Trueba Gómez

Departamento de Hematología Perinatal

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, 11000

Fanny Rosenfeld Mann

Departamento de Hematología Perinatal

Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes”.

Montes Urales 800, Colonia Lomas de Virreyes, 11000

INDICE

	<i>Página</i>
1. RESUMEN	6
2. ABSTRACT	7
3. INTRODUCCIÓN	8
4. MATERIAL Y METODOS.....	10
5. DIAGRAMA DE ESTUDIO.....	12
6. RESULTADOS	13
7. DISCUSIÓN	21
8. REFERENCIAS	26
TABLAS	
1. Variables demográficas perinatales.....	13
2. Distribución de valores de la enzima G6PD por estratos y estratos de género.....	15
3. Casos deficientes de la enzima G6PD	18

1. Resumen

Objetivo: Evaluar las posibles diferencias en los valores de G6PD obtenidos durante el tamiz neonatal (TN), bajo las variables clínicas y demográficas propias del recién nacido, en la población neonatal en una sola institución.

Material y métodos: Mediante un diseño prospectivo y descriptivo, se evaluaron consecutivamente todos los recién nacidos vivos del Instituto Nacional de Perinatología. Se incluyeron a los neonatos con sobrevivida mayor a las 24 horas de vida atendidos en el Instituto del primero de enero al 31 de diciembre del 2015.

Resultados: Se evaluaron para el presente reporte 3 193 recién nacidos de los cuales 1 575 fueron del género masculino y 1 618 casos del femenino. En cuatro recién nacidos se obtuvieron valores repetidos por debajo del punto de corte de ≤ 2.6 U/g de Hb. Las variantes moleculares fueron en dos casos heterocigotos para las variantes G202A y A376G, otro caso heterocigoto para A376G y T968C y finalmente, un caso heterocigoto para G202A.

Conclusiones: El tamizaje neonatal debe estar basado en las pruebas que estiman la concentración o actividad de la G6PD eritrocitaria. Las pruebas de DNA debieran tener su mejor indicación clínica en los casos con valores de G6PD por debajo del punto corte.

2. Abstract

Aims: To assess the possible differences in the values of G6PD obtained during the neonatal screening (NS), under the clinical and demographic variables of the newborn, in the neonatal population in a single institution.

Material and methods: Through a prospective and descriptive design, all live newborns of the National Institute of Perinatology were consecutively evaluated. We included neonates with survival greater than 24 hours of age attended in the Institute from January 1 to December 31, 2015.

Results: 3,193 newborns were evaluated for the present report, of whom 1,575 were male and 1,618 were female. In four newborns, repeated values were obtained below the cutoff of ≤ 2.6 U / g of Hb. The molecular variants were in two cases heterozygous for the variants G202A and A376G, another case heterozygous for A376G and T968C and finally, a case heterozygous for G202A.

Conclusions: The neonatal screening should be based on the tests that estimate the concentration or activity of the erythrocyte G6PD. DNA tests should have their best clinical indication in cases with G6PD values below the cut point.

3. Introducción.

Cerca del 85 % de todos los recién nacidos presentan algún grado de ictericia durante los primeros días de vida (Bhutani, Stark et al. 2013). La deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (D-G6PD) afecta con frecuencia variable a toda la población mundial (Cappellini and Fiorelli 2008); en la etapa neonatal adquiere relevancia particular, pues los neonatos con esta deficiencia presentan mayor riesgo de hiperbilirrubinemia clínicamente significativa (RR 3.92, IC 95 % 2.13 a 7.20), comparados con aquellos sin deficiencia (Liu, Liu et al. 2015); además de representar un factor de riesgo para el desarrollo de kernicterus (Kaplan and Hammerman 2011). Sin embargo, al igual de lo que ocurre en otras etapas de la vida, la deficiencia de G6PD puede ser una condición identificada en el neonato asintomático o bien estar presente acompañado a los casos de hiperbilirrubinemia neonatal de intensidad variable (Maisels 2015). Por lo tanto, la incidencia de hiperbilirrubinemia neonatal en la población deficiente de G6PD es el doble de la población de hombres que portan el gen defectuoso y en mujeres homocigota (Frank 2005), mientras que este fenómeno raramente ocurre en mujeres bajo condición heterocigota (Kaplan, Hammerman et al. 2001)

La Organización Mundial de la Salud, recomienda implementar el programa de tamizaje neonatal en aquellas poblaciones con frecuencia del 3-5 % de la deficiencia G6PD en neonatos de género masculino (WHO 1989), para prevenir las complicaciones asociadas e inclusive es una intervención obligatoria para algunas regiones y países (Therrell, Padilla et al. 2015). Para México, existe amplia variabilidad en el reporte de la prevalencia nacional de la deficiencia de G6PD, que es menor al 2 %. Sin embargo, para la región de la costa de Guerrero, Oaxaca y Veracruz, se reporta hasta en el 6 % de la

población(Monteiro, Val et al. 2014). Al igual que en otras regiones o países (Frank 2005, Therrell, Padilla et al. 2015). Su detección al nacimiento en México no es de realización obligatoria(Salud 2016), ni existe un programa o política nacional al respecto. En algunos centros de atención de partos y recién nacidos en México (Zamorano-Jimenez, Baptista-Gonzalez et al. 2015, Medina DAC 2017), se ha implementado el tamizaje neonatal de la G6PD, observándose diferencias evidentes en la validación o verificación de los métodos analíticos para la cuantificación de la enzima y la definición del punto de corte para la identificación de los neonatos deficientes, así como las variantes de la G6PD incluidas en la evaluación molecular(Cantu-Reyna, Santos-Guzman et al. 2019), la estrategia de incorporación del tamizaje en la práctica clínica, la confirmación y seguimiento de los casos detectados inicialmente con deficiencia de esta enzima eritrocitaria (Zamorano-Jimenez, Baptista-Gonzalez et al. 2015), incluyendo el programa de educación a los padres y la familia(Kaplan, Hammerman et al. 2015). Estos factores explican la dispersión entre los resultados en la prevalencia de G6PD en México, que varía desde de 3.4 varones estudiados (Cantu-Reyna, Santos-Guzman et al. 2019) hasta 8.7 a 14.0 casos sin distinción de género (Garcia-Magallanes, Luque-Ortega et al. 2014, Zamorano-Jimenez, Baptista-Gonzalez et al. 2015) y hasta 259.4 por cada 1 000 RN vivos(García-Morales Elisa. 2017).

Con estos elementos, el objetivo del presente reporte es evaluar las posibles diferencias en los valores de G6PD obtenidos durante el tamiz neonatal, bajo las variables clínicas y demográficas propias del recién nacido, en la población neonatal en una sola institución.

4. Material y métodos.

Mediante un diseño prospectivo y descriptivo, se evaluaron consecutivamente todos los recién nacidos vivos del Instituto Nacional de Perinatología que es un hospital de tercer nivel de atención de pacientes con embarazos de alto riesgo y con alta prevalencia de nacimientos pretérmino. Se incluyeron a los neonatos con sobrevivencia mayor a las 24 horas de vida atendidos en el Instituto del primero de enero al 31 de diciembre del 2015 de acuerdo al diagrama de estudio (figura 1).

Se incluyeron los neonatos, independientemente de edad gestacional, género o peso al nacimiento, hospitalizados en las salas de alojamiento conjunto y en las unidades de cuidados especiales. Fueron diferidos o excluidos de su realización los casos con muerte neonatal temprana, así como aquellos neonatos gravemente enfermos, por no contar con muestra sanguínea para el estudio inicial. Se registraron las variables demográficas de edad materna, edad gestacional estimada por el método de Capurro (Capurro, Konichezky et al. 1978) y fecha de última amenorrea (estratos 27.0 a 28.6, 29.0 a 30.6, 31.0 a 32.6, 33.0 a 34.6, 35.0 a 36.6, 37.0m a 38.6, 39.0 a 40.6 y 41.0 a 42.6 semanas), vía de nacimiento, género, peso al nacer (estratos <1500 g, 1500 a 2500 g y >2500 g), longitud supina, productos de embarazos únicos o múltiples.

La detección semi-cuantitativa de G6PD se realizó en la etapa posnatal por un método rápido como prueba de escrutinio, mediante una técnica colorimétrica (Neonatal G6PD Assay, Semiquantitative; Bio-Rad Laboratories) en muestras de sangre contenidas en una matriz seca (tarjeta de Guthrie). El punto de corte para definir la deficiencia de G6PD se consideró con valores ≤ 2.6 U/g de Hb. Los casos reactivos en el tamiz neonatal forman parte de una cohorte donde se incluye el seguimiento pediátrico Institucional al menos el

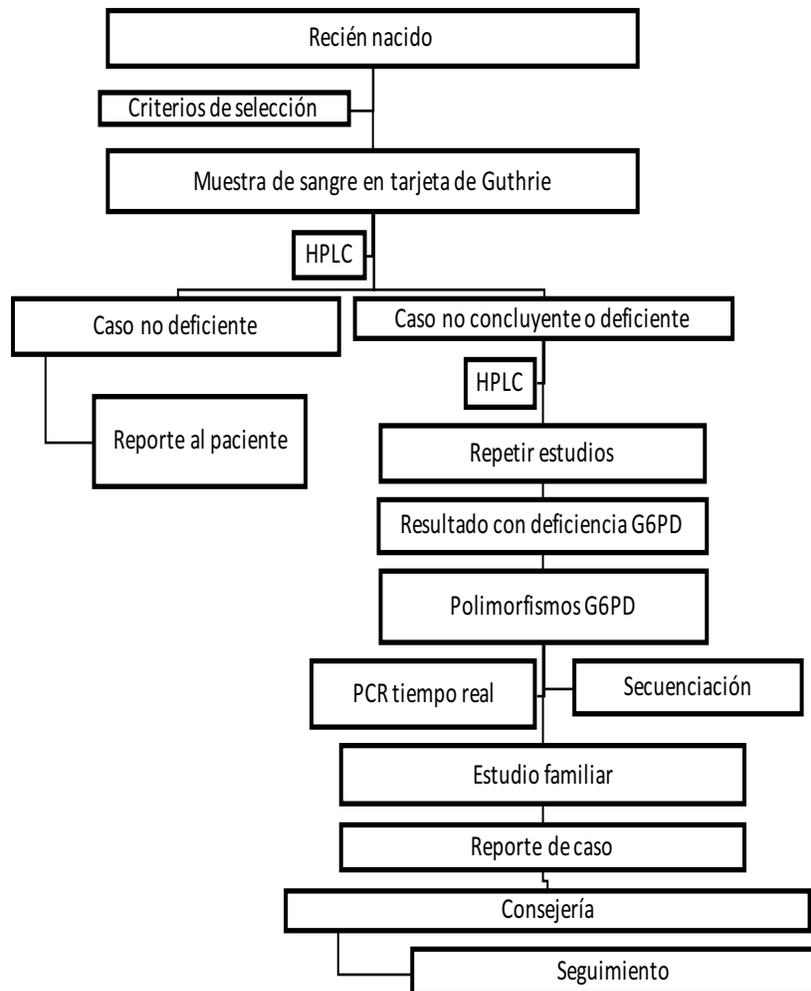
primer año de vida, así como el estudio molecular confirmatorio en ambos padres y resto de familia nuclear, su fuera el caso; así como orientación y consejería sobre esta condición.

En los casos con valores de la enzima G6PD ≤ 2.6 U/g de Hb, mediante el raspado de la mucosa oral con un hisopo de Dacrón poliéster, se obtuvo material celular de descamación para la extracción del DNA empleando un método comercial (High Pure PCR Template Preparation Kit Roche®, Mannheim, Alemania). La muestra se almacenó a -70°C hasta su estudio molecular. Las variantes moleculares reportadas en este estudio G202A, A376G, T968C y C563T, han sido evaluadas previamente por nuestro grupo de trabajo (Zamorano-Jimenez, Baptista-Gonzalez et al. 2015).

En la estadística descriptiva, se aplicaron las medidas de dispersión para cada grupo de edad, género y peso al nacimiento. Se efectuó la comparación de las variables neonatales con los valores obtenidos de la enzima G6PD (promedio e intervalo de confianza del 95 %), evaluando las diferencias estadísticas mediante la prueba de diferencia de medias para k muestras independientes.

Mediante el consentimiento informado, se obtuvo autorización de los padres del recién nacido para la recolección de las muestras para el estudio molecular de las variantes de G6PD de acuerdo a la aprobación del Comité de Ética en Investigación. El proyecto se llevó a cabo mediante la asignación de los fondos federales destinados a la Investigación Institucional.

5. Diagrama de estudio



6. Resultados.

Se evaluaron para el presente reporte 3 193 recién nacidos de los cuales 1 575 fueron del género masculino y 1 618 casos del femenino. El porcentaje de neonatos tamizados fue del 99.6 %. Ocho neonatos no fueron tamizados por diferentes causas (muerte neonatal antes de las 24 horas o traslado a otra institución).

Los valores de G6PD mostraron amplitud de 1.1 a 10.5 U/g de Hb. En cuatro recién nacidos se obtuvieron valores repetidos por debajo del punto de corte de ≤ 2.6 U/g de Hb; de tal suerte los casos por encima de este valor de corte fueron de 3.0 a 10.5 1 U/g.

En el análisis de los valores de G6PD de acuerdo a las variables demográficas neonatales por género, no se encuentran diferencias en la distribución de la edad materna, edad gestacional en semanas, estratos de edad gestacional, peso al nacer, estratos de peso al nacer, longitud supina, ser producto único o gemelar (tabla 1).

Tabla 1. Variables demográficas perinatales.

Variable	Género	
	Masculino (1 575/%)	Femenino (1 618/%)
Edad Materna, años*	28.0 (12 a 51)	28 (12 a 51)
Edad gestacional, semanas*	38.2 (27.0 a 42.0)	38.0 (25.5 a 42.5)
Estratos de edad gestacional, semanas		
27.0 a 28.6 (45/1.4)	20/1.2	25/1.5
29.0 a 30.6 (51/1.6)	27/1.7	24/1.5

31 a 32.6 (100/3.1)	48/3.0	52/3.2
33.0 a 34.6 (251/7.8)	115/7.3	136/8.4
35.0 a 36.6 (384/12.0)	182/11.5	202/12.5
37.0 a 38.6 (970/30.4)	478/30.3	492/30.4
39.0 a 40.6 (1187/37.1)	607/38.5	580/35.8
41.90 a 42.6 (205/6.4)	98/6.2	107/6.6
Peso al nacer, gramos**	2684 (2650 a 2718)	2785 (2750 a 2820)
Estrato de peso al nacer		
>2500 gramos (2237/70.0)	1072/68.0	1165/72.0
1501 a 2500 gramos (713/22.4)	378/24.1	335/20.7
< 1500 gramos (243/7.6)	125/7.9	118/7.3
Longitud supina**	47.2 (47.0 a 47.4)	47.8 (47.6 a 48.0)
Producto único (2892/90.6)	1413/89.7	1479/91.4
Primer gemelo (150/4.7)	84/5.3	66/4.1
Segundo gemelo (138/4.3)	72/4.6	66/4.1
Tercer trillizo (13/0.4)	6/0.4	7/0.4

*Mediana, amplitud. ** Media, IC 95 %

De la misma manera, la distribución de valores de G6PD por género no presentan diferencia en toda la muestra con 6.1 U/g de Hb (IC 95 % 5.0 a 7.3) y de 6.0 (IC 95 % 4.9 a 7.2) en hombres y mujeres, respectivamente; se conserva la proporción por estratos en la concentración de la enzima (tabla 2).

Tabla 2. Distribución de valores de la enzima de la G6PD por estratos y estratos de género

Variable	Género	
	Masculino (n 1575)	Femenino (n 1618)
Concentración de G6PD*	6.1 (5.0 a 7.3)	6.0 (4.9 a 7.2)
Estratos de G6PD (n/%)		
≤ 5.0 (202/6.4)	80/5.0	122/7.5
5.1 a 7.0 (2749/87.0)	1364/86.6	1385/85.6
≥ 7.1 (242/7.6)	131/8.4	111/6.9
Día de toma de la muestra (n) ** ¹	3 (1 a 16)	3 (2 a 10)
Día 1 a 2 (548/611; 5.0 a 7.3)	267/6.1; 5.0 a 7.4	281/6.1; 4.9 a 7.2)
Día 3 (1480/6.1; 4.9 a 7.3)	755/6.1; 4.9 a 7.4	725/6.1; 4.8 a 7.2
Día 4 (511/6.1; 4.9 a 7.1)	241/6.1; 5.0 a 7.3	270/6.0; 4,8 a 7.0
Día 5 (385/6.2; 5.0 a 7,1)	189/6.2; 5.2 a 7.1	196/6.1; 4.8 a 7.1
Día 6 a 16 (269/(6.1; 5.1 a 7.1)	123/6.2; 5.2 a 7.1	146/6.1; 4.7 a 7.1

*Media, IC 95 %. **Mediana, percentil 5-95

¹Diferencia de medias para k muestras: no significativa entre los días de toma de muestra y valores de G6PD

Estrato de EG En semanas (3 193/%)	Género (n)	Estrato G6PD en U/g de Hb (n/%)		
		< 5	5.0 a 7.0	≥7.1
27.0 a 28.6 (45/1.4)	Masculino (20/44.4)	0	17/85.0	3/15.0
	Femenino (25/55.6)	4/16.0	18/75.0	2/8.0
29.0 a 32.6 (51/1.6)	Masculino (27/52.9)	1/3.7	21/77.8	5/18.5
	Femenino (24/47.1)	2/8.3	18/75.0	4/16.7
31.0 a 32.6 (100/3.1)	Masculino (48/48.0)	2/4.2	40/83.3	8/12.5
	Femenino (52/52.0)	5/9.6	42/80.8	5/9.6
33.0 a 34.6 (251/7.8)	Masculino (115/45.8)	6/5.2	89/77.4	20/17.2
	Femenino (136/58.2)	10/7.4	117/86.0	9/6.6
35.0 a 36.6 (384/12.0)	Masculino (182/47.4)	14/7.7	145/79.7	23/12.6
	Femenino (202/52.6)	13/6.4	170/84.2	19/9.4
37.0 a 38.6 (970/30.4)	Masculino (478/49.2)	28/5.9	410/85.8	40/8.4
	Femenino (492/50.2)	35/7.1	428/87.0	29/5.9
39.0 a 40.6 (1187/37.1)	Masculino (607/51.1)	25/4.1	554/91.3	28/4.6
	Femenino (580/48.9)	43/7.4	501/86.4	36/6.2
41.0 a 42.6 (205/6.4)	Masculino (98/47.8)	4/4.1	88/89.8	6/6.1
	Femenino (107/52.2)	10/9.3	90/84.1	7/6.5

Variable	Estrato	Género (n)	Estrato G6PD en U/g de Hb (n/%)		
			< 5	5.0 a 7.0	≥7.1
Peso al nacer (g)	<1500	Masculino (125)	3/2.4	102/81.6	20/16.0
		Femenino (118)	11/9.3	96/81.4	11/9.3
	1501 a 2500	Masculino (378)	29/7.7	306 (81.0)	43 (11.4)
		Femenino (335)	22/6.6	283/84.5	30/9.0
	>2500	Masculino (1072)	48/4.5	956/89.2	68/6.3
		Femenino (1165)	89/7.6	283/84.5	30/9.0
Edad Gestacional (semanas)	27.0 a 33.6	Masculino (163)	6/3.7	132/81.0	25/15.3
		Femenino (172)	15/8.7	139/80.8	18/10.5
	34.0 a 36.6	Masculino (229)	17/7.4	306 (81.0)	43 (11.4)
		Femenino (335)	22/6.6	283/84.5	30/9.0

Los cuatro casos identificados fueron del género masculino (tabla 3) con valores de 2.2, 2.3, 1.6 y 1.1 U/g de Hb. Ninguno de estos recién nacidos presentó ictericia neonatal significativa. Las variantes moleculares fueron en dos casos heterocigotos para las variantes G202A y A376G, otro caso heterocigoto para A376G y T968C y finalmente, un caso heterocigoto para G202A.

Tabla 3. Casos deficientes de la enzima G6PD

Caso	Edad materna (años)	Género	Valor de la enzima (U/g Hb)	Variante alélica del gen G6PD
213	31	Masculino	2.2	G202A Heterocigoto/A376G Heterocigoto
511	15	Masculino	2.3	G202A Heterocigoto
3166	43	Masculino	1.6	A376G Heterocigoto/T968C Heterocigoto
787	27	Masculino	1.1	G202A Heterocigoto/A376G Heterocigoto

A continuación se presenta el resumen clínico de los pacientes detectados con deficiencia de G6PD.

Caso 1. Paciente masculino nacido por cesárea de 37.3 semanas de gestación, calificación de Apgar 8-9, madre hemotipo O positivo, con síndrome de Kluver Bucy secundario a encefalitis aguda diseminada. Recién nacido hemotipo A positivo, Coombs directo negativo. Curso a las 54 horas de vida con ictericia, con valores de bilirrubina total de 10.79 con bilirrubina no conjugada de 10.79, sin ameritar tratamiento con fototerapia.

De acuerdo a hallazgos del tamiz neonatal se integra diagnóstico de hipotiroidismo congénito y deficiencia de G6PD. Se inicia manejo con levotiroxina, el cual se suspende a los 14 meses de edad. A los 2 meses de vida presento neutropenia asociada a sepsis por Klebsiella sp.

Se realizó estudio genético de la madre, hermana y abuela materna, encontrándose en las 3 la variante alélica de G6PD G202G heterocigoto y A376G heterocigoto, mismas variantes que se encontraron en el paciente.

Caso 2. Recién nacido masculino nacido por cesárea a las 39 semanas de gestación, Apgar 8-9, madre con hemotipo O positivo, recién nacido con hemotipo O positivo, Coombs directo negativo. En su segundo día de vida curso con ictericia, con Kramer III, se toman bilirrubinas séricas a las 57 horas de vida, reportándose bilirrubina total de 17.6, bilirrubina conjugada 0.2, bilirrubina no conjugada 17.4, por lo cual se inicia manejo con fototerapia, la cual se mantiene durante 24 horas, suspendiéndose con bilirrubinas totales de 12.0, bilirrubina conjugada de 2.2 y bilirrubina no conjugada de 9.8.

Caso 3. Recién nacido masculino nacido por parto de 38.5 semanas de gestación, Apgar 8-9, madre hemotipo O positivo, recién nacido grupo sanguíneo O positivo con Coombs directo negativo. A las 24 horas de vida presenta ictericia, se reporta bilirrubina total de 7.26, bilirrubina directa 0.49, bilirrubina indirecta 6.77, sin criterios para inicio de fototerapia. Se reporta además a las 24 horas de vida anemia normocítica normocrómica regenerativa con hemoglobina de 14.5, hematocrito de 40.4%, volumen corpuscular medio de 96.4, hemoglobina corpuscular media de 34.6, reticulocitos de 5.8%.

Se realizó estudio genético de la madre y abuela materna, encontrándose en ambas la variante alélica de G6PD G202G heterocigoto, mismas variante que se encontró en el paciente.

Caso 4. Recién nacido masculino nacido por parto de 41.1 semanas de gestación, Apgar 8-9, madre con hemotipo O positivo, recién nacido con hemotipo O positivo, con Coombs directo negativo. Curso con alteración del periodo de transición cardiorrespiratorio.

Se realizó estudio genético de la madre, encontrándose la variante alélica de G6PD G202G heterocigoto y A376G heterocigoto, mismas variantes que se encontraron en el paciente.

7. Discusión

Se conocen más de 300 variantes alélicas de la G6PD, divididas en cinco clases según el nivel de enzima actividad en los glóbulos rojos, y las manifestaciones clínicas (WHO 1989): La clase I incluye variantes deficientes de la G6PD que están asociadas con una anemia hemolítica crónica no esferocítica (CNSHA). Las variantes de clase II tienen menos del 10% de actividad enzimática residual, pero sin CNSHA, e incluyen las variantes orientales comunes y mediterráneas. Las variantes de clase III son moderadamente deficientes (10-60% de actividad enzimática residual) e incluyen la forma común de África (A). Las variantes de clase IV tienen actividad enzimática normal, y en la clase V aumenta la actividad de la enzima. En la práctica, las manifestaciones clínicas se limitan a las variantes asociadas con la deficiencia de la enzima, y las variantes patológicas comunes están todas en las clases II y III. Desde el punto de vista de la salud pública, la importancia de una variante depende de sus implicaciones clínicas y su prevalencia: para el propósito de este informe, una variante se considera común, o polimórfica, si ocurre con una frecuencia de 1% o más entre hombres en una población particular (WHO 1989).

Finalmente los laboratorios clínicos proporcionan intervalos de la actividad de G6PD basados en los obtenidos en adultos (Anantasomboon, Chanda et al. 2019), aunado a la evidencia que los recién nacidos afroamericanos (Kaplan, Hoyer et al. 2005) y otras poblaciones (Miao, Chen et al. 2013) tienen niveles de actividad de G6PD que son significativamente distintos a los observados en adultos.

En la población neonatal con prevalencia de la deficiencia de G6PD $\geq 10\%$ muestran proporción de 1:3 entre mujeres y hombres entre los recién nacidos afectados (Kaplan, Hammerman et al. 1994, AlSaif, Ponferrada et al. 2017). Si bien no hay estudios poblacionales en México sobre la distribución de los valores y la prevalencia de casos deficientes de la G6PD, se estima que es menor al 1%, en el presente reporte los casos identificados como deficientes de G6PD fueron hombres.

El sitio de toma de la muestra de sangre para la cuantificación de la G6PD, aunque hay diferencias cuantitativas entre la obtención en cordón umbilical y la muestra obtenida de la punción del talón del pie, estas diferencias no existen en la frecuencia de casos deficientes o no deficientes (AlSaif, Ponferrada et al. 2017).

La WHO recomienda que nivel de salud pública, se necesitan métodos de detección muy simples para la deficiencia de G6PD independientemente del tipo, pues en principio, es deseable detectar (WHO 1989):

- varones hemocigotos (y mujeres homocigóticas) para que reciban consejería sobre las precauciones para evitar una crisis hemolítica aguda;
- Hombres hemocigotos recién nacidos (y mujeres homocigóticas) para asegurar que la ictericia neonatal se detectada y tratada a tiempo;
- Mujeres heterocigotas para que reciban consejería específica sobre el cuidado de sus recién nacidos varones.

Existen diferentes técnicas para la identificación de la deficiencia de G6PD en neonatos mediante la estimación cuantitativa del nivel de la enzima en los glóbulos rojos, incluyendo métodos en la variedad de atención en la cabecera del paciente –point of care– (Bhutani, Kaplan et al. 2015), con concordantes (Roh, Oyet et al. 2016, Ley, Alam et al. 2017). El método propuesto por la WHO (WHO 1989) detecta todos los varones

hemicigotos, todas las hembras homocigóticas y más del 80% de hembras heterocigotas, pero requiere equipo de laboratorio bioquímico básico que no está disponible en todos los entornos de atención neonatal (1967). Cuando sea posible, la detección neonatal utilizando uno de estos métodos se debe realizar de forma rutinaria en los bebés en poblaciones con una alta prevalencia de deficiencia de G6PD.

Dado que la mayoría de las mutaciones de G6PD son asintomáticas, el número total de mutaciones podría ser probablemente mucho más alto que el reportado en a la fecha (Minucci, Giardina et al. 2009) y que la mayor parte de los casos de anemia hemolítica por deficiencia enzimática, corresponden a los grupos I y II de la clasificación de la WHO (WHO 1989, Minucci, Giardina et al. 2009), hace que el tamizaje molecular no pueda sustituir al tamizaje enzimática, más bien el primero complementa al segundo bajo una estrategia de menor costo y mayor accesibilidad.

Las pruebas bioquímicas disponibles son cuantitativas o cualitativas y se basan en la medición directa o indirecta de la actividad de G6PD. Las pruebas cuantitativas se expresan con mayor frecuencia de acuerdo con los umbrales de clasificación de la OMS de la actividad de G6PD, considerando las distintas tecnologías empleadas por los laboratorios. La WHO reconoce diferentes grupos de pruebas para identificar a los pacientes con deficiencia de G6PD: 1) directa (espectrofotometría y prueba de punto fluorescente de Beutler; 2) indirecta (prueba de reducción de metahemoglobina y pruebas de azul cresil brillante o formazán); 3) ensayo citofluorométrico, 4) pruebas rápidas del método con 1-metoxi PMS o WST8/1-metoxi PMS(Tantular and Kawamoto 2003); y 5) pruebas rápidas en el punto de atención (point of care) incluidas las marcas comerciales de BinaxNow G6PD y Carestart G6PD (1967). La existencia de diferentes metodologías y

plataformas analíticas, así como las características de la población incluida (recién nacidos, adultos, pacientes).

El tamizaje neonatal debe estar basado en las pruebas que estiman la concentración o actividad de la G6PD eritrocitaria (1967, WHO 1989), debiendo cada centro efectuar la validación analítica y clínica para la población blanco, estableciendo sus puntos de corte (Miao, Chen et al. 2013). Las pruebas de DNA debieran tener su mejor indicación clínica en los casos con valores de G6PD por debajo del punto corte (Lin, Fontaine et al. 2005). No tendría un beneficio demostrado el efectuar el tamizaje con pruebas moleculares, pues podrían incluirse mutaciones que no se expresan disminuyendo las concentraciones de G6PD.

Las pruebas genotípicas basadas en el ADN son útiles para identificar las variantes específicas conocidas asociadas con la deficiencia de G6PD, pero requieren una secuenciación completa del gen o una amplia información sobre las variantes de G6PD presentes en una población particular. Además, con la excepción de tres variantes principales (Mediterráneo, A-, Mahidol), el fenotipo (características clínicas) de la mayoría de las variantes genotípicas sigue siendo desconocido, y por lo tanto, el diagnóstico de base molecular no puede, hasta ahora, informarle sobre la gravedad clínica (Lin, Fontaine et al. 2005).

Proponemos que la información actual sea suficiente para continuar apoyando y aplicando las recomendaciones del Grupo de Trabajo. Para no perder el tiempo innecesario disponible, se pueden utilizar los datos en lugar de los ensayos aleatorios para seguir recomendando programas de detección, como se sugiere, en las regiones de alto riesgo. Si la incidencia de kernicterus asociada con la deficiencia de G-6-PD disminuye, el cribado de G-6-PD en combinación con la explicación parental puede ser un ejemplo en el

cual el enfoque de consenso sugerido por el Grupo de Trabajo de la OMS inexistente) los estudios basados en evidencia, deben continuar siendo practicados.

Usando medios moleculares de definición de genotipo, los heterocigotos para la mutación mediterránea G6PD tienen un riesgo similar para desarrollar hiperbilirrubinemia neonatal como sus contrapartes homocigóticas deficientes en G-6-PD (Kaplan, Hammerman et al. 2001). Sin embargo, esta hiperbilirrubinemia no se puede atribuir a la hemólisis aguda, similar al favismo, que a veces se observa en los neonatos deficientes en G-6-PD. Se han descrito descripciones del favismo en hembras heterocigotas designadas, aunque estos casos se informaron antes del advenimiento de las técnicas de diagnóstico molecular.

Algunos informes detallan el papel de la educación de los padres, sobre la base de los principios antes mencionados, a través de una variedad de materiales audiovisuales. La escasez de ensayos controlados aleatorios o pruebas validadas para demostrar la efectividad de la contribución de la educación de los padres no cumple con el enfoque ideal comprobable basado en la evidencia. Sin embargo, nuestra revisión de la experiencia acumulada y la evidencia actualmente disponible proporciona cierta información que refleja un impacto positivo de los programas de detección combinados con el aporte de los padres.

8. Bibliografía

1. (1967). "Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase. Report of a WHO Scientific Group." World Health Organ Tech Rep Ser **366**: 1-53.
2. AlSaif, S., M. B. Ponferrada, K. AlKhairy, K. AlTawil, A. Sallam, I. Ahmed, M. Khawaji, K. AlHathlol, B. Baylon, A. AlSuhaibani and M. AlBalwi (2017). "Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in neonates: a comparison between cord and peripheral blood samples." BMC Pediatr **17**(1): 159.
3. Anantasomboon, P., M. Chanda, W. Jugnam-Ang, P. Witoonpanich, P. Cheepsunthorn, I. Nuchprayoon, S. Fucharoen and C. L. Cheepsunthorn (2019). "Evaluating the performance of automated UV enzymatic assay for screening of glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency." Int J Lab Hematol **41**(2): 192-199.
4. Bhutani, V. K., M. Kaplan, B. Glader, M. Cotten, J. Kleinert and V. Pamula (2015). "Point-of-Care Quantitative Measure of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Enzyme Deficiency." Pediatrics **136**(5): e1268-1275.
5. Bhutani, V. K., A. R. Stark, L. C. Lazzeroni, R. Poland, G. R. Gourley, S. Kazmierczak, L. Meloy, A. E. Burgos, J. Y. Hall, D. K. Stevenson, E. Initial Clinical Testing and G. Risk Assessment for Universal Screening for Hyperbilirubinemia Study (2013). "Predischarge screening for severe neonatal hyperbilirubinemia identifies infants who need phototherapy." J Pediatr **162**(3): 477-482 e471.
6. Cantu-Reyna, C., J. Santos-Guzman, H. Cruz-Camino, D. L. Vazquez Cantu, J. J. Gongora-Cortez and A. Gutierrez-Castillo (2019). "Glucose-6-Phosphate dehydrogenase deficiency incidence in a Hispanic population." J Neonatal Perinatal Med.

7. Cappellini, M. D. and G. Fiorelli (2008). "Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency." Lancet **371**(9606): 64-74.
8. Capurro, H., S. Konichezky, D. Fonseca and R. Caldeyro-Barcia (1978). "A simplified method for diagnosis of gestational age in the newborn infant." J Pediatr **93**(1): 120-122.
9. Frank, J. E. (2005). "Diagnosis and management of G6PD deficiency." Am Fam Physician **72**(7): 1277-1282.
10. Garcia-Magallanes, N., F. Luque-Ortega, E. M. Aguilar-Medina, R. Ramos-Payan, C. Galaviz-Hernandez, J. G. Romero-Quintana, L. Del Pozo-Yauner, H. Rangel-Villalobos and E. Arambula-Meraz (2014). "Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in northern Mexico and description of a novel mutation." J Genet **93**(2): 325-330.
11. García-Morales Elisa., F.-P. M. A., López-Hernández Ray Daniel, Gutiérrez-Padilla José Alfonso, Angulo-Castellanos Eusebio, Partido-Ramírez Arturo, Valdez-Núñez Ana Luisa y Sandoval-Tena Martha (2017). "Errores Innatos Del Metabolismo Diagnosticados Mediante Tamizaje Metabólico Ampliado En Lactantes Atendidos En El Antiguo Hospital Civil De Guadalajara Fray Antonio Alcalde". Ferráez." REVISTA MÉDICA MD **8**(4): 146-153.
12. Kaplan, M. and C. Hammerman (2011). "Neonatal screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: biochemical versus genetic technologies." Semin Perinatol **35**(3): 155-161.
13. Kaplan, M., C. Hammerman and V. K. Bhutani (2015). "Parental education and the WHO neonatal G-6-PD screening program: a quarter century later." J Perinatol **35**(10): 779-784.

14. Kaplan, M., C. Hammerman, R. Kvit, B. Rudensky and A. Abramov (1994). "Neonatal screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: sex distribution." Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed **71**(1): F59-60.
15. Kaplan, M., C. Hammerman, H. J. Vreman, D. K. Stevenson and E. Beutler (2001). "Acute hemolysis and severe neonatal hyperbilirubinemia in glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient heterozygotes." J Pediatr **139**(1): 137-140.
16. Kaplan, M., J. D. Hoyer, M. Herschel, C. Hammerman and D. K. Stevenson (2005). "Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in term and near-term, male African American neonates." Clin Chim Acta **355**(1-2): 113-117.
17. Ley, B., M. S. Alam, J. J. O'Donnell, M. S. Hossain, M. G. Kibria, N. Jahan, W. A. Khan, K. Thriemer, M. D. Chatfield, R. N. Price and J. S. Richards (2017). "A Comparison of Three Quantitative Methods to Estimate G6PD Activity in the Chittagong Hill Tracts, Bangladesh." PLoS One **12**(1): e0169930.
18. Lin, Z., J. M. Fontaine, D. E. Freer and E. W. Naylor (2005). "Alternative DNA-based newborn screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency." Mol Genet Metab **86**(1-2): 212-219.
19. Liu, H., W. Liu, X. Tang and T. Wang (2015). "Association between G6PD deficiency and hyperbilirubinemia in neonates: a meta-analysis." Pediatr Hematol Oncol **32**(2): 92-98.
20. Maisels, M. J. (2015). "Managing the jaundiced newborn: a persistent challenge." CMAJ **187**(5): 335-343.
21. Medina DAC, O. K., Vela AM, nlbarra GI, Fernández LC, David Oldak SD. (2017). "Alta sospecha de enfermedades metabólicas congénitas en la población de

- ascendencia judía del Hospital Ángeles Lomas." ACTA MÉDICA GRUPO ÁNGELES **155**(1): 32-35.
22. Miao, J. K., Q. X. Chen, L. M. Bao, Y. Huang, J. Zhang, K. X. Wan, J. Yi, S. Y. Wang, L. Zou and T. Y. Li (2013). "Determination of optimal cutoff value to accurately identify glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient heterozygous female neonates." Clin Chim Acta **424**: 131-135.
23. Minucci, A., B. Giardina, C. Zuppi and E. Capoluongo (2009). "Glucose-6-phosphate dehydrogenase laboratory assay: How, when, and why?" IUBMB Life **61**(1): 27-34.
24. Monteiro, W. M., F. F. Val, A. M. Siqueira, G. P. Franca, V. S. Sampaio, G. C. Melo, A. C. Almeida, M. A. Brito, H. M. Peixoto, D. Fuller, Q. Bassat, G. A. Romero, F. O. Maria Regina and G. L. Marcus Vinicius (2014). "G6PD deficiency in Latin America: systematic review on prevalence and variants." Mem Inst Oswaldo Cruz **109**(5): 553-568.
25. Roh, M. E., C. Oyet, P. Orikiriza, M. Wade, J. Mwanga-Amumpaire, Y. Boum, 2nd, G. N. Kiwanuka and S. Parikh (2016). "Screening for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency Using Three Detection Methods: A Cross-Sectional Survey in Southwestern Uganda." Am J Trop Med Hyg **95**(5): 1094-1099.
26. Salud, S. d. (2016). NORMA Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-2016, Para la atención de la mujer durante el embarazo, parto y puerperio, y de la persona recién nacida
27. (NORMA Oficial Mexicana NOM-007-SSA2-2016, For the care of women during pregnancy, delivery and puerperium, and of the newborn). S. d. P. y. P. d. I. S. México. México, DOF 07 de abril de 2016.

28. Tantular, I. S. and F. Kawamoto (2003). "An improved, simple screening method for detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency." Trop Med Int Health **8**(6): 569-574.
29. Therrell, B. L., C. D. Padilla, J. G. Loeber, I. Kneisser, A. Saadallah, G. J. Borrajo and J. Adams (2015). "Current status of newborn screening worldwide: 2015." Semin Perinatol **39**(3): 171-187.
30. WHO (1989). "Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. WHO Working Group." Bull World Health Organ **67**(6): 601-611.
31. Zamorano-Jimenez, C. A., H. A. Baptista-Gonzalez, P. Bouchan-Valencia, M. L. Granados-Cepeda, R. Trueba-Gomez, G. Coeto-Barona, F. Rosenfeld-Mann, L. B. Rosa-Mireles and R. Melendez-Ramirez (2015). "[Molecular identification of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) detected in neonatal screening]." Gac Med Mex **151**(1): 34-41.