

GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA: CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y MOLECULARES. PREVALENCIA DE LA DEFICIENCIA

GILBERTO BASTIDAS, PHD*, HILDA PÉREZ. PHD**, ESMERALDA VIZZI. PHD***

Recibido para publicación: 21-01-2015 - Versión corregida: 09-05-2015 - Aprobado para publicación: 11-05-2015

Resumen

La glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) es una enzima citoplasmática que se encuentra distribuida en todas las células del organismo y que cataliza el primer paso de la vía de las pentosas en el cual la glucosa 6 fosfato (G6P) es convertida a 6-fosfogluconato (6FG) y el NADP reducido a NADPH, proceso indispensable para proteger a los eritrocitos del daño oxidativo. La deficiencia de la enzima G6PD es la eritroenzimopatía más común, es recesiva y ligada al cromosoma X, con amplia distribución mundial y elevada heterogeneidad genética y bioquímica. Se realizó una revisión sobre aspectos bioquímicos, estructura, genética, bases moleculares, defecto enzimático, prevalencia de la deficiencia en el mundo y en Venezuela, y el papel de la deficiencia de G6PD en el tratamiento de la malaria por el incremento en el riesgo de hemólisis que lleva consigo la tendencia de aumentar la dosis total de Primaquina en sujetos paludismo, particularmente en las regiones donde predomina la infección por Plasmodium vivax.

Palabras claves: glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, eritrocitos, anemia hemolítica, malaria, estrés oxidativo.

Bastidas G, Pérez H, Vizzi E. Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa: características bioquímicas y moleculares. Prevalencia de la deficiencia. Arch Med (Manizales) 2015; 15(1):138-50.

Glucose-6-phosphate dehydrogenase: biochemical and molecular characteristics. Prevalence of deficiency

Summary

Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) is a cytoplasmic enzyme that is distributed in all cells of the organism and that catalyzes the first step in the pentose

Archivos de Medicina (Manizales), Volumen 15 N° 1, Enero-Junio 2015, ISSN versión impresa 1657-320X, ISSN versión en línea 2339-3874. Bastidas G.; Pérez H.; Vizzi E.

* Doctor y Profesor Asociado Departamento de Salud Pública, Universidad de Carabobo. Venezuela. Correo E: para correspondencia: bastidasprotozoo@hotmail.com

** Doctora e Investigadora Titular Instituto Venezolano de Investigación Científica (IVIC). Venezuela. Correo E: hildaper@gmail.com

*** Doctora e Investigadora Asociada Instituto Venezolano de Investigación Científica (IVIC). Venezuela. Correo E: esmeralda.vizzi@gmail.com

pathway in which glucose-6-phosphate (G6P) is converted to 6-fosfogluconato (6FG) and reduced NADP to NADPH, which is essential to protect erythrocytes from oxidative damage process. The G6PD deficiency is the most common erythroenzymopathy, is recessive and X-linked, with worldwide distribution and high genetic and biochemical heterogeneity. A review of biochemical aspects, structure, genetics, molecular, enzymatic defect, prevalence of disability in the world and in Venezuela, and the role of G6PD deficiency in the treatment of malaria was conducted by the increased risk of hemolysis involves the tendency to increase the total dose of primaquine in subjects malaria, particularly in regions where infection by Plasmodium vivax predominates.

Keywords: *glucose-6-phosphate dehydrogenase, erythrocytes, hemolytic anemia, malaria, oxidative stress.*

Introducción

Debido a la gran importancia que tiene la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) en la protección contra el daño oxidativo al cual son sometidas las células constantemente, resulta fundamental estar al día sobre los distintos aspectos que caracterizan a esta enzima y su deficiencia, valor que se ve resaltado por la presencia de esta proteína en todas las células de los seres vivos, y porque su completa ausencia es incompatible con la vida¹.

Resulta particularmente interesante el conocer sobre G6PD especialmente por la presencia de factores de riesgo que con mayor o menor intensidad participan en el incremento de la frecuencia de trastornos congénitos en muchos países del mundo, factores, entre los que destacan problemas en la salud materna, elevada proporción de madres mayores y de uniones consanguíneas, que ubican a la deficiencia de G6PD dentro de los cinco defectos congénitos más frecuentes a nivel mundial de lo mas de 7.000 defectos de origen genético o parcialmente genético, y considerado en combinación con la enfermedad hemolítica Rhesus como importante factor de riesgo para muerte neonatal por kernicterus^{2, 3}.

Los estudios sobre G6PD y especialmente sobre su deficiencia resulta también trascendental para las regiones tropicales y subtropicales donde el paludismo es endémico y cerca

de 40% de la población tiene riesgo de padecer la enfermedad (con anemia como característica definitoria de la infección por cualquiera de las cuatro especies del parásito) y de sufrir intensas hemólisis como consecuencia del estrés oxidativo que producen las drogas antipalúdicas, principalmente la primaquina, a lo que se añade la tendencia al incremento de la dosis total por ineficacia de esta droga para prevenir las recidivas por *Plasmodium vivax*, entonces para Venezuela saber sobre esta enzima es vital por tener zonas endémicas de malaria por *P. vivax* como principal parásito responsable del paludismo (fórmula parasitaria de hasta 65,3%) y porque la política sanitaria adopta la pauta terapéutica recomendada por la OMS con base a primaquina⁴⁻⁶.

La enzima G6PD aspectos bioquímicos:

La G6PD es un enzima citoplasmática que se encuentra distribuida en todas las células de los organismos (animales y plantas). La G6PD humana (EC 1.1.1.49) cataliza el primer paso de la vía de las pentosas, en el cual la glucosa 6 fosfato (G6P) es convertida a 6-fosfogluconato (6FG) y el NADP reducido a NADPH^{7, 8}; esta enzima también puede degradar glucosa o pentosas de los nucleótidos procedentes de la hidrólisis de los ácidos nucleicos de la dieta, hasta CO₂ y agua. Específicamente la vía de las pentosas tiene dos fases: oxidativa y no

oxidativa. La primera, por cada molécula de glucosa se generan dos de NADPH, una de ribulosa-5-fosfato y otra de CO₂, con la intervención de tres reacciones: la oxidación de la glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconolactona, la hidrólisis de la lactona a fosfogluconato y la decarboxilación oxidativa a ribulosa-5-fosfato. La fase no oxidativa, transforma tres azúcares fosfatados de cinco carbonos en dos azúcares fosfatados de seis carbonos y un azúcar fosfatado de 3 carbonos^{7, 8}.

El NADPH como donador de electrones interviene en la producción de glutatión reducido, indispensable para proteger a los eritrocitos del daño oxidativo. El ciclo de las pentosas no genera ATP, pero tiene muchas funciones (ver Tabla 1), entre las que destacan su participación en la biosíntesis de ácidos grasos y esteroides y de precursores de nucleótidos⁷. La vida media de la G6PD en el eritrocito es de 60 días, acorde con la del glóbulo rojo que es incompetente para la síntesis de novo^{9, 10}.

Según la estabilidad al calor y movilidad electroforética, son dos las variantes normales de G6PD: A y B, la primera es respecto a B, más termoestable y de mayor movilidad electroforética. La variantes B y A, difieren también en la actividad enzimática que muestran, (100% y 85%); en la constante de Michaelis-Menten (Km) para G6P, (63 U/g Hb y 89 U/g Hb); en el

Km (μM) para NADP⁺¹¹, respectivamente. La variante A despliega una mutación puntual en el nucleótido 376 que substituye el aa asparagina por ácido aspártico en posición 126 del bloque II de la proteína, que le confiere mayor movilidad electroforética^{12, 13}.

Estructura de la G6PD:

La forma activa de la G6PD humana existe en un rápido equilibrio dímero $\rightleftharpoons$ tetrámero influenciado por el pH y la fuerza iónica, explicable por la naturaleza electrostática de las superficies de contacto (58); pH (>8) y fuerza iónica elevada, desplazan el equilibrio hacia el dímero mientras que a bajo pH (<6) y fuerza iónica, el equilibrio se inclina a favor del tetrámero. El monómero es inactivo y consiste de 515 aa (asignando el número 1 a la metionina iniciadora ausente de la proteína madura) y un peso molecular de 59kDa¹⁸.

Son 12 las regiones o bloques conservados de la enzima, así, en el bloque I se encuentra el sitio de unión del NADP; el bloque IV comprende el sitio catalítico; los bloques conservados III y V contienen el centro activo; el bloque X participa en la conformación de la superficie de interfase; los bloques II, VII, VIII, IX y XI son parte del núcleo hidrofóbico; los bloques IV y XI también intervienen en la conformación de la superficie de interfase; los bloques VI y XII

Tabla 1 Otras funciones de la enzima G6PD en el organismo.

Proceso	Función	Referencia
Regula de la actividad de la proteína KU, implicada en reparar el ADN dañado por radiaciones.	Facilita la unión de KU (con residuos de cisteína reducidos) al ADN que se repara.	Ayene ⁸
Desarrollo temprano del embrión.	Favorece el desarrollo de la placenta.	Longo ¹⁰
Supervivencia del feto durante la transición de la hemoglobina fetal a la adulta.	Impide el daño oxidativo.	Longo ¹⁰ , Prchal ¹⁴
Fagocitosis mediada por leucocitos.	Interviene en la generación de NADPH que actúa como donador específico de electrones para el oxígeno, se forma peróxido de hidrógeno que es directamente tóxico para los microorganismos.	Chollet ¹⁵ , Leopold ¹⁶
Regula la angiogénesis.	El NADPH se utiliza como cofactor de la óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS), para mantener el óxido nítrico en concentraciones adecuadas durante el crecimiento vascular.	Tishkoff ¹⁷
Mecanismo genético y/o evolutivo de defensa.	Reduce el riesgo de malaria severa por <i>P. falciparum</i> .	

incluyen las α hélices¹⁹. Del alineamiento de 52 secuencias conocidas de G6PD procedentes de diferentes organismos, Au¹⁸ reportaron 30% de identidad entre la secuencia de la G6PD humana y las de otras especies. Se conservan dos motivos: un péptido de ocho aa con la secuencia RIDHYLGK (residuos 198-205) que corresponde al sitio de unión del sustrato y la secuencia GxxGDLx (residuos 38-44) sitio de unión a la coenzima.

La primera estructura cristalina de la G6PD se obtuvo a partir de la enzima de *Leuconostoc mesenteroides*. La descripción del monómero de la G6PD es una proteína de 485 aa, que aloja dos dominios: el de unión a la coenzima (residuos 1-177) en el extremo N-terminal, que presenta el clásico plegamiento de unión del dinucleótido β - α - β y, el dominio β + α en el extremo C-terminal (178-485) formado por una larga hoja antiparalela (β G- β O). La forma activa de G6PD de *L. mesenteroides*, igual que en otros organismos, requiere al menos la forma dimerica (subunidades A y B), aunque el sitio activo se encuentra enteramente dentro del monómero. En el dímero la superficie de interfase está conformada, esencialmente, por la superficie de contacto entre las dos hojas antiparalelas de los dominios β + α , unidas por puentes hidrofóbicos. Esta asociación resulta en una molécula muy grande ($> 112 \text{ \AA}$) con dos subunidades de conformación similar, si bien en la subunidad B, el dominio de unión a la coenzima es más móvil que en A²⁰.

La estructura tridimensional del dímero de la G6PD humana fue primero modelada a partir de la estructura cristalina de la G6PD de *L. mesenteroides*⁷, lo cual permitió obtener alguna información sobre las causas de la deficiencia. Posteriormente, Au¹⁸ reportaron la primera estructura cristalina de la G6PD humana determinada para la variante Canton (Arg 459 $\rightarrow$ Leu), a una resolución de $3 \text{ \AA}$. Un tetramero conformado por dos dímeros (cuatro sub-unidades ABCD) y una topología similar a la G6PD de *L. mesenteroides*, con dos dife-

rencias importantes: una molécula estructural de NADP⁺ próxima a la interfase del dímero, pero integral a la subunidad y un enlace disulfuro intra-subunidad que restringe el segmento N-terminal¹⁸.

El NADP⁺ estructural que confiere estabilidad y no está presente en los procariotes, desempeña un papel dual pues forma parte de la estructura de la enzima y actúa como coenzima. Se encuentra en el dominio β + α entre la hoja β y el extremo C-terminal. El monómero de la G6PD humana tal como su homólogo de *L. mesenteroides*, muestra un sitio de unión a la coenzima (residuos 31-200 aa) que adopta el clásico plegamiento de unión del dinucleótido, β - α - β . El dominio β + α (residuos 201-515) está dominado por la curvatura de la hoja β antiparalela. En el péptido conservado RIDHYLGK, la Lis205 es esencial para la catálisis de la G6PD humana mientras la His201 lo es a la enzima de *L. mesenteroides*. La superficie de interfase del dímero tiene su asiento entre los dominios β + α de las subunidades A y B, y en la formación del dímero se invierte 13% de la superficie total del monómero, $2856 \text{ \AA}^2$, e involucra 57 residuos, 31 de ellos hidrofóbicos. Estos residuos son altamente conservados y la geometría de la superficie de interfase es similar en las dos subunidades¹⁸.

Genética y bases moleculares de la deficiencia de G6PD

El gen se clonó en 1984 (Toniolo 1984). El locus del gen *G6PD*, Gd, se encuentra en la banda terminal del telómero del cromosoma X [Xq28] entre los genes del *Factor VIII* y *Visión de Color*¹⁹. Este gen, única copia por genoma humano, posee 20 kilobases (kb) con 13 exones y 12 intrones. La secuencia codificadora comienza en el exón 2, ya que el exón 1 no codifica^{13, 21}. El RNAm consta de 2269 nucleótidos¹.

El gen posee los siguientes tres microsatélites repetidos y altamente polimórficos: (AC)_n, (AT)_n y (CTT)_n con 10, 26 y 8 alelos y un

rango de 164-188 bp, 125-179 bp y 195-216 bp respectivamente, que permite determinar polimorfismo intragénico, por ejemplo, la variante A (376A→G), no deficiente, de individuos del África subsahariana, se asocia con los alelos AC-164 bp o AC-166 en conjunto con los alelos AT y CTT en un amplio rango en el cromosoma de la variante; la variante A- (202G→A/376A→G) se asocia con el alelo AC-166 bp, CTT-195 y el alelo AT en el rango entre 165 a 179bp; y la variante normal B de africanos tienen alelos AC en un rango de 176-184 bp y un amplio rango de alelos AT y CTT¹⁷. Las mutaciones descritas son en su mayoría esporádicas y son consideradas como trastornos con gran heterogeneidad genética²².

Igualmente existen mutaciones que implican delecciones hasta de seis nucleótidos (entre el 724-729), además se han encontrado mutaciones en el sitio de *splice* en el intron 10 (primera mutación encontrada fuera de la secuencia codificadora, ubicada en el aceptor 3'), particularmente en pacientes con anemia hemolítica crónica, estas son clase I. En el caso de la variante West Virginia (donde hay transición de C→T en el nucleótido 1191), este cambio de AAC a AAT, ambos codifican para Asn, es una mutación silente e infrecuente. Se señala la variante G6PD Georgia con mutación *nosense* en la cual la sustitución de una base en el nucleótido 1284 (C→A) crea un condón stop, que resulta en terminación prematura de la cadena polipeptídica, se ha sugerido que la completa pérdida de la G6PD podría ser letal, sin embargo su presencia en pacientes fue heterocigota, esto puede hacer posible la supervivencia con una mutación que podría ser letal en el estado hemocigoto²³.

Casi todas las deficiencias de G6PD son debidas a un cambio de aa derivado de una mutación puntual en el ADN genómico, ocurrida a lo largo del gen, excepto en los exones 3 y 13. Con el objeto de entender los fundamentos moleculares de la deficiencia de G6PD y lograr correlacionar genotipo con fenotipo, muchas de

las mutaciones puntuales deben ser analizadas en el contexto de la estructura tridimensional de la molécula. Las manifestaciones clínicas de las variantes de G6PD se han relacionado con varios mecanismos como inestabilidad proteica, alteración de la eficiencia catalítica y en la formación del dímero, y defectos en el plegamiento proteico^{18, 24-27}. Existen más de 400 variantes de la enzima. El análisis del gen de la G6PD ha permitido identificar alrededor de 80 puntos de mutación, que causan la heterogeneidad fenotípica Chen²⁸.

Las diferencias observadas en las formas más severas de la deficiencia de G6PD, están relacionadas con un aa mutado en las proximidades del sitio de unión del sustrato, de la coenzima o zona de contacto entre los monómeros de la enzima^{18, 27, 29, 30}. Algunas variantes polimórficas causantes de deficiencia enzimática leve a moderada (Clases II y III de la clasificación de la OMS), tienen la mutación distante de estas zonas, por ende, el defecto solo provoca alteraciones en la estructura tridimensional de la proteína, es decir, producen defectos de plegamiento, que la hacen ligeramente inestable y susceptible a proteasas. Este grupo representa a la mayoría de los defectos enzimáticos, pero existen también las llamadas variantes esporádicas (Clase I de la clasificación de la OMS), causantes de deficiencia severa y anemia hemolítica crónica no esferocítica (10%)^{5, 31, 32}.

En este caso los reemplazos de aa se concentran en la superficie de interfase dando lugar a un rompimiento estructural de la zona devenido por la introducción de aa con diferentes carga y tamaño. Dado que en la superficie de interfase, los aa están doblemente representados (uno en cada monómero) y en posición simétrica, los reemplazos de este tipo introducen dos cambios continuos o nuevos en la estructura de la proteína^{19, 27}.

Otras variantes de G6PD causantes igualmente de deficiencias severas, llevan mutados los residuos que unen directamente el NADP⁺

estructural o el sustrato. Otro tipo aunque raro de mutaciones esporádicas son las que ocurren en posiciones que normalmente originan variantes polimórficas, pero el fenotipo es causado por la sustitución de diferentes aa. Así las variantes Mediterránea (188 Ser→Phe) y Mahidol (163Gly→Ser) son mutaciones polimórficas ampliamente distribuidas mientras las variantes Tsukui (188Gly→delección) y Plymouth (163Gly→Asp) son variantes esporádicas que causan anemia hemolítica crónica no esferocítica. Otros ejemplos son Hermoupolis (449Q→His + 454Arg→Cys) que presenta dos mutaciones por sí solas polimórficas, la Casano (449Gln→His) y la Unión (454Arg→Cys). En otros casos y dependiendo de la sustitución de aa, las variantes esporádicas originan fenotipos diferentes como Surabaya (431Val→Met) y Sumare (431Val→Gly) causantes ambas de anemia hemolítica, la primera del tipo agudo y crónica no esferocítica la variante Unión²⁷.

Deficiencia de G6PD. Epidemiología

La deficiencia de G6PD se asocia desde la antigüedad con la ingestión de habas (*Vicia faba*), porque las personas con favismo y portadoras de deficiencia de G6PD manifiestan anemia hemolítica aguda después de la ingestión de esta legumbre, debido presumiblemente a que los componentes tóxicos de las habas (Ascorbato, L-Dopa, β-Glucosido de pirimidina, isouramilo, vicina y convicina) forman radicales libres que pueden generar especies oxidativas activas y por tanto dañar al eritrocito^{9, 33}.

Se da como explicación razonable de la hemólisis de eritrocitos debida a deficiencia de G6PD al bajo nivel de GSH en grupos sulfidrilos críticos de algunas proteínas, que no pueden mantenerse en su forma reducida lo que desencadena uniones intra e intermoleculares entre estos grupos, con la formación de agregados de proteínas del citoesqueleto de la membrana del eritrocito, estructuras (cuerpos de Heinz) que disminuyen la deformabilidad y que pueden alterar la superficie celular, haciéndolas reconocibles como extrañas por los macrófagos y dando

lugar a la hemólisis⁹, igualmente los hallazgos indican que la hemólisis aguda en la deficiencia de G6PD resulta del fallo del eritrocito, cuando este es estimulado a incrementar la producción de NADPH indispensable para la eliminación del peróxido de hidrogeno y de radicales libres de oxígeno, en lo que se ha denominado hemólisis oxidativa^{7, 8}. Además se aprecia un marcado incremento en el nivel de calcio de la célula roja y disminución de la actividad de la Ca²⁺ATPasa³⁴. En la Tabla 2 se señalan las sustancias que causan hemólisis en personas que padecen la deficiencia de G6PD.

La deficiencia de G6PD se relaciona con tres tipos de anemia conocidas como: anemia hemolítica aguda (AHA), anemia hemolítica crónica no esferocítica (AHCNE) y anemia hemolítica neonatal (AHN) del recién nacido³⁵. De forma general la anemia hemolítica puede incluir los siguientes síntomas y signos clínicos: palidez, ictericia o color amarillento de piel y mucosas, coluria, debilidad, mareo, confusión, intolerancia a la actividad física, hepatoesplenomegalia y taquicardia¹⁶.

En 1967, un comité de expertos convocado por la OMS estableció los criterios, para caracterizar a las variantes de G6PD y las agrupó en cinco clases, según la actividad enzimática asociada a los síntomas clínicos: clase I, caracterizada por deficiencia enzimática severa (menos del 10% de actividad enzimática por severa inestabilidad de la molécula dimerica) y anemia hemolítica crónica no esferocítica; clase II, deficiencia enzimática severa no asociada con hemólisis crónica; clase III deficiencia enzimática leve a moderada (10-60% de actividad enzimática) y hemólisis solo por exposición a ciertas drogas y agentes infecciosos; clase IV (60-100% de actividad enzimática), deficiencia enzimática leve o sin deficiencia y actividad funcional no modificada; finalmente la clase V, con actividad enzimática incrementada (incluso hasta dos veces superior a la normal)^{36, 37}.

Sí la deficiencia enzimática de G6PD es moderada, la anemia hemolítica es autolimita-

da, porque solo son destruidos los eritrocitos viejos (en virtud de que los eritrocitos carecen de núcleo y pierden su mitocondria e la medida en que maduran), pues los jóvenes tienen actividad enzimática normal o cercana a la normalidad y no son susceptibles a hemólisis, salvo que se expongan a sustancias desencadenantes de estrés oxidativo^{7, 38}. Las células jóvenes de las personas afectadas por formas severas de deficiencia enzimática, son también fuertemente deficientes en G6PD y con mayor riesgo de hemólisis grave^{7, 38}. En este sentido, además de la hemólisis o como consecuencia de ésta, son varias las patologías que se producen en el portador del defecto enzimático, entonces para el manejo de la deficiencia existe consenso en que son tres las acciones fundamentalmente a tomar: la principal evitar el consumo de sustancias que produzcan estrés oxidativo, impedir la esplenectomía y administrar ácido fólico y hierro como suplemento²⁴.

Tabla 2 Sustancias y drogas a ser evitadas por personas con deficiencia de G6PD.

Acetanilida	Nitrofurantoina (Furadantin)
Ácido Nalidixico	Primaquina
Azul de Metileno	Sulfacetamida
Azul de Toluidina	Sulfametoxazol (Gantanol)
Dihidroepiandroterona	Sulfanilamida
Fenazopiridina (Pyridium)	Sulfapiridina
Fenilhidrazina	Thiazolesulfona
Furazolidona (Furoxona)	Trinitrotolueno (TNT)
Glibenclamida	Urato oxidasa
Isobutil nitrito	
Metoclopramida	
Naftaleno	
Niridazol (Ambilhar)	

Fuente: Beutler²⁴; Barrett³⁹; Yu⁴⁰; Ozmen⁴¹; Wajcman⁴²; Beutler⁴³.

La deficiencia de G6PD se considera un error latente, no manifiesto a menos que se produzcan determinadas alteraciones ambientales, corrientemente la ingestión de sustancias que hacen evidente el defecto enzimático. La deficiencia se manifiesta, generalmente, por completo en los sujetos de género masculino, mientras que en las mujeres es en apariencia asintomática. En estas últimas la actividad

enzimática de la G6PD puede ser normal, moderadamente reducida o muy deficiente. Sus células deficientes son tan susceptibles a lesiones oxidantes como las deficientes de los varones, pero, la magnitud total de la hemólisis es menor porque la población de células vulnerables es pequeña²⁴.

La variabilidad de la expresión de la enzimopatía depende, en las mujeres portadoras del defecto, del grado de inactivación de los cromosomas X durante el desarrollo embrionario, de forma que el mosaicismo generalmente equilibrado (el 50% de las células podría ser normal y el 50% restante deficiente) puede presentar desequilibrio hacia el cromosoma X normal y acompañarse de una actividad prácticamente normal o hacia el cromosoma X deficiente (quizás por heteropicnosis positiva durante la profase e interfase) y generar deficiencia^{13, 24}. En estos casos la demostración de la enzimopatía sólo es posible mediante caracterización genotípica^{44, 45}.

Por otro lado, las infecciones constituyen la causa más común de anemia hemolítica aguda en personas con deficiencia de G6PD, probablemente debido a factores liberados por los leucocitos ante el agente patógeno²³, los agentes infecciosos con mayor frecuencia involucrados en la ruptura eritrocítica son *Salmonella* spp., *Escherichia coli*, estreptococo beta hemolítico, *Rickettsia* spp., virus de la hepatitis y de la influenza A⁴⁶. Entre las primeras investigaciones que involucran asociación entre déficit de G6PD y enfermedad parasitaria, probablemente por la distribución de la deficiencia de G6PD muchas veces en asociación cerrada con la malaria⁴⁷, se señala que la deficiencia de G6PD es un polimorfismo que confiere resistencia a la infección por *P. falciparum*^{24, 48}, apoyadas en la disminución de la parasitemia observada entre pacientes con deficiencia de G6PD y otros sin esta anomalía^{49, 50} y respaldado este hecho por estudios *in vitro* que muestran que los parásitos maláricos se multiplican menos en los eritrocitos con

deficiencia de G6PD con respecto a células normales⁵¹.

También la deficiencia de G6PD protege contra patologías en humanos, al respecto en algunas poblaciones de Italia, se evidenció baja mortalidad por enfermedades cardíacas isquémicas y accidentes cerebrovasculares en hombres que expresaban deficiencia la deficiencia enzimática⁵². Sin embargo, la sobre expresión de G6PD también termina en patologías por ejemplo, se produce hipoxia en ratas como causa de hipertensión pulmonar por hiperplasia e hipertrofia de la capa muscular de la arteria pulmonar, porque la sobreexpresión y activación de la G6PD lleva a secreción de las moléculas Sp1 y HIF1 α que hace que las células de la capa muscular de la arteria pulmonar produzcan menos proteínas contráctiles (miocardina y SM22 α) y mas proteínas proliferativas (ciclina A y fosfo-histona H3)⁵³.

Hoy día se han descrito aproximadamente 442 variantes bioquímicamente deficientes y 140 variantes moleculares del genotipo G6PD, la mayoría de ellas porta una sola mutación, sin embargo, no es el número de mutaciones lo que determina la severidad de la deficiencia, sino el compromiso de bloques o regiones determinadas de la enzima, por ejemplo mutaciones en el extremo carboxilo, caracterizan a la variante bioquímica I, la de mayor gravedad clínica^{19, 30, 54, 55}. Las variantes polimórficas más conocidas son: la Mediterránea, la Africana y la Oriental⁴⁹.

Europa, por ejemplo, se encuentra mayormente afectada por la variante mediterránea (563C $\rightarrow$ T) (1998); la variante G6PD A- (202G $\rightarrow$ A/376A $\rightarrow$ G) es la más común entre los africanos. En Asia las variantes más comunes son: Canton (1376G $\rightarrow$ T) y Unión (1360C $\rightarrow$ T) (1969). En América son pocos los países donde se han estudiado los genotipos de G6PD. Algunas investigaciones en México, Costa Rica, Cuba, Brasil y Uruguay indican a la variante A- (202G $\rightarrow$ A/376A $\rightarrow$ G) como la más frecuente^{30, 56, 57, 58}. Otras variantes encontradas

en la región son: Seattle (844G $\rightarrow$ C), México City (680G $\rightarrow$ A) y Guadalajara (1159C $\rightarrow$ T) en México (87); Santamaría y Puerto Limón (1192G $\rightarrow$ A) en Costa Rica³⁰; Seattle (844G $\rightarrow$ C), Ananindeua (376A $\rightarrow$ G/871G $\rightarrow$ A), Crispim (375G $\rightarrow$ T/379G $\rightarrow$ T/383T $\rightarrow$ C/384C $\rightarrow$ T), Lages (40G $\rightarrow$ A), Farroupilha (977G $\rightarrow$ A), Belem (409C $\rightarrow$ T) y Amazonia (185C $\rightarrow$ A) en Brasil (Medina 1997), y Santiago (593G $\rightarrow$ C) en Chile⁵⁹.

La caracterización genotípica de la G6PD ha puesto de manifiesto que muchas de las variantes bioquímicas hasta ahora admitidas como diferentes, algunas veces solo por su patrón de movilidad electroforética, tienen, en realidad, la misma base molecular y viceversa, algunas de las clásicamente supuestas como únicas son, de hecho, polimórficas (clases II y III según la OMS). Por ejemplo, las variantes bioquímicas G6PD A y G6PD A-, hasta hace poco consideradas únicas y propias de la raza negra, difieren molecularmente de la variante bioquímica G6PD B en la sustitución en el nucleótido 376 de una adenina por una guanina (376A $\rightarrow$ G). Además, la variante G6PD A- posee una mutación adicional, que es variable, y puede ser observada en cuatro posiciones diferentes: 202G $\rightarrow$ A, 311C $\rightarrow$ G, 680G $\rightarrow$ T y 968T $\rightarrow$ C (84, 97). De esta forma, cuando solo existe la mutación 376A $\rightarrow$ G, la variante posee actividad normal^{24, 43, 60, 61}.

Epidemiología de la deficiencia de G6PD

Esta eritroenzimopatía afecta a unas 400 millones de personas a nivel mundial (7,5% de la población mundial)⁵⁸, en el ser humano es la más común a tal punto de ser el quinto defecto congénito más frecuente a nivel mundial^{24, 62} (Beutler 1994, Ali 2005). La deficiencia de G6PD fue reportada por vez primera en la India en 1961, la tasa de prevalencia registrada varió de 0-27,0% en diferentes castas, grupos lingüísticos y étnicos, y la mayor incidencia de anomalías de esta enzima se encontró en el

norte y oeste (15,0% a 27,0%), en contraste con el sur de la India (1,0% a 2,0%). La deficiencia de G6PD es más frecuente en africanos y asiáticos que en los europeos y norteamericanos; la severidad de la deficiencia de la G6PD varía significativamente entre razas, las formas más severas se encuentran en las poblaciones Mediterráneas y las más leves en la población africana²¹.

En las diferentes islas que conforman el Archipiélago de Vanuatu en Oceanía la deficiencia de G6PD es el desorden enzimático humano más común, afecta al 7,4% de la población masculina pero varía ampliamente (0-14,3%) de una isla otra⁶³. En Europa, específicamente el norte de este continente tiene el defecto enzimático con una prevalencia de 0,1%, y de esta proporción 12,0 a 15,0% de la población masculina se encuentra afectada por la variante mediterránea de esta deficiencia⁵², la frecuencia de este defecto enzimático es también de 0,1% en Japón y es cercano al 70% en Judíos⁶⁴. La deficiencia varía entre 20-30% en Grecia, es de 6% en Arabia Saudita y entre 2,7- 5,5% en China⁶⁵⁻⁶⁷. En México la deficiencia oscila entre 0,39% y 4,09%, con la mayor tasa de prevalencia en mestizos de la costa del Pacífico (1995). En América del sur y en el Caribe son pocos los países donde se han hecho determinaciones de esta eritroenzimopatía, entre ellas destaca las de Cuba donde se determinó 5,0% de deficiencia de G6PD en individuos del género masculino (Medina 1997). En Brasil la deficiencia de G6PD es de 0,0% en Amerindias y de 9,6% en Afrodescendientes y en Colombia no supera el 10%^{68, 69}.

La deficiencia de G6PD en Venezuela

De Venezuela la información es escasa, de Acquatella⁷⁰ investigó la deficiencia de G6PD en 300 donantes del banco de sangre del Hospital Universitario de Caracas, en 123 indios Paraujanos y en 56 individuos pertenecientes a la población negroide de Tapipa (estado Mi-

randa). Encontró 2% de deficientes entre los donantes del banco de sangre, ningún sujeto deficiente en las muestras pertenecientes al grupo de los indios Paraujanos (de la Guajira venezolana) y aparente predominio de la deficiencia enzimática en las mujeres (13,3%) sobre los hombres (11,5%) de la población de Tapipa.

La deficiencia de G6PD fue reportada en el estado Bolívar en 5,3% de 650 sujetos que asistieron al Servicio de Malariología (Zona III) por sospechas clínicas de paludismo. De los 35 sujetos deficientes, 19 fueron claramente deficientes (17 hombres y 2 mujeres) y 16 mostraron deficiencia parcial (12 hombres y 4 mujeres)⁷¹.

Muller⁷² encontró deficiencia de G6PD en 13,1%, de 2338 pacientes con anemia hemolítica congénita, que habían sido referidos al Instituto de Oncología y Hematología del MSDS en un período de 15 años. Según la clasificación bioquímica, 4,9% pertenecía a la clase I, 45,7% a la clase II y 49,4% a la clase III. Navarro⁷³ halló deficiencia de la enzima G6PD en un niño de 6 años de edad procedente del estado Sucre con diagnóstico de malaria por *P. vivax* y tratado con PQ, quien luego del tratamiento había desarrollado anemia hemolítica. De lo anteriormente señalado se deriva la necesidad de emprender estudios epidemiológicos y de riesgo genético poblacional que produzcan indicadores de la deficiencia de G6PD en las regiones con mayor riesgo de transmisión de *P. vivax* en Venezuela. Finalmente se señala un estudio realizado en los estados Bolívar y Sucre, poblaciones venezolanas con alto riesgo de exposición a malaria por *P. vivax*, en que se reportó deficiencia en 3,6% de la muestra, con participación de sujetos de cualquier edad, de ambos géneros y sin anemia⁷⁴.

Reflexiones

La importancia de conocer sobre la enzima G6PD tiene asidero en el crucial papel, en muchos países ignorado, de esta enzima como

causa fundamentalmente de morbilidad y por el hecho de que los estudios dirigidos a determinar la prevalencia poblacional de la deficiencia de G6PD, en buena parte, no han sido concebidos con carácter poblacional ni incluyen riesgo genético, esto es claramente evidente en Venezuela, pues desafortunadamente se cuenta con poca información sobre esta enzimopatía, aunque por una parte investigadores, preocupados por la situación, han efectuado estudios del problema, la mayoría de ellos solo consideran individuos con diagnóstico de anemia hemolítica, sospechosos de paludismo o grupos indígenas, estos últimos con flujo génico prácticamente inexistente.

También en los últimos años los entes venezolanos oficiales de salud han hecho esfuerzos por determinar el problema, en seguimiento de

la sugerencia de la OMS de detectar el defecto en poblaciones con prevalencia de 3%, para ello se ha recurrido al diagnóstico a partir de la tamización neonatal de defectos enzimáticos congénitos como hipotiroidismo, enfermedad de células falciformes, fenilcetonuria, galactosemia, que incluye a la deficiencia de G6PD, pero el despistaje no se realiza en todo el territorio nacional, de allí la necesidad de realizar estudios poblacionales sobre esta eritroenzimopatía que incluya individuos de todo el país.

Conflictos de interés: Los autores declaran no tener conflictos de interés, en relación al tema tratado en el artículo.

Fuentes de financiación: El presente estudio no tuvo fuentes de financiación externa.

Literatura citada

1. Vulliamy T, Mason P, Luzzatto L. **The molecular basis of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency.** *Trends Genet* 1992; 8:138-43.
2. Global report on birth defects. **White Plains**, New York: March of Dimes; 2006; 1-84.
3. Ramírez-Cheyne J, Zarante I. **Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa: situación actual, su relación con malaria y estrategias para calcular su prevalencia.** *Univ Med Bogotá (Colombia)* 50 (1): 58-76.
4. Dern RJ, Beutler E, Alving AS. **The haemolytic effect of primaquine. II. The natural course of the haemolytic anaemia and the mechanisms of its self limited character.** *J Lab Clin Med* 1954; 44:171-183.
5. OMS. **Malaria 1982-1997.** *Wkly Epidem Rec* 1999; 74:265-272.
6. MPPS: Ministerio del Poder Popular para la Salud. **Venezuela: Boletín epidemiológico 44. Resumen de la situación epidemiológica nacional.** Caracas: MPPS: Ministerio del Poder Popular para la Salud; 2014.
7. Naylor CE, Gover S, Basak AK, Cosgrove MS, Levy HR, Adams MJ. **NADP⁺ and NAD⁺ binding to the dual coenzyme specific enzyme *Leuconostoc mesenteroides* glucose 6-phosphate dehydrogenase: different interdomain hinge angles are seen in different binary and ternary complexes.** *Acta Cryst* 2001; 57:635-648.
8. Ayene IS, Sttamato TD, Mauldin SK, Biaglow JE, Tuttle SW, Jenkins SF, et al. **Mutation in the glucose 6 phosphate deshydrogenase gene leads to inactivation of Ku DNA end binding during oxidative Stress.** *J Biol Chem* 2002; 277: 9929-9935.
9. Arese P, De Flora A. **Denaturation of normal and anormal erythrocytes II. Pathophysiology of hemolysis in glucose-6phosphate dehydrogenase deficiency.** *Semin Hematol* 1990; 27:1.
10. Longo L, Vanegas O, Patel L, Rosti V, Li H, Waka J. et al. **Maternally transmitted severe glucose 6 phosphate dehydrogenase deficiency is an embryonic lethal.** *EMBO J* 2002; 21: 4229-4239.
11. Trenton K, Ruebush II, Zegarra J, Cairo J, Andersen EM, Green M, et al. **Chloroquine-resistant *Plasmodium vivax* malaria in Peru.** *Am J Trop Med Hyg* 2003; 69:548-552.
12. Morelli A, Benatti U, Gaetani GF, de Flora A. **Biochemical mechanisms of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency.** *Proc Natl Acad Sci* 1979; 75:1979-1983.
13. Luzzatto L, Battistuzzi G. **Glucose-6-phosphate dehydrogenase.** *Adv Hum Genet* 1985; 14: 217-329.
14. Prchal JT. **G6PD activity is essential for definite erythropoiesis.** *Blood* 2004; 104: 2997.
15. Chollet S, Gougerot M. **Hereditary polymorphonuclear neutrophil deficiencies.** *Transfus Clin Biol* 2000; 7: 533-539.

16. Leopold JA, Walker J, Scribner AW, Voetsch B, Zhang Y, Losclazo AJ, *et al.* **Glucose-6-phosphate dehydrogenase modulates vascular endothelial growth factor-mediated angiogenesis.** *J Biol Chem* 2003; 278: 32100-32106.
17. Tishkoff S, Varkonyi R, Cahinhinan L, Abbes S, Argyroupoulos G, Destro-Bisol G, *et al.* **Haplotype diversity and linkage disequilibrium at human G6PD: recent origin at alleles that confer malarial resistance.** *Science* 2002; 293: 455-462.
18. Au SW, Gover S, Lam SVM, Adams MJ. **Human glucose-6-phosphate dehydrogenase: the crystal structure reveals a structural NADP(+) molecule and provides insights into enzyme deficiency.** *Struct Fold Des* 2000; 8:293-303.
19. Notaro R, Afolayan A, Luzzatto L. **Human mutations in glucose-6-phosphate dehydrogenase reflect evolutionary history.** *FASEB J* 2000; 14:485-494.
20. Rowland P, Basak AK, Gover S, Levy HR, Adams MJ. **The three-dimensional structure of glucose 6-phosphate dehydrogenase from *Leuconostoc mesenteroides* refined at 2.0 Å resolution.** *Structure* 1994; 2:1073-1087.
21. Owa JA, Osanyintuyi VO. **Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency by a simple method.** *Afri J Med Med Sci.* 1988; 17:53-55.
22. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. **Genética en medicina.** 5ª ed. Barcelona: Masson, S.A.; 2005.
23. Xu W, Westwood B, Bartsocas CS, Malcorra-Azpiazu JJ, Indrák K, Beutler E. **Glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations and haplotypes in various ethnic groups.** *Blood* 1995; 85:257-263.
24. Beutler E. **G6PD deficiency.** *Blood* 1994; 84:3613-3636.
25. Wang XT, Lam VMS, Engel PC. **Marked decrease in specific activity contributes to disease phenotype in two human glucose 6-phosphate dehydrogenase mutants, G6PD (Union) and G6PD (Andalus).** *Hum Mutat* 2005; 26: 284.
26. Wang XT, Lam VMS, Engel PC. **Functional properties of two mutants of human glucose 6-phosphate dehydrogenase, R393G and R393H, corresponding to the clinical variants G6PD Wisconsin and Nashville.** *Biochim Biophys Acta* 2006; 1726(8):767-774.
27. Mason PJ, Bautista JM, Gilsanz F. **G6PD deficiency: the genotype-phenotype Association.** *Blood Rev* 2007; 21: 267-283.
28. Chen EY, Cheng A, Lee A, Kuang WJ, Hillier L, Green P, *et al.* **Sequence of human glucose-6-phosphate dehydrogenase cloned in plasmids and yeast artificial chromosome (YAC).** *Genomics* 1991; 10:792.
29. Hirono A, Kuhl W, Gelbart T, Forman L, Fairbanks VF, Beutler E. **Identification of the binding domain for NADP+ of human glucose-6-phosphate dehydrogenase by sequence analysis of mutants.** *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86:10015-10017.
30. Beutler E, Kuhl W, Sáenz RGF, Rodríguez RW. **Mutation analysis of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in Costa Rica.** *Hum Genet* 1991; 87:462-464.
31. Beutler E. **Selectivity of proteases as a basis for tissue distribution of enzymes in hereditary deficiencies.** *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80:3767-3768.
32. Gómez-Gallego F, Garrido-Pertierra A, Mason PJ, Bautista JM. **Unproductive folding of the human G6PD-deficient variant A.** *FASEB J* 1996; 10:153-158.
33. Repine JE, Eaton JW, Anders MW, Hoidal JR, Fox RB. **Generation of hydroxyl radical by enzymes, chemicals, and human phagocytes *in vitro*.** *J Clin Invest* 1979; 64:1642.
34. Fischer T, Pescarmona GP, Bosia A, Naitana A, Tur-rini F, Arese P. **Mechanisms of red cell clearance in favism.** *Biomed Biochim Acta* 1983; 42(11-12):S253-257.
35. Mohanty D, Sukumar S, Mukherjee MB, Colah RB. **G6PD deficiency and malaria in India.** *Am J Hematol* 2003; 72:150-154.
36. Betke K, Beutler E, Brewer GJ, Kirkman HN, Luzzatto L, Ramot B, *et al.* **Scientific group on the standardization of procedures for the study of glucose - 6 - phosphate dehydrogenase.** Geneva: World Health Organization; 1967.
37. Yoshida A, Beutler E, Motulsky AG. **Human G6PD variants.** *Bull WHO* 1971; 45:243-253.
38. Mohanty D, Mukherjee MB, Colah, RB. **Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in India.** *Ind J Pediatr* 2004; 71:525-529.
39. Barret J, Behrens RH. **Prophylaxis failure against vivax malaria in Guyana, South America.** *J Travel Med* 1996; 3:60-61.
40. Yu C, Niakan KK, Matsushita M, Stamatoyannopoulos G, Orkin SH, Raskind WH, *et al.* **GX-linked thrombocytopenia with thalassemia from a mutation in the amino finger of GATA-1 affecting DNA binding rather than FOG-1 interaction.** *Blood* 2002; 100:2040-2045.
41. Ozmen I, Kufrevioglu OI. **Effects of antiemetic drugs on glucose-6-phosphate dehydrogenase and some antioxidant enzymes.** *Pharmacol Res* 2004; 50:499-504.
42. Wajcman H, Galactéros F. **Le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase: protection contre le paludisme et risque d'accidents hémolytiques.** *Biologies* 2004; 327: 711-720.

43. Beutler E, Dupare S. **Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and antimalarial drug development.** *Am J Trop Med Hyg* 2007; 77: 779-789.
44. Rovira A, Vulliamy TJ, Pujades A, Luzzatto L, Vives CJL. **The glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficient variant G6PD union (454 Arg - Cys) has a worldwide distribution possibly due to recurrent mutation.** *Hum Mol Genet* 1994; 3:833-835.
45. Orlandi E, Varettoni M, Bergamaschi G, Lazzarino M. **First episode of acute hemolysis due to G6PD deficiency in a middle-aged woman and transmission of the enzymatic defect through bone marrow transplant.** *Haematologica* 2004; 89:ECRO4.
46. Frank JE. **Diagnosis and management of G6PD deficiency.** *Am Fam Physn* 2005; 72:1277-1282.
47. Jalloh A, Tantular IS, Pusarawati S, Kawilarang AP, Kerong H, Lin K *et al.* **Rapid epidemiologic assessment of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in malaria-endemic in South-east Asia using a novel diagnostic kit.** *Trop Med Int Health* 2004; 9:615-623.
48. Motulsky AG. **Metabolic polymorphisms and the role of infectious diseases in human evolution.** *Hum Biol* 1961; 32:28-62.
49. Sukumar S. **Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: an overview.** *Immunohaematol Bull* 2000; 31:1-12.
50. Ouattara AK, Bisseye C, Bazie BV, Diarra B, Compaore TR, Djigma F, *et al.* **Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency is associated with asymptomatic malaria in a rural community in Burkina Faso.** *Asian Pac J Trop Biomed* 2014; 4(8):655-658.
51. Usanga EA, Luzzatto L. **Adaptation of *Plasmodium falciparum* to G6PD deficiency host red cells by production of parasite encoded enzyme.** *Nature* 1985; 313:793-795.
52. Cocco P, Todde P, Fornera S, Manca MB, Manca P, Sias AR. **Mortality in a cohort of men expressing the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency.** *Blood* 1998; 91(2):706-709.
53. Rawat DK, Alzoubi A, Gupte R, Chettimada S, Watanabe M, Kahn AG, *et al.* **Increased reactive oxygen species, metabolic maladaptation, and autophagy contribute to pulmonary arterial hypertension-induced ventricular hypertrophy and diastolic heart failure.** *Hypertension* 2014; 64(6):1266-1274.
54. WHO Working Group. **Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency.** *Bull WHO* 1989; 67: 601-611.
55. Castillo N. **Prevalencia de la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa eritrocitaria en recién nacidos masculinos sanos.** (Tesis de especialidad). Jalisco: Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 2004.
56. Toniolo D, Persico MG, Battistuzzi G, Luizzatto L. **Partial purification and characterization of the messenger RNA for human glucose-6-phosphate dehydrogenase.** *Mol Biol Med* 1984; 2:89-103.
57. Medina MD, Vaca G, Lopez-Guido B, Westwood B, Beutler E. **Molecular genetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Mexico.** *Blood Cells Mol Dis* 1997; 23:88-94.
58. Estrada M, Gutiérrez A, Palacios B, Pérez G, Rovira A, Vives CJL. **Estudio bioquímico y molecular de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en Cuba.** *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 1995; 2:1-5.
59. Ferrell RE, Bertin T, Barton SA, Rothhammer F, Schull WJ. **The multinational andean genetic and health program. IX. Gene frequencies and rare variants of 20 serum proteins and erythrocyte enzymes in the Aymara of Chile.** *Am J Hum Genet* 1980; 32:92-102.
60. Beutler E, Vulliamy TJ. **Hematologically important mutations: glucose-6-phosphate dehydrogenase.** *Blood Cells Mol Dis* 2002; 28:93-103.
61. Gómez-Manzo S, Terrón-Hernández J, De la Mora-De la Mora I, González-Valdez A, Marcial-Quino J, García-Torres I, *et al.* **The Stability of G6PD Is Affected by Mutations with Different Clinical Phenotypes.** *Int J Mol Sci* 2014; 15(11):21179-21201.
62. Ali N, Anwar M, Ayyub M, Bhatti FA, Nadeem M, Nadeem A. **Frequency of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in some ethnic groups of Pakistan.** *J Coll Physicians Surg Pak* 2005; 15(3):137-141.
63. Kaneko A, Taleo G, Kalkoa M, Yaviong, J, Reeve AP, Ganczakowski M, *et al.* **Malaria epidemiology, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and human settlement in teh Vanuatu Archipelago.** *Acta Trop* 1998; 70:285-302.
64. Oppenheim A, Jury CL, Rund D, Vulliamy TJ, Luzzatto L. **G6PD Mediterranean infections accounts for the high prevalence of G6PD deficiency in Kurdish Jews.** *Human Genet* 1993; 91:293-294.
65. Chan TK, Todd D. **Characteristics and distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient variants in South China.** *Am J Hum Genet* 1972; 24:475.
66. Gandapur K, Qureshi F, Mustafa G, Baksh S, Ramazan M, Khan MA. **Frequency of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and related haemolytic anemia in Riyadh, Saudi Arabia.** *J Ayub Med Coll (Abbottabad)* 2002; 14:24-26.
67. Charoenkwan P, Tantiprabha W, Sirichotiyakul S, Phusua A, Sanguansermisri T. **Prevalence and molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in northern Thailand.** *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2014; 45(1):187-193.

68. Hamel AR, Cabral IR, Ide STS, Ferreira CF, Olalla SST. **Molecular heterogeneity of G6PD deficiency in an Amazonian population and description of four new variants.** *Blood Cells Mol* 2002; 28(3):399-406.
69. Monteiro WM, Val FF, Siqueira AM, Franca GP, Sampaio VS, Melo GC, et al. **G6PD deficiency in Latin America: systematic review on prevalence and variants.** *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2014; 109(5):553-568.
70. de Acquatella GC. **Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en diferentes grupos raciales de Venezuela.** *Acta Cient Venez* 1966; 17:127.
71. Godoy GA, Valero J, Rivas R. **Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en maláricos del estado Bolívar.** *Gac Méd Caracas* 1997; 105:30-33.
72. Müller A. **Anemias hemolíticas por deficiencia de enzimas de la vía glicolítica en Venezuela: estudio en humanos y perros.** (Trabajo de ascenso). Caracas: Universidad Central de Venezuela; 2000.
73. Navarro P, Baéz A, Vera Y, Figueira I, Garrido E, Martín A. **Paludismo como infección del viajero adquirido en el estado Sucre.** *Rev Fac Med Caracas* 2003; 26:34-38.
74. Bastidas G. **Determinación del estatus de glucose-6-fosfato-deshidrogenasa en poblaciones venezolanas con alto riesgo de exposición a malaria por Plasmodium vivax.** (Tesis doctorado). Caracas: Universidad Central de Venezuela; 2010.

