

Avaliação da deficiência eritrocitária da glicose-6-fosfato desidrogenase e valores hematológicos de eqüinos de salto

Evaluation of the glucose-6-phosphate deshydrogenase deficiency and hematologic values of the jumping horses

Nádia Regina Pereira Almosny,* Flávia Mac Dowell Soares,** Alceu Cardoso,** Thereza Christina de Vasconcelos***
Anderson de Oliveira Monteiro****

Resumo

Avaliou-se por método semiquantitativo a atividade da glicose-6-fosfato desidrogenase eritrocitária (G6Pd) e valores de hemograma e hemossedimentação de 25 eqüinos. Verificou-se que os eritrócitos de dois animais apresentaram-se deficientes e dois suspeitos da deficiência desta enzima. Observou-se também que não houve modificações nos valores hematológicos dos animais testados. Concluiu-se que, clinicamente e pelos exames laboratoriais de rotina, não há como suspeitar deste tipo de deficiência enzimática.

Palavras-chave: eqüino; glicose-6-fosfato desidrogenase.

Abstract

The erythrocyte glucose-6-phosphate deshydrogenase activity, hemogram and erythrocyte sedimentation rate were evaluated in 25 equines. Two animals were positive for G6Pd deficiency and two animals were suspected of having this kind of deficiency. The conclusion is that, clinically or by routine laboratory test, it is not possible to suspect from this kind of enzyme deficiency.

Keywords: equine; glucose-6-phosphate deshydrogenase.

Introdução

Os eritrócitos dos mamíferos são células que não apresentam núcleo, mitocôndrias, ergastoplasma ou outras organelas, e não contêm ácidos nucleicos nem certas cadeias energéticas como as do ciclo de Krebs e a cadeia respiratória. Devido a estas características, as hemácias são incapazes de sintetizar moléculas complexas e não realizam o metabolismo das gorduras, conforme foi descrito por Leavell, Thorup (1971), Cyscar, Farreras (1972), Karlson et al. (1982), Brewer (1980), Pereira et al. (1987) e Kaneko (1997). Sua bioquímica ocorre por meio de algumas reações enzimáticas. Os eritrócitos transportam CO₂ e O₂ e são submetidos a fatores físicos e químicos. O O₂ carregado pelos eritrócitos é altamente oxidativo, e a célula o transporta em grandes concentrações. As hemácias sobrevivem em média 120 dias nos mamíferos, e durante este tempo elas vão perdendo gradativamente o vigor, provavelmente devido à diminuição de enzimas e cofatores, os quais elas não têm como repor, segundo Karlson et al. (1982). Quando o valor do trifosfato de adenosina (ATP) diminui para 20% do normal, ocorre saída de potássio e entrada de sódio, fazendo com que os eritrócitos se

tornem cilíndricos e, com isto, serão retirados da circulação sanguínea e ficarão no sistema fagocítico mononuclear, onde serão fagocitados, como foi descrito por Pereira et al. (1987).

No início da glicólise, a glicose recebe uma molécula de fosfato, aumentando a carga energética; a partir daí ela poderá seguir dois caminhos: a glicólise anaeróbica ou a via das pentoses-fosfato. Segundo Bacila (1980), Karlson et al. (1982), e Kaneko (1997), a via das pentoses-fosfato recebe apenas uma pequena quantidade de energia. O desvio para esta via vai produzir nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido (NADPH – coenzima energética) que é agente redutor nos processos de oxi-redução da hemoglobina. Os quadros clínicos, quando ocorrem, são provenientes de possíveis alterações ocorridas no início desta via, por deficiência de quatro enzimas: G6Pd, glutation redutase, glutation sintetase e glutation peroxidase.

A enzima hexoquinase promove a fosforilação da glicose que depois sofrerá ação da G6Pd, transformando-se em 6 fosfogluconato. Em presença de glutation e da glutation redutase, há perda de dois átomos de hidrogênio para a coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADP), que vai produzir também lactato, CO₂, ATP e grande quantidade

* Médica Veterinária, Dra., Prof. adjunto do Dep. de Patologia e Clínica Veterinária (UFF). almosny@urbi.com.br (Autor para correspondência).

** Médicos Veterinários da Sociedade Hípica Brasileira.

*** Médico Veterinário, MsC, Prof. Responsável pela disciplina de Bioquímica da Faculdade de Veterinária Plínio Leite.

**** Aluno do curso de graduação em Medicina Veterinária (UFF). Bolsista de Iniciação Científica CNPq.

de de hexose, podendo iniciar um outro ciclo degradativo (via de Embden-Meyerhof), segundo Cyscar, Farreiras (1972), Karlson et al. (1982) e Kaneko (1997).

A importância da avaliação da deficiência da G6Pd é devida ao fato de que o equino portador desta deficiência clinicamente se apresenta saudável, mas, ao ser exposto a medicamentos oxidantes (ácido ascórbico, clorpromazina e fenotiazina, entre outros), pode sofrer alterações que irão desencadear uma doença hemolítica, afetando o desempenho do animal desportista.

Este trabalho teve como objetivo fazer uma avaliação semi-quantitativa da G6Pd em eritrócitos de equinos e apresentar valores hematológicos médios de cavalos de hipismo, tendo em vista a pouca literatura existente referente ao assunto.

Material e métodos

Foram avaliadas 25 amostras sanguíneas de equinos adultos de ambos os sexos e de raças variadas, coletadas através de punção da jugular, após antissepsia local com solução de álcool iodado a 2%. Todos os animais avaliados permaneceram alojados na Sociedade Hípica Brasileira (SHB).¹

As amostras eram acondicionadas em frascos tipo Vacuum II,² utilizando-se o EDTA como anticoagulante e também foram confeccionados neste ponto os esfregaços sanguíneos. Os hemogramas foram realizados no laboratório da clínica VetServ.³ A eritrocitemia e a leucometria global foram realizadas por métodos manuais, utilizando-se de câmara de

Neubauer e microscópio óptico. Para a determinação da hemoglobina utilizou-se a técnica espectrofotométrica⁴ e o hematócrito foi realizado pelo método de micro-hematócrito,⁵ segundo Jain (1993).

A leucometria específica, assim como a hematoscopia, foram efetuadas em esfregaço sanguíneo corado pelo MGG.⁶ A determinação da G6Pd (D-Glicose-6-fosfato: NADP oxireductase - 1.1.1.49) foi feita utilizando-se Kit Sigma⁷ e também foi avaliada na clínica VetServ.

Resultados e discussão

Os resultados encontrados neste trabalho foram dois animais positivos para deficiência da G6PD (Tabela 3, números 11 e 16), que não estavam recebendo nenhum tipo de medicação e não apresentavam sinais clínicos nem alterações hematológicas. Além disso, dois animais foram considerados suspeitos de apresentarem deficiência da enzima (Tabela 3, números 14 e 24), também sem nenhum sinal clínico ou alteração hematológica, como está indicado nas Tabelas 1, 2, 3.

A atividade da G6PD demonstrou-se bastante reduzida em dois equinos e ligeiramente baixa em outros dois animais. Leavell, Thorup (1971), Cyscar, Farreras (1972), Brewer (1980), Bacila (1980), Akoglu et al. (1984), Jain (1993) e Kaneko (1997) descreveram a ocorrência de animais e humanos com deficiência desta enzima, porém apenas alguns autores como Cyscar, Farreras (1972) têm correlacionado esta

deficiência com utilização de drogas oxidantes. Esta correlação possui importância vital na clínica de equinos, pois a alteração pode acarretar a queda do rendimento físico, conforme enfatizou Bayly (1987), quando escreveu sobre equino atleta. Nos animais estudados, observou-se queda de rendimento nos equinos deficientes, mas também em outros não deficientes, não correlacionando-se a deficiência enzimática com a diminuição do rendimento. Porém, não foi pesquisada a presença de corpúsculo de Heinz nos eritrócitos dos animais estudados e nem verificadas as alterações hematológicas nos equinos deficientes, como descreveu Lynch et al. (1978) nos seus estudos com bezerros.

O paralelo entre a deficiência da G6Pd e o corpúsculo de Heinz é explicado por Karlson et al. (1982), Magnani et al. (1984) e Passiu et al.

Tabela 1: Média do resultado do eritrograma e hemossedimentação de cavalos adultos residentes na Sociedade Hípica Brasileira

Resultado	Eritr (µl)	Ht (%)	Hb (g %)	VGM (fl)	CHGM (%)	Hemossedimentação*	
						10 min.	20 min.
Médio	6.900.000	34,5	11,5	50	3 3,3	8,8	43,5
Mínimo e Máximo	(5,5 - 9,5)	(29 - 41)	(8 - 14)	(40 - 56,5)	(31 - 36,6)	???	???

* Método de Westergreen. Eritr = Eritrócitos. VGM = Volume Globular Médio. Ht = Hematócrito. CHGM = Concentração de Hemoglobina Globular Média. Hb = Hemoglobina

Tabela 2: Média dos resultados do leucograma de cavalos adultos residentes na Sociedade Hípica Brasileira

Resultado	Leucometria Global células / mm ³	Leucometria Específica % (relativa) ou células / mm ³ (absoluta)							
		B	E	Mi	Mt	Bt	S	L	M
		Médio	6980	1	4	0	0	1	53
		69,8	279,2	0	0	69,8	3.699	2.373	584,3

B = Basófilo. Bt = Bastão. E = Eosinófilo. S = Segmentado. Mi = Mielócito. L = Linfócito. Mt = Metamielócito. M = Monócito.

¹ SHB - Rua Jardim Botânico, n. 421. ² Vacuum II - Labnew, Ind e Com. Ltda. ³ VetServ - Rua Jardim Botânico, n. 421. ⁴ Espectrofotômetro Bausch-Lomb, modelo 207 - N. ⁵ Centrífuga de Micro-hematócrito Fanem, modelo 207 - N. ⁶ MGG - Azul de metileno Giemsa e azul de metileno May-Grünwald. ⁷ Sigma Diagnostics - G6Pd deficiency (procedure n 400).

Tabela 3: Resultado dos exames para avaliação da atividade da G6PD eritrocitária em cavalos adultos residentes na Sociedade Hípica

Animal	Tempo				Resultado
	15 min.	30 min.	45 min.	60 min.	
1	+	+	+/-	-	Normal
2	+	+/-	+/-	-	Normal
3	+	+	+/-	-	Normal
4	+	+	+/-	-	Normal
5	+	+	+/-	-	Normal
6	+	+	-	-	Normal
7	+	+	-	-	Normal
8	+	+/-	+/-	-	Normal
9	+	-	-	-	Normal
10	+	+/-	-	-	Normal
11	+	+	+	+	Positivo
12	+	-	-	-	Normal
13	+	+/-	-	-	Normal
14	+	-	+/-	+/-	Suspeito
15	+	+/-	-	-	Normal
16	+	+	+	+	Positivo
17	+	-	-	-	Normal
18	+	-	-	-	Normal
19	+	-	-	-	Normal
20	+	-	-	-	Normal
21	+	+	+/-	-	Normal
22	+	-	-	-	Normal
23	+	+/-	-	-	Normal
24	+	+	+/-	+/-	Suspeito
25	+	+/-	-	-	Normal

Referências bibliográficas

- AKOGLU, T., OZDOGU, H., ERDOGAN, R. et al. Erythrocyte membrane ATPase activity of G-6-Pd deficient individuals and the effect of primaquine metabolite(s) on membrane ATPase enzymes. *J. Tropical Med. Higiene*, v. 87, n. 5, p. 219-224, 1984.
- BACILA, L. *Bioquímica Veterinária*. São Paulo: J.M. Varela. Água e fluidos biológicos: p. 65-120, 1980.
- BAYLY, M.W. The Interpretation of Clinicopathologic Data from Equine Athlete. *Vet. Clin. North Am.*, v. 3, n. 3, p. 631-648, 1987.
- BREWER, G.X. Distúrbios congênitos do metabolismo e da membrana do eritrócito. *Clín. Méd. Am. Norte*, v. 64, n. 4, p. 581-597, 1980.
- CYSCAR, E.R., FARRERAS, P.V. *Diagnóstico hematológico*. 3. ed. Barcelona: Editorial Jens, 1972. 1963 p.
- JAIN, N.C. *Essentials of Veterinary hematology*. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, 417 p.
- KANEKO, J.J. *Clinical biochemistry of domestic animals*. New York: Academic Press, 1997.

(1984) e ocorre por falha no mecanismo antioxidante do eritrócito, também descrito por Pereira et al. (1987) que também abrange o glutation e o sistema glutation redutase, que não foram objeto deste estudo.

Não foi possível avaliar geneticamente os animais acometidos, porém a deficiência está relacionada à alteração hereditária ligada ao cromossomo X, conforme descreveram Cyscar, Farreras (1971).

Os valores hematológicos não apresentaram variações em relação aos valores normais entre a deficiência ou não deficiência; a monocitose observada foi relacionada a processos crônicos independentes da deficiência enzimática, conforme Jain (1993).

Conclusão

Conclui-se que é importante a determinação da atividade da G6Pd na rotina laboratorial de eqüinos, para que uma deficiência não venha a prejudicar o rendimento destes animais, principalmente no que concerne ao uso de drogas oxidantes e também para evitar a propagação desta deficiência, dada como hereditária e pelo fato de ser impossível diagnosticar clinicamente e/ou através de testes rotineiros de laboratório esta alteração.

- KARLSON, P., GEROK, W., GROSS, W. *Patobioquímica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 321 p.
- LEAVELL, B.S., THORUP, O.A. *Fundamentals of clinical hematology*. 4. ed. Philadelphia: Saunders, 1971. 755 p.
- LYNCH, G.P., SMITH, D.F., COPE, R.C., et al. Heinz body formation in calf erythrocytes. *J. Dairy Sci.*, v. 61, n. 80, p. 116-119, 1978.
- MAGNANI, M., SCOCCHI, V., FAZI, A., et al. Relationship between the rate of erythrocyte hexose monophosphate pathway and the glucose-6-phosphate concentration. *Bioch. Biophys. Res. Commun.*, v. 125, n. 1, p. 14-17, 1984.
- PASSIU, G., MELA, Q., PERPIGNANO, G., et al. Studio della sopravvivenza eritrocitária in saggiti G-6-Pd carenti durante samministrazione de suprafine. *Boll. Chins. Farm.*, v. 123, n. 8, p. 615-645, 1984.
- PEREIRA, N.R., FAN, L.C.R., NASCIMENTO, M.D. Avaliação dos efeitos da clorpromazina sobre a atividade da G6Pd (D-Glicose-6-P: NADP oxiredutase-1.1.1.49) e valores hematológicos em cães. *Rev. Centro Ciên. Rurais*, v. 17, n. 4, p. 369-378, 1987.