

## Mesa Redonda: Temas emergentes en Pediatría

### Orientación diagnóstica de las anemias en Pediatría

J. ESTELLA

Hospital Universitario Materno-Infantil "Sant Joan de Deu". Servicio de Hemato-Oncología Pediátrica. Esplugues de Llobregat. Barcelona

#### CONCEPTO DE ANEMIA

Es la disminución de la masa eritrocitaria habitual de una persona en relación con los valores normales según la edad y sexo.

Los procesos metodológicos para llegar al *diagnóstico* de una anemia se basan en:

- Historia Clínica
- Exploración física completa
- Determinaciones analíticas.

#### CLASIFICACIÓN DE LAS ANEMIAS

##### I. Según la etiopatogenia se pueden clasificar en:

- **Anemias hemolíticas:** (Aumento de destrucción)
  - **Corpusculares:** alteraciones de membrana, déficit enzimático y alteraciones de la hemoglobina.
  - **Extracorpúsculares:** agentes tóxicos, infecciosos, causas mecánicas e inmunológicas.
- **Anemias arregenerativas:**
  - a) Falta de producción por alteración de la célula madre
    - **Cuantitativas:**
      - . **Congénitas:** selectivas (eritroblastopenia) globales (fallo medular)
      - . **Adquiridas:** selectivas (eritroblastopenia) globales (aplasia)
    - **Cualitativas:**
      - . **Congénitas:** diseritropoyesis

- . **Adquiridas:** síndrome mielodisplásico
- b) Trastorno de factores eritropoyéticos
  - **Hierro:** falta de hierro (anemia ferropénica) bloqueo del hierro (anemia inflamatoria) metabolismo del hierro (anemia sideroblástica)
  - **Vitamina B12 y ácido fólico:**
    - Congénita (malabsorción)
    - Adquirida (alimentación)
  - **Eritropoyetina**
  - **Hormonas tiroideas**

##### II. Según el Volumen Corpuscular Medio (VCM) se dividen en:

- a) **Normocíticas:** VCM normal, secundarias a infecciones, neoplasias, algunas hemolíticas etc.
- b) **Macrocíticas:** VCM alto, déficit de B12, ácido fólico, algunas hemolíticas, Anemia de Fanconi, diseritropoyesis, etc.
- c) **Microcíticas:** Ferropenia, hemoglobinopatías, saturnismo, etc.

##### Parámetros básicos de Laboratorio para la orientación diagnóstica de las anemias son:

- **Datos iniciales:**
  1. - Hemograma
  2. - Reticulocitos
  3. - Bilirrubina total y directa
  4. - Haptoglobina
  5. - Morfología eritrocitaria

- **Datos definitivos:**

1. - Estudio del hierro
2. - Estudio de hemoglobinas
3. - Vitamina B12 y ácido fólico
4. - Coombs directo
5. - Aspirado de médula ósea
6. - Estudios especiales

## ANEMIA FERROPÉNICA

Parece que sabemos casi todo sobre la anemia ferropénica, pero se desconoce bastante sobre los mecanismos de regulación del hierro.

La determinación de la ferritina sérica está aceptada universalmente como la medición más importante de laboratorio para la valoración de las reservas de hierro. Las limitaciones ya conocidas de la ferritina sérica es la elevación de esta en determinados procesos inflamatorios, infecciosos, neoplasias, procesos hepáticos y alcoholismo, ya que pequeñas destrucciones de los hepatocitos liberan gran cantidad de ferritina y nos puede confundir sobre la valoración de la sobrecarga de hierro.

### Hepcidina

Es el principal regulador del metabolismo sistémico del hierro. Es un péptido hormonal responsable de la regulación del hierro reciclando y equilibrando el hierro y actúa bloqueando el flujo del hierro al torrente plasmático. Esto es conseguido por la unión a la hepcidina e induciendo la degradación del transportador celular del hierro, proteína transportadora, que se encuentra en los lugares de gran aflujo del hierro como los enterocitos del duodeno, involucrados en la absorción del hierro, los macrófagos que reciclan el hierro de los hematíes viejos y de los hepatocitos que almacenan el hierro. La síntesis de la hepcidina está regulada por la concentración de hierro, la hipoxia, la anemia y las citoquinas inflamatorias. El mal funcionamiento de la hepcidina está implicado en la patogénesis de muchas alteraciones del hierro. La deficiencia de hepcidina es prácticamente la única causa de la hemocromatosis hereditaria y una excesiva producción de hepcidina producida por citoquinas causa hiposideremia y contribuye a la anemia de los procesos inflamatorios.

El hierro es un elemento esencial cuya función como componente de proteínas y de enzimas está implicado en el transporte y almacenaje de oxígeno (hemoglobina y mioglobina), transportador de electrones y del metabolismo energético (citocromos, NADH deshidrogenasa, succinato de deshidrogenasa), síntesis de ADN (ribonucleótido reductasa) y protección contra radicales de oxígeno (catalasa y peroxidasa). Sin embargo, el exceso de hierro libre provoca la generación de radicales de oxígeno altamente reactivos que pueden lesionar la membrana lipídica, proteínas y ácidos nucleicos con alteración de las funciones de los órganos. La homeostasis normal del hierro asegura que el hierro celular necesario se realiza sin acúmulos.

Un adulto contiene aproximadamente de 3-4 g de hierro, del cual unos dos tercios está incorporado a la hemoglobina de los hematíes y sus precursores. La cantidad de hierro que entra y sale del organismo cada día es comparativamente muy pequeña, solo 1-2 mg por día. Sin embargo, la absorción de hierro, que tiene lugar en el duodeno, está bien regulada. Una dieta inadecuada lleva a la depleción de los depósitos de hierro y a una anemia ferropénica, pero las alteraciones genéticas que aumentan la absorción de hierro llevan a una sobrecarga del mismo provocando una hemocromatosis. Al contrario de la absorción de hierro, la excreción de hierro no está regulada y ocurre a través de pérdida de células de mucosa, de piel y de sangrados.

Desde la adquisición a la utilización, el hierro es transportado dentro y fuera de las células con la ayuda de proteínas especializadas. Se han descrito varias vías para el transporte celular del hierro. En el duodeno, el hierro no hem de la dieta es reducido de la forma férrica a ferrosa por una reductasa ferrica y transportada a través de la membrana.

Muchas células, incluyendo los precursores eritropoyéticos, incorporan el hierro del plasma y del líquido extracelular, donde el hierro circula unido a la transferrina. El hierro unido a la transferrina es introducido al interior de las células a través de los receptores de la transferrina y es transportado a través de la membrana endosomal al interior del citoplasma.

Finalmente, los macrófagos reticuloendoteliales incorporan el hierro indirectamente a través de la fagocitosis de los hematíes viejos los cuales son destruidos y el hierro extraído del hem por la oxigenasa.

Por el contrario, con múltiples vías de acción del hierro, un único mecanismo de exportación del hierro depende sobre la membrana proteica y es utilizada por todas las células que exportan hierro al plasma. La proteína transportadora está expresada en los enterocitos del duodeno que absorben hierro, macrófagos que reciclan hierro y hepatocitos que lo guardan, estando también expresada en la placenta, donde participa en la transferencia del hierro de la madre al feto.

La hepcidina, es la pieza fundamental de la regulación homeostática del hierro sistémico. Es producida en el hígado, circulando en el plasma y excretada en la orina. Es sintetizada como prohepcidina, siendo la forma bioactiva un péptido de 25 aminoácidos estabilizado por cuatro puentes disulfuros.

Los estudios sobre modelos de ratón y humanos indican que la hepcidina es el regulador negativo de la absorción de hierro reciclando y liberando desde las reservas. Los ratones con déficit de hepcidina desarrollan sobrecarga de hierro similar a la que ocurre en la hemocromatosis hereditaria humana. A la inversa, la sobre expresión de hepcidina en ratones transgénicos tiene como resultado anemia ferropénica severa. En humanos, la alteración homocigota del gen de la hepcidina causa la forma más severa de hemocromatosis.

### Mecanismo de acción de la hepcidina

La hepcidina actúa bloqueando el flujo del hierro celular al plasma del hierro reciclado de los macrófagos, de los depósitos del hígado y de la absorción de los enterocitos. La utilización del hierro por los precursores eritrocitarios se limita al pool del hierro plasmático causando rápidamente disminución de la sideremia. A nivel molecular, el flujo del hierro celular es inhibido por la unión de la hepcidina a la proteína transportadora del hierro, causando la internalización de esta proteína siendo degradada en los lisosomas.

La interacción hepcidina-proteína transportadora mantiene dentro de la normalidad la concentración del hierro extracelular y por el contrario la producción de hepcidina es homeostáticamente aumentada por la sobrecarga de hierro y disminuida por la anemia e hipoxia. Cuando la concentración de la hepcidina aumenta en plasma como resultado del hierro de la dieta, la hepcidina aumenta la inter-

nalización de la proteína transportadora de las células de la membrana y su subsiguiente degradación, resultando en la inhibición del flujo del hierro de los tejidos ricos en proteína transportadora al plasma. Cuando disminuye el aporte del hierro al plasma pero continua la utilización del hierro (para la eritropoyesis), la concentración del hierro plasmático es llevado a la normalidad. Por el contrario, en la deficiencia de hierro, la producción de hepcidina disminuye, resultando en una mayor concentración de moléculas de proteína transportadora sobre la membrana de las células y aumenta la exportación del hierro plasmático al interior de las células.

### Regulación de la hepcidina por el hierro y patogenia de la hemocromatosis hereditaria

La hepcidina es producida rápidamente en respuesta al hierro de la dieta: la ingestión de unos 65 mg de hierro aumenta la excreción de la hepcidina en las varias horas como se ha demostrado en voluntarios humanos. La ingestión crónica o parenteral de hierro también induce el mRNA de la hepcidina en ratones. El mecanismo de regulación de la hepcidina por el hierro todavía es desconocido. En los hepatocitos aislados falla la regulación de la hepcidina en respuesta al hierro, sugiriendo que el sensor del hierro puede estar distante del hígado o que el complejo receptor /emisor está alterado por el aislamiento del hepatocito.

### Regulación de la hepcidina por la anemia

La regulación de la hepcidina está suprimida por la anemia e hipoxia. Los mecanismos moleculares son desconocidos, la anemia puede regular la hepcidina a través de la hipoxia tisular o indirectamente por el descenso de la saturación de la transferrina a través de la estimulación de la eritropoyesis y el aumento de la demanda de hierro. Es posible que el grado de anemia sea transmitido a la producción de la hepcidina en los hepatocitos a través de factores circulantes procedentes de la médula ósea.

Pacientes con anemia crónica y diseritropoyesis como la talasemia, anemias diseritropoyéticas congénitas y anemias sideroblásticas también padecen sobrecarga de hierro y su toxicidad asociada. La determinación de hepcidina urinaria en estos pacientes indica que los niveles de hepcidina estaban intensamente disminuidos, a pesar de la sobrecar-

ga de hierro sistémica demostrada por el aumento de la ferritina. Aun en pacientes talasémicos hipertransfundidos, cuya hepcidina estaba aumentada en comparación a los pacientes no transfundidos, los niveles estaban todavía bajos a pesar de la sobrecarga de hierro de los pacientes. Estos hallazgos sugieren que la anemia, especialmente asociada a eritropoyesis ineficaz, tiene un efecto fuerte y dominante sobre el hierro en la producción de la hepcidina. Consecuentemente los niveles bajos de hepcidina en anemias hereditarias pueden ser responsables de la hiperabsorción de hierro, contribuyendo a la sobrecarga del mismo y el daño tisular asociado.

### Regulación de la hepcidina por la inflamación

El secuestro del hierro durante la infección es una importante estrategia de defensa del huésped para limitar el desarrollo e invasión de los gérmenes. Sin embargo, esta respuesta puede también limitar la disponibilidad del hierro para la producción de la eritropoyesis en la médula ósea. El desequilibrio resultante de la disminución de la síntesis de hemoglobina y el "turnover" continuado de los hematíes eventualmente puede conducir a la anemia. La anemia crónica también ocurre en alteraciones generalizadas no infecciosas incluyendo enfermedades reumatológicas, enfermedades inflamatorias intestinales y enfermedades neoplásicas. La anemia inflamatoria se caracteriza por el descenso de la sideremia, pero también por la presencia de hierro en los macrófagos de la médula ósea y aumento de la ferritina.

Las bases moleculares de las alteraciones inducidas por la inflamación en la regulación del hierro fueron recientemente explicadas y centrada sobre la inducción de la hepcidina. A diferencia de la regulación de la hepcidina por el hierro e hipoxia, las vías moleculares de regulación de la hepcidina por la inflamación están mejor entendidas e involucradas primariamente por la citoquina inflamatoria interleuquina(IL)-6.

### Usos clínicos de la hepcidina

La hepcidina aumentada contribuye a la patogénesis de la anemia inflamatoria mientras que el déficit de hepcidina es una característica común de muchas formas de hemocromatosis hereditarias. Los valores de concentración de hepcidina en plasma y orina pueden ser útiles en el diag-

nóstico diferencial de la anemia inflamatoria y anemia ferropénica o en el diagnóstico de hemocromatosis hereditaria. En la actualidad, no está disponible en la mayoría de los laboratorios la determinación de la hepcidina en plasma y orina teniendo que ser además validada esta técnica para su utilización clínica. Los futuros desarrollos farmacológicos de la hepcidina podrán ser útiles en la práctica clínica. Los agonistas de la hepcidina pueden ser útiles en el manejo de la hemocromatosis hereditaria o anemias hereditarias cuya hiperabsorción de hierro contribuye a la hemocromatosis secundaria. Los antagonistas de la hepcidina pueden ser beneficiosos en el tratamiento de la anemia inflamatoria cuando la enfermedad primaria sea resistente al tratamiento.

## ANEMIAS HEMOLÍTICAS

### Púrpura trombótica trombocitopénica

Se caracteriza por anemia hemolítica de tipo microangiopático y trombocitopenia, acompañado por trombosis microvascular que causa varios grados de isquemia tisular e infartos. La coagulación intravascular no es un hallazgo frecuente en esta alteración.

La fisiopatología de la PTT se basa en la ausencia de la acción del ADAMTS13 que tiene por misión fragmentar los multímeros de la molécula del factor de von Willebrand que es segregada por las células endoteliales. Cuando está ausente sea por causa congénita o adquirida, en general por anticuerpos, los multímeros del factor de von Willebrand no se fragmentan atrayendo las plaquetas y formando trombos plaquetares que obstruyen la microcirculación de los diversos órganos ocasionando las lesiones sobre todo a nivel renal y cerebral. Este fenómeno tiene lugar también en pacientes transplantados pero no se ha demostrado el déficit del ADAMTS13, no estando clara la patogenia de este fenómeno en estos pacientes.

### Drepanocitosis

Es una anemia hemolítica por alteración de la hemoglobina, que corresponde a una mutación de Glutamina por Valina, produciendo una hemoglobina con tendencia a la precipitación en condiciones de hipoxia. La forma de presentación es diversa y su evolución puede llevar a graves

trastornos de hipoxia, infartos óseos, infartos cerebrales, infecciones generales y pulmonares. Esta enfermedad ha tenido una gran repercusión en nuestro medio debido a la inmigración y en el momento actual es la anemia hemolítica hemoglobinopática más frecuente.

Desde el punto de vista diagnóstico, es evidente que se tiene que demostrar la presencia de Hb S, pero desde el punto de vista clínico tiene que tenerse en cuenta una serie de características como son dolores óseos, infiltrados pulmonares, dactilitis, priapismo, infartos cerebrales "silentes", etc.

#### ANEMIA MEGALOBLASTICA

El síndrome de Imerslund-Gräsbeck o malabsorción selectiva de la vitamina B<sub>12</sub> con proteinuria es una rara enfermedad autosómica recesiva caracterizada por déficit de vitamina B<sub>12</sub> resultando frecuentemente en una anemia megaloblástica, que responde al tratamiento de vitamina B<sub>12</sub> administrada por vía parenteral y se presenta en la infancia. Otras manifestaciones incluyen falta de crecimiento, infecciones y daños neurológicos. Proteinuria discreta (con o sin lesión renal) estando presente en la mitad de los pacientes. Malformaciones urinarias fueron observadas en algunos pacientes noruegos. El test de Schilling demuestra una absorción intestinal disminuida, no corregida por la administración de factor intrínseco. Los síntomas aparecen desde los 4 meses (no inmediatamente después del nacimiento como un déficit de transcobalaminas) hasta varios años después del nacimiento. El síndrome fue descrito en Finlandia y Noruega donde la prevalencia es aproximadamente de 1:200.000. La causa es un defecto en el receptor del complejo B<sub>12</sub>-factor intrínseco del enterocito del ileon. En muchos casos, la base molecular de esta malabsorción selectiva y proteinuria está implicada en la mutación de uno o dos genes, cubilina en el cromosoma 10 o amnionles sobre el cromosoma 14. Ambas proteínas son componentes del receptor intestinal para el complejo B<sub>12</sub>-factor intrínseco y el receptor que actúa en la reabsorción tubular de proteínas a nivel de excreción urinaria. El manejo de este síndrome incluye inyecciones de B<sub>12</sub> durante toda la vida y con este régimen el paciente se mantiene sano. Sin embargo, la pro-

teinuria puede persistir a pesar del tratamiento con la vitamina B<sub>12</sub>. En el diagnóstico de esta enfermedad, es importante saber que el déficit de cobalamina afecta la función de los enterocitos; todos los test sugieren malabsorción teniendo que ser repetidas las pruebas después de solucionar esta patología.

Las mutaciones bialélicas de los genes de la cubilina y del amnionles produce el síndrome de Imerslund-Gräsbeck (SIG). En una serie de familias diagnosticadas clínicamente como SIG, seis al menos no demostraron evidencia de mutaciones para dichos genes. La investigación extensa del genoma seguido de análisis mutacional de los genes se realizó en cinco de las familias. Una región en el cromosoma 11 demostró evidencia de relación en cuatro familias. El gen del factor intrínseco gástrico localizado en esta región presenta mutaciones homocigotas en las cuatro familias y en tres familias adicionales. La enfermedad en estos casos debe ser clasificada como hereditaria de déficit de factor intrínseco.

Clínicamente, los pacientes parecen los de SIG típicos; el test de absorción de radiocobalamina no ha sido concluyente en la etiología del gen. En el diagnóstico del déficit de cobalamina juvenil, los análisis mutacionales de cubilina, amnionles y genes del factor intrínseco gástrico (FIG) tiene que estudiarse la alteración molecular del defecto subyacente y debe ser el método diagnóstico de elección para conseguir un diagnóstico correcto.

La deficiencia congénita del factor intrínseco es una alteración caracterizada por anemia megaloblástica debido a la ausencia de FIG y anticuerpos antifactor intrínseco, con probable herencia autosómica recesiva. La mayoría de los pacientes publicados son casos aislados sin estudios genéticos de los padres o hermanos. La secuencia completa de los exones se determinaron por PCR a partir del producto del genoma de ADN de 5 pacientes. La mayoría de los pacientes tienen una misma variante (g.68A4G) en la segunda posición del quinto codón en la secuencia del gen que introduce la encima de restricción y predice un cambio en las proteínas, la glutamina (CAG) por la Arginina (CGG), presentando formas homocigotas y heterocigotas para esta mutación. La mayoría de los progenitores fueron heterocigotos para esta mutación, confirmando el tipo de herencia autosómica recesiva para el déficit congénito de Factor intrínseco.

## BIBLIOGRAFÍA

- John C. Fyfe, Mette Madsen, Peter Højrup, Erik I. Christensen, Stephan M. Tanner, Albert de la Chapelle, Qianchuan He, and Søren K. Moestrup. The functional cobalamin (vitamin B12)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. *Blood* 2004; 103 (5): 1573-79.
- Carlo Brugnara. Iron Deficiency and Erythropoiesis: New Diagnostic Approaches. *Clinical Chemistry* 2003; 49(10): 1573-1578.
- Marilyn M. Gordon, Nancy Brada, Angel Remacha, Isabel Badell,2 Elisabeth del Río, Montserrat Baiget, Rene´ Santer, Edward V. Quardros, Sheldon P. Rothenberg, and David H. Alpers. A Genetic Polymorphism in the Coding Region of the Gastric Intrinsic Factor Gene (GIF) Is Associated With Congenital Intrinsic Factor Deficiency. *Human Mutation* 2004; 23: 85-91.
- Guenter Weiss, Lawrence T. Goodnough. Anemia of Chronic Disease. *N Engl J Med* 2005; 352: 1011-23.
- Antonello Pietrangelo. Hereditary Hemochromatosis. *Annu. Rev. Nutr.* 2006; 26: 251-70
- Elizabeta Nemeth, Tomas Ganz. regulation of iron metabolism by hepcidina. *Annu. Rev. Nutr.* 2006; 26: 323-42.
- Tomas Gan. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102: 783-788.