

112406



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ



ESTUDIO DE LAS ANEMIAS DE ORIGEN
GENÉTICO EN PEDIATRÍA

TESIS

PARA OBTENER TÍTULO EN LA ESPECIALIDAD DE

HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DR. TEODORO MUÑIZ RONQUILLO



DIRECTOR DE TESIS

DR. SANTOS ABEL BELLO GONZÁLEZ
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGÍA

MÉXICO, D. F. AGOSTO 2005

0349559



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.

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**



**ESTUDIO DE LAS ANEMIAS DE ORIGEN GENÉTICO
EN PEDIATRÍA**

SUBDIVISIÓN DE ESPECIALIZACIÓN
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
U.N.A.M.

TESIS

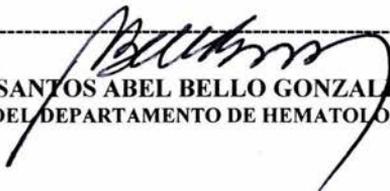
PARA OBTENER TÍTULO EN LA ESPECIALIDAD DE

HEMATOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DR. TEODORO MUÑIZ RONQUILLO

DIRECTOR DE TESIS:


**DR. SANTOS ABEL BELLO GONZALEZ
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE HEMATOLOGÍA**

MÉXICO, D.F.

AGOSTO DEL 2005.



INDICE

I INTRODUCCION.....	2
II MARCO TEORICO.....	3
Clasificación etiopatogénica de las anemias.....	4
Clasificación clínica de las anemias.....	5
Clasificación morfológica de las anemias.....	5
Desordenes de la membrana eritrocitaria.....	7
Alteración en la síntesis de hemoglobina.....	8
Alteraciones por deficiencias enzimáticas.....	9
Alteraciones en la síntesis del HEME.....	10
Anemia megaloblástica congénita.....	11
Alteraciones congénitas de la eritropoyesis.....	12
III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
IV OBJETIVOS.....	14
V METODOLOGIA.....	14
VI RESULTADOS.....	16
VII TABLAS Y GRAFICAS.....	18
VIII DISCUSION.....	23
IX CONCLUSIONES.....	25
X REFERENCIAS.....	26

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Teodoro Muñoz

FECHA: 20-10-05

FIRMA: [Firma manuscrita]

I.- INTRODUCCION

Dentro del amplio campo de la Hematología, ha sido de singular atención para los investigadores en la materia el estudio de la anemia. Y a través de la evolución del conocimiento, se ha ampliado el panorama, hasta llegar a las bases patológicas que dan como resultado anemia, entre estas bases sabemos que hay alteraciones cromosómicas específicas, por lo cual se ha venido modificando la clasificación de los diferentes tipos de anemia, entre ellas las anemias de origen genético.

Desde inicios del siglo pasado, se ha descrito alteraciones del eritrocito que tienen como fundamento la genética. Cooley, en 1925, describe un complejo desorden en niños, caracterizado por un síndrome anémico progresivo, y de instalación a temprana edad, con marcada eritroblastosis en sangre periférica, y además con fascies características, esplenomegalia y antecedente familiar. La observación de estos pacientes fue en la región del Mediterráneo, y se introdujo bajo el nombre de Talasemia.

En 1940, el fenómeno de falciformidad del eritrocito es estudiado por Sherman, observaciones confirmadas por Hahn y Gillespie, observando la reversibilidad del evento, y la importancia del oxígeno. Posteriormente Linus Pauling, describe la alteración en la hemoglobina, al lograr demostrar alteración de la hemoglobina por electroforesis, y describe el concepto como una enfermedad molecular; en este mismo tiempo Neel describe que la anemia de células falciformes tiene una forma Heterocigota y otra Homocigota del mismo gen.

En 1938, Diamond y Blackfan describen un síndrome de instalación lenta con anemia progresiva, de inicio temprano en la infancia, inicialmente fue nombrada de varias formas, como eritrogenesis imperfecta crónica, anemia crónica aregenerativa, y eritroblastopenia crónica, ahora conocida como Anemia de Diamond Blackfan.

En 1927, Fanconi describe tres casos de hermanos con pancitopenia y anomalías físicas, e hipoplasia medular, y lo llamó como anemia macrocítica perniziforme, y posteriormente Naegeli sugiere en 1931 el término de Anemia de Fanconi.

Ya a mediados del siglo pasado, al mismo tiempo que se dilucidan dudas en cuanto al mecanismo genético de muchas enfermedades, por el año 1956, Carson y colaboradores, son el punto de partida para otra gama de patología del eritrocito, que causó interés tanto en hematólogos como en genetistas, las anemias secundarias a defectos enzimáticos, y una vez más se observa un patrón genético en la descripción de la alteración, describiendo inicialmente la deficiencia de Glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, como defecto localizado en el cromosoma X

Posterior a estas observaciones se han venido aportando múltiples avances al estudio de anemias de origen genético, así como se han agregado a la clasificación muchas otras entidades que tienen base genética y dan como resultado anemia.

II MARCO TEORICO

Durante un largo periodo se definió anemia por sus parámetros de laboratorio, lo cual sólo proporciona una información parcial, razón por la que es conveniente principiar por definir el concepto de la misma.

La anemia es un síndrome clínico que se manifiesta por palidez mucocutánea de severidad variable que se asocia a signos y síntomas relacionados con la deficiente oxigenación tisular; la intensidad de éstos síntomas varía de un individuo a otro, pueden ser leves en las anemias crónicas y muy notables en las agudas, sin embargo frecuentemente se resuelven poniendo al enfermo en reposo. Pueden existir mecanismos de ajuste, tanto cardiovasculares como respiratorios, los que son más evidentes en anemia de corta evolución, o bien, cuando la anemia crónica llega a hacerse severa. La anemia aguda por hemorragia se asocia a manifestaciones de hipovolemia que puede ser grave y llegar al estado de choque; la anemia crónica en cambio puede llegar a determinar insuficiencia cardíaca congestiva.

La hipoxia tisular que caracteriza a los procesos anémicos está determinada por una disminución de la capacidad de la sangre para transportar oxígeno: este fenómeno es consecuencia de un descenso del número de glóbulos rojos circulantes, que se acompaña de una disminución de la cantidad de hemoglobina a un nivel inferior al mínimo normal. Para valorar a un paciente debe tenerse en cuenta, los factores que modifican los valores de hemoglobina en cada individuo, como son: edad, altura sobre el nivel del mar, lugar de residencia y sexo, época del año, además existen variaciones como respuesta a estado fisiológicos que incluyen la postura prolongada en decúbito, el ejercicio vigoroso, y el sitio de toma de la muestra.

La palidez no es signo inequívoco de anemia, pues una persona puede verse pálida sin tener anemia, como sucede en algunos enfermos con neoplasias malignas, glomérulo nefritis aguda, insuficiencia aórtica, coartación de la aorta con estenosis mitral, mixedema, falta de exposición al sol, también puede verse palidez en ausencia de anemia en enfermos con condiciones abdominales agudas, estado de choque o estados de angustia.

La anemia puede dividirse de manera inicial, en dos grandes grupos, las agudas y las crónicas.

ANEMIA AGUDA

La anemia aguda está determinada por un descenso brusco de la cantidad de eritrocitos circulantes, fenómeno que se instala en pocas horas o días y que va acompañado de manifestaciones clínicas que requieren ser valoradas acuciosamente para prevenir lesión tisular hipóxica que condicione secuelas posteriores o ponga en riesgo la vida del enfermo.

ANEMIA CRONICA

Bajo esta denominación se han agrupado las anemias de instalación lenta y de duración prolongada. La mayor parte de las anemias crónicas están en relación con defecto en la producción de eritrocitos y caen por tanto dentro del grupo de las anemias arregenerativas o hipoproliferativas, las cuales tienen como características variaciones lentas en el nivel de hemoglobina y respuesta reticulocitaria inadecuada. El subgrupo de anemias crónicas regenerativas tiene una incidencia claramente menor y en él se encuentran fundamentalmente las anemias hemolíticas crónicas o de evolución prolongada.

Una parte importante dentro de las anemias crónicas, tanto regenerativas como arregenerativas, tiene origen en alteraciones genéticas, que son la base de la patología; comúnmente el diagnóstico de estas enfermedades se realiza primero en bases clínicas, y en métodos paraclínicos que identifican el resultado de la alteración cromosómica, evidenciando proteínas estructurales anómalas, alteraciones en la síntesis de hemoglobina, o de la producción del HEME, o bien supresión selectiva de la eritropoyesis.

Actualmente como resultado de múltiples investigaciones se han desarrollado métodos eficaces para la identificación exacta del disturbio genético que finalmente se expresa como anemia. Es significativo el apoyo al clínico que brindan metodologías avanzadas dentro del ámbito de la biología molecular enfocada a diagnóstico. (1,2)

Las anemias son procesos patológicos determinados por múltiples mecanismos y aún existen procesos anémicos cuya etiopatogenia no ha podido ser determinada o bien se ha dilucidado de manera parcial; por ello las clasificaciones de las anemias aún son incompletas y no pueden ser consideradas más que como hipótesis razonables de trabajo y no como esquemas concluidos, son sistemas en evolución dinámica y perfectible.

Las anemias se dividen o agrupan en base a diversos criterios, lo cual da lugar a varios sistemas de clasificación. Son de mencionarse las clasificaciones etiopatogénica, clínica y morfológica, entre otras.

CLASIFICACION ETIOPATOGENICA

La clasificación etiopatogénica se basa en el conocimiento disponible de los mecanismos y las causas que determinan los procesos anémicos, en especial las alteraciones de la eritropoyesis, por ello la primera división que considera establece dos grandes grupos: las anemias regenerativas y las anemias arregenerativas o hipoproliferativas

ANEMIAS REGENERATIVAS

I.-Anemia aguda posthemorrágica

II.-Anemias hemolíticas

*Adquiridas: Autoinmunes, aloinmunes, inducidas por infección, inducidas por drogas, síndromes de fragmentación eritrocitaria

*Hereditarias: Con defecto de membrana, defecto en la estructura o síntesis de hemoglobina, defecto enzimático.

ANEMIAS HIPOPROLIFERATIVAS O ARREGENERATIVAS

I.-Carencia de sustratos de la hematopoyesis.

*Anemias carenciales: Deficiencia de hierro, deficiencia de folatos o vitamina B12, anemias del desnutrido de III grado, otras anemias carenciales

II.-Deficiencia del estímulo eritropoyético: Insuficiencia renal crónica, algunas endocrinopatías, hipopituitarismo, hipotiroidismo, hipogonadismo.

III.-Anormalidad del órgano hematopoyético bioquímica o anatómica.

Inhibición de la hematopoyesis o la eritropoyesis

*Anemias aplásticas

*Aplasia selectiva de serie roja

*Anemia de los bloques metabólicos: adquiridos o congénitos.

CLASIFICACION CLINICA DE LAS ANEMIAS

La clasificación clínica considera a las anemias divididas en dos grandes grupos, las agudas y las crónicas. Las anemias agudas son condiciones en las que se produce disminución brusca de la cantidad de eritrocitos circulantes, y consecuentemente la masa roja total, tienen dos mecanismos patogénicos: la hemorragia aguda y la crisis hemolítica; corresponden por lo tanto a anemias regenerativas según la clasificación etiopatogénica.

Las anemias crónicas son procesos de instalación lenta y gradual. Pueden ser progresivas o estabilizarse en una cifra de hemoglobina subnormal como sucede en la anemia del hipotiroidismo o en la infección crónica. La mayor parte de las anemias crónicas están en relación con deficiente producción de eritrocitos, esto es, son hipoproliferativas o arregenerativas, por lo que se caracterizan por respuesta reticulocitaria inadecuada. Sin embargo existen también y se asocian a las respuestas reticulocitarias más elevadas.

CLASIFICACION MORFOLOGICA

El examen del frotis de sangre periférica conserva aún un valor en el estudio de las anemias, y permite establecer grandes grupos de este tipo de padecimientos, los cuales son los siguientes:

Anemias microcíticas hipocrómicas, la mayor parte corresponde a deficiencia de hierro, pero también puede observarse hipocromía en anemia de los procesos inflamatorios crónicos, infecciosos o inmunológicos y en anemia de la enfermedad renal y los síndromes talasémicos; el conocimiento de estos últimos se ha ampliado notablemente en los últimos años.

Anemias con hematopoyesis megaloblástica, en las cuales se observan anomalías de las tres series de células hematológicas e incluyen: megalocitos, ovalocitos y poiquilocitos, estos últimos pueden constituir la anomalía predominante como se observa en algunos enfermos con anemia perniciosa; puede haber también normoblastemia. En serie granulocítica se observan neutrófilos polisegmentados y en algunos enfermos neutropenia. Por otro lado se pueden encontrar plaquetas gigantes y ocasionalmente trombocitopenia.

Anemias en las que predominan los datos de regeneración sanguínea, en estas la alteración morfológica principal es la presencia de macrocitos, estos son eritrocitos grandes con basofilia difusa. Corresponde a pacientes con anemias regenerativas, esto es anemia por hemorragia aguda o anemias hemolíticas, ambas se asocian con elevación de cifras de reticulocitos.

Anemias que predomina la poiquilocitosis, eritrocitos ovales, en lágrima, fragmentados y pueden también puede haber normoblastemia. Estas alteraciones sugieren una alteración en de la eritropoyesis y se observan en mieloesclerosis, mieloptisis, o en anemia de los hepáticos crónicos. Son anemias hipoproliferativas en las que no se observa respuesta reticulocitaria.

Anemias sin alteración significativa de la morfología de los eritrocitos, ni de las otras células de sangre periférica, se trata de anemias normocíticas normocrómicas.

La clasificación de las anemias en grupos facilita el proceso del diagnóstico de la entidad nosológica que causa la anemia; así por ejemplo la presencia de anemia microcítica hipocrómica orienta en primer lugar hacia una anemia carencial por deficiencia de hierro, y permite considerar la posibilidad de detectar algunos datos clínicos que permitan confirmar esta posibilidad. También facilita entender la etiopatogenia del proceso anémico.

Sin embargo sabemos que una buena cantidad de procesos anémicos, tiene como etiopatogenia una alteración genética, esto ha sido posible evidenciar mediante el avance tecnológico en el estudio de alteraciones cromosómicas que dan origen a enfermedad. (3,4)

ANEMIAS CRONICAS DE MECANISMO GENETICO

A.-Anemias hemolíticas:

- 1.-Defectos de membrana del eritrocito: microsferocitosis, eliptocitosis, acantocitosis, estomatocitosis
- 2.-Alteraciones en la síntesis de hemoglobina: beta talasemia, alfa talasemia, enfermedad drepanocítica
- 3.-Deficiencias enzimáticas: deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, deficiencia de isomerasa de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, deficiencia de kinasa de piruvato
- 4.-Errores congénitos en la síntesis de HEME: porfiria eritropoyetica.

B.-Anemias megaloblásticas hereditarias:

- 1.-Deficiencia congénita de factor intrínseco
- 2.-Deficiencia de transcobalamina II
- 3.-Síndrome de Lech Nyham
- 4.-Aciduria orótica y metilmalónica congénita

C.-Anemias sideroblasticas:

- 1.-Deficiencia congénita de enzimas de la vía metabólica del hierro

D.-Algunas anemias diseritropoyéticas congénitas.

E.-Aplasia Pura de Serie Roja

F.-Anemia aplástica tipo Fanconi

1.-DESORDEN EN LA MEMBRANA ERITROCITARIA

ESFEROCITOSIS HEREDITARIA.

La esferocitosis hereditaria, es un heterogéneo grupo de desordenes con diferente severidad clínica, por defectos hereditarios de las proteínas de membrana. Es relativamente común en población Caucásica, la mayoría con afección leve a moderada.

El diagnóstico de esferocitosis hereditaria, se basa en la morfología celular, además de pruebas convencionales como fragilidad osmótica, auto hemólisis y lisis en solución acidificada por glicerol., así como el antecedente familiar positivo.

Se han usado análisis moleculares de genética, para determinar si la herencia es de tipo recesiva o dominante.

De cualquier manera puede haber dificultad para el diagnóstico en algunos casos. La confirmación de la alteración en la membrana de la célula roja no se realiza de manera rutinaria en todos los laboratorios. Recientemente se usan métodos de citometría de flujo, descritos usando intensidad cuantitativa de fluorescencia de células rojas intactas, después de incubación con tinte de eosina 5' melaimida (EMA), con uniones específicas a la proteína transportadora de aniones (Banda 3) a lisina-430. Este estudio ha sido efectivo como prueba de búsqueda de alteraciones de membrana.

Los avances en la técnica de tinción EMA es específica para desordenes de membrana, ha sido sencilla, fácil de usar, barata, rápida, si tenemos disponible citometria de flujo (5,6)

OVALOCITOSIS, ESTOMATOCITOSIS Y ELIPTOCITOSIS

La unidad Hardware/software MEKOS-C1, capacita a un equipo para el examen automatizado de frotis de sangre, esto hace un rápido y significativo análisis y asegura de manera más completa y acuciosa la información obtenida. Este método se establece en Rusia con la finalidad de diagnóstico de OVALOCITOSIS. Se utilizo en un estudio de pacientes en edad pediátrica, donde se hizo diagnóstico por medio de mediciones de radio y ejes de los eritrocitos, con cálculos previos en células normales, el margen de error, radica en la calidad del extendido, pero el estudio pudo ser demostrado en cuanto a su estabilidad, buena reproducibilidad, y mediciones automatizadas. Por lo que esta técnica automática,

resulta adecuada, para tener información de las características morfológicas del eritrocito-ovalocito. (7)

En otro estudio para el diagnóstico de ovalocitosis, se utilizó el examen microscópico de sangre periférica en un grupo de 137 individuos en Nueva Guinea, el examen fue realizado

por 2 morfólogos expertos en sangre periférica. El examen se realizó por técnica de reacción de cadena de polimerasa (PCR), para determinar la delección de 27 pares de bases en eritrocitos con afección de la proteína Banda 3.

Comparando el estudio por PCR, con los resultados de microscopia manual, hubo una especificidad del 50%, en esta, en cuanto a los resultados obtenidos por morfología experimentado, se obtuvo una sensibilidad y especificidad del 93.6% y 92.2% respectivamente, y valores predictivos positivos y negativos de 86.3% y 96.5% respectivamente. (8)

Se han realizado estudios genéticos para el diagnóstico de Eliptocitosis, en la búsqueda de la mutación en el gen de alfa espectrina. El diagnóstico se confirma, además de las técnicas convencionales como la morfología de frotis de sangre periférica, y la electroforesis de proteínas de membrana, por la búsqueda de la mutación del gen de la espectrina y la proteína 4.1, pero estos análisis no se realizan de manera rutinaria.(9)

En la estomatocitosis hereditaria, la técnica de tinciones con Coomassie y Plata, en gel de poliacrilamida, se muestra una aparente deficiencia completa de la estomatina, que es una proteína de membrana de alto peso molecular 32-kDa. Se ha usado un anticuerpo antiestomatina, para examinar sangre periférica, médula ósea, tejido esplénico y tejido hepático, de pacientes con estomatocitosis por inmunohistoquímica.

Esta ausencia de la estomatina, es secundaria a una mutación de los genes *mec-4* y *10*, del cromosoma *9*, esta técnica de tinción es confirmada por western-blots. (10)

2.-ALTERACIONES EN LA SINTESIS DE HEMOGLOBINA

ENFERMEDAD DREPANOCITICA

La enfermedad de células falciformes es una condición genética autosómica recesiva de la hemoglobina. La patología resulta de la mutación del codón seis del gen de la beta globina que induce la síntesis de una hemoglobina anormal, llamada hemoglobina S (HbS). La polimerización de las moléculas de Desoxi HbS, causan anemia hemolítica crónica y fenómeno vaso oclusivo. La enfermedad afecta sobretodo a gente del Este de la India, y de África al sur del Sahara, más sin embargo, la migración ha llevado la enfermedad a todos los continentes. Crisis de dolor, infecciones severas como septicemia, meningitis, osteomielitis, episodios de anemia aguda, y eventos severos de vaso-oclusión, algunos neurológicos, son las complicaciones más frecuentes en niños. Avances recientes en el cuidado de estos pacientes ha prolongado la sobrevivida, la cual es ahora de 40 años. El tratamiento convencional incluye antibióticos, inmunizaciones analgésicos y transfusión de eritrocitos.

El diagnóstico es usualmente por enfoque isoelctrico, o electroforesis en acetato de celulosa a pH alcalino, pero más y más frecuentemente por intercambio catiónico. Es confirmado por pruebas específicas para HbS, tal como la prueba de solubilidad o electroforesis en agar gel. En la anemia de células falciformes, es importante determinar otros factores que pueden modificar la presentación, (como niveles de Hb Fetal, y la asociación con alfa talasemia). En individuos heterocigotos la presentación con manifestaciones patológicas,

las pruebas de bioquímica más sofisticadas o la investigación de biología molecular, pueden ser necesarias para determinar la causa de la enfermedad. (11,12)

TALASEMIAS

La Talasemia y las hemoglobinopatias son un heterogéneo grupo de enfermedades hereditarias autosómicas recesivas, y tienen una alta prevalencia en el mundo. La búsqueda de heterocigotos, y el consejo genético, es esencial para la prevención y control de talasemia grave.

El diagnóstico de talasemia y hemoglobinas anormales, puede ser efectuado en tres fases del desarrollo: prenatal, neonatal y adultos.

Los métodos convencionales incluyen índices eritrocitarios y morfología, electroforesis de hemoglobinas, cuantificación de Hb A2, Hb E y Hb Fetal, así como detección de eritrocitos con inclusiones de Hb H, para un adecuado diagnóstico. Aunque la medición de Hb A2, y Hb E por electroforesis en acetato de celulosa y elusión y técnicas de cromatografía de microcolumnas son técnicas adecuadas y reproducibles, estas son laboriosas y con gran consumo de tiempo.

High Performance Liquid Chromatographic o Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), es un método sensible y preciso para detectar Talasemia y Hemoglobinas anormales. Este método se ha preferido para el estudio de Talasemia, por ser rápido. Un sistema automático de HPLC ha sido desarrollado para la detección de Beta-Talasemia, como portadores de B-Talasemia, Hb S, y Hb C. (13,14)

Se realizó otro estudio en Tailandia, para diagnóstico simultáneo prenatal de síndrome complejo de Beta Talasemia y Alfa Talasemia 1 por PCR, en el cual se probó con casos conocidos de dobles heterocigotos para alfa y beta talasemia.

Se mostró un correcto diagnóstico de dobles heterocigotos para alfa-talasemia 1 y beta talasemia o Hb E, obtenidos de manera simultánea por el método múltiple de PCR. Este ensayo rápido de PCR facilitó el diagnóstico prenatal de síndromes complejos de talasemia, en regiones donde ambos tipos de talasemia es común. (15,16)

3.-ANEMIAS HEMOLITICAS POR DEFICIENCIAS ENZIMATICAS

El eritrocito, carece de núcleo, mitocondrias, ribosomas y otros organelos, no tiene capacidad de replicación ni síntesis de proteínas, o fosforilación oxidativa. El descubrimiento de anemia hemolítica como resultado de enzimopatías severas, pone al descubierto la dependencia del eritrocito de la glucólisis. Anormalidades adquiridas de la bioquímica del eritrocito, pueden tener influencia en la glucólisis, alterar la función de la hemoglobina, y algunas veces acortar la vida media del eritrocito, pueden ser secundarias a malignidades del sistema hematopoyético, pero en general, no tienen como resultado anemia hemolítica.

La anemia hereditaria resulta de la alteración del metabolismo del eritrocito, inicialmente se diferencia de alteraciones de membrana como esferocitosis, en el frotis de sangre periférica, por revisión de la morfología con ausencia de alteración en la forma celular. La investigación de estructura y síntesis de hemoglobina es normal.

Estas alteraciones enzimáticas, son transmitidas usualmente de forma autonómica recesiva, la deficiencia de fosfogliceratokinasa, es una deficiencia ligada al X, y el exceso de adenosina desaminasa, es autosómica dominante.

Durante las dos pasadas décadas, alteraciones específicas en la estructura de las proteínas, han venido dando el fundamento para los estados deficientes de enzimas, y la biología molecular, ha venido a identificar las bases genéticas de estos defectos. (17,18)

DEFICIENCIA DE GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA

El diagnóstico de presunción de Deficiencia de Glucosa 6 Fosfato Deshidrogenasa es básicamente clínico, el diagnóstico definitivo es cuando se demuestra el decremento de la actividad enzimática en la célula roja.

La actividad de la G6FD, puede ser medida por el método clásico de Horecker y Smyrniotis, con lo cual se mide la formación de NADPH, por medio de la absorción de luz ultravioleta en un espectro de 340 nm. La actividad es expresada en unidades internacionales (micromoles de NADPH, producidas por minuto) por gramo de hemoglobina, es necesario separar otras células sanguíneas, donde la actividad enzimática es más alta. En las células rojas, el rango de la actividad de G6PD, medido a 30 C, es de 7 a 10 UI/gr de hemoglobina.

Existen otras pruebas de búsqueda para la deficiencia de G6PD, la más conocida es la prueba de decolorización, otras como prueba de reducción de metahemoglobina, y prueba de fluorescencia; todos son métodos semi-cuantitativos, y solo nos indica si hay actividad normal o deficiente.(19)

4.-ALTERACION EN LA SINTESIS DEL HEME

PORFIRIAS ERITROPOYETICAS

Las alteraciones en el metabolismo de las porfirinas puede dar lugar a cuadros clínicos muy variables que incluyen desde manifestaciones cutáneas severas asociadas a fotosensibilidad y anemia hemolítica en la porfiria eritropoyética "morbus Gunther", hasta síndromes en los que predominan las manifestaciones de afección al sistema nervioso autónomo o al voluntario en la porfiria aguda intermitente.

El criterio para diferenciar las porfirias en eritropoyéticas y hepáticas propuesto en 1951, continúa siendo útil en clínica aún cuando recientemente se ha podido aclarar que la alteración bioquímica no está limitada a un tejido en ninguna de ellas, sino que se tienen manifestaciones principalmente eritropoyéticas o hepáticas debido a las peculiaridades metabólicas de estos tejidos, pero que el defecto genético posiblemente se encuentra en la mayor parte de los sistemas celulares del organismo.

En el HIM "FG", se publicó un trabajo que reúne tres pacientes con este tipo de enfermedad, uno de ellos con porfiria eritropoyetica, un lactante menor, en el cual se

observó fotosensibilidad severa, anemia hemolítica también importante y esplenomegalia; no presentó manifestaciones neurológicas ni abdominales. En la Porfiria eritropoyetica se ha señalado que el primer signo de la enfermedad puede ser la hiperpigmentación de los pañales por la orina, pero la manifestación más frecuente es la sensibilidad al sol, la cual va seguida del desarrollo de lesiones cutáneas vesiculares o bulosas llenas de líquido rico en porfirias. (20,21)

La porfiria eritropoyetica es una enfermedad hereditaria autosómica dominante de la biosíntesis de HEME causada por la deficiencia parcial de la enzima ferroquelatasa. Pacientes con Porfiria Eritropoyetica, mostraron solo 20-30% de la actividad normal, por mutación de uno de los alelos del gen de la ferroquelatasa. El diagnóstico se realiza al analizar los dímeros que componen la enzima, por medio de filtración en gel, encontrando mutación en uno de los dímeros componentes de la enzima, secundario a mutación de la enzima. (22-23)

Otro estudio realizado en pacientes Italianos con Porfiria Eritropoyetica, se encontró como punto de mutación -250G>C, por medio de ensayo marcador de electromobilidad, esta mutación da como resultado la pérdida de un SPI del sitio comprometido. Este es el primer reporte de la mutación del alelo de expresión en el gen de la ferroquelatasa. (24)

5.-ANEMIAS MEGALOBLASTICAS CONGENITAS

La anemia megaloblástica en la edad pediátrica puede ser reflejo de un desorden congénita en la absorción de cobalamina, transporte o metabolismo intracelular de ésta. Algunos síndromes autosómicos recesivos manifestados por anemia megaloblástica secundaria a defecto en la absorción y transporte de cobalamina, llamada anemia perniciosa congénita, Síndrome de Imerslund-Grasbeck, y deficiencia congénita de Transcobalamina II.

Los genes responsables de estos desordenes son: el gen de Factor Intrínseco, MGA1, y TCN2, así como el gen de la Transcobalamina I. (25)

El síndrome de Imerslund-Grasbeck, o deficiencia de cobalamina hereditaria juvenil, causado por absorción abolida de cobalamina, y no se corrige con la administración de factor intrínseco; si no es tratada, puede ser letal. Esto es causado por una mutación bialélica del gen cubilin (CUBN) o amnionless (AMN) del cromosoma 11. La búsqueda de la mutación de éste gen, puede ser la técnica de elección para el diagnóstico. (26)

DEFICIENCIA CONGENITA DE FACTOR INTRINSECO.

La delección de 4 bases se ha identificado en la región del codón del gen para la producción de factor intrínseco.

El análisis de los exones amplificados por PCR, mostraron una secuencia normal de nucleótidos excepto en dos exones. Estos fueron la delección de 4 bases en los nucleótidos 104 a 107 (GAAT) en el exón 2. Esta secuencia predice la traducción del producto de 67 aminoácidos en los cuales los últimos 7, son cambiados y dan inestabilidad a la cadena, ya que no se detecta inmunoreacción del factor intrínseco detectado en el jugo gástrico. (27)

6.-ALTERACIÓN CONGENITA EN LA ERITROPOYESIS

APLASIA PURA DE SERIE ROJA

Se conoce como Aplasia Pura de Serie Roja una condición hematológica en la existe supresión selectiva de la eritropoyesis, con ausencia casi total de reticulocitos y disminución evidente o ausencia de precursores de la serie roja en médula ósea.

Se han obtenido evidencias de que la APSR probablemente es causada por una lesión intrauterina de las células tronco eritroides. Se ha identificado una anomalía genética ubicada en el cromosoma 19, en pacientes procedentes de diferentes grupos étnicos, y por otro lado un caso de dismorfismo mandibular y APSR, lo cual puede significar una lesión del feto que afectó el desarrollo de la estructura ósea y las células tronco eritroides. (28)

ANEMIA APLASTICA TIPO FANCONI

La anemia de Fanconi, es una rara enfermedad hereditaria, que muestra un complejo fenotipo, incluyendo falla medular progresiva, malformaciones congénitas y riesgo incrementado de padecer cáncer, entre ellos leucemia mieloide aguda.

A nivel celular la anemia de Fanconi se caracteriza por hipersensibilidad del DNA a romperse por efecto de agentes inductores, y a una alta frecuencia de aberraciones cromosómicas inducidas, esta propiedad se utiliza para el diagnóstico. (29)

Los agentes utilizados para inducir rupturas son Diepoxibutano y Mitomicina. La prueba de ruptura cromosómica con Diepoxibutano, se ha utilizado en linfocitos en sangre periférica, apoyando el diagnóstico clínico de Anemia de Fanconi. (30)

La anemia de Fanconi resulta de la mutación en uno de once genes, llamados genes FANC, y se les asignan letras de la A a la J. Nueve de éstos han sido identificados. El gen FANCD1 se ha visto que es idéntico a BRCA2, uno de los dos genes conocidos como genes que dan susceptibilidad al cáncer. (31)

III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las anemias de origen genético constituyen un grupo que requiere diagnóstico preciso y oportuno, e instalación de un programa de tratamiento y control durante los primeros meses de la vida, por que algunas variedades de la misma exponen al enfermo a lesiones de sistemas tisulares de fundamental importancia para el desarrollo normal de las niñas y los niños afectados; seguido por ello me he propuesto realizar una revisión de los criterios diagnósticos y terapéuticos de este interesante grupo de enfermedades. (Ver tabla 1)

PREGUNTAS DE INVESTIGACION.

¿Las anemias crónicas de mecanismo genético constituyen un problema trascendente en la consulta de la clínica de Hematología?

¿Cuáles son los criterios diagnósticos y los nuevos recursos de biología molecular útiles en la identificación y diferenciación de las variedades de anemia de patogenia genética en edad pediátrica?

¿Cuáles son los recursos terapéuticos y sus indicaciones correspondientes?

¿Existen criterios clínicos y hematológicos para prevenir las complicaciones de éste grupo de anemias?

IV OBJETIVOS

General.

Evaluar las características clínicas de anemias de mecanismo genético entre los pacientes que son atendidos en el servicio de Hematología del Hospital Infantil de México

Específico.

Determinar el número de casos de anemias de mecanismo genético, así como analizar procedencia, complicaciones, tratamiento y el estudio familiar en cada una de estas enfermedades.

V METODOLOGIA

1.-Tipo de estudio

Observacional, Transversal

2.-Material de estudio

Expedientes de niños con anemia de patogenia genética, diagnosticados y controlados en el departamento de Hematología, durante el periodo 2000-2005.

3.-Variables

*Diagnóstico

*Edad

*Genero

- *Estado de procedencia
- *Complicaciones
- *Tratamiento
- *Estudio familiar.

4.-Métodos de análisis

Se realizaran estimaciones porcentuales de las variables a analizar, por medio de graficas de barras y de pastel.

VI RESULTADOS

Esta serie consta de 99 casos de niños con diagnóstico de anemia crónica de patogenia genética.

De los cuales están clasificados como Microesferocitosis Hereditaria 51 pacientes siendo el 50.4% del total de los casos analizados, con diagnóstico de Beta Talasemia 9 casos (8.9%), Enfermedad Drepanocítica 12 casos (11.8%), en la revisión de la serie se encontraron 6 casos con diagnóstico de deficiencia en el metabolismo de la glucosa. No se encontraron casos con diagnóstico de Porfiria Eritropoyética, como Deficiencia de Factor Intrínseco se encontró un paciente (1%), Aplasia Pura de Serie Roja 10 casos (10%), y Anemia Aplástica tipo Fanconi 16 casos (15.8%)

La edad promedio actual en este grupo de casos es de 4 años, con una edad promedio al hacer diagnóstico de 2 años. Con rangos de edad mínima de 2 meses, y hasta 17 años como máxima encontrada.

52 pacientes de sexo masculino, con un 52.5% del total, y 47 pacientes de sexo femenino, con un 47.4% del total.

Microesferocitosis hereditaria 31 (60.8%) pacientes son del sexo masculino, y 20 (39.2%) del sexo femenino, con deficiencia congénita de factor intrínseco solo un paciente de sexo masculino, con beta talasemia 4(44.4%) del sexo masculino y 5 (55.5%) del sexo femenino, con enfermedad drepanocítica 2 (16.6%) del sexo masculino y 10 (83.3%) del sexo femenino, con Aplasia pura de serie roja, 5 (50%) masculinos y 5 pacientes (50%), del sexo femenino, con Anemia tipo fanconi, 9 (56.2%) masculinos y 7 (43.7%) femeninos.

Se analizo la procedencia del grupo, teniendo que con diagnóstico de microesferocitosis, el 29.4% (15) procede del D.F., 24.4% (13) del Estado de México, 13.7% (7) de Oaxaca, el 11.7% (4) de Veracruz, el 7.8% (4) de Guerrero, el 5.8% (3) de Morelos, el 4% (2) de Hidalgo, y el 1.9% (1) de Puebla.

Con diagnóstico de Beta Talasemia, el 33.3% (3) proceden del Estado de México, el 22.2% (2) del DF, el 11.1% (1) de Hidalgo, y Guerrero y Oaxaca el 22.2% (2).

Con Enfermedad Drepanocítica, el 75% (9), procede de Guerrero, Oaxaca y Veracruz, del Estado de México 16.6% (2), y de Guanajuato el 8.3% (1).

Con Aplasia Pura de Serie Roja el 10% (1) procede de Hidalgo, el 40% (4) del DF, y el 50% (5), del Estado de México.

Pacientes con Anemia Tipo Fanconi se encontró que el 25% (4), procede del Estado de México, el 12.5% (2) de Hidalgo, el 12.5% (2) de Veracruz, el 6.2% (1) de Michoacán, el 6.2% (1) de Oaxaca, el 12.5% (2) de Guerrero, el 12.5% (2) de Veracruz, y el 12.2% (2) de D.F.

En cuanto al estudio familiar, 22 (21.78%) pacientes se les ha realizado, de los cuales se encontró en el 45% con afección materna, 31.8% afección paterna, 18.8% ambos padres, y 4.5% afección en algún hermano.

En 24 pacientes (25%) se encontraron complicaciones, siendo esta la más frecuente sobrecarga de hierro, sobretodo en microesferocitosis hereditaria, donde el 29% la padecen.

Del total de pacientes con sobrecarga de hierro, el 30% ha recibido terapia de quelación de hierro con Deferoxamina.

73 pacientes (73.7%) del total de la serie, recibe tratamiento con aporte de ácido fólico, y Levadura de cerveza para aporte de Vitamina B12, estos pacientes corresponden al grupo de pacientes con algún tipo de anemia hemolítica.

En el grupo de Aplasia Pura de Serie Roja, 5 pacientes han tenido tratamiento con Esteroide, correspondiendo al 50%, los cuales respondieron al tratamiento, el otro 50%, esta integrado por un 45% (3) no se obtuvo respuesta, y el 5% (2), se ha aplazado el tratamiento por otra complicación de origen infeccioso. Uno de estos pacientes con BCG itis, que requirió tratamiento antifímico.

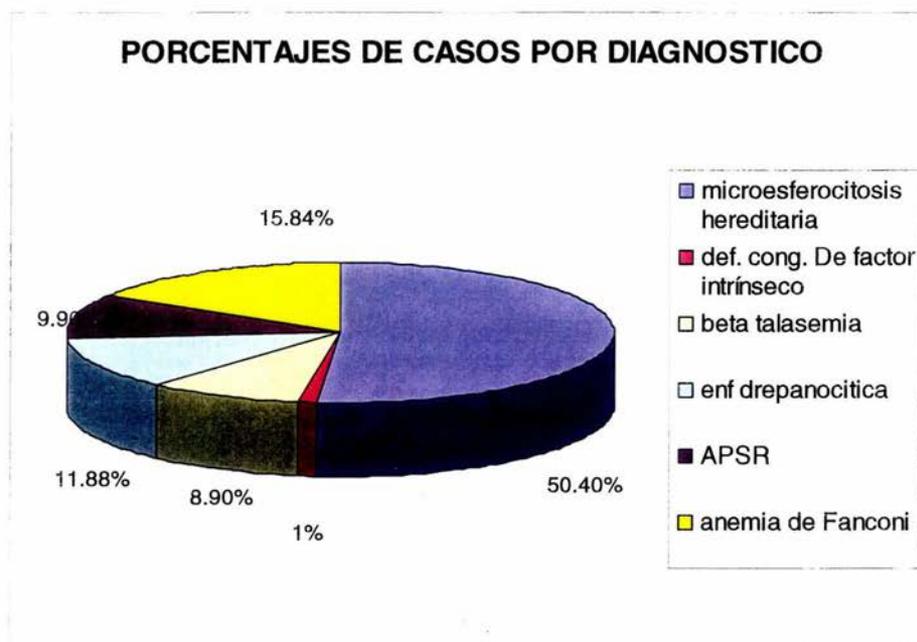
La mortalidad encontrada en el grupo es de 1% (1), siendo un paciente con anemia tipo fanconi, que fallece secundario a complicaciones infecciosas post Trasplante de Medula Ósea.

VII GRAFICAS Y TABLAS

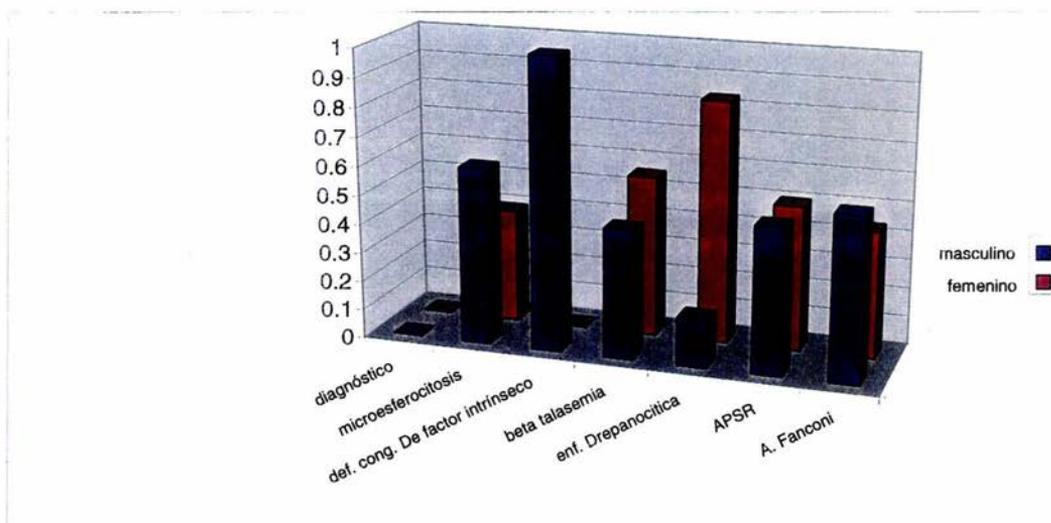
Tabla 1. Diagnósticos y número de casos.

DIAGNOSTICO	CASOS
Microesferocitosis Hereditaria	51
Deficiencia Cong. de Factor Intrínseco	1
Beta Talasemia	9
Enfermedad Drepanocítica	12
Aplasia Pura de Serie Roja	10
Anemia Aplástica tipo Fanconi	16
TOTAL	99

Gráfica 1. Porcentajes de casos del total de la serie

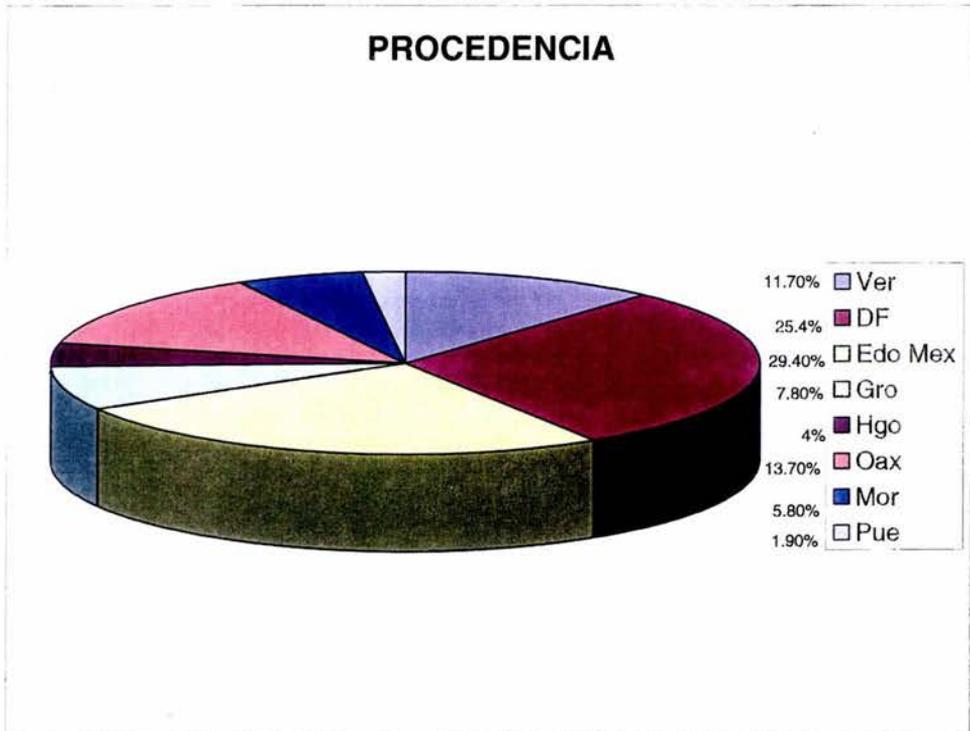


Grafica 2. Distribución de sexos por diagnóstico

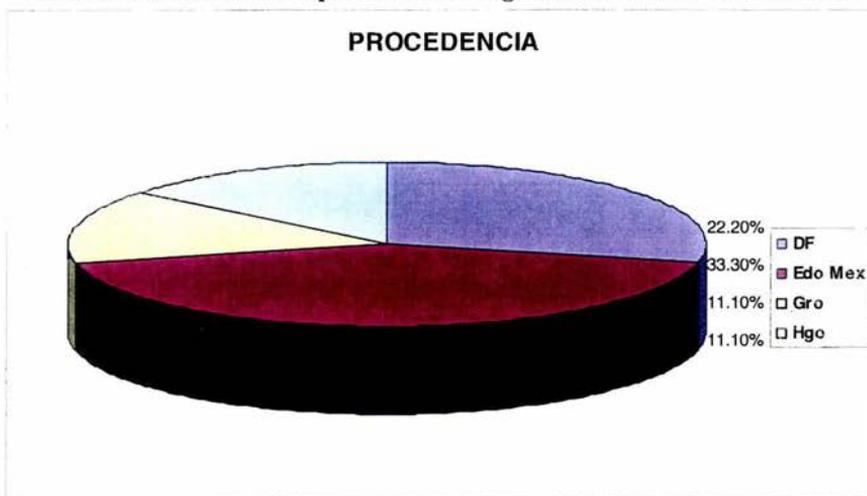


**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

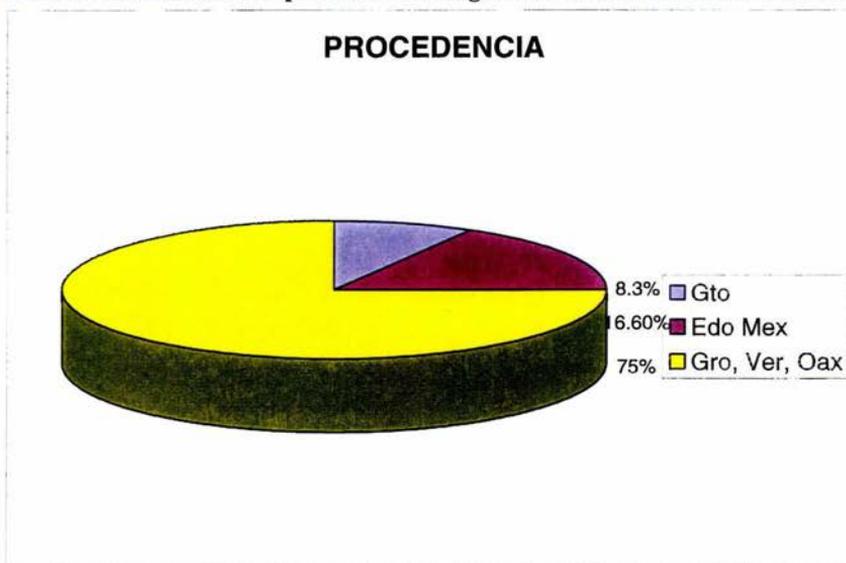
Grafica 3. Procedencia de pacientes con diagnóstico de MCROESFEROCITOSIS



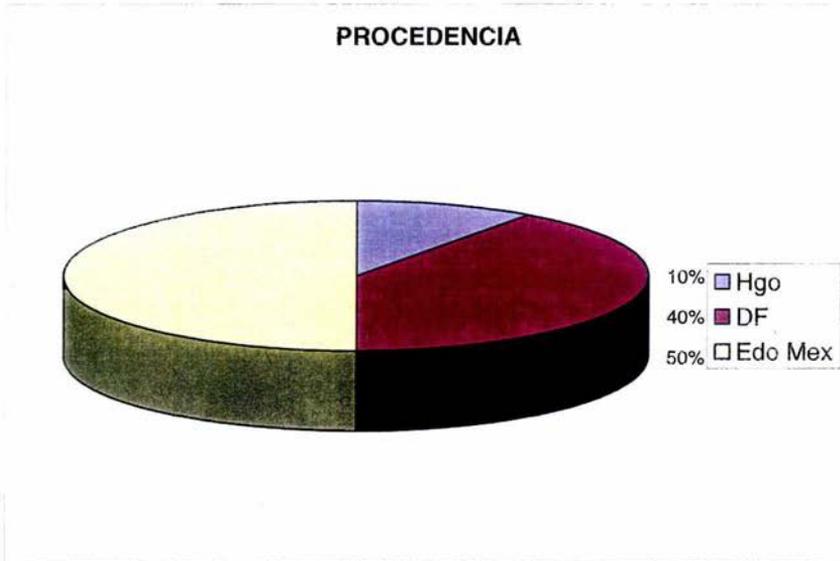
Gráfica 4.-Procedencia de pacientes con diagnóstico de BETA TALASEMIA



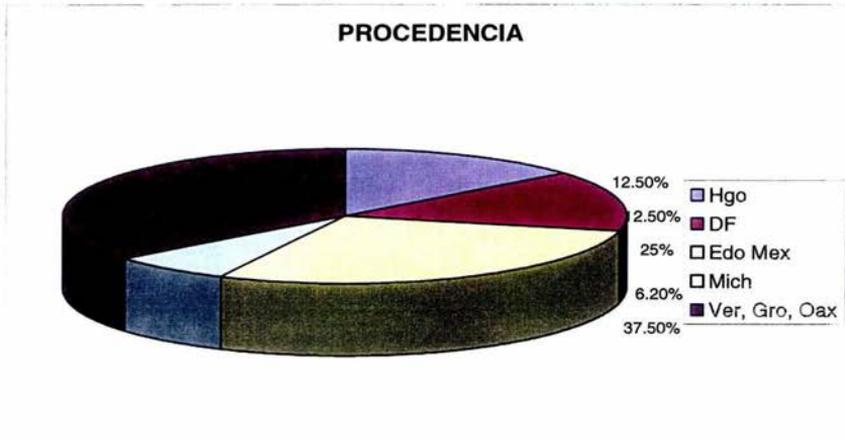
Gráfica 5. Procedencia de pacientes con diagnóstico de ENF DREPANOCITICA



Gráfica 6. Procedencia de pacientes con diagnóstico de APSR



Gráfica 7. Procedencia de pacientes con diagnóstico de A. DE FANCONI



VIII DISCUSION

Se conoce como anemia crónica, a una entidad patológica de instalación lenta y de duración prolongada, la mayoría de estas secundarias a defecto en la producción de eritrocitos, o bien al acortamiento en la vida media del mismo, como resulta en el grupo de anemias hemolíticas hereditarias. Bajo este concepto de anemia crónica, encontramos que la base fisiopatológica de una buena cantidad de enfermedades del eritrocito, tenemos alteración de origen cromosómico, que da como resultado un eritrocito defectuoso en su estructura, o bien en su maquinaria enzimática, además de encontrar enfermedades en las que se afecta de manera grave la producción de glóbulos rojos, la eritropoyesis.

Este grupo de enfermedades que concierne al Hematólogo en su práctica diaria, es de singular interés, ya que para su diagnóstico, y tratamiento oportuno debemos por un lado conocer el origen de la patología, y hacer uso de las herramientas disponibles para la resolución de problemas tanto de diagnóstico como para tratamiento y prevención de complicaciones.

De los 99 casos incluidos en este estudio, encontramos que durante el periodo de 5 años (2000-2005) se diagnosticaron y se dio seguimiento a 51 pacientes con Microesferocitosis Hereditaria, 9 pacientes con Beta Talasemia, 12 con Enfermedad Drepanocítica, un paciente con deficiencia congénita de Factor Intrínseco, 10 casos de Aplasia Pura de Serie Roja, y 16 casos de Anemia Aplástica tipo Fanconi.

En el total del grupo analizado, se observo una leve diferencia con respecto al sexo de los pacientes a favor del sexo masculino de 52.5%, contra 47.4% del sexo femenino.

La procedencia de los pacientes que acuden al servicio de Hematología es de varios estado de la república, con un claro predominio en los estados de la costa como son Veracruz, Guerrero y Oaxaca, en el caso de anemias por alteración en la síntesis de hemoglobina, en general, el mayor número de pacientes atendidos radica en el Estado de México y el Distrito Federal.

Al tratarse de enfermedad de origen genético, encontramos una baja cobertura en cuanto al estudio familiar, ya que solo tenemos un 21.78%, del cual el 45% con afección materna, y un 31.8% de afección paterna, 18.8% ambos padres y 4.5% algún hermano.

La sobrecarga de hierro es la complicación más frecuente, secundaria a los altos requerimiento transfusionales requeridos en la mayoría de los casos, y solo el 30% ha recibido terapia de quelación de hierro, para evitar complicaciones.

Además de transfusiones el 73.3% de los pacientes recibe terapia con aporte de ácido fólico y levadura de cerveza.

En cuanto al diagnóstico de estas enfermedades, se encontró en la literatura revisada, nuevas perspectivas propuestas sobre todo en los últimos 5 años, en las cuales el fundamento es la búsqueda específica de alteraciones genéticas por medio de biología

molecular, como es la identificación de mutaciones de uno o varios genes que permiten precisar el origen de la alteración, así como se han propuesto herramientas para el diagnóstico prenatal como es el caso de Talasemias, con la finalidad de prevenir eventos catastróficos en el recién nacido.

En nuestro grupo, la mortalidad no es alta, sin embargo, es de suma importancia prevenir complicaciones del tratamiento mismo, las cuales pueden elevar esta tasa.

Por todo lo anterior debemos plantear programas de diagnóstico que permitan identificar de manera certera y oportuna el diagnóstico de anemia crónica de origen genético, sobre todo en los casos en los cuales el diagnóstico no es fácil por métodos convencionales morfológicos o pruebas hematológicas especiales, sino echar mano de las nuevas técnicas propuestas por investigadores de la materia.

IX CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados encontrados en el presente estudio podemos concluir lo siguiente.

1.-Las anemias crónicas de origen genético constituyen un problema frecuente en la clínica de hematología de todos los hospitales de concentración como el Hospital Infantil de México, por lo que es de suma importancia ampliar el conocimiento de estas enfermedades para todos los médicos Pediatras.

2.-La cobertura geográfica no se limita al Distrito Federal, y Estado de México, sino que a nuestro servicio acuden para su atención pacientes que proceden de diversas partes de la república para la resolución de problemas.

3.-El estudio familiar completo, es fundamental para lo cual se debe ampliar este aspecto para mejorar la atención y conocer más sobre las características genéticas de estas enfermedades.

4.-La complicación más frecuentemente encontrada es la sobrecarga de hierro, lo cual es trascendental ya que conlleva a otras alteraciones que pueden complicar la evolución del enfermo.

5.-Debemos establecer protocolos de estudio en los cuales podamos identificar la alteración genética del enfermo, utilizando nuevas herramientas, para confirmar el diagnóstico de estas entidades, utilizando métodos de biología molecular como PCR.

REFERENCIAS

- 1.-Dallman PR, Yip R. Changing characteristics of childhood anemia. *J Pediatric* 1989; 114:161.
- 2.-Dorantes S. Diagnóstico de los problemas hematológicos en pediatría. 2ª. ed. México: Edic Méd Hospital Infantil de México Federico Gómez: 1997.
- 3.-Erslev AJ. Clinical manifestations and clasification of erythrocyte disorders. *William's hematology*. 5th ed. New York: McGraw-Hill Inc.; 1995; 443-5.
- 4.-Bello A. Hepatología básica. 3a. ed. Editorial Prado.; 2001; 43-52.
- 5.-Bolton-Maggs PH, Stevens RF, Dodd Nj, Lamont G, Tittenson P, King MJ. Guidelines for diagnosis and management of hereditary spherocytosis. *Br J Haematol*.2004 Aug;126:455-74.
- 6.-Kedar PS, Colah RB, Kulkarni S, Ghosh K, Mohanty D. Experience with eosin-5'maleimide as a diagnostic tool for red cell membrane cytoskeleton disorders. *Clin Lab Haematol*. 2003 Dec; 25:373-6.
- 7.-Baidun LV, Kashpor SA, Parpara AA, Pliasunova SA, Piatnitskii AM, Smetanina NS, Sokolinskii BZ. Automatic erythrocytometry in a robotized microscope MEKOS-Ts1. *Klin Lab Diagn*. 2003 Jun;39-42.
- 8.-Mgone CS, Genton B, Peter W, Panu MM, Alpers MP. The correlation between microscopical examination and erythrocyte band 3 (AE1) gene deletion in South-east Asian ovalocytosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1998 May-Jun;92:296-9.
- 9.-Debray FG, Ilunga S, Brichard B, Chantrain C, Scheiff JM, Vermylen C. A particular hereditary anemia in a two-month-old infant: elliptocytosis.*Arch Pediatr*. 2005 Feb;12:163-7
- 10.-Britta F, Annette C, Margaret Ch, Arnold R, Jane T, Mei M, Achille I, Monika D, Gordon S. The stomatin gene and protein in overhydrated hereditary stomatocytosis. *Blood* 2003 Sep;102:2268-77.
- 11.-Girof R, Begue P. Sickle cell disease in childhood in 2004. *Bull Acad Natl Med*. 2004;188:491-505.
- 12.-Wajcman H. Diagnosis and screening of sickle cell disease, *Rev Prat*. 2004 Sep;54:1543-7.

- 13.-Charoenkwan P, Wanapirak C, Thanarattanakorn P, Sekararithi R, Sae-Tung R, Sittipreechacharn S, Sanguansermisri T. Hemoglobin E levels in double heterozygotes of hemoglobin E and SEA-type alpha-thalassemia. *Southeast Asian J Trop med Public Health*. 2005 Mar;36:467-70.
- 14.-Fucharoen S, Changtrakun Y, Ratanasiri T, Fucharoen G, Sanchaisuriya K. Complex interaction of Hb Hekinan (alpha 27 Glu-Asp) and Hb E (beta 26 Glu-Lys) with a deletional alpha-thalassemia 1 in Thai family. *Eur J Haematol*. 2003 May;70:304-9.
- 15.-Siriratmanawong N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Ratanasiri T, Fucharoen S. Simultaneous PCR detection of beta-thalassemia and alpha-thalassemia 1 (SEA type) in prenatal diagnosis of complex thalassemia syndrome. *Clin Biochem*. 2001 Jul;34:377-80.
- 16.- Siriratmanawong N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Ratanasiri T, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of alpha-thalassemia in Thailand. *Ann Hematol*. 2003 Oct;82:612-6.
- 17.-Atauri P, Repiso A, Oliva B, Lluís Vives-Corrons J, Climent F, Carreras J. Characterization of the first described mutation of human red blood cell phosphoglycerate mutase. *Biochim Biophys Acta*. 2005 Jun;1740:403-10.
- 18.- Repiso A, Oliva B, Lluís Vives-Corrons J, Climent F, Carreras J. Glucosa phosphate isomerase deficiency: enzymic and familial characterization of Arg346His mutation. *Biochim Biophys Acta*. 2005 Jun; 1740:467-71.
- 19.-Lucio L. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Hemolytic Anemia in Nathan and Oski's. *Hematology of Infancy and Childhood*, Saunders, 5th ed: 704-26.
- 20.-Bello A, Gamboa J, Guerrero E, Valencia P. El problema clínico de las anormales en el metabolismo de las porfirias. *Bol Med Hosp. Infant Méx*. 1986 Nov;43:693-97.
- 21.-Bloomer J, Wang Y, Singhal A, Risheg H. Molecular studies of liver disease in erythropoietic protoporphyria. *J Clin Gastroenterol*. 2005 Apr;39:167-75.
- 22.-Di Pierro E, Cappellini MD, Mazzucchelli R, Moriondo V, Mologni D, Poma BZ, Riva A. A point mutation affecting an SP1 binding site in the promoter of the ferrochelatase gene impairs gene transcription and causes erythropoietic protoporphyria. *Exp Hematol*. 2005 May;33:584-91.
- 23.-Badminton MN, Elder GH. Molecular mechanisms of dominant expression in porphyria. *J Inherit Dis*. 2005;28:277-86.
- 24.-Ohgari Y, Sawamoto M, Yamamoto M, Kohno H, Taketani S. Ferrochelatase consisting of wild-type and mutated subunits from patients with a dominant-inherited disease, erythropoietic protoporphyria, is an active but unstable dimer. *Hum Mol Genet*. 2005 Jan;14:327-34.

- 25.-Al-Alami Jr, Tayeh MK, Al-Sheyyab MY, El-Shanti HI. Linkage analysis of a large inbred family with congenital megaloblastic anemia. *Saudi Mes J*. 2002 Oct;23:125-6
- 26.-Tanner SM, Li Z, Perko JD, Oner C, Cetin M, Altay C, Yurtsever Z, David KL, Faivre L, Ismail EA, Grasbeck R, de la Chapelle A. Hereditary juvenile cobalamin deficiency caused by mutations in the intrinsic factor gene. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005 Mar; 102:4130-3.
- 27.-Fawwaz Y, Sheldon P, Sreedhar R, Marilyn M, David H, Edward V. Identification of a 4-base deletion in the gene in inherited intrinsic factor deficiency. *Blood*. 2004 Feb;103:1515-17.
- 28.-Bello SA. Aplasia pura de serie roja. *Hematología Básica*, Edit Prado, 3ª. ed.; 2001:113-119.
- 29.-Papadopoulo D, Moustacchi E. Fanconi anemia: genes and function(s) revisited. *Med Sci (Paris)*. 2005 Aug-Sep;21:730-36.
- 30.-Alan D, Niklas D, Eva C, Akiko S. Marrow Failure. *American Society of Hematology Education Program Book*; 2002;58-72.
- 31.-Waisfisz Q, Morgan NV, Savino M. Spontaneous functional correction of homozygous Fanconi anemia alleles reveals novel mechanistic basis for reverse mosaicism. *Nat Genet*. 1999;22:379-83.