

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a large, circular emblem. It features a central shield with a figure of a saint, likely St. Charles, holding a book. The shield is surrounded by various heraldic symbols, including a crown at the top, a lion on the right, and a castle on the left. The text "ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACCADIA" is inscribed along the top arc, and "CETTER COACTEMALENSIS INTER" along the bottom arc.

**ANEMIA SECUNDARIA A MALARIA Y SU RELACION CON
NIVELES DE HIERRO Y TRANSFERRINA SERICOS EN EL
DEPARTAMENTO DE CHIQUIMULA DURANTE EL PERIODO
COMPRENDIDO DEL 1 DE AGOSTO 2009 AL 31 DE MARZO
2010**

**Yescenia Ninneth Nova Orozco
Luisa Fernanda Figueroa López
Olga Leticia Calderón Solís
Juan José Jordán Casasola**

Químicos Biólogos

Guatemala, Noviembre 2012

INDICE

	Pág.
I. AMBITO DE LA INVESTIGACION	1
II. RESUMEN	3
III. ANTECEDENTES	5
A. ANEMIA	5
B. FISILOGIA NORMAL DEL ERITROCITO	7
C. LA ANEMIA EN CLÍNICA MÉDICA	8
1. Etiología y patogenia	8
2. Evaluación de laboratorio	22
D. RELACIÓN ANEMIA-MALARIA	35
E. FACTORES QUE INCREMENTAN LA DESTRUCCIÓN DE ERITROCITOS	36
a. Destrucción de Eritrocitos parasitarios	36
b. Acortamiento de la vida media de los eritrocitos	37
c. Destrucción de Eritrocitos no parasitarios	37
c. Factores que alteran la producción de eritrocitos	38
F. MALARIA	39
1. Ciclo biológico del agente causal	40
2. Patogenia básica de la malaria	41
3. Virulencia de <i>Plasmodium</i> spp	41
4. Malaria y el eritrocito	43
5. Situación de malaria a nivel mundial	45
6. Situación de malaria en Guatemala	46
7. Datos epidemiológicos del departamento de Chiquimula	46
IV. JUSTIFICACION	48
V. OBJETIVOS	49
VI. HIPOTESIS	49

VII. MATERIALES Y METODOS	
A. Universo	50
B. Muestra	50
C. Metodología a utilizar en el estudio	50
D. Materiales	50
E. Procedimientos	52
F. Análisis de resultados	56
VIII. RESULTADOS	57
A. Descripción de los pacientes en estudio	57
B. Indicadores hematológicos	58
C. Tasas de prevalencia de anemia y asociación de variables	64
XI. DISCUSION DE RESULTADOS	71
X. CONCLUSIONES	78
XI. RECOMENDACIONES	79
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	80
XIII. ANEXOS	84
1. Producción de Malaria por Departamento de Enero a Diciembre 2010	84
2. Gráficas de resultados	85
3. Algoritmos de diagnósticos de Anemia	88
4. Ciclo biológico de <i>Plasmodium</i> spp.	92
5. Tablas de Resultados	93
6. Distribución geográfica de la malaria	95
7. Distribución geográfica de malaria en el departamento de Chiquimula	96
8. Consentimiento informado de cada paciente en el estudio	97
9. Cuestionario a cada paciente en el estudio	98

I. AMBITO DE LA INVESTIGACION

La anemia es un cuadro clínico que en gran medida expresa el nivel de desarrollo de una población en general, ya que la misma está asociada a deficiencias en salud pública y a malas condiciones socioeconómicas, y por ende, generalmente a mala alimentación. La anemia posee distintas etiologías pero invariablemente todo caso se acompaña de un descenso de hematocrito y casi siempre del número de eritrocitos. Entre la población más afectada se puede encontrar a mujeres y niños, principalmente en edades preescolares y escolares.

Las enfermedades infecciosas en particular el paludismo, son factores importantes que contribuyen a la alta prevalencia de anemia en muchas poblaciones.

La presente investigación es un estudio descriptivo de una población correspondiente al corredor seco del departamento de Chiquimula, el cual posee factores propicios para la transmisión de enfermedades parasitarias, como las altas temperaturas e inviernos copiosos, con un suelo de limitada capacidad de drenaje. Según los reportes del Centro Nacional de Epidemiología del Ministerio de Salud Pública y Asistencia social, para 2007, las áreas de salud cuya tasa de incidencia de malaria se localizan por encima del tercer cuartil son, en orden descendente: Petén Sur-oriente, Escuintla, y Chiquimula.

Debido a que en Guatemala no se conocen datos de anemia en pacientes con malaria, específicamente en el departamento de Chiquimula, se pretende ser un punto de partida en este estudio para brindar datos actuales, profesionalmente manejados y enriquecer los protocolos de intervención en este departamento.

El marco de esta investigación lo establece la Unidad de Investigación de Inmunología y Hematología (UDIHEMA) acreditado por el Departamento de

Citohistología de la escuela de Química Biológica ante el Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas (IIQB).

El análisis químico de las muestras del estudio para la determinación de Hierro y Transferrina séricos, se realizó en el Laboratorio Clínico Popular (LABOCLIP), de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Los estudios hematológicos, tinciones, recuentos de reticulocitos y observación de frotos periféricos fueron realizados en el laboratorio del Hospital Modular de Chiquimula "Manuel Arana Osorio".

La fuente de reclutamiento de pacientes, registro, criterios de inclusión exclusión así como al manejo de casos de malaria fue en el Departamento de Malaria de Chiquimula.

El muestreo abarco los casos positivos de malaria de los once municipios del departamento de Chiquimula. Dichos muestreos fueron realizados dos veces por mes.

II. RESUMEN

La malaria es una enfermedad infecciosa de transmisión vectorial, que compromete enormemente la salud y el desarrollo socioeconómico de comunidades localizadas en regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo. Las manifestaciones clínicas de la malaria son bastantes pleomórficas y se pueden extender desde episodios febriles de corta duración, si el diagnóstico es oportuno y el tratamiento efectivo, hasta complicaciones sistémicas severas y muerte. Parte muy importante de la morbi-mortalidad está asociada con el desarrollo de anemia, una de las manifestaciones clínicas más frecuentes y uno de los mayores obstáculos para el desarrollo de las áreas endémicas por el compromiso que produce en el rendimiento escolar de los niños y en la productividad de los adultos.

El estudio se realizó en el período del 1 de agosto del 2009 al 30 de abril del 2010 encontrándose 58 pacientes con malaria provenientes del departamento de Chiquimula, con diagnóstico previo mediante gota gruesa, de los cuales se incluyeron únicamente 53 debido a los criterios de exclusión e inclusión planteados. Previo a la extracción de sangre, cada uno de los pacientes firmó el consentimiento informado por escrito y completó una entrevista por la cual se obtuvo datos nutricionales, socioeconómicos, factores de riesgo y sobre enfermedades asociadas.

Por medio de este estudio se determinó que no existe diferencia significativa en cuanto a género se refiere, ya que se estudiaron 28(52.83%) casos en mujeres y 25(47.17%) casos en hombres, los factores ambientales de riesgo a la transmisión de malaria fueron el hacinamiento de las viviendas, la falta de agua potable y falta de depósitos adecuados para el agua, así como los factores nutricionales como lo es la dieta rica en granos básicos pero con carencia de carnes rojas que contribuyen a la frecuencia de anemia más no así a la frecuencia de malaria.

En este estudio no se pudo determinar la relación entre niveles de hierro y transferrina séricos como indicadores diferenciales de anemia pero

cabe concluir que los grados de parasitemia están directamente relacionados a la probabilidad de presentar un cuadro anémico. Por lo que a mayor cantidad de parasitemia, mayor probabilidad de padecer anemia.

III. ANTECEDENTES

A. ANEMIA

La anemia se define como la disminución del número de eritrocitos o del contenido de hemoglobina a causa de pérdidas sanguíneas, deficiente eritropoyesis, hemólisis excesiva o una combinación de estas alteraciones. El término anemia, utilizado incorrectamente como un diagnóstico, designa un conjunto de signos y síntomas, vale decir, el síndrome anémico. El tipo de anemia define su mecanismo fisiopatológico y su origen, lo que permite planificar un tratamiento adecuado. Dejar de investigar una anemia leve constituye un grave error, pues su existencia indica una enfermedad subyacente y su intensidad ofrece poca información acerca de su origen o su verdadero significado clínico (3).

La anemia es el resultado de una o más combinaciones de tres mecanismos básicos: pérdida de sangre (hemorragia), eritropoyesis inadecuada y hemólisis excesiva (3,4).

La hemorragia debe ser siempre el primer factor a considerar, excepto en los niños en los cuales se debe de considerar como primer factor mala alimentación. Una vez descartada ésta, sólo quedan los otros dos mecanismos. Como la supervivencia de los eritrocitos es de 120 días, el mantenimiento de una población estable requiere la renovación diaria de 1/120 de las células. El cese completo de la eritropoyesis provoca una disminución aproximada de eritrocitos de 10% semanal (1% diario). Los defectos de producción de hierro tienen como resultado una reticulocitopenia relativa o absoluta. Cuando las cifras de eritrocitos disminuyen a una velocidad mayor al 10% semanal, sin datos sugestivos de pérdida de sangre, existe una hemólisis como factor causal (3-5).

Un abordaje apropiado en la mayoría de anemias debidas a una eritropoyesis deficiente, consiste en examinar los cambios de tamaño y forma de los eritrocitos. Así, la presencia de una anemia microcítica sugiere un trastorno en la síntesis del HEM o de la GLOBINA, talasemia y defectos de la

síntesis de hemoglobina relacionados, así como anemia de las enfermedades crónicas. Por el contrario, las anemias normocíticas normocrómicas expresan un mecanismo hipoproliferativo o hipoplásico. Algunas anemias se caracterizan por la presencia de macrocitos, lo que indica un defecto en la síntesis de ADN. Estas anemias se deben, generalmente, a alteraciones del metabolismo de la Vitamina B12, del ácido fólico o a una interferencia en la síntesis de ADN por fármacos quimioterapéuticos citorreductores (3-6).

Una respuesta medular adecuada a la anemia se manifiesta por reticulocitosis o policromatofilia en la sangre periférica. De forma semejante, algunos mecanismos comunes de aumento de la destrucción, como secuestro esplénico, hemólisis mediada por anticuerpos, función defectuosa de la membrana eritrocitaria o hemoglobina anómala, ayudan en gran medida al diagnóstico diferencial de las anemias hemolíticas (6,7).

Un aspecto fundamental en la terapéutica consiste en administrar un tratamiento adecuado, lo que implica la necesidad de establecer un diagnóstico preciso. De hecho, la respuesta al tratamiento corrobora el diagnóstico. Si bien la terapia con múltiples fármacos puede provocar una remisión transitoria de la anemia, este tipo de terapéutica no está justificado, a causa del riesgo de secuelas graves que conlleva. La transfusión de eritrocitos constituye una forma de resolución instantánea que debe reservarse para pacientes con sintomatología cardiopulmonar, signos de hemorragia activa incontrolable o alguna forma de insuficiencia orgánica hipoxémica terminal (4).

Los signos y síntomas de la anemia representan respuestas cardiovasculares y pulmonares compensadoras según la gravedad y la duración de la hipoxia tisular. Una anemia severa con una hemoglobina (Hb) menor a 7 gramos por decilitro (g/dL) se asocia a: debilidad, cefalea, vértigo, acúfenos, manchas en el campo visual, fatiga fácil, mareos, irritabilidad e, incluso, conducta bizarra o extraña. Pueden también aparecer: amenorrea, pérdida del líbido, trastornos gastrointestinales, impotencia sexual, en ocasiones, ictericia, esplenomegalia y finalmente, insuficiencia cardíaca y shock (3).

B. FISILOGIA NORMAL DEL ERITROCITO

La principal función de los eritrocitos, es transportar hemoglobina, que lleva el oxígeno desde los pulmones a los tejidos. Cuando está libre en el plasma de los seres humanos, aproximadamente el 3% se escapa por la membrana capilar a los espacios tisulares o, a través de la membrana glomerular del riñón, al filtrado glomerular cada vez que la sangre pasa a través de los capilares (5).

Por tanto, para que la hemoglobina permanezca en el torrente sanguíneo debe estar dentro de los eritrocitos. Los eritrocitos que tienen otras funciones, contienen una gran cantidad de anhidrasa carbónica, que cataliza la reacción entre el dióxido de carbono y el agua, aumentando la intensidad de esta reacción reversible varios cientos de veces. La rapidez con que se produce esta reacción hace posible que el H₂O de la sangre reaccione con grandes cantidades de dióxido de carbono, y por tanto lo transporte desde los tejidos a los pulmones en forma de ión bicarbonato (HCO₃). La hemoglobina en las células es un excelente amortiguador ácido-básico, de forma que los eritrocitos son responsables de la mayor parte del poder amortiguador de la sangre completa (5).

- **Forma y tamaño de los eritrocitos:** los eritrocitos normales, son discos bicóncavos con un diámetro medio de aproximadamente 7.8 micrómetros y un espesor en su punto más ancho de 2.5 micrómetros y en el centro de 1 micrómetro o menos. El volumen medio de los eritrocitos es de 90 a 95 micrómetros cúbicos.

Las formas de los eritrocitos pueden cambiar mucho cuando atraviesan los capilares. Además, debido a que el eritrocito normal tiene un gran exceso de membrana celular para la cantidad de material que tiene dentro, la deformación no estira la membrana demasiado y, en consecuencia, no rompe la célula, como sería el caso de otras células (8).

- **Concentración de eritrocitos en la sangre:** los eritrocitos tienen la capacidad de concentrar la hemoglobina en el líquido celular hasta 34 g/dL de células. La concentración nunca se eleva por encima de este valor porque constituye un límite metabólico del mecanismo de formación de hemoglobina en la célula. Sin embargo, cuando la formación de hemoglobina en la médula ósea es deficiente, el porcentaje de hemoglobina en las células puede reducirse considerablemente por debajo de este valor, y el volumen de los eritrocitos suele reducirse también debido a la menor cantidad de hemoglobina que llena la célula (8,9).

C. LA ANEMIA EN CLÍNICA MÉDICA

1. Etiología y patogenia

Las anemias aparecen por causas diversas de tal modo que frente a un paciente con anemia, resulta mandatorio investigar la causa de la misma, ya que de ello dependerá la terapéutica. A continuación, se presenta la clasificación etiológica de las anemias:

a. Anemias por hemorragia

i. **Anemias post hemorrágica aguda:** es la anemia provocada por una hemorragia masiva, brusca y rápida.

Etiología y patogenia: La reserva medular es limitada, por lo que la anemia puede ser el resultado de cualquier hemorragia masiva debido a la rotura o a la incisión traumática o espontánea de un vaso sanguíneo de gran calibre. La sintomatología se debe al descenso repentino del volumen de sangre y a la consiguiente hemodilución con una disminución de la capacidad transportadora de oxígeno en la sangre. Se produce como consecuencia inmediata, anemia normocítica normocrómica. Inicialmente se pierde plasma y eritrocitos con el mismo ritmo y por tal motivo durante las primeras 3 horas se puede encontrar una

concentración de hemoglobina sin cambios apreciables. A las pocas horas, los líquidos tisulares penetran en la circulación produciendo hemodilución y un descenso de recuento de eritrocitos (3,7).

Después de 24 horas se aprecian signos de generación eritrocítica representados por células policromatófilas y aumento de reticulocitos que puede llegar hasta el 15 %. En la hemorragia interna, es común observar eritroblastos. Las plaquetas se encuentran aumentadas y los recuentos pueden ser superiores a 450.000 por mm^3 temporalmente (3-5).

Los leucocitos se manifiestan, con desviación a la izquierda y presencia de elementos jóvenes, lo que se debe tener en cuenta como alteración fisiológica normal y no como factor infeccioso o inflamatorio. Las cifras de leucocitos pueden llegar hasta 30.000 por mm^3 . Signos y síntomas: vahídos, vértigos, sed, sudoración, pulso débil y acelerado, respiración rápida, entre otros (3-5).

ii **Anemia posthemorrágica crónica:** cuando se inicia es normocítica normocrómica, posteriormente microcítica hipocrómica. La hemoglobina desciende más rápido que el hematocrito y éste no guarda relación con el número de eritrocitos, pues éstos aparentemente están muy aumentados. Como el tamaño es pequeño, la cifra tiene que ser aumentada para formar un volumen revelado en hematocrito (3,4).

Estas hemorragias crónicas, especialmente de cavidad abdominal asintomáticas (embarazo ectópico, úlceras, gastritis, etc.) se reflejan en el dato de hematocrito y hemoglobina que desciende paulatinamente.

La sedimentación aumenta paulatinamente si la hemorragia no se ha detenido y un dato de leucocitosis persistente tiene el mismo valor clínico que el dato anterior (3-5).

b. Anemias por deficiencia de la eritropoyesis

i. **Anemia microcítica:** la defectuosa o deficiente síntesis del HEM o de la GLOBINA produce una población de eritrocitos microcíticos.

- **Metabolismo del hierro:** la cantidad total de hierro en el cuerpo es de una media de 4 a 5 gramos, de los que aproximadamente el 65% están en forma de hemoglobina. Aproximadamente un 4% está en forma de mioglobina, un 1% en forma de varios compuestos hem que favorecen la oxidación intracelular, el 0.1% se combina con la proteína transferrina en el plasma sanguíneo, y el 15 al 30% se almacena principalmente en el sistema reticuloendotelial y en las células del parénquima hepático, principalmente en forma de ferritina. Este hierro almacenado con ferritina se llama hierro de depósito. Cantidades menores de hierro en la reserva de depósito se almacenan en una forma extremadamente insoluble llamada hemosiderina. Cuando la cantidad de hierro en el plasma disminuye mucho, el hierro se separa de la ferritina muy fácilmente. El hierro se transporta entonces en forma de transferrina en el plasma hasta las partes del organismo donde es necesario (8,10).

Una característica única de la molécula de transferrina es que se une fuertemente a receptores en las membranas celulares de los eritroblastos en la médula ósea. Después, junto al hierro unido, los eritroblastos lo ingieren por endocitosis. Allí la transferrina deja el hierro directamente en la mitocondria, donde se sintetiza el hem (8).

En las personas que no tiene cantidades adecuadas de transferrina en la sangre, la incapacidad de transportar el hierro a los eritroblastos puede provocar una anemia hipocrómica grave, es decir, un número menor de eritrocitos que contienen menos hemoglobina de lo normal. Cuando los eritrocitos han cumplido su ciclo vital y son destruidos, la hemoglobina liberada es ingerida por otras células del sistema macrófago-monocítico. Allí se libera el hierro libre, y después se almacena principalmente en la reserva de ferritina o se vuelve a utilizar para la formación de nueva hemoglobina. Un varón excreta aproximadamente 1 miligramo de hierro al día, principalmente en las heces. Se pierden cantidades adicionales de hierro siempre que se produce una hemorragia. Para una mujer, la pérdida de hierro lleva a un valor medio de unos 2 mg/día (8).

Existen dos mecanismos que desempeñan al menos algún papel en la regulación de la absorción del hierro. Cuando casi toda la apoferritina del cuerpo se ha saturado con hierro, es difícil para la transferrina liberar hierro a los tejidos. En consecuencia, la transferrina que normalmente sólo se satura en una tercera parte con el hierro, está casi por completo unida al hierro, de forma que ya prácticamente no acepta más hierro de las células mucosas. Entonces, como estadio final de este proceso, el exceso de hierro en las propias células mucosas deprime la absorción activa de hierro de la luz intestinal. Cuando el cuerpo tiene ya depósitos excesivos de hierro, el hígado reduce la formación de apotransferrina, disminuyendo así la concentración de esta molécula transportadora del hierro en el plasma y

en la bilis. Por tanto, el mecanismo de la apotransferrina intestinal absorbe entonces menos hierro, y la transferrina plasmática puede transportar menos hierro a partir de las células del epitelio intestinal. A pesar de estos mecanismos de control por retroacción para regular la absorción de hierro, cuando una persona ingiere cantidades extremadamente grandes de compuestos de hierro, el exceso de hierro entra en la sangre y puede provocar un depósito muy intenso de hemosiderina en las células retículoendoteliales de todo el cuerpo (3,8).

- Evaluación de laboratorio: como producto de la degradación fisiológica de los eritrocitos, normalmente existe una cantidad de hierro libre en la circulación, con niveles normales entre 60 y 180 microgramos por decilitro ($\mu\text{g/dL}$). El nivel del hierro sérico se encuentra disminuido en las anemias microcíticas hipocrómicas asociadas a infecciones crónicas. Tanto el Fe sérico y la transferrina constituyen dos pruebas que deben de practicarse, por que la relación entre sus valores es importante (2,8).

ii. **Anemia ferropénica:** denominada también anemia de la hemorragia crónica, anemia microcítica e hipocrómica, este tipo de anemia se caracteriza por la existencia de eritrocitos pequeños y pálidos y por depleción de los depósitos de hierro. La deficiencia de hierro es la carencia nutricional más común y el trastorno hematológico de mayor prevalencia mundial. La Organización Mundial de la Salud (OMS) con base en estudios verificados a escala de literatura mundial, estima que aproximadamente 30% de la población mundial padece en mayor o menor grado de anemia ferropénica (2-5).

Desde el punto de vista fisiopatológico el cuadro clásico de anemia por deficiencia de hierro, corresponde al cuadro final de un proceso crónico que ha pasado por varias etapas (2,3).

En la primera, el sistema hematopoyético utiliza el hierro depositado en la médula ósea, bazo e hígado, que podemos evaluar dosificando la ferritina sérica. En la segunda hay eritropoyesis deficiente de hierro acompañado de bajos niveles del hierro plasmático por debajo de 50 $\mu\text{g/dL}$, con un incremento de la capacidad total de fijación del hierro por encima de 400 $\mu\text{g/dL}$ (2, 3, 7,10).

En la gran mayoría de los casos, una manifestación temprana que refleja la deficiencia de hierro es la heterogeneidad del tamaño de los eritrocitos, determinada por la anisocitosis. Esta se presenta antes de una disminución significativa del tamaño promedio de los eritrocitos expresados en unidad de volumen (84.2 femtolitros) que se conoce como volumen corpuscular medio (VCM), el cual es el índice más específico de una baja concentración de hierro (3).

A medida que se acentúa la deficiencia, ésta se presenta con una disminución acentuada de los niveles de hemoglobina circulante, alterándose la cantidad de hemoglobina en unidad de peso de cada eritrocito (29.2 picogramos), índice conocido como promedio de hemoglobina corpuscular medio (HCM) y también se altera el porcentaje de hemoglobina que constituye el eritrocito, definido como concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) cuyo valor promedio es (34.7 g/dL) (3,7).

La anisocitosis observada en la primera fase, complementada con la deficiencia hemoglobínica de la segunda, origina en las anemias ferro-pénicas el cuadro hematológico correspondiente a una microcitosis con hipocromía. Para su

correcta correlación clínica la anisocitosis es la primera manifestación. Volumen corpuscular medio bajo. Baja acentuación de hemoglobina. Falsa poliglobulia eritrocítica en hematocrito, por menor volumen. Ferritina sérica baja. Bajos niveles de hierro sérico. Capacidad de fijación de hierro aumentada (3, 7, 10).

iii. **Anemia por déficit en el transporte de hierro (atransferrinemia):** esta anemia es infrecuente y se produce si el hierro no es capaz de movilizarse desde los sitios de depósito: hígado y células mucosas del intestino hacia los precursores eritropoyéticos de la médula (3).

iv. **Anemia por déficit en la utilización del hierro:** esta clase de anemia se debe a la utilización inadecuada o anómala del hierro intracelular para la síntesis de hemoglobina. Este defecto incluye a las hemoglobinopatías, sobre todo de tipo:

- **Talasémico:** conocida también como Anemia de Cooley, en donde se encuentra un hematocrito bajo, hemoglobina entre 6 y 7 g/dL, microcitosis intensa con hipocromía, eritrocitos en forma de diana, anisocitosis, poiquilocitosis, fragmentación eritrocitaria, policromatofilia y eritroblastos circulantes.
- **Sideroblástica o Mielodisplásica:** en la anemia sideroblástica no hay ferropenia, sino defecto de utilización del hierro y tiene un comportamiento muy similar a los síndromes talasémicos que conviene diferenciar. Este tipo de anemia puede ser hereditaria, con marcada hipocromía y descenso del hematocrito (2, 3, 7, 8, 10)

v. **Anemias en las enfermedades crónicas:** se trata de anemias por déficit en la reutilización del hierro. Este tipo

de anemia representa la segunda forma de anemia de mayor frecuencia en el mundo. En las fases iniciales, los eritrocitos son normocíticos y, con el paso del tiempo, se vuelven microcíticos. La característica más importante de esta patología es que la masa eritroide medular no se expande de manera adecuada en respuesta a la anemia (3,7).

c. Anemias normocrómicas normocíticas

La deficiente eritropoyesis provoca anemias normocrómica normocíticas que se caracterizan por una amplitud de distribución eritrocitaria (ADE) normal, reticulocitopenia y fracaso de la masa eritroide para aumentar en respuesta a la anemia. Los mecanismos implicados son la hipoproliferación, la hipoplasia y la mieloptosis (2, 4, 8).

i. **Anemias hipoproliferativas:** son anemias provocadas por una deficiente respuesta o una ausencia de la misma a la eritropoyetina (EPO) y a estímulos hormonales relacionados con las citoquinas. El mecanismo fisiopatológico de las anemias hipoproliferativas parece ser una reducción, relativa o absoluta, de la síntesis de EPO o un estado hipometabólico con insuficiente respuesta a la EPO (3).

ii. **Anemias de las nefropatías crónicas:** la severidad de esta anemia se correlaciona con la intensidad de la disfunción renal. La producción renal de EPO es paralela, en general, a la función excretora del riñón, de manera que la anemia aparece cuando el aclaramiento de creatinina es menor a 45 mililitros por minuto (mL/min). La disminución de la eritropoyesis provocada por la reducción de EPO, se expresa por una reticulocitopenia periférica y una respuesta medular inferior a la normal con ausencia de hiperplasia eritroide para el grado de anemia (3,4).

iii. **Anemia por depleción proteica:** es una anemia carencial donde los niveles totales de proteínas son muy bajos, a expensas de la albúmina. Generalmente es normocítica normocrómica, con reticulocitosis normal, llamando la atención los niveles de hemoglobina, que son muy bajos, entre 7 y 9 g/dL con un extendido periférico que no muestra mayores alteraciones. (3, 4, 5).

iv. **Anemia aplásica:** se define como pancitopenia o anemia hipoplásica debido a aplasia de médula ósea, ya sea por un defecto en la reserva de células-madres o por una alteración del microambiente que mantiene a la médula ósea y que cursa con frecuencia con valores de VCM en el límite superior. Los pacientes con el padecimiento grave no tienen células precursoras hematopoyéticas presentes en su médula ósea, y deben recibir apoyo de transfusiones de eritrocitos y plaquetas y antibióticos (3, 8).

v. **Anemia mieloptísica:** es una anemia causada por infiltración y sustitución del espacio medular normal por células anómalas o no hematopoyéticas. Las características principales de esta anemia son normocromía, anisocitosis, poiquilocitosis y eritrocitos nucleados en el frotis (2,3).

vi. **Anemia por mielodisplasia:** la anemia suele ser una destacada característica de la mielodisplasia. Se trata de una anemia normocrómica, normocítica y se asocia con una disminución de la actividad eritroide en la médula ósea, con alteraciones megaloblastoides y displásica y, en ocasiones, con un aumento del número de sideroblastos en anillo. La anemia sintomática suele controlarse mediante el tratamiento con EPO, que es particularmente útil en el paciente con niveles séricos de EPO inferiores a los esperados para el grado de anemia (3).

d. Anemias macrocíticas

i. **Anemia macrocítica no megaloblástica:** la forma no megaloblástica de la anemia macrocítica, es decir, con un VCM mayor a 95 fl/célula, es una entidad heterogénea, de modo que los cambios macrocíticos periféricos no se asocian a las características del laboratorio, bioquímicas y clínicas típicas de la megaloblastosis. La anemia macrocítica no megaloblástica aparece en diversos estados clínicos, aunque no todos ellos se comprenden actualmente. La macrocitosis con exceso de membrana eritrocitaria se observa en pacientes portadores de una hepatopatía crónica que presentan una defectuosa esterificación del colesterol (3,4).

ii. **Anemia por deficiencia de vitamina C:** la deficiencia de vitamina C o ácido ascórbico suele asociarse a anemia hipocrómica, pero ésta puede ser normocítica o microcítica con pérdida crónica de sangre (3).

iii. **Anemias macrocíticas megaloblásticas:** los estados megaloblásticos se deben a la defectuosa síntesis de ADN. La síntesis de ARN continúa y, como resultado, se produce un aumento de la masa y la maduración citoplasmáticas. La circulación recibe eritrocitos macrovalocíticos y todas las células presentan displasia, caracterizada porque la maduración citoplasmática es mayor que la nuclear, produciéndose el megaloblasto en la médula. Otro hallazgo característico del estado megaloblástico lo constituye la reticulocitopenia, debido a la fabricación defectuosa de eritrocitos. La hipersegmentación de los neutrófilos polimorfonucleares es también un típico hallazgo, cuyo mecanismo de producción se desconoce. Los más frecuentes mecanismos causantes de estados megaloblásticos incluyen: la utilización deficiente o defectuosa de la vitamina B12 o del ácido fólico, los fármacos citotóxicos, principalmente

antineoplásicos e inmuno-supresores, que alteran la síntesis de ADN (2, 3, 9).

e. Anemias hemolíticas

Al término de su vida normal (alrededor de 120 días), los eritrocitos son eliminados por los componentes del sistema mononuclear-fagocítico, sobre todo en el bazo, lugar donde se realiza el catabolismo de hemoglobina (2, 3).

El rasgo característico de la hemólisis es el acortamiento de la vida promedio de los eritrocitos. La anemia hemolítica aparece cuando la producción de eritrocitos en la médula ósea es incapaz de compensar esta supervivencia acortada (2, 3, 4).

Origen de la hemólisis:

- Anomalías intrínsecas del contenido de los eritrocitos (hemoglobina o enzimas) o de su membrana (permeabilidad, estructura o contenido lipídico).
- En problemas extrínsecos a los eritrocitos (anticuerpos séricos, traumatismos en la circulación o microorganismos infecciosos). El bazo suele intervenir de modo que reduce la supervivencia de los eritrocitos, al destruir a aquellos que son ligeramente anómalos o que están cubiertos con anticuerpos calientes. En caso de existir esplenomegalia, puede haber secuestro, incluso de eritrocitos normales (2, 3, 6).

Signos y síntomas: las manifestaciones sistémicas son parecidas a las observadas en otros tipos de anemia. La hemólisis puede ser aguda, crónica o episódica. Las crisis hemolíticas son poco frecuente y pueden acompañarse de fiebre, escalofríos, dolor abdominal y shock (2,3).

i. Anemias hemolíticas por defectos extrínsecos de los eritrocitos: en las hemólisis causadas por defectos extrínsecos a los eritrocitos, no resulta posible identificar ni implicar anomalía

alguna del eritrocito. Su destrucción se debe a circunstancias ajenas, factores externos a los eritrocitos. Las células de donantes se destruyen a la misma velocidad que las células propias del individuo (2,3).

ii. **Anemia por hiperactividad del sistema monoclear-fagocítico:** la hiperactividad de este sistema se produce por el hiperesplenismo, el cual se caracteriza por un mecanismo que produce esplenomegalia, con un aumento asociado de la filtración de eritrocitos y de la función fagocítica. La anemia coexiste, a menudo, con otras citopenias, lo que simplifica el diagnóstico (2,3).

f. Anemia por trastornos inmunológicos

i. **Anemia hemolítica autoinmune:** esta patología se identifica por la existencia de autoanticuerpos que reaccionan contra los propios eritrocitos. Estos anticuerpos son detectados mediante la prueba de antiglobulina directa. Es una anemia de tipo normocrómico con intensidad que puede llegar a un millón de eritrocitos por mm^3 . En el frote periférico se aprecian esferocitosis, microesferocitosis, policromatofilia, eritroblastos circulantes y anisocitosis. (2, 3, 6, 9).

g. Anemias por lesión mecánica

i. **Anemia hemolítica traumática o microangiopática:** si los eritrocitos se exponen a una fricción o a una excesiva turbulencia en la circulación, aparecen fragmentos eritrocitarios de extrañas formas en la sangre periférica que permiten efectuar el diagnóstico. El traumatismo puede originarse en:

- En el exterior del bazo, como en la hemoglobinuria de la marcha o del karate.

- En el interior del corazón, como en la estenosis aórtica calcificada y en las prótesis valvulares aórticas defectuosas.
- En las arteriolas, como en la hipertensión grave, en algunas neoplasias.
- En arteriolas terminales como en la púrpura trombocitopénica trombótica y en la coagulación intravascular diseminada. (2,10).

h. Anemias hemolíticas por defectos intrínsecos de los eritrocitos

i. **Anemias por alteraciones de la membrana eritrocitaria:** el análisis del citoesqueleto de la membrana del eritrocito revela que la mayoría de las alteraciones estructurales hereditarias o adquiridas se deben a modificaciones de las proteínas de membrana. Los estudios realizados sobre estas proteínas citoesqueléticas revelan como la α -espectrina, la β -espectrina, la proteína 4,1, la F-actina y la anquirina, han demostrado la existencia de anomalías cuantitativas y funcionales en estas anemias hemolíticas (2, 3, 4).

i. Anemias por trastornos congénitos de la membrana eritrocitaria

i. **Esferocitosis hereditaria o anemia hemolítica esferocítica congénita:** conocida como ictericia familiar crónica o esplenomegalia hemolítica. Es un trastorno congénito caracterizado por una alteración en la membrana del eritrocito, por edema osmótico, presentándose la hemólisis. Es la anemia hemolítica congénita más común. Revela grados variables de anemia de tipo normocítica hiperocrómica, encontrándose una concentración de hemoglobina corpuscular superior al 36%. El hematocrito está descendido sin relación con la hemoglobina. Los reticulocitos están aumentados, llegando hasta un 10%. En el frote periférico se aprecia siempre esferocitosis caracterizado por

eritrocitos pequeños totalmente cargados de hemoglobina sin depresión central. También se observa policromatofilia, anisocitosis, punteado basófilo y eritroblastosis circulares. Hay macropolicitos (neutrófilos y polisegmentados) (2, 3, 4).

ii. **Eliptocitosis hereditaria u ovalocitosis:** es un raro trastorno de herencia autosómica dominante en el que los eritrocitos son ovalados o elípticos. La anomalía eritroide se debe a una alteración de las proteínas de la membrana (2, 3).

j. Anemias por trastornos adquiridos de la membrana del eritrocito

i. **Estomatocitosis:** es un trastorno de los eritrocitos en los que un patrón en forma de boca o hendidura sustituye la zona de palidez central normal. Estas células aparecen en anemias hemolíticas congénitas y adquiridas. La rara forma congénita, que se hereda de modo autosómico es la mejor caracterizada. La estomatocitosis adquirida con anemia hemolítica aparece principalmente en los casos de abuso reciente de alcohol (2, 3,10).

ii. **Anemia debida a hipofosfatemia:** la deformidad de los eritrocitos depende de las concentraciones intracelulares de ATP, calcio y magnesio. Como el contenido eritrocitario de ATP se relaciona con la concentración sérica de fósforo, la hipofosfatemia, con valores séricos inferiores a 0.5mg/dL provoca una depleción eritrocitaria de ATP. Los eritrocitos resultantes son rígidos, no flexibles y susceptibles de lesionarse en el lecho circulatorio capilar, lo que origina anemia hemolítica con alteración de la membrana y una microesferocitosis (3, 10).

k. Anemias por síntesis defectuosa de hemoglobina

Se denominan genéricamente hemoglobinopatías. Son alteraciones genéticas de la molécula de hemoglobina que se demuestran por cambios en las características químicas, en la movilidad electroforética o en otras propiedades físicas de aquella (2, 3, 5).

La molécula de hemoglobina normal en el adulto, la hemoglobina A (HbA), consta de dos pares de cadenas polipeptídicas, llamadas α y β . En ciertos trastornos de la síntesis de hemoglobina y en los estados aplásicos y mieloproliferativos, la hemoglobina F (HbF) puede hallarse aumentada (2-5).

2. Evaluación de laboratorio

Las pruebas de laboratorio cuantifican el grado de anemia y proporcionan datos que contribuyen a diagnosticar su causa.

a. Obtención de la muestra de sangre: la forma ideal de obtener sangre es mediante venopunción, aunque la punción en la yema de un dedo con una lanzeta puede, en ocasiones, ser suficiente. Las pruebas específicas determinan qué anticoagulante, si es necesario, debe incluirse en los tubos de recolección (2, 4, 8,11).

b. Hemograma completo: es una evaluación básica que suele incluir:

i. **Hemoglobina (Hb):** componente proteico del eritrocito encargado de transportar el O_2 y el CO_2 . Está formada por una proteína (Globina) en un 95% y un núcleo proteico (HEM) en proporción del 4.5%. La cifra normal es de 15 g/dL para el hombre y 13 g/dL para la mujer (± 2). La medición de hemoglobina en equipo automatizado se basa en la determinación espectrofotométrica a determinada longitud de onda, la cual mide la absorbancia del compuesto ciano-metahemoglobina que es directamente proporcional a la concentración de hemoglobina en sangre (2,8).

Se reconocen varios tipos de hemoglobina: la denominada tipo A, que es la normal del adulto en una proporción del 97%; la tipo A₂, en proporción del 2%; y la fetal, en 1%. Esta última puede persistir hasta los 2 años, y sus niveles elevados corresponden a talasemia o enfermedad mediterránea. También existen otros tipos de hemoglobina como la S, que es causa de la anemia falciforme, común en raza africana y americana. La tipo C, que asociada con la S origina hemoglobinopatías en familias americanas descendientes de italianos. Las hemoglobinas tipo D, tipo E y tipo C, causan diferentes tipos de anemias, y con la ayuda de la electroforesis se han descubierto otras anemias que deben de tomarse en cuenta (2, 4, 6).

ii. **Hematocrito (Hto):** representa la proporción de elementos figurados en 100 mL de sangre y se determina por centrifugación. Existen dos procedimientos: con macro-hematocrito de Wintrobe y micro-hematocrito que arrojan datos superiores entre un 3 y un 5% del real que se debe al plasma intercalado. El hematocrito que se obtiene con los aparatos electrónicos, es más verídico porque se basa solamente en el recuento de eritrocitos necesarios para formar el volumen de la masa eritrocítica. La cifra promedio oscila entre el 42 y el 48% en el hombre y para la mujer entre el 38% y el 46%. En el recién nacido la cifra es del 56% en promedio, y decrece paulatinamente hasta llegar al final del primer año con cifras normales por debajo del 40%. El hematocrito depende del número, forma y tamaño de los eritrocitos (2).

iii. **Número de eritrocitos por milímetro cúbico (mm³):** la cifra es tan elevada (5 millones por mm³ en promedio), que para verificar el recuento en cámara, hay que hacer diluciones, tener en cuenta el tamaño y profundidad, lo que ocasiona recuentos irregulares con variaciones hasta de un 10%. Con el avance de la electrónica existen aparatos contadores de partículas, bastante constantes en sus resultados. Se debe tener en cuenta que con

base en el eritrocito no siempre los datos del recuento concuerdan con los de hemoglobina y hematocrito (2, 4, 5).

iv. **Recuento de plaquetas:** responsables de los procesos de coagulación. Disminuidas en pacientes con tendencias a hemorragias prolongadas y dengue. Aumentadas en carcinomas, artritis reumatoide, infecciones agudas, enfermedades cardíacas, pancreatitis crónica y tuberculosis (2). El recuento de plaquetas en equipo automatizado se basa en el método de impedancia, en el que las células ofrecen resistencia al pasar sobre un haz electrónico la cual será proporcional a la cantidad de plaquetas en determinada cantidad de sangre (2).

v. **Volumen corpuscular medio (VCM):** índice que describe el tamaño eritrocito. Es el mejor índice para clasificar el tipo de anemia (2, 5).

vi. **Hemoglobina corpuscular media (HCM):** índice que traduce el peso promedio de la concentración de hemoglobina que tiene un eritrocito. Es de gran importancia en el tratamiento de anemias. Sus cifras se expresan en pico-gramos (2, 4, 5).

vii. **Concentración corpuscular media de hemoglobina (CHCM):** índice que mide la concentración promedio de la hemoglobina en los eritrocitos. Es útil en la evaluación de la terapia de anemias (2, 4, 5).

viii. **Amplitud de la distribución de los eritrocitos (RDW):** índice que muestra el grado de alteración de los eritrocitos en tamaño. Sólo se obtiene mediante citometría automatizada (2, 11).

ix. **Volumen plaquetario medio (VPM):** informa tamaño promedio de las plaquetas. Útil en investigación de púrpura trombocitopénica y leucemia. (2, 11).

c. Frote periférico: el resultado de examinar un frote de sangre periférica es muy importante, ya que la información obtenida puede conllevar a:

- El diagnóstico correcto de una enfermedad
- Orientar al médico para brindar el tratamiento adecuado y,
- Permite monitorear el proceso de recuperación del paciente (4,5).

i. Análisis morfológico de sangre periférica

El análisis de rutina de sangre incluye el recuento de elementos formes y la observación microscópica. Los analizadores automáticos permiten obtener de forma rápida y precisa las cifras de recuentos de los distintos grupos celulares presentes en la muestra. Sin embargo, es imprescindible la observación microscópica experimentada, la cual se conoce como el examen de frote periférico (4).

La observación microscópica detallada de sangre amplía y completa la información obtenida en el recuento automatizado; de hecho, existen varias enfermedades que exhiben un valor normal en el número de las diversas especies celulares aunque su morfología sea patológica (4).

La observación morfológica adquiere vital importancia a la hora de localizar y evaluar el origen de alteraciones hematológicas que no son detectadas en un recuento automatizado, puesto que no solo se estudia la forma de los eritrocitos, leucocitos y plaquetas, sino que además puede ponerse en evidencia la presencia de enfermedades parasitarias como malaria, paludismo o microfilariasis y, ocasionalmente, bacteriemia (4).

La técnica comúnmente utilizada para visualizar muestras de sangre periférica conlleva la preparación de extendidos de sangre en una capa delgada (frotis) fijados y teñidos (4, 5, 8).

La muestra para los extendidos proviene por lo general, de sangre capilar, ya que la morfología y tinción óptima son obtenidas a partir de sangre sin anticoagulante. Una vez realizados los extendidos, son secados al aire y coloreados (4,5).

ii. Técnicas de coloración de frotis sanguíneos

La tinción de May-Grunwald y la de Wright son las coloraciones utilizadas con más frecuencia para los extendidos de sangre, y ambas son modificaciones del método original de Romanowsky. El colorante de Wright es una solución de alcohol metílico de un colorante ácido y otro básico. El alcohol sirve como un fijador del frotis sanguíneo. Los componentes alcalinos de los glóbulos absorben el colorante de azul de metileno y por esto se tiñen de un color azul claro, mientras que los componentes ácidos absorben el colorante de eosina y por lo tanto, se tiñen de color rosado a castaño claro (4).

Se debe tener especial cuidado con este colorante ya que se modifica al pasar el tiempo, debiendo establecerse las condiciones de tinción para cada tanda nueva de colorantes que se prepare. El pH óptimo de la solución debe encontrarse en un rango de 6.5 a 6.8 y los colorantes se disuelven en el alcohol metílico. Si las células aparecen excesivamente azules puede ser debido a que el colorante haya sido preparado con mucho tiempo atrás, que esté demasiado alcalino, mal preparado o que los extendidos sean muy gruesos. Este tipo de tinción también se denomina panóptica, ya que se colorean tanto los elementos básicos como los ácidos que se encuentran en el extendido. El azul de metileno es un componente básico que tiñe estructuras acídicas de la célula impartiendoles una coloración azul-violácea;

la eosina es un compuesto ácido que tiñe estructuras alcalinas, otorgándoles coloración rojo-anaranjada y rojo-violácea, respectivamente. El colorante de Giemsa contiene tiazina-eosinato, el frotis se debe de fijar con metanol antes de agregar el colorante, ya que éste no posee dicho compuesto. El principio de tinción es el mismo que en la coloración de Wright (4,8).

Las muestras una vez teñidas se pueden observar al microscopio óptico inicialmente con objetivos de poco a mayor aumento. En las extensiones de sangre sobre portaobjetos se diferencian tres zonas: cabeza (es la línea en la cual se apoyó un cubreobjetos antes de hacer la extensión), cuerpo (región intermedia del frotis) y cola (aquí la extensión es delgada y preferida para observar). En forma general puede decirse que las células de mayor tamaño se sitúan en los bordes y en la cola (neutrófilos, monocitos, eosinófilos); en el cuerpo hay mayor proporción de células menores (linfocitos, micromieloblastos) en distribución regular (4,5).

Los eritrocitos son los elementos más abundantes y aparecen de color rosa pálido, con una zona central más clara. Los leucocitos son las únicas células nucleadas presentes en sangre periférica; se pueden diferenciar: eosinófilos, basófilos, neutrófilos, monocitos y linfocitos. En linfocitos y monocitos el citoplasma aparece de color azulado o gris; se puede observar granulaciones que en los neutrófilos aparecen de colores pardos, en los eosinófilos anaranjadas y en los basófilos de color azul oscuro. Las plaquetas presentan una porción periférica azulada y gránulos centrales rojos, difíciles de observar (4,5).

La apreciación de detalles morfológicos de las células de la sangre se realizan en un aumento de 100X observándose: en los eritrocitos tamaño, forma, coloración, presencia o no de parásitos

intracelulares; en los leucocitos su forma y distribución, y en las plaquetas su forma, distribución, número y tamaño (4, 5).

iii. **Anormalidades de los eritrocitos en el frote periférico:**

- **Anisocitosis:** variación en el tamaño.
- **Microcitosis:** células pequeñas, menores de 6 micras y un VCM menor de 80 femtolitros.
- **Macrocitosis:** células largas, mayores de 8 micras y un VCM mayor de 100 femtolitros.
- **Macroovalocitosis:** células ovales largas mayores de 8 micras.
- **Hipocromía:** células pálidas con baja concentración de hemoglobina.
- **Poiquilocitosis:** variación anormal en la forma celular.
- **Esferocitosis:** células esféricas sin centro pálido, a menudo pequeñas, microesferocitosis.
- **Ovalocitosis:** células de forma oval.
- **Estomatocitosis:** células con apariencia de boca, se observan áreas de palidez central.
- **Células de hoz:** células en apariencia de media luna.
- **Esquistocitosis:** células irregularmente contraídas (poiquilocitosis severa).
- **Células en yelmo:** esquistocitos con apariencia de yelmo (casco).
- **Células Spur:** células con espacios irregulares, largos y bordes espinosos.
- **Acantocitosis:** pequeñas células con proyecciones espinosas.
- **Célula falciforme:** células semejantes a lágrimas.

- **Cuerpos de Howell Jolly:** cuerpos esféricos azules dentro o sobre los eritrocitos.
- **Cuerpos de inclusión de Heinz:** inclusiones redondas con apariencia de petequias.
- **Cuerpos de Pappenheimer:** pequeñas inclusiones irregulares que se tiñen de azul oscuro. Se encuentran en los eritrocitos en ciertas enfermedades, como en la enfermedad de células falciformes y la anemia hemolítica.
- **Anillos de Cabot:** son restos de membrana nuclear que toman forma de anillo. Se observan en anemia perniciosa e intoxicaciones con plomo.
- **Siderocitos:** son eritrocitos que contienen gránulos de hemosiderina. Estos eritrocitos son normales en las células precursoras de los eritrocitos de médula ósea, pero no deben aparecer en sangre periférica, ya que su presencia indica proceso patológico.
- **Reticulocitosis (Basofilia, policromatofilia):** redes azules reticulares en eritrocitos coloreados supravitalmente, aparecen como macrocitos con basofilia difusa, policromatofilia.
- **Rouleaux:** agrupación de eritrocitos, uno sobre otro (2, 4, 5 8, 9).

d. Clasificación de anemias: para realizar la correcta clasificación es necesario saber interpretar los índices hematológicos, que tienen como finalidad comprobar y relacionar los resultados fundamentales obtenidos en el hemograma completo. En esta forma pueden clasificarse objetivamente los diversos tipos de anemia y pueden estudiarse las variaciones específicas de los eritrocitos. Las definiciones, métodos, cálculos y valores normales de los siguientes índices constituyen importantes guía en el laboratorio (2-5).

La clasificación de anemia se realiza utilizando los exámenes mencionados:

- Recuento de eritrocitos
- Hemoglobina en gramos
- Hematocrito o volumen de células empacadas.

Los índices que se van a calcular a partir de los valores anteriores son:

VCM: Volumen corpuscular medio o volumen globular

HCM: Hemoglobina corpuscular media

CHCM: Concentración de hemoglobina corpuscular media.

De estos datos resultan los índices hematológicos siguientes:

VCM: volumen corpuscular medio.

$$\text{VCM} = \frac{\text{Hematocrito (\%)} \times 10}{\text{Rcto. Eritrocitario (10}^6\text{/mm}^3\text{)}}$$

Valores normales: 80-100 femtolitros.

HCM: hemoglobina corpuscular media

$$\text{HCM} = \frac{\text{Concentración de hemoglobina (g/dL)} \times 10}{\text{Rcto. Eritrocitario (10}^6\text{/mm}^3\text{)}}$$

Valores normales: 27-32 picogramos

CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media.

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Concentración de hemoglobina (g/dL)} \times 100}{\text{Hematocrito (\%)}}$$

Valores normales: 32-60 % (2-5).

Relación del número de eritrocitos: Índice de Número, **IN**

$$IN = \frac{\text{No. Eritrocitos encontrados}}{\text{No. Eritrocitos normal (5.000)}}$$

Valores normales: 0.9-1.1.

Índice de volumen: se conoce como el cociente entre el volumen promedio de los eritrocitos de la sangre del paciente y el volumen promedio de los eritrocitos normales.

$$IV = \frac{\text{VCM encontrado}}{\text{VCM normal}}$$

Valores normales: 0.9-1.1.

Índice de color: el cual está basado en la comparación de la concentración media de eritrocito con la del eritrocito normal, que se toma como unidad.

$$IC = \frac{\text{HCM encontrado}}{\text{HCM normal}}$$

Valores normales: 0.9-1.1.

Índice de saturación: es una cifra que denota la cantidad media normal de hemoglobina por unidad de volumen de eritrocitos con relación a los valores normales.

$$IS = \frac{\text{CHCM encontrado}}{\text{CHCM normal}}$$

Valores normales: 0.9 – 1.1 (2-5).

i. Interpretación

Las anemias pueden clasificarse según los criterios siguientes:

- **Por el volumen**

MACROCITICA: IV mayor que el límite superior normal: > 1.10 .

NORMOCITICA: IV en el rango normal: $0.9 - 1.1$.

MICROCITICA: IV menor que el límite inferior normal: < 0.90 (5).

- **Por la concentración de hemoglobina**

HIPERCROMICA: IC mayor que el límite superior normal: 1.1 .

NORMOCROMICA: IC entre el rango normal: $0.9 - 1.1$.

HIPOCROMICA: IC menor que el límite inferior normal: <0.9 (5).

- **Por la saturación**

HIPERSATURADA: IS mayor que el límite superior normal: >1.1 .

NORMOSATURADA: IS entre el rango normal: $0.9-1.1$.

HIPOSATURADA: IS menor que el límite inferior normal: <0.9 (5).

- **Por el número de eritrocitos**

HIPERCITEMICA: IN mayor que el límite superior normal: >1.1 .

NORMOCITEMICA: IN entre el rango normal: $0.9-1.1$.

HIPOCITEMICA: IN menor que el límite inferior normal: <0.9 (5).

e. Otras pruebas

i. **Hierro sérico:** como producto de la degradación fisiológica de los eritrocitos, normalmente existe una cantidad de hierro libre en circulación, con niveles que fluctúan entre 60 y $80 \mu\text{g/dL}$. Posee variaciones circadianas de acuerdo con el estado fisiológico del paciente. Su valor aislado no es suficiente para sustentar un diagnóstico y se prefiere en su valoración clínica, investigar la capacidad total de fijación de la transferrina (TBIC). El nivel del hierro sérico se encuentra disminuido en las anemias microcíticas hipocrómicas, asociadas a infecciones crónicas, en la hemosiderosis idiopática pulmonar, en el embarazo y en los estados de desnutrición (2-5, 8,12).

Los niveles de hierro aumentan en los síndromes talasémicos, en anemias sideroblásticas, megaloblásticas y en la hemocromatosis. La deficiencia de hierro obedece a la absorción inadecuada del metal en los alimentos. El hierro HEM se absorbe mejor que el NO HEM. La carne es el mejor productor de hierro HEM. Cerca de las dos terceras partes circulan con los eritrocitos en forma de hemoglobina. En los tejidos se encuentra en dos formas: utilizable, cerca de 1 gramo, en forma de ferritina y hemosiderina en la cantidad de 0.5 gramos en cada una, no disponible en la cantidad de 150 gramos, de la cual 140 g, se encuentran en los músculos en forma de mioglobina, 4 mg en forma circulante en el plasma y una pequeña parte en enzimas celulares como los citocromos (12).

- iii. **Ferritina:** la cual es un compuesto de hierro trivalente que se une a una proteína denominada apoferritina, para formar una proteína soluble, que constituye el principal depósito de hierro en los tejidos hepático, médula ósea, bazo y otros tejidos, reflejando con exactitud la capacidad de reserva que éstos tienen de dicho metal. Su concentración en el suero es relativamente baja en relación con los depósitos orgánicos totales, pero es bastante estable a lo largo de determinaciones seriadas en el mismo individuo. La concentración normal en el suero no se encuentra debidamente establecida porque depende de la edad y el sexo. Se consideran concentraciones normales entre 15 a 300 microgramos/litro (8,12).

En el estudio de las anemias hipocrómicas microcíticas por deficiencia de hierro, su dosificación es de gran valor diagnóstico. Detecta una carencia de hierro con más fidelidad que la que ofrece el hematocrito o frote periférico (3, 4,12).

iii. **Transferrina:** es la proteína que transporta el hierro absorbido en el intestino y el liberado por el catabolismo de la hemoglobina hacia los sitios de almacenamiento (hígado y sistema retículo-endotelial). Es responsable de la distribución del hierro y de su oferta a los sitios de absorción o almacenamiento, donde es incorporado a la ferritina, hemosiderina y a las células que sintetizan componentes que requieren hierro como la hemoglobina, mioglobina y citocromos (3,12).

La transferrina transporta además cobre, zinc, cobalto y calcio, pero solo el transporte de hierro y cobre tienen significado fisiológico. Se sintetiza en el hígado y en una pequeña extensión del sistema retículo-endotelial y glándulas endócrinas como testículos y ovarios. Posee una vida media de 7 días. Su concentración plasmática está regulada por la disponibilidad de hierro (3,12).

iv. **Acido fólico:** es una vitamina hidrosoluble del complejo B (B9) y actúa como una coenzima (con la vitamina B-12 y la vitamina C) en el metabolismo y síntesis proteica. Es de importancia para detectar su deficiencia, monitorear la terapia con folato, diagnosticar y hacer el seguimiento de las anemias megaloblásticas originadas por su deficiencia, con macrocitosis, corta vida de los eritrocitos y menor capacidad para transportar oxígeno (2, 5, 7).

v. **Test de Coombs:** en la anemia hemolítica adquirida y en la eritroblastosis fetal, talasemias y anemias falciformes, en donde existen unos anticuerpos compuestos por globulina-gamma, que se encuentran adheridos a la membrana del eritrocito (2).

Cabe mencionar que la primera etapa de la anemia se caracteriza por disminución del depósito del hierro. Los niveles de hierro sérico son normales, la saturación de transferrina también,

lo mismo que el hematocrito y hemoglobina, pero la ferritina sérica esta disminuida. No es factible encontrar niveles bajos que correspondan a disminución de hierro y en este estado el tratamiento es altamente satisfactorio y preventivo, a un estado clínico que más adelante presentará molesta sintomatología (3).

La segunda etapa, conocida como "eritropoyesis deficiente de hierro" se aprecian hematocrito y hemoglobina normales, niveles de ferritina sérica baja y elevación de transferrina. Nivel de hierro sérico bajo, con disminución de la saturación de transferrina (3).

D. RELACIÓN ANEMIA-MALARIA

La anemia puede explicarse por varios mecanismos: 1) hemólisis secundaria a liberación de merozoítos, 2) cambios oxidativos en los ácidos grasos insaturados de la membrana eritrocitaria que producen aumento de la rigidez del eritrocito inmaduro y disminución en la de formabilidad provocando hemólisis, 3) diseritropoyesis en la médula ósea secundaria a la infección, 4) disminución en la respuesta de linfocitos CD4 (Th2) que provoca bajos niveles de Interleucina 10 (IL10), con menor activación de precursores eritroides a nivel medular, y 5) disminución en la respuesta medular a la estimulación de la eritropoyetina. (3, 7, 9).

Los factores involucrados en la manifestación de la anemia se pueden dividir en:

- Factores relacionados con el parásito, dentro de los cuales están la endemividad de la malaria, la especie de parásito presente, el retardo en el diagnóstico y la resistencia a los antimaláricos.
- Factores relacionados con el hospedero, dentro de los cuales están algunas condiciones genéticas como el rasgo falciforme o la talasemia que protegen al huésped, y factores como la edad, las infecciones parasitarias, bacterianas o virales asociadas.

- Factores nutricionales como las deficiencias previas de hierro y micronutrientes que predisponen al hospedero al desarrollo de una anemia más severa (9,10).

E. FACTORES QUE INCREMENTAN LA DESTRUCCIÓN DE ERITROCITOS

Existe una falta de correlación entre la intensidad de la anemia y la destrucción estimada de eritrocitos parasitados (EP) que sufrirían lisis por acción de la ruptura de esquizontes maduros. Por esto, se considera que la destrucción de eritrocitos no parasitados (ENP) no sólo existe, sino que podría contribuir significativamente al establecimiento de la anemia (13,14).

a. **Destrucción de EP.** Se ha calculado con base en la parasitemia, que la lisis de eritrocitos secundaria a la ruptura de esquizontes, aportaría sólo 10% de la disminución total del hematocrito. El umbral microscópico para la identificación de parásitos es de 5-10 parásitos/ μ l y se ha establecido que parasitemias $>50,000$ parásitos/ μ l ($>1\%$) deben recibir tratamiento inmediato y radical debido al desarrollo de complicaciones y manifestaciones severas de la enfermedad como malaria cerebral; aunque se sabe que la parasitemia circulante al momento del diagnóstico no representa una imagen fiel de la carga potencial de parásitos presentes en el organismo por la incalculable masa de parásitos adheridos a los endotelios (13-16).

A pesar que durante la malaria los eritrocitos se lisan cuando los parásitos completan su ciclo de crecimiento intra-eritrocítico al alcanzar el estado de esquizonte maduro, un número no determinado de EP por formas inmaduras (anillos) pueden ser removidos de los eritrocitos por células fagocíticas sin que estos sufran lisis. Los EP también pueden ser fagocitados por macrófagos luego de la opsonización por inmunoglobulinas o factores del complemento. Otros mecanismos menos definidos han sido involucrados, entre ellos se encuentra la citotoxicidad mediada por anticuerpos y las células natural killers (NK) (13-16).

b. **Acortamiento de la vida media de los eritrocitos.** En la anemia malárica existe una disminución en la vida media de los eritrocitos que compromete

tanto a los EP como a los ENP. Normalmente en una infección sistémica, la respuesta inflamatoria produce una alteración en la vida media de los eritrocitos. En general, esta hemólisis es un proceso que puede ocurrir tanto intravascular como extravascular, siendo esta última la forma predominante. La hemólisis intravascular ha sido conocida como “fiebre negra” «blackwater fever» cuya manifestación consiste en la aparición súbita de hemoglobina en la orina indicando hemólisis severa. Esta hemoglobinuria es predominante en infecciones por *P. falciparum* y se debe en principio a tres factores: (13-21).

1. Medicamentos antimaláricos, sobre todo el uso irregular de quinina que puede unirse a proteínas de los eritrocitos y actuar como hapteno blanco de anticuerpos, generando un mecanismo hemolítico autoinmune (13-15).

2. Deficiencia de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

3. Fiebre.

La hemólisis extravascular ocurre en anemia crónica y recurrente, que se produce sobre todo en el bazo y está relacionada con alteraciones en la membrana eritrocítica que inducen fagocitosis por parte de los macrófagos o por unión de anticuerpos tipo IgM e IgG. (13, 16, 20).

c. **Destrucción de ENP.** Se considera que la destrucción de ENP es uno de los mecanismos más relevantes en la fisiopatología de la anemia malárica y que se puede producir de diversas maneras:

1. Daño de la membrana eritrocítica causado por la respuesta inflamatoria inducida por el *Plasmodium*.

2. Daño oxidativo generado por la producción de radicales libres del oxígeno con exposición de fosfatidilserinas modificadas

3. Disminución de la elasticidad de la membrana. Todas estas características ocasionan finalmente un retiro prematuro de los ENP por el bazo (13-20).

También se han encontrado anticuerpos sobre la membrana del eritrocito, y aunque no se conoce su especificidad, se cree que pueden estar dirigidos contra elementos modificados de la pared del eritrocito (autoanticuerpos) o contra proteínas de estadios asexuales del parásito aún no identificadas y depositadas sobre la célula durante la ruptura periódica de esquizontes. Algunos investigadores sugieren que el nivel de estos anticuerpos sobre el eritrocito es insuficiente para producir fagocitosis o que existe un umbral disminuido en los macrófagos del bazo para fagocitarlos; sin embargo, hay estudios que han comprobado fagocitosis de eritrocitos no parasitados. Adicionalmente, se han visto alteraciones en las proteínas reguladoras del complemento sobre la membrana del eritrocito (CR1, DAF) que pueden predisponer al depósito de complejos inmunes y complemento sobre el eritrocito y de nuevo hacerlo susceptible a su destrucción por el bazo (14).

d. **Factores que alteran la producción de eritrocitos.** En la anemia relacionada con malaria se observa una inadecuada respuesta eritropoyética con alteración en el número de reticulocitos producidos, a pesar de encontrarse niveles adecuados de hierro y ácido fólico. Al observar la medula ósea de pacientes pediátricos y adultos que presentan anemia severa durante el curso de la infección malárica, se ha visto una maduración inadecuada de los precursores eritroides, los cuales presentan alteraciones citoesqueléticas que conducen a una marcada diseritropoyesis (15).

Existen múltiples mecanismos que pueden contribuir a la producción de anemia durante la malaria; a pesar de ello, los factores incriminados en la actualidad como la disfunción medular y la destrucción de eritrocitos no parasitados no explican a cabalidad esta complicación, sugiriendo la presencia de mecanismos más complejos, de índole molecular como alteración de receptores o citoquinas, que expliquen estos hallazgos (15).

Se sabe que el principal estímulo para la proliferación y maduración de los precursores eritroides es mediado por la eritropoyetina (EPO) y podría esperarse que su producción estuviese alterada en los pacientes con anemia malárica; sin embargo, los niveles de EPO producidos por las células

peritubulares renales en respuesta a la hipoxia generada por la anemia son adecuados. A pesar de ello, se ha demostrado que no hay una respuesta medular adecuada a la EPO. En la actualidad se estudia si durante el proceso málico se producen alteraciones de la EPO o de sus receptores sobre las células precursoras eritroides (15-20).

Durante los últimos años se han concentrado esfuerzos en determinar el papel de las citoquinas y su potencial efecto inhibitor sobre los precursores de la médula. Se ha encontrado que las citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), IL10 y el factor inhibitor de la migración (MIF) juegan un papel fundamental en la eritropoyesis. En anemias severas, se ha encontrado la presencia de elevadas cantidades de variantes polimórficas de TNF α , mientras se han asociado niveles elevados de IL10 en la protección contra la anemia. De su lado el MIF producido por los macrófagos es capaz de inhibir la proliferación de precursores eritroides *in vitro* y sus niveles se han encontrado elevados en modelos murinos de malaria (14, 20).

F. MALARIA

La malaria es la enfermedad parasitaria más importante en el mundo y con excepción de la tuberculosis, es la que más decesos provoca cada año. El organismo que produce la malaria es un protozooario del género *Plasmodium* perteneciente al subfilo *Apicomplexa*. La característica que lo define en este subfilo es la compleja disposición de estructuras apicales conocidas como roptris y micronemas, las cuales participan en la entrada del parásito a su célula blanco y desaparecen en las etapas no invasivas. Hasta la fecha se conocen más de 100 especies de *Plasmodium* que infectan a mamíferos, aves y reptiles (2, 4, 13,15-18,20).

1. Ciclo biológico del agente causal

La malaria, enfermedad que afecta al hombre, se debe a cuatro especies del género *Plasmodium*: *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* y *P. falciparum*, esta última especie es la causante de las formas más graves de la enfermedad. Este parásito se transmite de persona a persona a través de la picadura de la

hembra del mosquito *Anopheles*. *Plasmodium* tiene un ciclo de vida complejo que alterna entre dos huéspedes, un vertebrado y un mosquito, en los que tienen lugar etapas de desarrollo muy diferenciadas. En el huésped vertebrado (hombre) se verifican dos tipos de ciclos asexuales (anexo 4), el primero se observa cuando el esporozoito, inoculado durante la picadura del mosquito, llega al hígado. Ahí los parásitos se introducen en los hepatocitos, se reproducen asexualmente y, cuando madura, destruyen la célula huésped y liberan millares de merozoitos (15-16).

En el caso del ciclo hepático de *P. vivax* algunos parásitos detienen su desarrollo en el hígado en forma de hipnozoítos. Esta es una forma del parásito que permanece latente y que puede activarse por factores aún no determinados. Cuando estos hipnozoítos se reactivan continúan su desarrollo y producen nuevos merozoítos, lo que provoca la recaída de los pacientes en los que se había eliminado al parecer la enfermedad. Los merozoítos son capaces en ese momento de infectar los eritrocitos y se inicia el segundo ciclo asexual. Una vez en el torrente sanguíneo, el merozoíto invade al eritrocito, con lo que comienza la fase eritrocítica (13-16).

En el interior del eritrocito el merozoíto se diferencia en una forma joven conocida como anillo: a continuación forma un trofozoíto que da origen al esquizonte eritrocítico (célula multinucleada) que al madurar libera ocho a treinta y dos merozoitos a la circulación sanguínea. Estos merozoítos pueden invadir a otros eritrocitos sanos e iniciar de nuevo esta etapa (13-16,17).

Tras la invasión del eritrocito algunos merozoítos se unen para originar a los gametocitos masculino y femenino (gametocitogénesis), que son la forma sexual, del parásito, que infecta a la hembra del mosquito *Anopheles* (tras la picadura de un individuo infectado con *Plasmodium*) y continúan su desarrollo en el intestino del mosquito hasta convertirse en gametos (17).

En un momento posterior se realiza la fecundación, de la que se origina un cigoto que se transforma en ooquineto, una forma móvil capaz de atravesar la pared intestinal del mosquito y que se convierte en un ooquiste. Este último se ubica entre la pared del epitelio y la membrana basal del intestino. En el

ooquiste se observa la síntesis del ADN y gran cantidad de divisiones celulares que generan miles de esporozoítos, los cuales migran hacia la glándula salival del mosquito, donde sufren modificaciones que los preparan para infectar al siguiente huésped (20-23).

2. Patogenia básica de la malaria

La malaria es hoy en día una enfermedad de poblaciones pobres y no desarrolladas. La prevención puede ser afectada a través del control del vector tales como los tratamientos con insecticidas o a través del desarrollo de vacunas antimaláricas (15, 16, 20,23).

3. Virulencia de *Plasmodium spp.*

La morbilidad y mortalidad relacionadas con la malaria se deben en buena medida a las propiedades de adhesión que adquieren los eritrocitos infectados (EI) por *P. falciparum*. Los EI son capaces de unirse a las células endoteliales que recubren los vasos sanguíneos mediante un fenómeno de adhesión conocido como cito-adherencia o secuestro. Unas pequeñas protuberancias electrodensas conocidas como *knobs* median esta adhesión y se encuentran en la superficie de los eritrocitos infectados por trofozoitos y esquizontes. Los *knobs* están ausentes en los eritrocitos infectados por anillos, por lo que este es el único estadio que se encuentra en sangre circulante. La citoadherencia de los EI a la célula endotelial les confiere dos ventajas de supervivencia: 1) un ambiente microaerofílico ideal para su maduración y 2) elusión de la acción del bazo para no ser destruidos (15, 24).

Además del fenómeno de secuestro los EI pueden adherirse a través de los *knobs* con eritrocitos no infectados para formar rosetas, o bien, de unirse a otros EI pueden constituir complejos de autoaglutinación. El secuestro de EI, el de las rosetas y el de los complejos de autoaglutinación a los receptores presentes en las células endoteliales de los capilares que irrigan ciertos órganos conducen a la alteración del flujo sanguíneo, lo que promueve las disfunciones metabólicas que producen las principales manifestaciones de la enfermedad. Por ejemplo: si este secuestro ocurre en la placenta se desarrolla

el paludismo maternal; si se presenta en el pulmón da origen al edema pulmonar y si sucede en el endotelio del cerebro conduce al desarrollo del paludismo cerebral (15,16).

a. Ligandos de citoadherencia de los eritrocitos infectados a las células endoteliales:

Debido a su papel central en la patogenia, la cito-adherencia se ha estudiado con amplitud. En la actualidad se sabe que la unión de los EI a las células endoteliales se realiza de manera específica a través de la unión entre moléculas derivadas del parásito, que se encuentra en los *knobs* (ligando), y las proteínas que se expresan sobre la superficie de las células endoteliales, (receptores) (17-23).

Algunos ejemplos de estos receptores son ICAM-1, DE36, CSA, TSP y VCAM-1. El ligando es una proteína de membrana presente en la superficie del eritrocito infectado por *Plasmodium falciparum* denominada PfEMP-1. Esta proteína tiene un peso molecular variable, es insoluble en detergente y altamente sensible a la digestión con tripsina. Además, la PfEMP-1 tiene una función dual ya que interviene en la citoadherencia y la variación antigénica. Es decir, *P. falciparum* elude la reacción inmunitaria de su huésped al variar en cada punto máximo de la parasitemia a la proteína PfEMP-1 (17, 20, 25, 26).

4. Malaria y el eritrocito

Una característica principal de la biología de *Plasmodium falciparum* es la habilidad de infectar al eritrocito. En la primera etapa de la enfermedad los pacientes con malaria a menudo presentan deshidratación y características hipovolémicas, potencialmente exacerbando la obstrucción microvascular y reduciendo la presión microvascular. La destrucción del eritrocito es también una parte inevitable de la malaria por lo tanto compromete así la oxigenación del mismo. En la segunda etapa existe una correlación entre los síntomas clínicos de la enfermedad crónica y el proceso de patogenia. Sin embargo, la anemia severa puede llevar desde sencillos a múltiples procesos incomprensibles, incluyendo la hemólisis aguda de eritrocitos no infectados y la

diseritropoyesis, como también a través de la interacción de la malaria como infección con otras infecciones parasitarias y deficiencias nutricionales (17, 20).

La malaria severa es compleja y probablemente no puede ser presentada bajo ningún esquema; sin embargo los actuales conocimientos de las diferentes maneras del proceso patogénico, parece combinar hasta llevar a una enfermedad severa, involucrando diversos procesos básicos: como la rápida expansión de la masa eritrocitaria, destrucción de eritrocitos infectados y no infectados, obstrucción microvascular y procesos inflamatorios que conducen a una perfusión del tejido (16, 17, 20, 23).

a. Invasión del eritrocito

La secuencia de la invasión es probablemente similar para toda la especie *Plasmodium*. El parásito debe unirse a los receptores del eritrocito para poder atar y experimentar la reorientación de la ensambladura y la señalización apicales. El extremo apical, que define al Phylum *Apicomplexa* del cual forma parte el género *Plasmodium*, permite la entrada del parásito a la célula mediante la liberación de enzimas contenidas en sus vacuolas (rhoptries, micronemas y gránulos densos), el parásito después induce una vacuola derivada del plasma del eritrocito y entra en la vacuola por una ensambladura móvil, permitiendo así la colonización a la célula hospedera (16,23).

Los parásitos de malaria poseen vías intracelulares a través de fosfoinositín, AMP cíclico y vías dependientes de calcio. Lo que sigue siendo totalmente desconocido son las moléculas que reconocen la superficie del eritrocito y la señalización para el proceso de la invasión (16).

Ambos *Plasmodium falciparum* y *Plasmodium vivax* pueden causar anemia severa, pero solo *Plasmodium falciparum* puede provocar múltiples complicaciones como la malaria cerebral, hipoglicemia, acidosis metabólica y distres respiratorio. *Plasmodium falciparum* puede invadir un gran porcentaje de eritrocitos, mientras que *Plasmodium vivax*

está limitado a los reticulocitos. Diferencias similares son encontradas entre la virulencia y no virulencia de *Plasmodium yoelii*. Ambos invaden los reticulocitos preferentemente, pero una vez los reticulocitos han sido consumidos, la virulencia de *Plasmodium yoelii* puede invadir todos los eritrocitos, provocando una mayor parasitemia hasta provocar la muerte (16, 20, 23).

Una segunda diferencia es la sorprendente redundancia de las vías de invasión de *Plasmodium falciparum* ausente en *Plasmodium vivax*, ya que este invade únicamente los eritrocitos Duffy Rh positivos y raramente está limitado a los reticulocitos. Los eritrocitos Duffy Rh negativos también se han asociado con infección de *Plasmodium vivax* en Papua Nueva Guinea un área altamente endémica de dicha especie. Las limitaciones de la invasión por *Plasmodium vivax* han conducido al descubrimiento de dos familias de receptores de parásitos: i) la molécula del parásito que une al sistema Duffy del grupo sanguíneo que se une a las proteínas homólogas del *Plasmodium falciparum* y de *Plasmodium knowlesi* y ii) las proteínas reticulocitarias obligatorias del *Plasmodium falciparum* (20, 21,23-24,26).

5. Situación de malaria a nivel mundial:

En 2006 se registraron según las estimaciones, unos 247 millones de casos de malaria entre 3300 millones de personas en riesgo, produciéndose como resultado casi un millón de muertes, principalmente de menores de cinco años. En 2008 había 109 países con malaria endémica, 45 de ellos en la Región de África de la OMS (18).

En América Latina y el Caribe, el 75 por ciento de las infecciones de paludismo son causadas por *P. vivax*, que raramente conduce a la muerte, mientras que el 25 por ciento restante se debe al mucho más letal *P. falciparum*, el parásito predominante en África. De un total de 775.500 casos de paludismo en América Latina y el Caribe en el 2007 se registraron 212 muertes. (1, 22,26).

6. Situación de malaria en Guatemala:

Durante el año 2004 la malaria figuró entre las primeras 10 causas de morbilidad infantil entre la población indígena, con una incidencia de 84.7 por 10 mil habitantes, según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (2).

Todos los grupos de edad registraron casos de malaria en el 2007 y 2008 en el período que comprende de la semana 1 a la semana 39 de cada uno de los años mencionados. En el año 2007 el grupo etario más afectado fue el de 40 a 49 años con una tasa de incidencia de 483.61 por 100,000 habitantes de ese grupo de edad y para el año 2008 el grupo más afectado fue el de 60 a 69 años con una tasa de incidencia de 364.74 por 100,000. Con respecto al género, no existió diferencia significativa, para el año 2007 el mayor número de casos lo registró el género masculino con solo 1.2% de diferencia y para el año 2008 la diferencia fue de 2.04% siempre con predominio del género masculino (1, 26).

El comportamiento de la malaria en Guatemala a la semana epidemiológica 6 del 2009, registra un incremento de 1.2% (4,610/4,666) equivalente a 56 casos más respecto a 2008 en el período analizado. La diferencia mencionada no es estadísticamente significativa al observarse intersección de los intervalos de confianza de las tasas de incidencia respectivas: tasa de incidencia 2008 33.7 por 100,000 habitantes, I.C. (32.73-34.67), tasa de incidencia 2009, 33.3 por 100,000 I.C. (32.34-34.26). Los diagnósticos clínico laboratorial 2009 son: 84.04% malaria clínico, 15.77% malaria a *P. vivax*, 0.15% malaria a *P. falciparum* (26).

El área de salud de Escuintla reporta casos de malaria por *P. falciparum*. No se registra mortalidad por malaria en enero 2009. El 34.5% de las áreas de salud (10/29), registran incremento de casos 2009 respecto a 2008 (Zacapa, Santa Rosa, Baja Verapaz, Petén Norte, Quetzaltenango, Escuintla, Quiché, Retalhuleu, Sololá y Chimaltenango) y las áreas con mayor decremento de casos son: Alta Verapaz, San Marcos, Petén Sur occidental, Petén Sur oriental, El Progreso, Ixcán y Huehuetenango. (22,26).

Las áreas priorizadas por tasa de incidencia y ponderadas por cuartiles para 2009 a la semana epidemiológica 6, en orden descendente son: Escuintla, Izabal, Quiché, Chiquimula y Suchitepéquez, sin reporte de casos en Totonicapán, Sacatepéquez, Guatemala e Ixil. (22).

7. Datos epidemiológicos del departamento de Chiquimula

Los datos que se tienen del departamento de Chiquimula son incompletos. En cuanto a anemia se refiere, los registros de estadística del Hospital Modular Manuel Arana Osorio de la cabecera departamental de Chiquimula muestran que en la consulta externa se diagnosticaron 192 casos de diversos grados de severidad en 2008, de un total de 18,720 pacientes atendidos. (27).

Según los reportes del Centro Nacional de Epidemiología del Ministerio de Salud Pública y Asistencia social, para 2007, las áreas de salud cuya tasa de incidencia de malaria se localizan por encima del tercer cuartil son, en orden descendente: Petén Sur-oriente, Escuintla, y Chiquimula. Desde entonces fue recomendado intensificar la vigilancia, las acciones de prevención y control, y fortalecer las acciones de información, educación y comunicación a la población (22,26).

En el año 2009 en el departamento de Chiquimula los casos clínicos de malaria clínicos (no confirmados por laboratorio) hasta la semana epidemiológica 13 fueron 1,048, confirmados 46, de los cuales 41 fueron detectados en la cabecera departamental de dicho departamento (22,26).

IV. JUSTIFICACION

La anemia es la disminución del número de eritrocitos o del contenido de hemoglobina debido a pérdidas sanguíneas, una eritropoyesis deficiente, hemólisis excesiva o una combinación de las causas anteriores, provocando así respuestas metabólicas compensatorias.

Cuando la anemia es causada por una enfermedad parasitaria como en el caso de infección por *Plasmodium* spp, que tiene la habilidad de infectar al eritrocito o al reticulocito, podría causar recuentos bajos de estas células, siendo una complicación muy importante de la malaria causada principalmente por *P. falciparum* y en segundo lugar por *P. vivax*.

En el país, la malaria figura entre las primeras 10 causas de morbilidad infantil entre la población indígena, con una incidencia de 84.7 por 10,000 habitantes, según la Organización Panamericana de la Salud (OPS) (19).

En Guatemala no se conocen datos de anemia en pacientes con malaria, concretamente en el departamento de Chiquimula, lo que ha llevado a manejos inadecuados de los pacientes, así como la administración de hierro a pacientes anémicos sin considerar otros criterios clínicos. Estas conductas pueden producir complicaciones mayores inducidas por el tratamiento como la exacerbación de la infección al administrar suplementos de hierro o reacciones transfusionales en pacientes en los que la transfusión de sangre no sea la mejor decisión.

Por lo tanto con este estudio se pretende relacionar el cuadro anémico en pacientes con malaria y su relación con niveles de hierro y transferrina séricos en población del departamento de Chiquimula y prestar un abordaje terapéutico adecuado e inducir futuras investigaciones no solo en Chiquimula sino en todo el territorio nacional.

V. OBJETIVOS

A. GENERAL

Relacionar la infección por *Plasmodium* spp, con presencia de anemia y niveles de hierro y transferrina séricos en población del departamento de Chiquimula.

B. ESPECIFICOS

1. Determinar la frecuencia de anemia por grupos etarios y género en pacientes con malaria en el departamento de Chiquimula.
2. Establecer la relación entre niveles de hierro y transferrina séricos como indicadores diferenciales de anemia.
3. Identificar los factores de riesgo ambientales que favorezcan la transmisión de malaria.

VI. HIPOTESIS

El presente estudio no presenta hipótesis debido a que es un estudio descriptivo transversal.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

Los materiales y métodos utilizados en el estudio fueron los siguientes:

A. Universo: población del departamento de Chiquimula

B. Muestra: toda la población con diagnóstico confirmado mediante gota gruesa de malaria por conveniencia durante un período establecido de nueve meses desde el 01 agosto del año 2009 al 30 de abril del 2010.

C. Metodología a utilizar en el estudio:

Fue un estudio descriptivo transversal, que utilizó un muestreo por conveniencia de personas con diagnóstico confirmado de malaria del corredor seco del departamento de Chiquimula, durante un período establecido de nueve meses desde el 01 de agosto del año 2009 al 30 de abril del 2010.

1. Criterio de Inclusión: pobladores de Chiquimula con diagnóstico confirmado de malaria mediante gota gruesa.

2. Criterio de Exclusión: pobladores de Chiquimula con diagnóstico no confirmado de malaria mediante gota gruesa, pacientes diagnosticados con malaria con tratamiento antimalárico completo, pacientes que hayan recibido terapia de suplementos de hierro durante la infección malárica, pacientes que presenten dificultad para la extracción de muestra sanguínea.

D. Materiales:

1. Equipos:

a. **EQUIPO DE HEMATOLOGIA:** ABXMicros ES 60[®],

b. **EQUIPO DE ESPECTROFOTOMETRIA:** KONELAB 20i[®]
de Abbot para la medición de hierro sérico y transferrina

c. Microscopios binoculares

2. Reactivos:

a. Konelab[™]/ Series IRON Thermo Scientific[®]

b. Konelab[™] TRANSFERRIN Thermo Scientific[®]

- c. Diluyente de hematología
- e. Tinción de Wright
- f. Tinción para reticulocitos (azul de cresil brillante)
- g. Etanol al 70%
- h. Diluyente para glóbulos rojos
- i. Diluyente para plaquetas

3. Materiales:

- a. Tubos vacutainer sin anticoagulante de 8.5 mL.
- b. Tubos vacutainer con EDTA de 4.5 mL.
- c. Tubos vacutainer con EDTA de 3.0 mL.
- d. Jeringas de 10 mL
- f. Jeringas de 5 mL
- g. Ligaduras
- h. Gradillas para 12 tubos
- i. Pipetas plásticas de 1 mL
- j. Pipetas automáticas de 10-100 μ L
- k. Pipetas automáticas de 100-1000 μ L
- l. Hielera
- m. Porta láminas
- n. Guantes desechables
- o. Descartador para punzocortantes
- p. Curitas

4. Cristalería:

- a. Láminas porta objetos
- b. Láminas cubre objetos
- c. Láminas frotadoras
- d. Tubos capilares con Heparina

5. Equipo de Oficina y papelería:

- a. Equipo de Oficina:
 - i. Computadora
 - ii. Impresora

iii. Cámara digital

b. Papelería:

- i. Papel bond blanco de 80 gr. tamaño carta
- ii. Fólder papel manila tamaño carta

E. Procedimientos

1. Recuento eritrocitos/ plaquetas (ERI/PLA): Los valores de eritrocitos y plaquetas se midieron mediante un principio de variación de impedancia electrónica. Este principio consiste en generar un campo electrónico alrededor de una abertura microscópica por la que pasan las células sanguíneas. Las células oponen una resistencia en el campo electrónico a medida que pasan a través de la abertura microscópica calibrada. Esta acción, a su vez, da lugar a un impulso electrónico, que se amplifica, se mide y se calcula matemáticamente para crear un valor numérico.

La muestra fue aspirada rápida y precisamente, fue segmentada en cuatro porciones. La última de éstas se diluye y fue procesada por diferentes reactivos, para luego estar lista para su análisis. Se obtuvo 8.3 μ L (microlitro) de sangre entera y 2.99 mL de diluyente, obteniendo así un factor de dilución de 1:361 para eritrocitos y de 60 μ L de sangre entera y 2.94 mL de diluyente para un factor de dilución de 1:180 para el análisis total de ERI/PLA.

2. Hemoglobina (HGB):

La hemoglobina se combinó con el cianuro de potasio para formar un compuesto de cianometahemoglobina y cromogéneos. Este compuesto químico se midió por espectrofotometría, a través de la vía de acceso óptico de la cámara. La longitud de la onda de luz de medida se encuentra en 550 nanómetros (nm).

a. Resultados: los resultados de hemoglobina se proporcionaron del siguiente modo:

HGB = Registro (valor de blanco/valor de muestra) x coeficiente de calibración.

3. Hematocrito (Hto) El hematocrito es una medida que combina los impulsos electrónicos y cálculos matemáticos.

Todos los impulsos de ERI se agrupan en distintos tamaños. A continuación, se obtuvo el promedio de amplitud de impulso de cada grupo. Seguidamente, se utilizó para obtener un último promedio de todas las amplitudes de impulsos de ERI. Se trató de una función de integración numérica de VCM. Los resultados se mostraron en tantos por ciento de esta integración.

4. VCM, HCM y CHCM El valor VCM (Volumen Corpuscular Medio) se calculó directamente a partir del histograma de ERI completo.

El valor HCM (Hemoglobina Corpuscular Media) se calculó a partir del valor de hemoglobina y el recuento de ERI. Los cálculos se llevaron a cabo de la siguiente forma:

$$HCM (pg) = HGB/ERI \times 10 (pg)$$

CHCM (Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media) se calculó según los valores de hemoglobina y hematocrito. Los cálculos se llevaron a cabo de la siguiente forma:

$$CHCM (g/dl) = HGB/HCT \times 100$$

5. El valor IDE (Índice de distribución de eritrocitos) se utilizó para determinar las anomalías de eritrocitos relacionadas con la anisocitosis. El valor IDE permitió seguir la evolución del índice del histograma de ERI en relación con el número de células y su volumen medio. Además, este valor también es un cálculo del histograma de ERI. Los cálculos se llevaron a cabo de la siguiente forma:

$$IDE (\%) = K \times SD/VCM$$

K: coeficiente de calibración de RDW (Red distribution width o Índice de distribución de eritrocitos).

SD: desviación típica de acuerdo con los estudios estadísticos sobre distribución celular.

VCM: (Volumen Corpuscular Medio) de los eritrocitos.

6. Hierro: la medición del Hierro sérico se logró a través de un método colorimétrico en el cual el hierro es liberado de su proteína transportadora por el buffer guanidina. El ácido ascórbico se utiliza para reducir el hierro férrico a su estado ferroso, lo cual crea un producto coloreado con el Ferreno S. La intensidad de color del producto final es medida a una longitud de onda de 600 nm.

7. Transferrina: el método está basado en una medida de una inmunoprecipitación intensificada por polietilen glicol (PEG) a 340 nm. Un exceso de antisuero específico es adicionado a las muestras tamponadas. El incremento en absorbancia provocado por la inmunoprecipitación es registrado cuando la reacción ha alcanzado su punto final. El cambio en absorbancia es proporcional a la cantidad de antígeno (Transferrina) en la solución.

8. Clasificación de Anemia: se calculó con los datos obtenidos de la hematología, como lo son: Hb, Hto, VCM, HCM, CHCM, luego se tomaron en cuenta los criterios anteriormente mencionados para su correcta clasificación.

9. Frote periférico

a. Método en portaobjetos

- i. Colocar una gota de sangre y realizar el frote.
- ii. Teñir con colorante Wright por 5 minutos.
- iii. Agregar buffer por 3 minutos.
- iv. Lavar y dejar secar.
- v. Observar al microscopio con objetivo de inmersión (100X).

b. Parámetros evaluados

- i. Alteración de tamaño
- ii. Alteración de la forma
- iii. Alteración del color
- iv. Presencia de inclusiones (parásitos intracelulares)
+ escaso; ++ regular cantidad; +++ abundantes.

10. Recuento de reticulocitos

- a. Colocar dos gotas de sangre y dos gotas de colorante de azul cresil brillante en un tubo de ensayo. Mezclar y dejar reposar durante 15 minutos.
- b. Realizar el frote y dejar secar al aire.
- c. Observar al microscopio con objetivo de inmersión (100X).
- d. Contar veinte campos y proseguir a realizar los siguientes cálculos:

No. Reticulocitos contados = Promedio de reticulocitos contados

20

Promedio Reticulocitos contados * 100 = % Reticulocitos

Promedio (4 campos) eritrocitos

- **Porcentaje de corrección**

Promedio de reticulocitos * Ht (paciente) * 1 = %

20

Hto (normal)

1.85

corregido

% Reticulocitos * Ht (paciente) = % Reticulocitos absoluto

Ht (42 hombre) ó 42 (mujer)

Valores normales: 0.5-1.5% (en adultos y niños)

0.5-4.0% (en recién nacidos)

Todos los pacientes con diagnóstico confirmado de malaria se refirieron al centro de salud más cercano y se coordinó la entrega a domicilio del tratamiento antimalárico con el departamento de malaria.

F. Análisis de resultados

Los datos se analizaron mediante estadística descriptiva, se tabularon en Microsoft Office Excel 2007 para obtener tablas y gráficas. Para realizar esta descripción se definieron variables de interés como sexo, edad, presencia o ausencia de anemia, valores hematológicos, hierro y transferrina séricos, como también se describieron anormalidades en el frote periférico, principalmente de la serie eritrocitaria.

Partiendo de datos cuantificados de recuento de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito se estableció una clasificación de anemia, relacionando la presencia o ausencia de esta y su correspondiente correlación entre variables cuantificadas de hierro y transferrina séricos, como también relacionando los valores de recuento de reticulocitos como un dato sumatorio en anormalidades en el metabolismo de hierro y producción eritrocitaria.

Aplicando el test de χ^2 cuadrado se establecieron relaciones de presencia de anemia y no anemia con respecto a número de parasitemia, anormalidades en la serie eritrocitaria, reportadas en el frote periférico y anormalidades dentro de la clasificación de anemia. También se calculó el índice de disparidad (OR) como una medida de riesgo de presencia de anemia en relación a los factores estudiados. Estos análisis se realizaron en el software libre Epidat 3.1.

Sobre variables cuantitativas se obtuvieron medidas de tendencia central, media o mediana según la normalidad de los datos evaluada por medio del coeficiente de asimetría, tomando como una distribución normal aquellos cuyos valores de coeficiente de asimetría estuviera comprendido entre -1 y 1; desviación estándar o rango intercuartil como medidas de dispersión, se resumieron y ordenaron por medio de frecuencias agrupadas e histogramas. Las variables cualitativas se resumieron calculando porcentajes y gráficos de barras y de pie.

VIII. RESULTADOS

Durante el período del 01 de agosto del 2009 al 30 de abril del 2010 (Anexo 1) se reclutaron 58 pacientes con malaria procedentes del departamento de Chiquimula, con diagnóstico previo mediante gota gruesa, cinco de ellos fueron excluidos del estudio según los criterios propuestos; uno fue excluido por imposibilidad de la obtención de la muestra sanguínea, dos por haber terminado el tratamiento antimalárico justo antes de la extracción de la muestra sanguínea y dos por ingerir medicamentos con suplementos de hierro durante la infección malárica. A todos los pacientes estudiados les fue realizado un análisis completo de hematología, frote periférico, clasificación de anemia, recuento de reticulocitos y determinación de los niveles séricos de hierro y transferrina. Previamente fue obtenido de cada uno de los pacientes el consentimiento informado por escrito y fue completada una entrevista a través de la cual fueron obtenidos los datos nutricionales socioeconómicos, factores de riesgo y enfermedades asociadas.

Los datos obtenidos en la entrevista fueron ordenados, tabulados y son mostrados en las siguientes tablas, las cuales se organizan en tres secciones: a) descripción de la muestra, b) indicadores hematológicos, c) tasas de prevalencia de anemia y asociación de variables.

Las abreviaturas para hacer referencia a indicadores hematológicos son las siguientes: Hb = hemoglobina; VCM = volumen corpuscular medio; HCM = hemoglobina corpuscular media; CHCM = concentración de hemoglobina corpuscular media; Fe = hierro sérico; G. rojos = eritrocitos; Transf. = transferrina.

A. Descripción de los pacientes en estudio

Se estudió a 53 pacientes cuyo diagnóstico fue confirmado con una muestra sanguínea mediante el método de gota gruesa, caracterizándose como *Plasmodium vivax* al agente etiológico en el 100% de los casos. A continuación se describen en tablas y gráficas las características socio demográficas de los mismos.

Tabla No. 1. Distribución etaria y de género en pacientes con malaria.

Edad (años)	Masculino	Femenino	Frecuencia	%
0-10	3	5	8	15.1
11-20	5	8	13	24.5
21-30	4	5	9	17
31-40	6	5	11	20.8
41-50	5	3	8	15.1
>50	2	2	4	7.5
Total	25	28	53	100

Fuente: datos experimentales.

Se evidencia que la mayor cantidad de pacientes se encontró dentro del grupo etario de 11 a 20 años, así mismo la diferencia de casos en cuanto a género no es estadísticamente significativa.

B. Indicadores hematológicos

Tabla No. 2. Medidas de tendencia central y dispersión en indicadores hematológicos.

Indicadores	Media	Desv. Est.	Coef. De asimetría
Hb (g/dL)	12.9	1.81	-0.06
Hto (%)	38.15	5.56	-0.15
VCM (fl)	86.19	5.33	0.31
HCM (pg)	29.25	2.24	0.26
CHCM (%)	34.00*	1.40**	-1.56
Fe (µg/dL)	99.00*	43.90**	1.38
Plaquetas(plaq/ mm ³)	297	144.98	0.57
Eritrocitos (10 ⁶ /mm ³)	4.44	0.71	-0.14
Transf (g/L)	2.52	0.44	0.7

Hb (hemoglobina)g/dL; Hto(hematocrito)%; VCM (volumen corpuscular medio)fl; HCM (hemoglobina corpuscular media)pg; CHCM (concentración corpuscular media de hemoglobina)%; Fe (hierro) µg/dL; Transf (transferrina) g/L.

*Mediana **Rango intercuartil

Fuente: datos experimentales, cálculos con funciones de Excel

Según la tabla anterior, la media de hemoglobina muestra que la mayoría de pacientes presentó valores normales (según literatura); cabe destacar que la

desviación estándar muestra el resultado de 1.81, similar tendencia se observa en el recuento de eritrocitos.

La Tabla 2 presenta los estadísticos o medidas de resumen de tendencia central y de dispersión idóneas con respecto al valor de coeficiente de asimetría calculado. Un valor de coeficiente de asimetría entre -1 y 1 es una aproximación empírica para considerar la distribución de datos como normal. Si este criterio no se cumple, es más adecuado resumir los datos usando la mediana y el rango intercuartil debido a que la distribución de datos no es normal.

Tabla No. 3. Recuento de eritrocitos según grupos etarios y género en pacientes con malaria.

Rango edad (años)	Rec. Eritrocitos ($10^6/\text{mm}^3$) Valor mínimo y máximo	Bajo	Normal	Frecuencia	%
01-02	3.78-4.6	0	3	3	5.7
03-05	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
06-08	2.6	1	0	1	1.9
09-12	3.68-4.53	2	3	5	9.4
Hombres					
13-20	3.78-5.23	2	2	4	7.5
21-30	3.6-5.91	1	3	4	7.5
31-40	4.57-5.58	0	6	6	11.4
41-50	3.14-5.53	1	4	5	9.4
>50	4.2-5.48	0	2	2	3.8
Mujeres					
13-20	3.61-4.9	1	7	8	15.1
21-30	3.66-5.2	1	4	5	9.4
31-40	3.34-4.54	2	3	5	9.4
41-50	3.4-5.32	2	1	3	5.7
>50	3.68-4.51	1	1	2	3.8
Total	2.6-5.91	14	39	53	100

ND* No hay datos

Fuente: datos experimentales

Valores normales: 01-02 años: $3.4-5.2 \times 10^6/\text{mm}^3$
 03-05 años: $3.9-5.2 \times 10^6/\text{mm}^3$
 06-08 años: $4.0-5.2 \times 10^6/\text{mm}^3$
 09-12 años: $4.0-5.4 \times 10^6/\text{mm}^3$
 >12 años Hombres: $4.0-6.0 \times 10^6/\text{mm}^3$
 >12 años Mujeres: $4.0-5.4 \times 10^6/\text{mm}^3$

El grupo que presenta la mayor cantidad de pacientes con recuentos bajos de eritrocitos pertenecen a mujeres de 31-50 años de edad, seguido por los hombres de 13-20 años.

Tabla No. 4. Concentración de hemoglobina según grupos etarios y género en pacientes con malaria.

Rango edad (años)	Hemoglobina (g/dL) Valor mínimo y máximo	Bajo	Normal	Frecuencia	%
01-02	9.3-12.9	2	1	3	5.7
03-05	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
06-08	8.2	1	0	1	1.9
09-12	10.2-13.7	3	2	5	9.4
Hombres					
13-20	11.6-15.2	2	2	4	7.5
21-30	10.6-15.6	1	3	4	7.5
31-40	14.9-16.8	0	6	6	11.4
41-50	13.4-15.7	0	5	5	9.4
>50	13.9-15.6	0	2	2	3.8
Mujeres					
13-20	11.2-13.1	2	6	8	15.1
21-30	11.3-13.8	1	4	5	9.4
31-40	10.7-13.1	2	3	5	9.4
41-50	11.6-13.3	2	1	3	5.7
>50	11.1-12.7	1	1	2	3.8
Total	8.2-16.8	17	36	53	100

ND* No hay datos

Fuente: datos experimentales

Valores normales: 01-02 años: 11-15 g/dL

03-05 años: 12-15 g/dL

06-08 años: 12.2-15 g/dL

09-12 años: 12.2-15.5 g/dL

>12 años Hombres: 13-17 g/dL

>12 años Mujeres: 12-16 g/dL

Según la tabla anterior, el paciente que presentó la concentración más baja de hemoglobina se encontró en el rango de 6-8 años de edad.

Tabla No. 5. Concentración de transferrina según género en pacientes con malaria.

Género	Transferrina (g/L) Valor mínimo y máximo	Bajo	Normal	Alto	Frecuencia	%
Hombres	1.71-3.41	2	23	0	25	47.2
Mujeres	1.8-3.66	4	23	1	28	52.8
Total		6	46	1	53	100

Fuente: datos experimentales

Valores normales: Hombres: 2.0-3.60 g/L
Mujeres: 2.0-3.60 g/L

Se observa que solamente 1 paciente presentó valor de transferrina por arriba del rango normal, sin embargo dicho resultado fue levemente superior al rango normal.

Tabla No. 6. Concentración de hierro sérico según grupos etarios y género en pacientes con malaria

Grupo	Hierro (µg/dL) Valor mínimo y máximo	Bajo	Normal	Alto	Frecuencia	%
Niños	40.9-130	0	7	2	9	17
Hombres	63.3-258	1	16	4	21	39.6
Mujeres	27.8-176	3	19	1	23	43.4
Total		4	42	7	53	100

Fuente: datos experimentales

Valores normales: Niños 9 meses a 12 años: 40-100 µg/dL
Hombres: 65-175 µg/dL
Mujeres: 50-170 µg/dL

Solamente 4 pacientes presentaron valores por debajo del rango normal de hierro sérico, siendo más frecuente esta deficiencia en las mujeres (3/23).

Tabla No. 7. Concentración de volumen corpuscular medio según grupos etarios y género en pacientes con malaria.

Rango edad (años)	VCM (fl) Valor mínimo y máximo	Bajo	Normal	Alto	Frecuencia	%
01-02	75-83	0	3	0	3	5.7
03-05	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
06-08	90	0	1	0	1	1.9
09-12	77-84	1	4	0	5	9.4
Hombres						
13-20	83-93.6	0	4	0	4	7.5
21-30	79-87	1	3	0	4	7.5
31-40	83.4-95.3	0	6	0	6	11.4
41-50	82-99	0	4	1	5	9.4
>50	84-93.4	0	2	0	2	3.8
Mujeres						
13-20	82-94.5	0	8	0	8	15.1
21-30	79.2-89.3	1	4	0	5	9.4
31-40	84-94	0	5	0	5	9.4
41-50	78-96.2	1	2	0	3	5.7
>50	83-85	0	2	0	2	3.8
Total	75-99	4	48	1	53	100

ND* No hay datos

Fuente: datos experimentales

Valores normales: 01-02 años: 74-86 fl

03-05 años: 74-86 fl

06-08 años: 77-91 fl

09-12 años: 78-95

Hombres >12 años: 80-97fl

Mujeres > 12 años: 80-97fl

La mayoría de pacientes presentó tamaño normal de eritrocitos (VCM), solamente 1 paciente perteneciente al grupo de hombres de 21-30 años exhibió macrocitosis.

Tabla No.8. Concentración hemoglobina corpuscular media según grupos etarios y género en pacientes con malaria.

Rango edad (años)	HCM (pg) Valor mínimo y máximo	Bajo	Normal	Alto	Frecuencia	%
01-02	24.7-28.9	1	2	0	3	5.7
03-05	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*	ND*
06-08	31.7	0	1	0	1	1.9
09-12	26-29	0	5	0	5	9.4
Hombres						
13-20	28.1-30.7	0	4	0	4	7.5
21-30	26.3-29.5	1	3	0	4	7.5
31-40	28.3-32.8	0	5	1	6	11.4
41-50	25.8-34	1	3	1	5	9.4
>50	28.6-32.9	0	1	1	2	3.8
Mujeres						
13-20	26.7-34.5	1	6	1	8	15.1
21-30	26.5-30.8	2	3	0	5	9.4
31-40	28.8-32.1	0	4	1	5	9.4
41-50	24.9-30.8	1	1	1	3	5.7
>50	28.2-30.1	0	2	0	2	3.8
Total	24.7-34.5	7	40	6	53	100

ND* No hay datos

Fuente: datos experimentales

Valores normales: 01-02 años: 25-31 pg
 03-05 años: 25-31 pg
 06-08 años: 25-33 pg
 09-12 años: 25-33 pg
 Hombres >12 años: 27-31 pg
 Mujeres >12 años: 27-31 pg

Según la tabla anterior se observa que la mayoría de pacientes presentó concentración de hemoglobina (HCM) dentro del rango normal (40/53). Los casos con niveles aumentados de HCM pertenecen a pacientes dentro de 31-50 años.

Tabla No. 9. Concentración de hemoglobina corpuscular media según género en pacientes con malaria.

Género	CHCM (%) Valor mínimo y máximo	Bajo	Normal	Frecuencia	%
Hombres	32.2-36.6	2	26	28	47.2
Mujeres	28.5-36.7	0	25	25	52.8
Total	28.5-36.7	2	51	53	100

Fuente: datos experimentales

Valores normales: Hombres: 31-37%
Mujeres: 31-37%

La tabla 9 muestra que solamente 2 pacientes masculinos presentaron concentraciones de hemoglobina corpuscular media (CHCM) por debajo del rango normal.

C. Tasas de prevalencia de anemia y asociación de variables

Al tratarse de un estudio de temporalidad se calculó la frecuencia del proceso anémico según el diagnóstico por método de referencia en frotis periféricos. La frecuencia de anemia en pacientes positivos a *P. vivax* fue de 33.96 % con un intervalo de confianza del 95% entre 20.27 y 47.66 %.

Tabla No. 10. Frecuencia de anemia en pacientes con malaria según grupos etarios.

Rango Edad (años)	Frecuencia de anemia (%)	IC 95%	OR	IC 95% OR	p value OR		
0-10	62.50 (5/8)	24.49	91.48	1.67	0.4	6.97	0.205
11-20	38.46 (5/13)	13.86	68.42	0.63	0.2	1.91	0.098
21-30	22.22 (2/9)	2.81	60.01	0.29	0.06	1.38	0.77
31-40	18.18 (2/11)	2.28	51.78	0.22	0.05	1.03	0.064
41-50	37.50 (3/8)	8.52	75.51	0.6	0.14	2.51	0.066
>50	25.00 (1/4)	0.63	80.59	0.33	0.03	3.2	0.123
Total	33.96 (18/53)	20.27	47.66	Valor p de la prueba χ^2 0.424			

Fuente: datos experimentales, cálculos con Epidat 3.1. Intervalo de confianza 95% (IC 95%); Odds Ratio (OR); χ^2 ; $\alpha=0.05$.

Se observa que la mayor cantidad de pacientes con anemia se encontró en los grupos etarios de 0-10 y de 11-20 años de edad. El mayor riesgo de padecer anemia (representado por el OR) lo presentó el grupo etario de 0-10 años, aunque con p value >0.05.

Tabla No. 11. Frecuencia de anemia en pacientes con malaria según género.

Género	Frecuencia de anemia (%)	IC 95%		OR	IC 95% OR		p value OR
Femenino	42.86 (12/28)	22.74	62.97	2.38	0.73	7.8	0.583
Masculino	24.00 (6/25)	9.36	45.13	0.42	0.13	1.4	0.662
Total	33.96(18/53)	20.27	47.66	Valor p de la prueba $\chi^2 = 0.141$			

Fuente: datos experimentales, cálculos con Epidat 3.1.

Intervalo de Confianza 95% (IC 95%); Odds Ratio o índices de disparidad (OR); χ^2 ; nivel de significancia para $\chi^2 = 0.05$; OR calculado tomando como riesgo el género que presentó mayor tasa de frecuencia (género femenino 42.86%).

Se observa que no hay diferencia estadísticamente significativa para la presencia de anemia en función de género.

Tabla No. 12. Hierro, transferrina, hemoglobina, recuento de eritrocitos y reticulocitos como indicadores hematológicos en pacientes con malaria

Indicadores hematológicos	Parámetro	Anemia	No Anemia	Frecuencia de anemia (%)	IC 95%		OR	IC 95% de OR		p value OR	p value χ^2
Hierro	Bajo	1	3	28.57	3.67	70.96	0.69	0.13	4.31	0.39	0.746
	Normal	16	33	34.78	19.93	49.63	1.33	0.23	7.66	0.411	
Transferrina	Bajo	2	4	16.67	0.42	64.12	0.39	0.04	3.60	0.123	0.391
	Normal	16	31	34.04	19.43	48.65	2.58	0.28	24.00	0.49	
Hemoglobina	Bajo	17	0	100.00	80.49	100.00	No calculable		-	0.000	
	Normal	1	35	2.78	0.07	14.53	No calculable		-		
Recuento eritrocitos	Bajo	14	0	100.00	73.54	100.00	No calculable		-	0.000	
	Normal	4	35	14.63	2.60	26.67	No calculable		-		
Recuento reticulocitos	Bajo	3	0	100.00	29.24	100.00	No calculable		-	0.012	
	Normal	15	35	30.00	16.30	43.70	No calculable		-		

Fuente: datos experimentales, cálculos con Epidat 3.1

Intervalo de Confianza 95% (IC 95%); Odds Ratio o índices de disparidad (OR); χ^2 ; nivel de significancia para $\chi^2 = 0.05$.

Según el p value de los OR (calculables) de los indicadores hematológicos para anemia o no anemia son estadísticamente no significativos, ya que presentaron valores >0.05 .

Tabla No. 13. Anormalidades morfológicas presentes en el frote periférico en pacientes con malaria

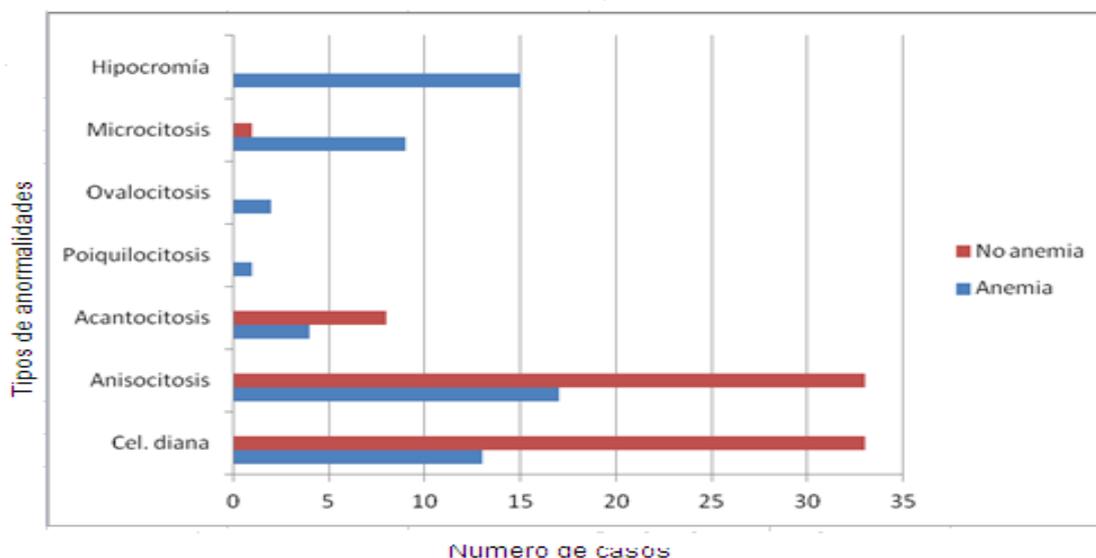
Anormalidades morfológicas	Presencia Ausencia	Anemia	No Anemia	Frecuencia de anemia (%)	IC 95%		OR	IC 95% de OR		p value OR	p value χ^2
Hipocromía	+	15	0	42.86	25.03	60.68	No calculable		-	0.000	
	-	3	35	7.90	1.66	21.38	No calculable		-		
Microcitosis	+	9	1	90.00	55.50	99.75	34.00	3.79	304.63	0.048	0.000
	-	9	34	20.93	7.61	34.25	0.03	0.00	0.26	0.041	
Ovalocitosis	+	2	0	100.00	15.81	100.00	No calculable		-	0.068	
	-	16	35	31.37	17.66	45.09	No calculable		-		
Poiquilocitosis	+	1	0	100.00	No calculable		No calculable		-	0.22	
	-	17	35	32.69	18.98	46.40	No calculable				
Acantocitosis	+	4	8	33.33	9.93	65.11	1.00	0.27	3.71	0.090	1.00
	-	14	27	34.15	18.41	49.88	1.00	0.27	3.68	0.089	
Anisocitosis	+	17	33	34.00	19.87	48.13	0.87	0.11	7.15	0.123	0.90
	-	1	2	33.33	0.84	90.57	1.15	0.14	9.43	0.233	
Células diana	+	13	33	28.26	14.16	42.36	0.18	0.04	0.93	0.023	0.027
	-	5	2	71.43	29.04	96.33	5.46	1.08	27.67	0.031	

Fuente: datos experimentales, cálculos con Epidat 3.1.

Intervalo de Confianza 95% (Ic 95%); Odds Ratio o índices de disparidad (OR); χ^2 ; nivel de significancia para $\chi^2= 0.05$.

La hipocromía, la microcitosis y las células diana presentan diferencia estadísticamente significativa en función de la presencia de anemia.

Gráfica No. 1. Anormalidades morfológicas y su relación con anemia o no anemia en pacientes con malaria.



Fuente: datos experimentales, elaboración del gráfico en Excel 2007

La hipocromía fue la única anormalidad que se presentó en todos los casos con anemia. La alteración morfológica que se presentó con mayor frecuencia fue la anisocitosis.

Tabla No. 14. Parasitemia y relación con presencia o ausencia de anemia en pacientes con malaria.

Cantidad de parásitos	Anemia	No Anemia	Frecuencia	IC 95%	OR	IC 95% OR	p value OR
+	3	34	8.11	1.7 21.91	0.1	0.0271 0.29	0.012
++	6	1	85.71	42.13 99.64	6	0.7224 49.8	0.872
+++	9	0	100	66.37 100		No calculable	
Total	18	35	33.962	20.27 47.66	Valor p de la prueba $\chi^2 = 0.0000$		

Fuente: datos experimentales.

+ = escaso, ++ = regular cantidad, +++ = abundante;
Nivel de significancia (alfa) para la prueba de $\chi^2 = 0.05$

Se puede observar en la tabla anterior que un nivel alto de parasitemia (+++) es un factor de riesgo directo para presentar anemia.

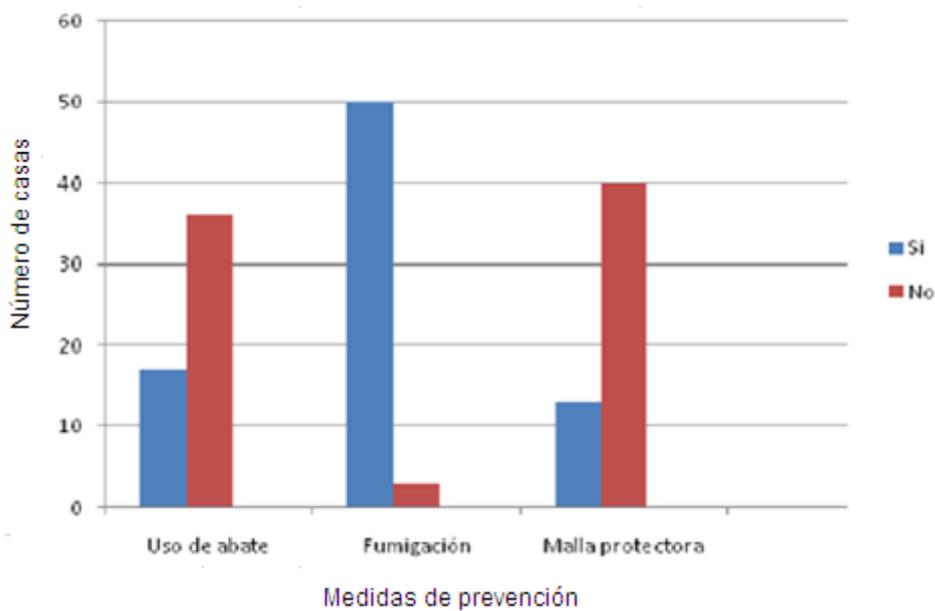
Tabla No. 15. Condiciones socioeconómicas en pacientes con malaria

CARACTERÍSTICA	Frecuencia	%
Habitantes/casa		
0-2	6	11.32
03-04	18	33.96
05-06	16	30.19
07-08	7	13.21
09-10	6	11.32
Ingestión de alimentos		
<i>Granos básicos</i>		
2 o más veces al día	53	100
<i>Carnes</i>		
2 o más veces a la semana	3	5.66
1 vez a la semana	15	28.3
1 vez cada quince días	35	66.03
<i>Verduras</i>		
2 o más veces a la semana	17	32.1
1 vez a la semana	24	45.28
1 vez cada quince días	12	22.64
Disponibilidad de agua potable		
Sí	21	39.62
No	32	60.37
Depósitos de agua sin tapadera o lugares aptos para el desarrollo del zancudo		
Sí	37	69.82
No	16	30.18

Fuente: datos experimentales.

La población refirió que posee de 3-6 habitantes por casa, ingieren granos básicos 2 o más veces al día, con consumo mínimo de carnes rojas ricas en hierro hémico; así mismo el 60.37 % no tiene acceso al agua potable y el 69.82% cuenta con lugares aptos para el desarrollo del zancudo.

Gráfica No. 2. Frecuencia en el uso de medidas preventivas contra la reproducción y viabilidad del zancudo transmisor de malaria en las casas de pacientes con malaria.



Fuente: datos experimentales.

La mayoría de las casas habían sido fumigadas (50 en total) luego de la aparición de casos de malaria. Así mismo solamente 13 casas contaban con malla protectora como medida preventiva.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La malaria es una enfermedad parasitaria que se transmite de un humano a otro por la picadura de la hembra del mosquito *Anopheles*. El organismo que produce la malaria es un protozoo del género *Plasmodium*. Este parásito produce la destrucción de eritrocitos, con la consecuente aparición de anemia. Dicha anemia es un obstáculo para el desarrollo económico en las áreas endémicas por el compromiso que produce en el rendimiento estudiantil de los niños y laboral de los adultos (2, 3,13).

La población estudiada fue de 53 pacientes que fueron reclutados durante el período del 01 de agosto del 2009 al 30 de abril del año 2010. Esta cantidad difiere de los datos publicados por el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social hasta la semana epidemiológica 13 del año 2009, ya que en ese período fueron reportados 49 casos confirmados. La cantidad relativamente baja de pacientes encontrados durante este período de estudio se cree fue debida al repunte de casos de dengue que se presentaron en algunos meses del estudio, lo que ocasiona, que la mayoría del recurso humano y material para la atención de estos casos fuera asignado al combate del dengue, disminuyendo de esta manera la capacidad de atención y diagnóstico de malaria (26). En el 100% de los casos el agente etiológico identificado fue *Plasmodium vivax*.

Para obtener los resultados de pruebas estadísticas de asociación se utilizó el software Epidat 3.1, calculando los índices de disparidad (Odds Ratio, OR), que representa el cociente entre la oportunidad de manifestar anemia y presentar malaria; el test χ^2 que determina si existe asociación entre variables cualitativas y test de Fisher, prueba estadística de significación usada en el análisis de una muestra pequeña de datos categóricos.

En cuanto a la distribución de los pacientes por grupos etarios y género de pacientes con malaria se observa que el grupo etario de 11-20 años presentó la mayor cantidad de pacientes con 13 en total (24.3%), así mismo la

diferencia de frecuencia de casos de malaria con respecto a género fue mínima ya que las mujeres presentaron 28 pacientes y los hombres 25 (Tabla 1).

En la tabla 2 se resumen las medidas de tendencia central y de dispersión calculadas para los indicadores hematológicos y se hace una distinción de las mismas en relación a su normalidad evaluada con base al coeficiente de asimetría. Según la media de hemoglobina, la mayoría de pacientes presentaron valores normales.

Para el diagnóstico de anemia se tomó en cuenta un resultado por debajo de los valores normales de cualquiera de los parámetros indicadores de anemia (hemoglobina y recuento de eritrocitos) diagnosticándola en 18 pacientes. Se evidenció que 14 pacientes presentaron valores bajos de eritrocitos, así mismo 17 pacientes tuvieron concentración de hemoglobina por debajo del rango normal. La concentración de hemoglobina más baja fue en un paciente clasificado dentro del rango de 6-8 años de edad con 8.2 g/dL de hemoglobina y recuento de eritrocitos de $2.6 \times 10^6/\text{mm}^3$ (Tabla 3 y 4).

Referente al recuento de eritrocitos, un paciente presentó valores por debajo de lo normal, sin presentar hemoglobina baja. Los resultados de pacientes con anemia especialmente en el grupo de 9-12 años de edad, puede deberse al hecho que durante este rango de edad las demandas de hierro se incrementan a causa del desarrollo normal de las personas. El grupo que presenta la mayor cantidad de pacientes con recuento bajo de eritrocitos pertenecen a mujeres de 31-50 años, seguido por los hombres de 13-20 años (Tabla 3 y 4).

Las anemias observadas en su mayoría fueron leves, con valores de hemoglobina y recuento de eritrocitos cercanos al límite normal mínimo.

En la Tabla 5, se observa las concentraciones de transferrina, los valores normales oscilan dentro del rango de 2.0-3.6 g/L, 4 mujeres y 2 hombres presentaron disminución en los niveles de transferrina. Un factor a

considerar en el análisis de los valores de transferrina baja, es que puede reaccionar como una proteína de fase aguda negativa, disminuyendo así su concentración en la circulación en distintas enfermedades entre ellas las infecciosas, por medio de la secreción de mensajeros inmunes principalmente interleucina 1, 6, 8 e interferón gamma. Seis pacientes presentaron niveles de transferrina levemente bajos, aún cuando otros indicadores de anemia (hemoglobina y recuento de eritrocitos) se encontraron dentro de rangos de valores normales, lo que correlaciona con estados infecciosos (Tabla 5) (3,12).

En la Tabla 6 se observa que los pacientes con niveles de hierro sérico por debajo del rango normal fueron 4. De estos pacientes, 3 presentaron valores muy cercanos al límite inferior normal y el restante presentó valores muy por debajo de lo normal, además éste fue el único paciente que presentó valor de transferrina por arriba del rango normal, confirmándose así la alteración en el metabolismo del hierro; ya que al disminuir los depósitos de hierro, principalmente en hígado y médula ósea, la transferrina aumenta por que necesita mayor transporte de hierro desde los depósitos o el intestino delgado, hacia las células o tejidos que lo necesiten (3,7).

Entre las dificultades para la comparación de las frecuencias de deficiencia de hierro, se encuentra la variabilidad de criterios utilizados para definir la ferropenia (2, 3, 7), ya que se trata de un proceso complejo que consta de varios estadios. En primer lugar se produce una depleción del hierro corporal que puede detectarse por la disminución de ferritina sérica, luego se afecta la eritropoyesis y finalmente se produce la anemia ferropénica (5). Así el marcador más precoz de ferropenia, en estadio inicial, es la ferritina, y su determinación es el método clásicamente utilizado para detectar esta deficiencia; este analito no fue determinado en el estudio, por lo que para identificar la ferropenia se utilizó la medición de transferrina y hierro sérico (40).

Al realizar las clasificaciones de anemias se observó que 13 pacientes presentaron anemia de tipo hipocitémica. Este hecho se relaciona al proceso hemolítico de los eritrocitos que ocurre durante la infección por malaria. Así

mismo un paciente presentó VCM elevado y anemia; otro VCM bajo con anemia. En cuanto a HCM, dos pacientes presentaron anemia y este indicador bajo (Tabla 7,8 y 9).

En la Tabla 10 se observa que el grupo etario de 0-10 años de edad presentó el mayor riesgo de padecer anemia (OR 1.67), aunque el p value fue de >0.05 . Ningún OR calculado para los diferentes rangos de edad presentó una significancia estadística.

Para determinar el riesgo de padecer anemia en función del género se calculó el OR, asumiendo que el ser mujer aumentaba el riesgo de padecer anemia (Tabla 11); aún que en la muestra estudiada el riesgo de padecer anemia para mujeres era más de dos veces mayor, según el valor p de la prueba de χ^2 no se observó diferencia estadísticamente significativa para la presencia de anemia en relación al género (valor $p=0.14$), por lo tanto no se encontró una relación entre género y presencia de anemia.

Los indicadores hematológicos de transferrina, hemoglobina, recuento de eritrocitos y de reticulocitos mostraron diferencias estadísticamente significativas para la presencia de anemia así como sus OR respectivos. (Tabla 12).

En los frotos periféricos se evidenció diferentes anormalidades morfológicas en los eritrocitos. Dichas anormalidades pudieron asociarse con la presencia del parásito en los mismos. Las anormalidades morfológicas en las que se observaron mayores frecuencias de anemia fueron: hipocromía, microcitosis, ovalocitosis y poiquilocitosis, de éstas la hipocromía y la microcitosis presentaron OR estadísticamente significativos y una diferencia estadísticamente significativa a la prueba de χ^2 que evaluaba la relación entre la presencia de estas anormalidades y la presencia de anemia; sin embargo las estimaciones de los OR fueron poco precisas y eran mayores a 10.

Además se observó que hay una relación estadísticamente significativa entre las células diana y la presencia de anemia de manera que resultó como

un factor de riesgo (OR=0.18, IC95% = 0.04-0.93) estadísticamente significativo (valor $p < 0.05$) (Tabla 13). La presencia de células diana se asocia como anomalía morfológica normal en casos de malaria, ya que ésta se presenta en casos de hemólisis, como se puede observar en el cuadro clínico de la malaria (Gráfica 1) (9, 10,16, 20,23).

Debido a que en todos los pacientes se observó parasitemia en cantidades diferentes, se realizó un test de χ^2 para evaluar la relación entre la cantidad de parásitos encontrados y la presencia de anemia; (Tabla 14) se encontró que había una relación estadísticamente significativa (valor $p < 0.01$), observándose que una menor cantidad de parásitos no es un factor de riesgo para la presencia de anemia (OR=0.09, IC95% =0.03-0.29). También se observa que a medida que aumenta la parasitemia aumenta la tasa de frecuencia de anemia.

Los factores nutricionales como las deficiencias previas de hierro y micronutrientes predisponían al hospedero al desarrollo de anemia, ya que según la encuesta nutricional los pacientes carecían de una fuente de hierro adecuada, debido a que su dieta estaba basada en gran proporción a la ingesta de granos básicos como maíz y frijol, los 53(100%) pacientes refirieron que lo consumían dos o más veces por día (Tabla 15). Según un estudio realizado por Serrano, J. *et al.* (39) en el año 2,004, en Guatemala la totalidad de las familias guatemaltecas consumen frijol negro en las tres comidas principales del día, con frecuencia en el consumo de 78.0%, 77.8% y 97.1% en el desayuno, almuerzo y cena respectivamente. El contenido en hierro del frijol es alto (4.82%), aunque tiene una biodisponibilidad muy baja (0.8%) ya que es hierro en forma no hémica (no orgánica), además posee fitatos los cuales disminuyen la absorción del hierro en el intestino (39).

El análisis sobre el consumo de carnes (Tabla 15), en las cuales se reportaron consumos tan bajos como de 5 (9.43%) pacientes que la consumían dos o más veces a la semana, 15 (28.30%) pacientes que reportaron consumo de una vez a la semana y 35 (66.03%) reportaron consumo una vez cada quince días, se observó que no existe una fuente importante de hierro, ya que

la única vía para introducir este mineral de manera natural en el organismo es por medio de la ingesta, la carne roja es el principal alimento para obtenerlo, ya que se puede llegar a absorber hasta un 66.0% de hierro contenido en dicho alimento (40).

Entre los factores relacionados con el huésped, están algunas condiciones genéticas como el rasgo falciforme o la talasemia que protegen al huésped (15,17 y 19), la cual es una condición que no existió, ya que en ningún frote periférico se observaron anomalías morfológicas relacionadas.

En cuanto a la resistencia a los antimaláricos no se presentó ningún caso, ya que a los mismos se les realizaron controles (luego de haber completado el tratamiento durante 15 días con cloroquina y primaquina), mediante la realización de gota gruesa en un período de quince días a un mes, resultando todas negativas.

El principal microambiente necesario para el desarrollo del zancudo transmisor de malaria es el agua estancada; en la Tabla 15 se muestra que en 21 (39.62%) hogares contaban con servicio de agua potable, aunque no disponía de éste todos los días. Debido a la escasez de agua la población recurre a los depósitos o recipientes para almacenar dicho líquido, y se percató que 37 (69.82%) de las casas no tenían tapados los recipientes, además estas presentaron otros factores aptos para la reproducción del zancudo, como riachuelos cercanos, agua de lluvia estancada, falta de drenajes y ríos de aguas negras cercanos.

Existen ciertos mecanismos para prevenir el desarrollo del zancudo y por consiguiente la transmisión de malaria. Los mecanismos más utilizados son el abate (larvicida granulado listo para usar indicado para el control de larvas, zancudos, mosquitos y jejenes en sus criaderos), la fumigación y la instalación de malla protectora anti insectos en puertas y ventanas (Gráfica 2).

El principal mecanismo para el combate de los zancudos fue la fumigación con k-othrina (insecticida peritroide) realizado por el personal del Departamento de Malaria, ya que éste evita la proliferación del zancudo y se considera un factor protector, 50 (94.33%) pacientes indicaron fumigación reciente en su hogar. Regularmente se encontraron espacios abiertos, de tal manera que se podría especular que el insecticida no alcanzaba todos los puntos críticos en los cuales se pudieran desarrollar zancudos, ya que de los 53 pacientes, 23 refirieron que habían padecido malaria con anterioridad. La mayoría de hogares (40/53) no poseían mallas protectoras anti insectos en puertas y ventanas; además del uso de abate no era muy frecuente, por que se evidenció que solamente 17 (32.1%) lo tenían instalado en piletas y recipientes recolectores de agua (Gráfica 2).

X. CONCLUSIONES

1. La frecuencia de anemia en mujeres fue de 42.86% (12/28) y en hombres de 24.0% (6/25) comprendidos en edades mayores de 12 años.
2. No es posible determinar la relación entre niveles de hierro séricos y de transferrina en pacientes con malaria como indicadores diferenciales de anemia por la cantidad de muestras obtenidas durante el estudio.
3. Los factores ambientales y nutricionales que favorecen la transmisión de malaria fueron: el hacinamiento de las viviendas, la falta de agua potable y falta de depósitos adecuados para el agua, en la población estudiada.
4. Un nivel de parasitemia alto es un factor de riesgo directo para presentar anemia.
5. Los factores nutricionales contribuyen a la frecuencia de anemia, más no así a la frecuencia de malaria.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar un estudio más extenso y en varias regiones endémicas del país para obtener datos más certeros acerca de la relación de la transferrina y el hierro séricos como indicadores de anemia.
2. Para futuros estudios trabajar en conjunto tanto el área epidemiológica, como el área hospitalaria de la región para así poder abarcar más área de estudio.
3. Brindar seguimiento a los pacientes confirmados con malaria para poder llevar un mejor control y así evitar recaídas o complicaciones en el cuadro clínico.
4. Otorgar al paciente con malaria un estudio hematológico previo y al final del tratamiento con antimalárico.
5. Llevar un mejor control por parte del Departamento de Malaria de Chiquimula del área de fumigación para evitar la propagación del mosquito.
6. Plantear la posibilidad de realizar otros estudios, con diferentes tipos de vectores en áreas endémicas.
7. Considerar un mayor tamaño de muestra para futuros estudios.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Health in the Americas, 2007. PAHO Bull. 2007. Vol 2 (p 374-393)
2. WHO, World Malaria Report, world visión building a better world for children, 2009, (p 3-4).
3. Beutler E, Waalen J. The definition of anemia; what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? BLOOD, 2006. 107. (p 1747-1750).
4. Ruíz A, *et al.* Fundamentos de Hematología. 4ed México: Editorial Médica Internacional, 2009. 744p. (p 5-20; 47-92; 215-320; 405-500).
5. Lewis S, *et al.* Hematología práctica. 10ed México: Editorial Interamericana, 2007. 632p. (p 63-89; 112-156; 218-356).
6. Roberts B. Standard Hematology practice. British Comity for Standards in Hematology. Boston: Blackwell Scientific Publications, 2003.
7. Semple JW, Freedman J. Autoimmune pathogenesis of anemia. Semin Hematol. 2005 Ju; 42(3). (p 122-30).
8. Greer J, *et al.* Wintrobe's Clinical Hematology. 12ed. Lippincot Williams and Wilkins, 2008. 3232p. (p 66-115; 185-203; 256-314; 420-489; 566-792; 1141-1158; 2315-2653).
9. Buys Marí C. *et al.* Prevalencia de anemia y deficiencia de hierro en escolares jujeños de 12 años. Medicina[on line].2005, vol.65,n.2(p30-126).
10. Diamond LW, Mishka H. Current Concepts on pathogenesis and therapy of anemia. Nouv Rev Fr Hematology. 2003. 910p. (p 170-176).
11. Tefferi A, Hanson CA, Inwards Dj. How to interpret and pursue an abnormal complete blood cell count in adults. Mayo Clin Proc. 2005 Jul; 80(7). (p 923-36). Review.
12. Staubli Asobayire F, *et al.* Prevalence of iron deficiency with and without concurrent anemia in population groups with high prevalence of malaria and other infections; a study in Côte d'Ivoire. AJ of Clinical Nutrition, 2001, 74. (p 776-782).
13. Egan A. *et al.* Aotus New World monkeys; model for studying malaria-induced anemia. BLOOD, 2002. 99. (p 3863-3866).

14. Laminkara AA. *et al.* Malarial anemia; of mice and men. BLOOD, 2007. 110. (p 18-28).
15. Stubbs J, *et al.* Molecular mechanism for switching of *Plasmodium* spp, invasion pathways into human erythrocytes. Science, 2005. 2309p. (p1384-1389).
16. Weatherall D, *et al.* Malaria and red cell. Hematology. 2002. 512p. (p35-69).
17. Evans KJ. *et al.* Severe malarial anemia of low parasite burden in rodent models results from accelerated clearance of uninfected erythrocytes. BLOOD, 2006. 107. (p 1192-1199).
18. WHO, world malaria report, world vision, 2009, (p 16).
19. OPS, Foro Internacional sobre salud de los pueblos indígenas e interculturalidad, 2004, (p 24).
20. Llanos C. *et al.* Mecanismos de generación de anemia en malaria. Colombia Medica ISSN 165. Agosto 6 de 2009.
21. Biemba G. *et al.* Severe anaemia in Zambian children with *Plasmodium falciparum* malaria. Trop Med Int Health 2000. 5. (p 9-16).
22. Centro nacional de epidemiología, semana epidemiológica en Guatemala, semana 6 del 8 al 14 de febrero del 2009. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, 2009. año 6 No. 564,
23. Dondorp AM, Angus BJ, Chotivanich K. Red blood cell deformability as a predictor of anemia in severe falciparum malaria. Am J Trop Med Hyg 1999. 60. (p 733-737).
24. Noronha E. *et al.* Clinical study of falciparum malaria in children in Manaus, AM, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop, 2000. 33: (p 185-190).
25. Verhoef H, *et al.* Malarial anemia leads to adequately increased erythropoiesis in asymptomatic Kenyan children. BLOOD, 2002. 100. (p 3489-3494).
26. Orozco, M. Semana epidemiológica en Guatemala 22-2009. Vigilancia epidemiológica, Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Año IX, No. 489; 2009.
27. Revista Regional. Chiquimula "La Perla de Oriente". Guatemala diciembre del 2008. 11-24. 45pp.

28. Williams, B. Hematology; Annals of the New York Academy of Science, 6th ed. New York: Academy of Science, 2001. 938p. (p 63-70).
29. Piñeros JG, Blair S. Malaria y embarazo. Infectología Colombiana, 2002. 6-39. (p 4)
30. Castro-Malaspina H. Interpretative Reporting in diagnostic laboratory hematology. Int J Biomed Comput. 2004. 379p. (p 183-186).
31. Slutsker L. *et al.* In hospital morbidity and mortality due to malaria in two areas of malawi with different patterns of malaria infection. Trans R Soc Trop Med Hyg 1994. 88. (p 548-551).
32. WHO. New perspectives: Malaria diagnosis, joint WHO/USAID informal consultation October 1999. [en línea] 2000 [fecha de acceso noviembre de 2003] p. 11. URL
33. Ministerio de Salud. Guía de atención de la malaria. Servicio de Salud Colombia 2000; Resolución 00412 de 2000. Do. Tec. anexo técnico 1-2000. Bogotá: Ministerio de Salud; 2000.
34. Marsh K. *et al.* Indicators of life threatening malaria in African children. N Engl J Med, 1995. 332. (p 1399-1404).
35. Echeverri M. *et al.* Clinical and laboratory findings of Plasmodium vivax malaria in Colombia, 2001. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 2003. 45. (p 29-34).
36. Assesing the effects of treatment: measures of association. Jaeschke et al. Canadian Medical Association Journal 2006; 152:351-357.
37. MacMahon B, Pugh T. Principios y métodos de epidemiología. 2^a.ed. México, DF: La Mexicana, 2002: 253.
38. Juez Martel P. Herramientas estadísticas para la investigación en Medicina y Economía de la Salud. Madrid: Ed. Centro de Estudios Ramón Areces; 2001.
39. Serrano, J. *et al.* Papel del frijol negro *Phaseolus vulgaris* en el estado nutricional de la población guatemalteca. Archivos Latinoamericanos de Nutricion; 2004, vol 54. 9 (p 41-42).
40. Harrison, T. Principios de Medicina Interna. McGraw-Hill. Tomo I, 17 ed. 2009. 1364 (p 628-635).

41. Fonseca, J. Proteínas plasmáticas viscerales, malaria y desnutrición en niños colombianos. Colombia Medica ISSN, Vol. 33. 2008.

XIII. ANEXOS

ANEXO No. 1.



Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social
Sistema de Información Gerencial en Salud - SIGSA



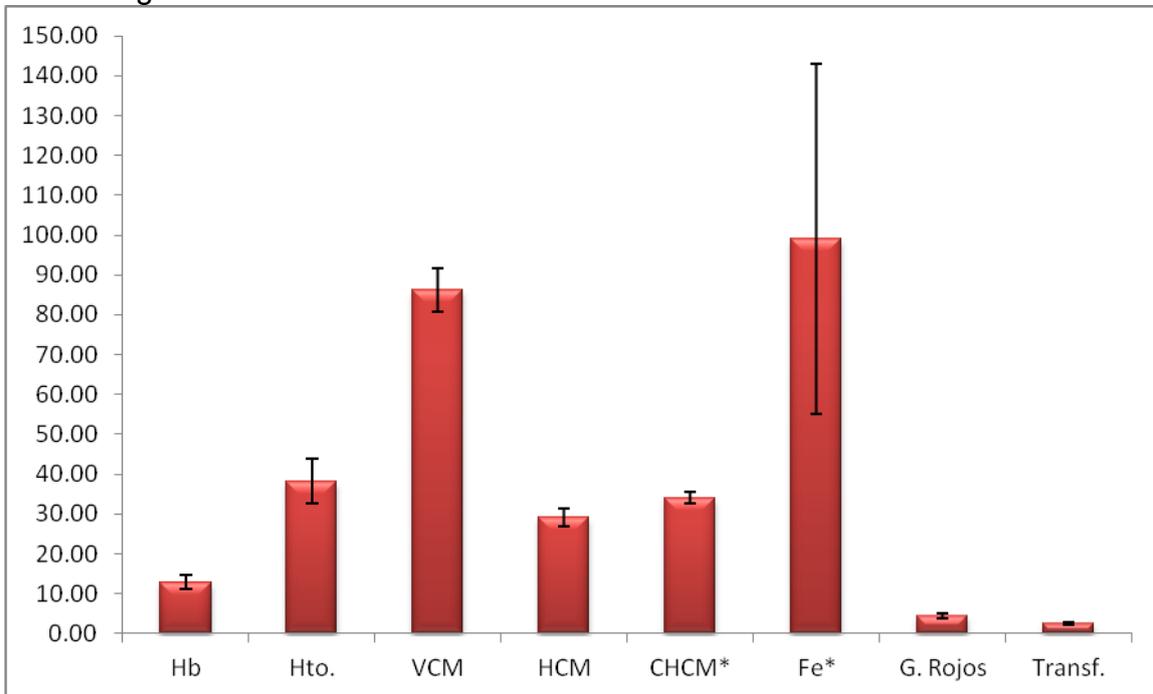
Producción de Malaria por Departamento de Enero a Diciembre 2010

Departamento	No. de Tratamientos Aplicados a Criaderos	No. de Controles a Criaderos	No. de Gotas Gruesas Tomadas	Promedio de densidad larvaria por MF	No. de tratamientos de cura radical	No. de reclutamientos Intra domiciliarios
Alta Verapaz	1,350	1,635	16,835	1,769	66	104
Baja Verapaz	955	102	1,189	2,856	229	0
Chimaltenango	138	569	62	16,285	6	706
Chiquimula	87		3,695		60	5,889
El Progreso	21,944	21,221	374	0	455	0
Escuintla	3,203	12,735	17,729	174,621	1,167	1,863
Guatemala	1,516	618				
Huehuetenango	106	204	1,094	50,064	437	88
Izabal	407	3,345	4,808	2,052	801	1,294
Jalapa	327	347	699	0	8	896
Jutiapa	89	1,081	2,799	211	6	2
Peten	1,804	4,648	70,210	6,948	3,616	7,400
Quetzaltenango	795	394	1,091	1,322	130	444
Quiché	4	112	8,816	85	24	137
Retalhuleu	470	782	1,203	10	792	4,411
San Marcos	628	164	1,167	242	515	280
Santa Rosa	286	408	829	2,411	4,613	0
Sololá	15	0	17	2	6	1
Suchitepéquez	378	492	4,165	105	165	756
Zacapa	2,575	1,898	198	0	0	2,549
Total	37,077	50,755	136,980	258,983	13,096	26,820

Fuente: SIGSA 6 Mensual Producción de los Servicios Modulo SIGSA.
Datos preliminares, sujetos a cambios según confirmación de unidades de salud.

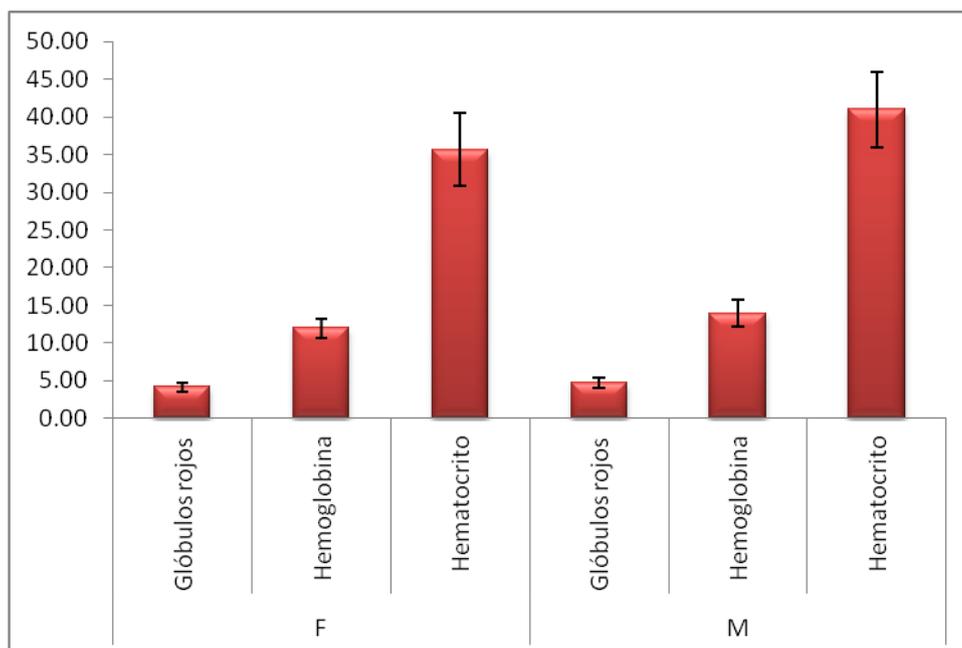
ANEXO No. 2

Gráfica No. 1. Valores promedio (y desviación estándar) de los indicadores hematológicos.



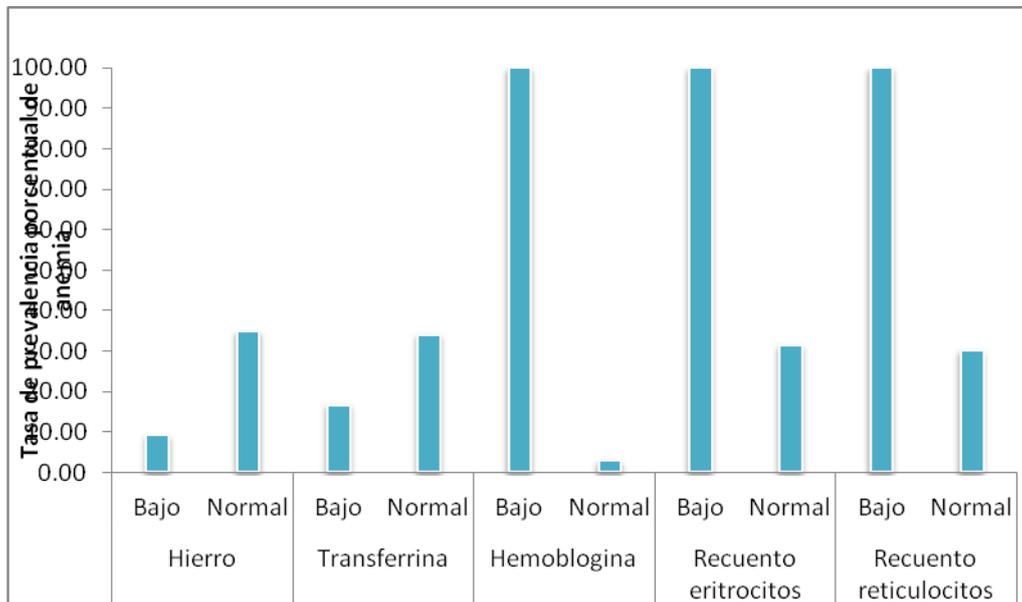
Fuente: Datos experimentales, elaboración del gráfico en Excel 2007

Gráfica No. 2. Valores promedio y desviación estándar (en barras de error) de los eritrocitos, hemoglobina y hematocrito en función del género.



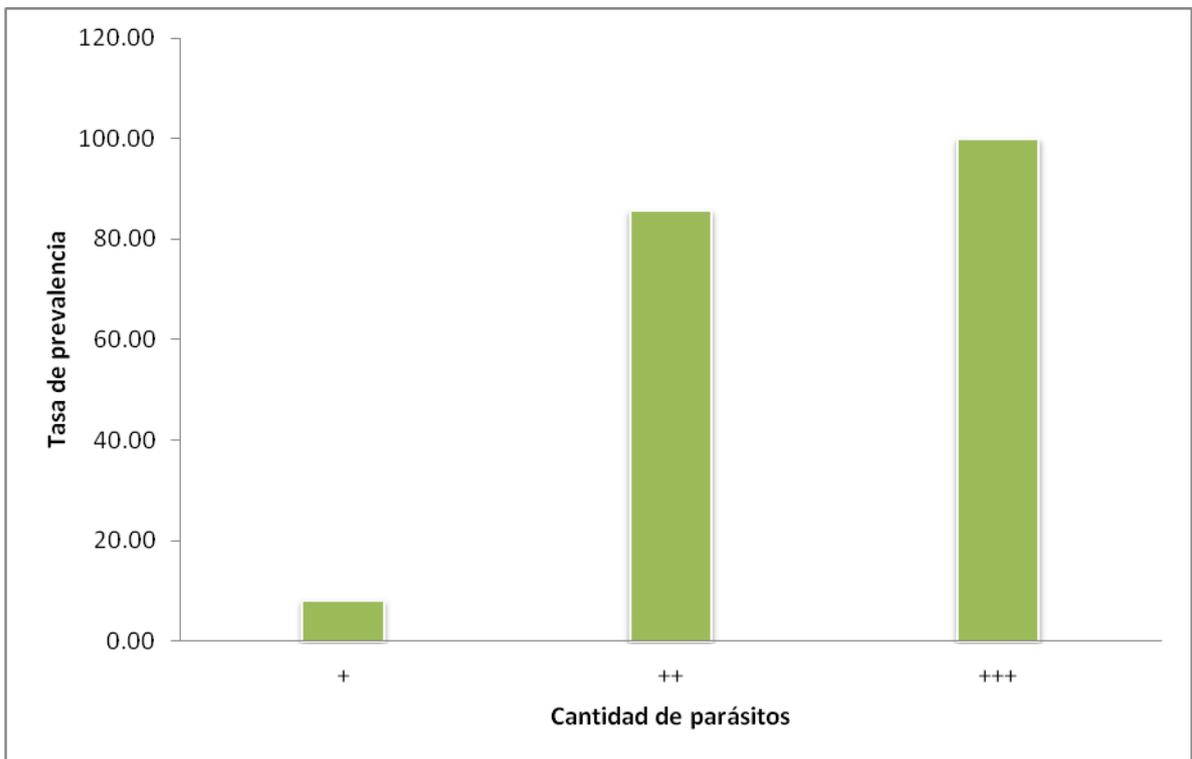
Fuente: Datos experimentales, elaboración del gráfico en Excel 2007.

Gráfica No. 3. Tasas de prevalencia específicas en porcentaje de anemia en función de los niveles bajos o normales de indicadores hematológicos.



Fuente: Datos experimentales, elaboración del gráfico en Excel 2007

Gráfica No. 4. Tasa de prevalencia de anemia en función del nivel de parasitemia



Fuente: Datos experimentales, elaboración del gráfico en Excel 2007

ANEXO No. 3.

Algoritmos Diagnósticos de Anemias:

Existen dos tipos de clasificación de las anemias:

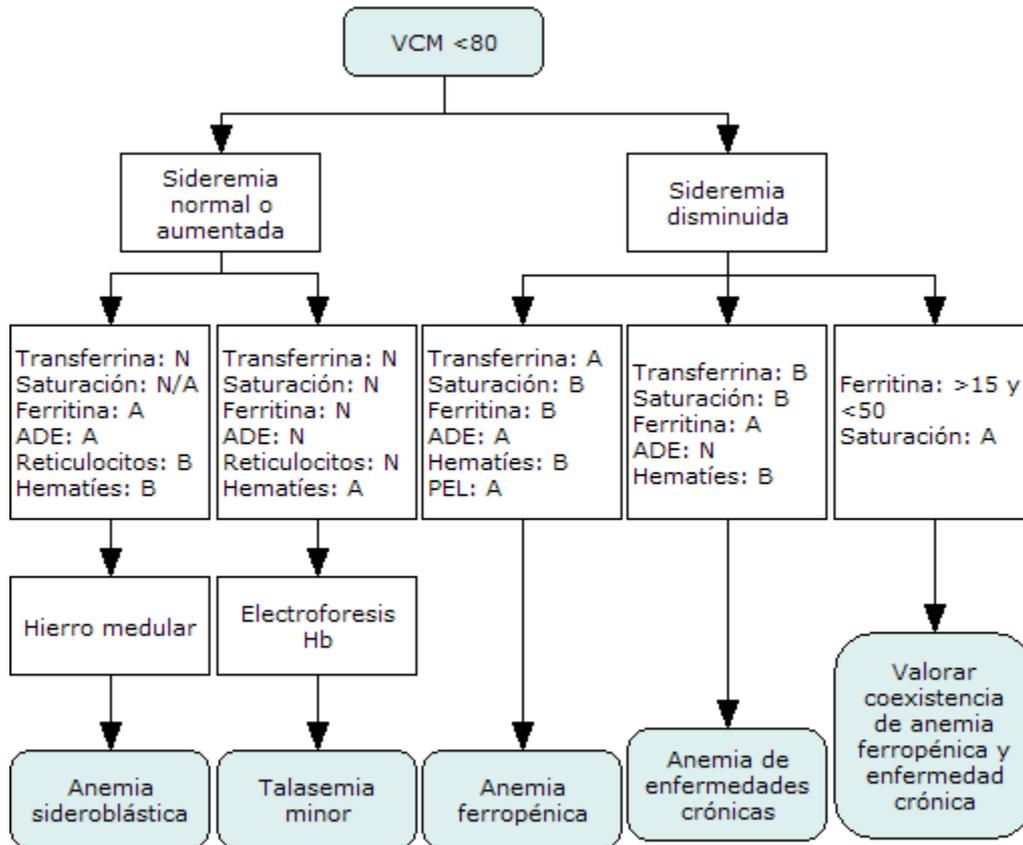
Clasificación fisiopatológica: Clasifica las anemias en centrales o periféricas en función del índice de reticulocitos.

Clasificación morfológica: Es la más utilizada. Clasifica las anemias en función del tamaño de los hematíes (VCM). El VCM permite subdividir a las anemias en:

- Microcíticas (VCM<80). Causas más frecuentes: déficit de hierro, anemia secundaria a enfermedad crónica y talasemia.
- Normocíticas (VCM: 80-100). Causas más frecuentes: anemia secundaria a enfermedad crónica, hemolítica, aplásica o por infiltración medular y hemorragia aguda.
- Macroscíticas (VCM>100). Causas más frecuentes: déficit de vitamina B12, déficit de ácido fólico, hipotiroidismo y enfermedad hepática.

Algoritmo diagnóstico patológico según VCM

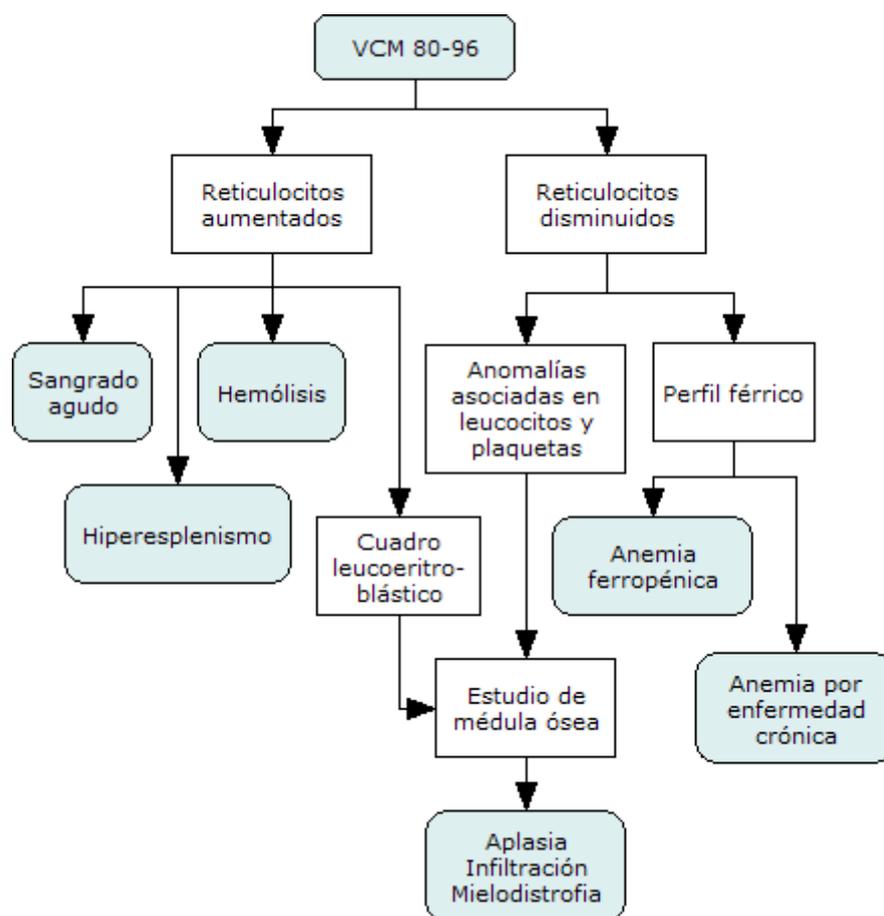
Caso A.



A: Alta; B: Baja; N: Normal; VCM: Volumen corpuscular medio; ADE: Amplitud de distribución eritrocitaria; PEL: Protoporfirina eritrocitaria libre.

Fuente: Beutler E, Waalen J. The definition of anemia; what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? BLOOD, 2006. 107. (p 1747-1750).

Caso B.

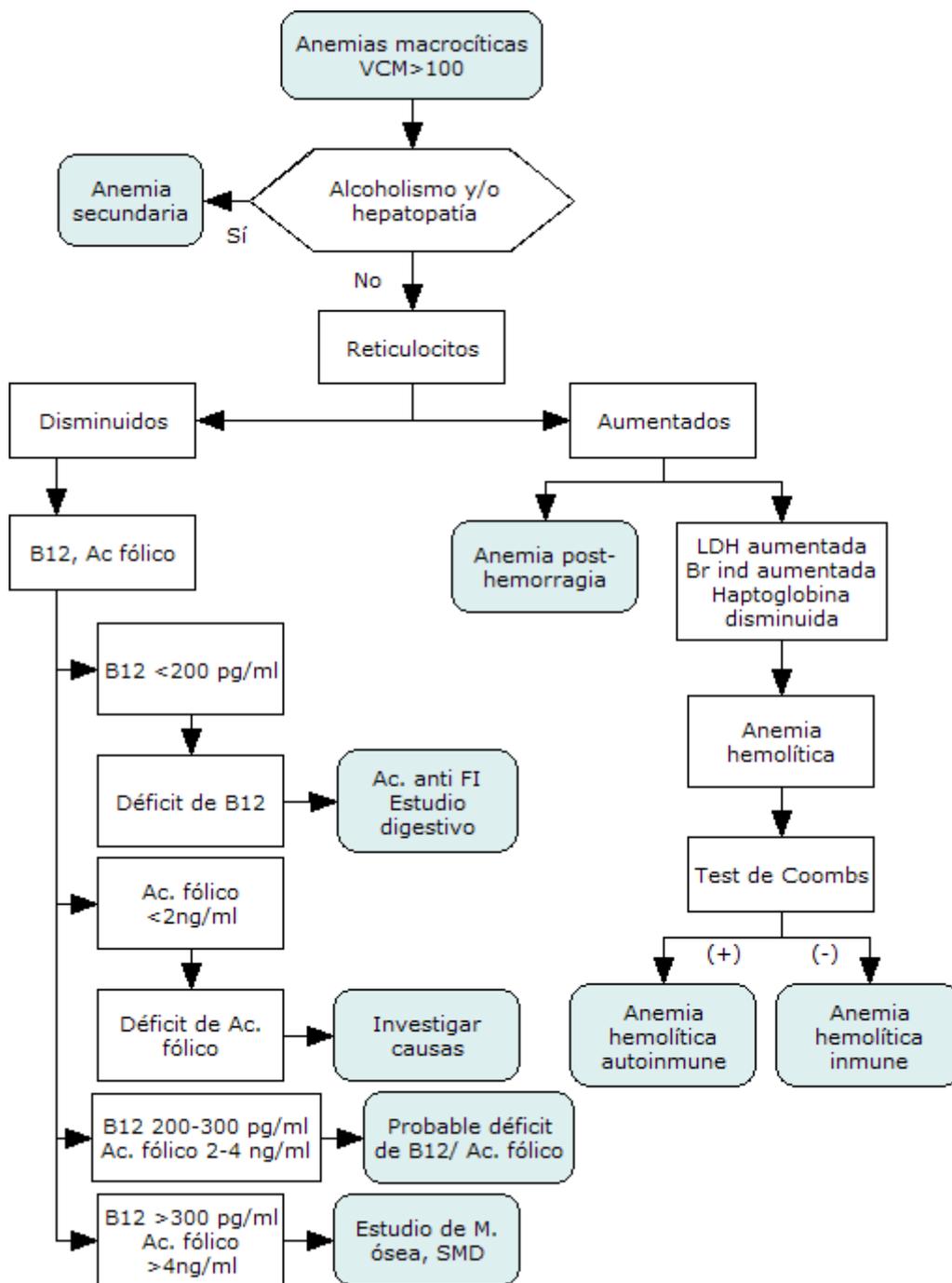


Siempre queda el recurso, en caso de duda, de administrar un tratamiento de prueba con Hierro durante 1-2 meses, como criterio diagnóstico definitivo. Una vez confirmada la anemia ferropénica hay que buscar su etiología.

Si nos encontramos con una anemia microcítica no ferropénica, no asociada a ningún proceso crónico, el enfermo debe ser derivado a consultas de hematología para su valoración.

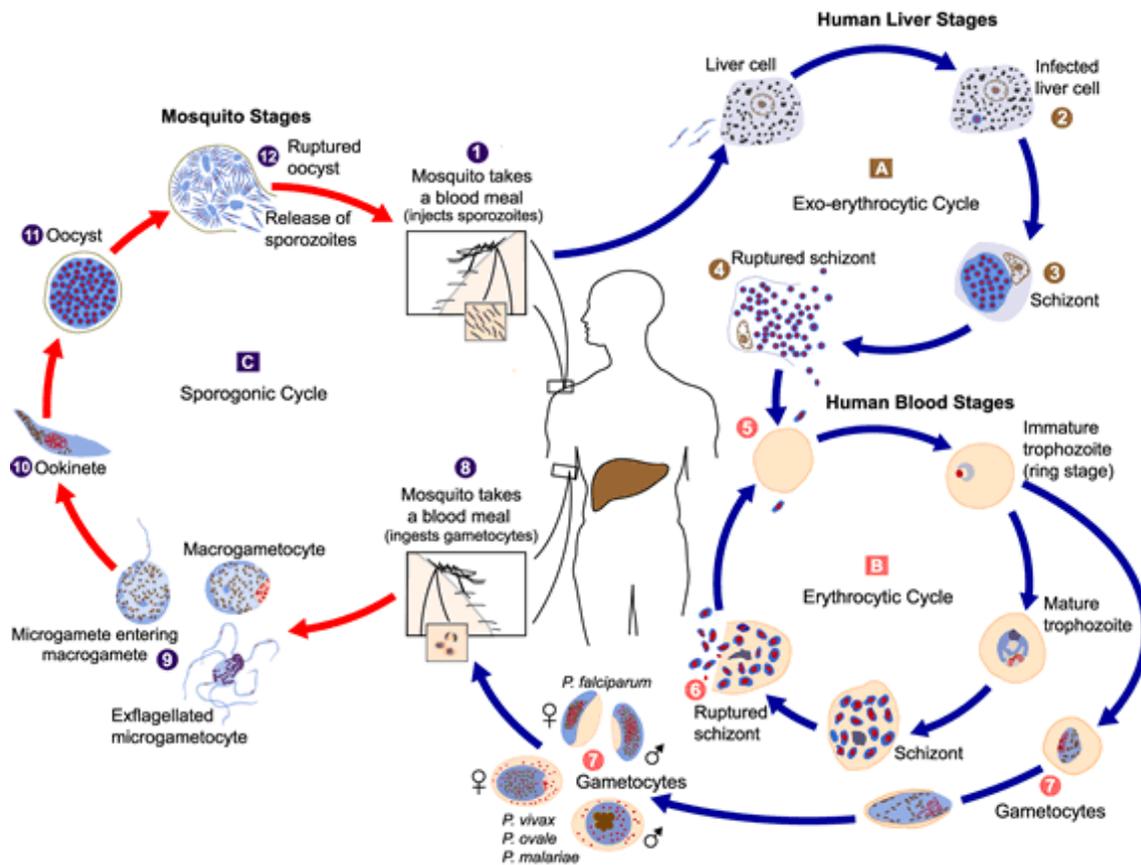
Fuente: Beutler E, Waalen J. The definition of anemia; what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? BLOOD, 2006. 107. (p 1747-1750).

Caso C.



Fuente: Beutler E, Wadefinition of anemia; what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? BLOOD, 2006. 107. (p 1747-1750).

ANEXO No. 4. Ciclo Biológico de *Plasmodium* spp.



Fuente: Laminkara AA. *et al.* Malarial anemia; of mice and men. BLOOD, 2007. 110. (p 18-28).

ANEXO No. 5. Resultados

Tabla No. 1. Frecuencia de pacientes con valores de hemoglobina, y recuento de eritrocitos por debajo del valor del rango normal en base a grupo etáreo y género durante el período comprendido del 01 de agosto del 2009 al 30 de abril del 2010 en el departamento de Chiquimula

Rango de edad	Frecuencia por género			
	Hemoglobina		Rec. Eritrocitos	
Años	F	M	F	M
0-10	4	1	1	0
11-20	2	3	1	2
21-30	1	1	1	1
31-40	2	0	2	0
41-50	2	0	2	1
51-60	0	0	0	0
61-70	1	0	1	0
71-80	0	0	0	0
Total	12	5	8	4
Porcentaje	43%	20%	28.57%	16%

Fuente: datos experimentales.

F: femenino.

M: masculino

Tabla No. 2. Frecuencia de pacientes con niveles de transferrina por debajo y por arriba del valor de rango normal y niveles de hierro sérico por debajo del valor del rango normal en base a grupo etáreo y género durante el período comprendido del 01 de agosto del 2009 al 30 de abril del 2010 en el departamento de Chiquimula

Rango de edad	Frecuencia por género					
	Transferrina baja		Transferrina alta		Hierro bajo	
	F	M	F	M	F	M
0-10	0	0	0	0	0	0
11-20	2	0	1	0	2	0
21-30	1	0	0	0	0	0
31-40	1	2	0	0	1	0
41-50	0	0	0	0	0	1
51-60	0	0	0	0	0	0
61-70	0	0	0	0	0	0
71-80	0	0	0	0	0	0
Total	4	2	0	0	3	1
Porcentaje	14.28%	8%	3.57%	0	10.71%	4%

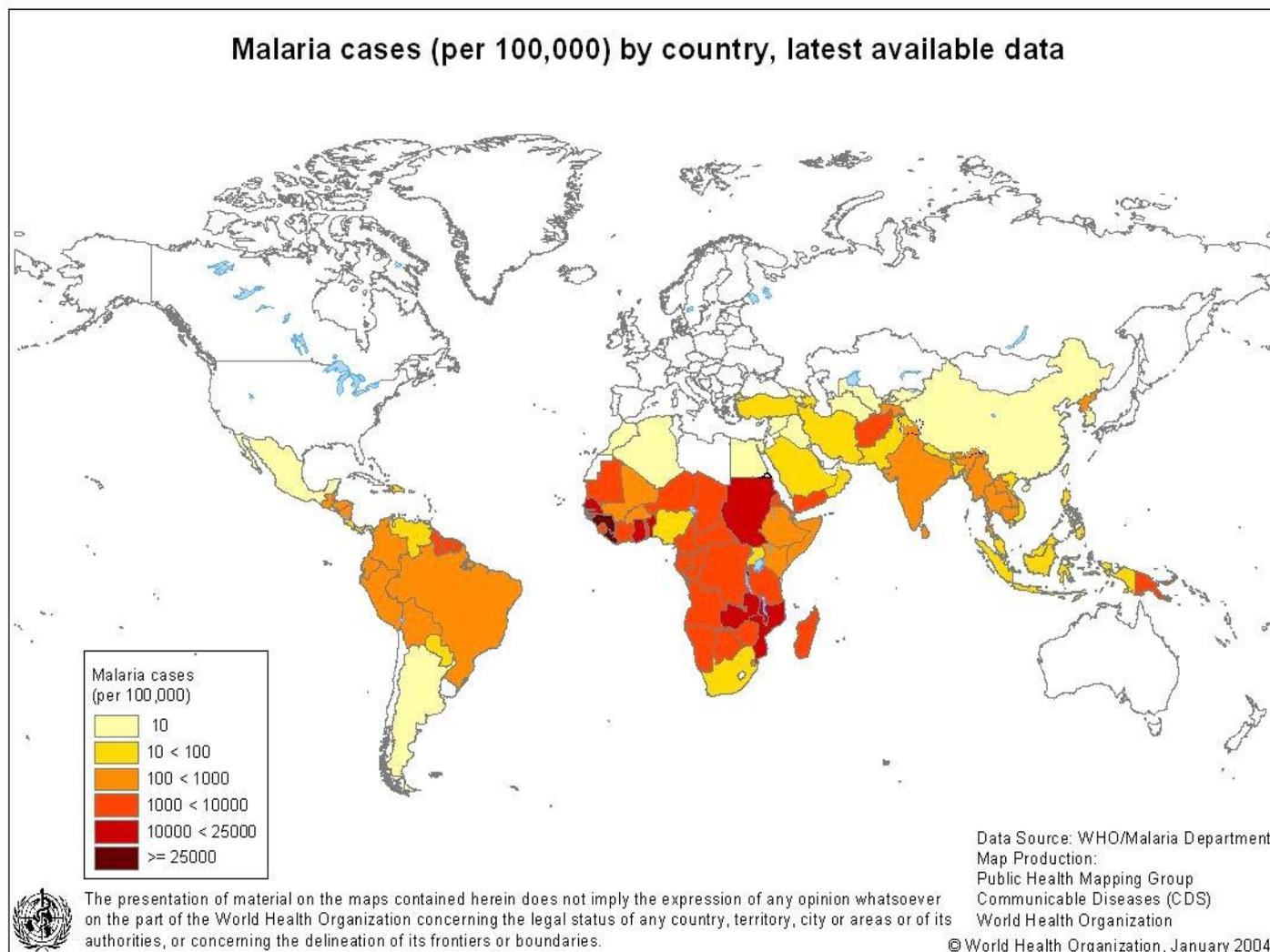
Fuente: datos experimentales.

F: femenino.

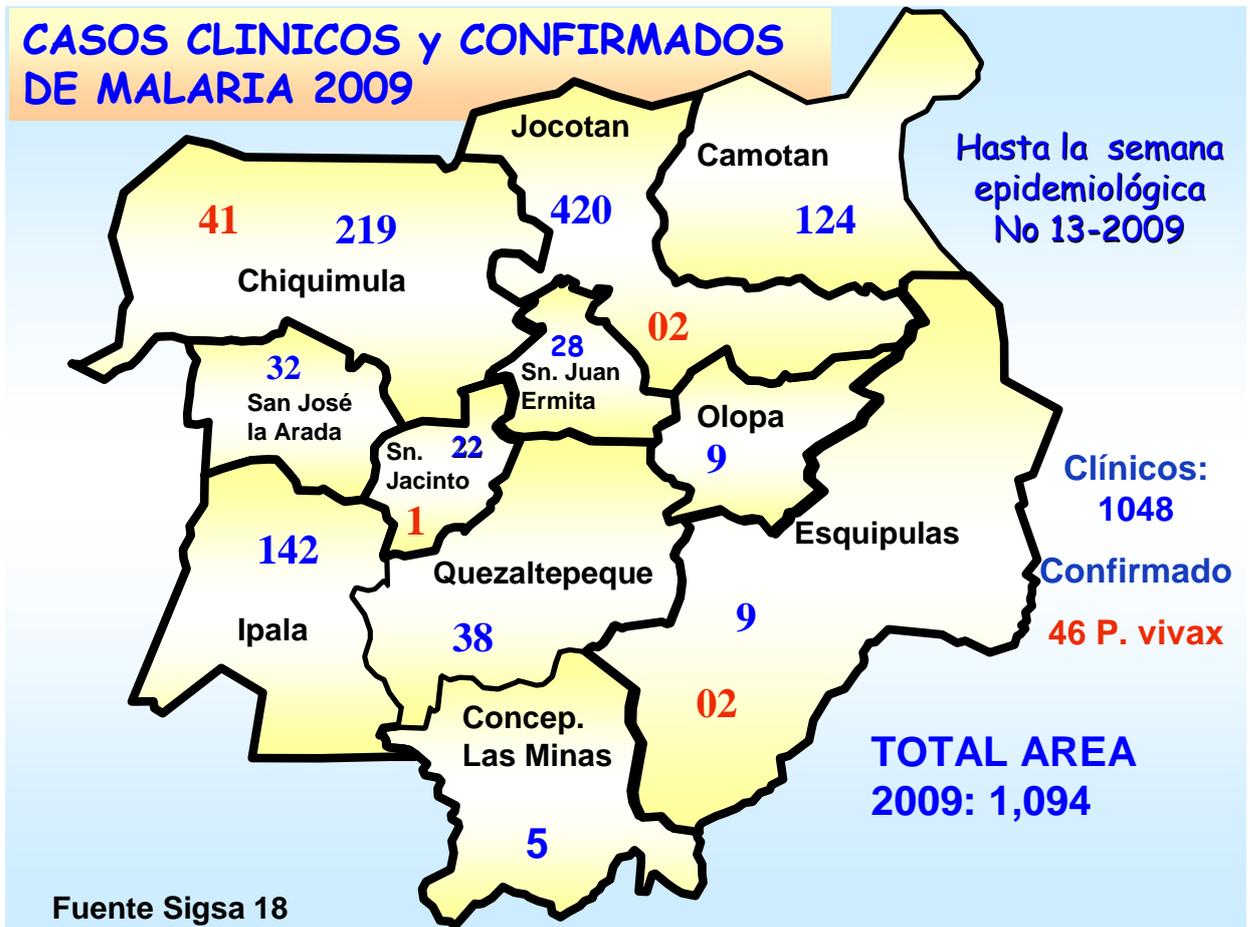
M: masculino.

ANEXO No. 6. Distribución Geográfica de la Malaria

a. Distribución Geográfica de la Malaria a Nivel Mundial



b. Distribución Geográfica de Malaria en Chiquimula



ANEXO No. 7. Consentimiento informado de cada paciente en el estudio.

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA BIOLÓGICA

CONSENTIMIENTO INFORMADO
SEMINARIO ANEMIA EN PACIENTES CON MALARIA Y SU RELACION
CON NIVELES DE HIERRO Y TRANSFERRINA SERICOS EN EL
DEPARTAMENTO DE CHIQUIMULA DURANTE UN PERIODO
ESTABLECIDO DE OCHO MESES DESDE EL 01 DE AGOSTO DEL 2009 AL
30 DE ABRIL DEL 2010

Consentimiento No. _____

Yo _____ autorizo la utilización de mi sangre y sus componentes para la investigación de Seminario titulado "Anemia en pacientes con malaria y su relación con niveles de hierro y transferrina séricos, en el departamento de Chiquimula, durante el año 2009-2010. Seminario que se llevará acabo por los estudiantes de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad San Carlos de Guatemala: Yescenia Ninneth Nova Orozco, Luisa Figueroa López, Juan José Jordán Casasola y Olga Leticia Calderón Solís.

Estoy consciente que esta participación no me causará ningún daño a mi salud.

Nombre: _____

Firma: _____

Fecha: _____

ANEXO No. 8. Cuestionario a cada paciente en el estudio.

INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

Nombre del Paciente: _____ **Edad** _____ **Género:** F M

Ocupación: _____ **Localidad de Residencia:** _____

1. ¿Ha padecido antes de malaria?

SI _____ NO _____

¿Hace cuanto? _____

2. ¿Qué medicamentos ha ingerido?

3. ¿Cuántos tiempos de comida realiza al día?

4. ¿Cuántas personas viven con usted?

5. ¿Han fumigado su casa?

SI _____ NO _____

¿Hace cuanto? _____

6. ¿Ha padecido de alguna enfermedad grave?

SI _____ NO _____

¿Cuál? _____

7. **¿Posee su casa malla protectora en puertas y ventanas?**

8. **¿Posee agua potable?**

9. **¿Posee depósitos de agua sin tapadera o lugares aptos para que permitan el crecimiento de moscas, mosquitos y zancudos?**

10. **¿Ha ingerido algún tipo de vitaminas en los últimos tres meses?**

11. **¿Ha padecido algún otro síntoma como cansancio, debilidad, falta de apetito (hambre)?**