

## ANÁLISIS DE LOS ÍNDICES HEMATIMÉTRICOS EN ANEMIAS FERROPÉNICAS ASOCIADAS A DEFICIENCIA DE ÁCIDO FÓLICO Y/O VITAMINA B12

### ANALYSIS OF HEMATIMETRIC INDICES IN FERROPENIC ANEMIA ASSOCIATED WITH DEFICIENCY OF VITAMIN B12 OR FOLIC ACID

Valeria Freccero<sup>1</sup>, Verónica Palano<sup>1</sup>, Gabriela Jurado<sup>1</sup>, Ana Gabriela Octaviano<sup>1</sup>, Silvia Mónaco<sup>1</sup>, Tomás Meroño<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Hematología-Anemias, Sección de Hematología Bioquímica, Servicio de Bioquímica, Hospital Posadas, Prov. de Bs. As., Argentina

Correspondencia: Valeria Freccero

E-mail: vfreccero@gmail.com

Presentado: 11/07/17. Aceptado: 25/07/17

Conflictos de interés: los autores declaran que no existe conflicto de interés

#### RESUMEN

**Introducción:** la deficiencia de micronutrientes, como hierro, vitamina B12 y ácido fólico, constituye una de las principales causas de anemia.

**Objetivos:** evaluar la prevalencia de deficiencia de hierro (DH) combinada a deficiencia de vitamina B12 (DB12) y/o de ácido fólico (DF), y comparar los índices hematimétricos y sus diagnósticos asociados.

**Materiales y métodos:** se realizó un análisis retrospectivo de las determinaciones del sector Anemias del Hospital Nacional "Prof. Alejandro Posadas". Los criterios de inclusión/exclusión fueron: edad >18 años, anemia ferropénica (hemoglobina <12 g/dl, pero >7 g/dl y ferritina <15 ng/ml) y pedido simultáneo de hemograma, ferritina, ácido fólico y vitamina B12. Se definió DB12 como <200 pg/ml y DF como <4 ng/ml acorde a las publicaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS).

**Resultados:** entre los 175 pacientes evaluados, 115 presentaron DH aislada (66%), 44 DH+DB12 (25%) y 16 DH+DF (9%). No hubo diferencias significativas en la edad, la proporción de mujeres, los niveles de hemoglobina, hematocrito ni en los índices hematimétricos entre los grupos estudiados ( $p>0,05$ ). Entre los diagnósticos más prevalentes se encontraron: en pacientes con DH aislada, enfermedades infecto-contagiosas; para DH+DB12, hipotiroidismo autoinmune y edad avanzada; y para DH+DF, enfermedad celíaca.

**Discusión:** los pacientes con deficiencias combinadas no presentaron alteraciones del hemograma ni de los índices hematimétricos que permitan diferenciarlas de una DH aislada. Dada la elevada prevalencia (34%) de deficiencias combinadas sería conveniente el estudio simultáneo de los niveles de ferritina, fólico y vitamina B12 en determinados grupos de pacientes tales como con hipotiroidismo autoinmune, de edad avanzada y con enfermedad celíaca, entre otros.

**Palabras clave:** anemia, deficiencia de hierro, microcitosis, vitamina B12, ácido fólico.

#### ABSTRACT

**Introduction:** one of the main causes of anemia is micronutrient deficiency (for example iron, vitamin B12 and folic acid, among others). The aim of the present study was to evaluate the prevalence of iron deficiency (ID) combined with vitamin B12 deficiency (B12D) and/or folic acid deficiency (FD), and to compare the hematimetric indices and their associated diagnoses.

**Materials and methods:** a retrospective analysis was made in the sector anemias of the Hospital Nacional "Prof. Alejandro Posadas". The inclusion/exclusion criteria were: age >18 years, ferropenic anemia (defined by: hemoglobin <12 g/dl and >7 g/dl, and ferritin <15 ng/ml), and simultaneous request of complete blood count (CBC), ferritin, folic acid and vitamin B12. B12D was defined as <200 pg/ml and FD as <4 ng/ml, according to WHO recommendations.

**Results:** among the 175 patients evaluated, 115 had isolated ID (66%), 44 ID+B12D (25%) and 16 ID+FD (9%). There were no significant differences in age, female sex, hemoglobin levels, hematocrit and the hematimetric indices between the studied groups ( $p>0.05$ ). The most prevalent diagnoses were: in patients with ID, infectious diseases; ID+B12D, autoimmune hypothyroidism and elder age; and for ID+FD, celiac disease.

**Discussion:** patients with combined deficits did not present alterations in the CBC or in the hematimetric indices that allowed them to be differentiated from isolated ID. Due to the high prevalence (34%) of combined micronutrient deficiencies, it would be convenient to simultaneously evaluate the levels of ferritin, folic acid and vitamin B12 in certain groups of patients like autoimmune hypothyroidism, elderly patients and celiac disease.

**Key words:** anemia, iron deficiency, microcytosis, vitamin B12, folic acid.

## INTRODUCCIÓN

La anemia se define como la disminución de la concentración de hemoglobina en sangre, pero no basta solamente esta determinación para definir su causa. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) la causa más frecuente de anemia es la deficiencia de hierro (DH), y ésta afecta a un 50% de la población a nivel mundial (el porcentaje varía según los grupos poblacionales, las condiciones locales y las diferentes zonas geográficas)<sup>1</sup>. Otras causas de anemia son las deficiencias de micronutrientes (ácido fólico, riboflavina, vitamina A y vitamina B12), las asociadas a los procesos crónicos (malaria, cáncer, tuberculosis, HIV, enfermedades autoinmunes, entre otras) y las patologías que afectan la síntesis de la hemoglobina (hemoglobinopatías).

La anemia por DH se asocia a deterioro en el desarrollo cognitivo y motor, fatiga y baja productividad. La deficiencia de vitamina B12 y/o ácido fólico afecta la regeneración y proliferación celular, y se asocia a anemia megaloblástica, alteraciones neurológicas como confusión o cambio en el estado mental (demencia) y, en casos graves o avanzados, a depresión, pérdida del equilibrio, hormigueo y entumecimiento de manos y pies<sup>2</sup>. Adicionalmente estas deficiencias se relacionan con defectos en el cierre del tubo neural (en fetos) y con enfermedades cardiovasculares e hiperhomocisteinemia en adultos<sup>2</sup>. En particular, se ha reportado una alta prevalencia de deficiencia de vitamina B12 en pacientes añosos<sup>3</sup>.

La deficiencia de más de un micronutriente afectaría a más de 2 millones de personas a nivel mundial<sup>2</sup>. Diversos estudios (Stott et al.<sup>4</sup>, Chui et al.<sup>5</sup>) encontraron que en pacientes con deficiencia de vitamina B12, la deficiencia concomitante de hierro presenta una prevalencia que varía entre el 6 y 34%. Asimismo Remacha et al.<sup>6</sup> hallaron que un 18% de los pacientes con deficiencia de hierro también presentaba deficiencia de vitamina B12. Más aún, Hettiarachchi et al.<sup>7</sup> reportaron que la DH incrementa un 80% el riesgo de padecer deficiencia de ácido fólico. Por lo tanto, la prevalencia de deficiencias combinadas de micronutrientes es considerable. Según la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (EN-NyS) 2007<sup>8</sup>, realizada en Argentina, el 12% de las mujeres de entre 10 y 49 años presentó deficiencia de vitamina B12, 1% deficiencia de ácido fólico y 19% deficiencia de hierro. Por tal motivo, si bien la deficiencia de ácido fólico podría considerarse de baja prevalencia en nuestro país, los datos de la EN-NyS sugieren la posibilidad de la coexistencia de DH

y vitamina B12 en un elevado número de pacientes.

Respecto de la clasificación de las anemias, la anemia por deficiencia de hierro se manifiesta como una anemia microcítica, mientras que las deficiencias de vitamina B12 y ácido fólico como macrocíticas. No obstante, existen reportes que describen pacientes con deficiencia de vitamina B12 que presentaban anemias normocíticas e inclusive microcíticas (Pahadiya et al.<sup>9</sup>, Lindenbaum et al.<sup>10</sup>, Lagarde et al.<sup>11</sup>, Chui et al.<sup>5</sup>). De hecho, se ha postulado que la DH en combinación con las deficiencias de vitamina B12 y/o ácido fólico presentarían valores de volumen corpuscular medio (VCM) dentro de los valores de referencia debido a las manifestaciones antagónicas entre cada una de ellas (Vreugdenhil et al.<sup>12</sup>).

El objetivo del presente estudio fue evaluar la prevalencia de deficiencias combinadas y comparar los índices hematimétricos entre la DH aislada (Grupo 1), la DH asociada a deficiencia de vitamina B12 (Grupo 2) y la DH asociada a deficiencia de ácido fólico (Grupo 3). Asimismo evaluamos los diagnósticos más frecuentes asociados a cada uno de los grupos evaluados.

## Población

Se realizó un análisis retrospectivo de las determinaciones del sector Hematología-Anemias del Hospital Nacional "Prof. Alejandro Posadas" durante los años 2014 y 2015. Entre las 5.477 determinaciones realizadas en el sector se observó que sólo un 6% de los pacientes tenía pedido simultáneo de ferritina, fólico y vitamina B12. Los criterios de inclusión/exclusión fueron: edad mayor de 18 años, anemia ferropénica (hemoglobina menor a 12 g/dl pero mayor a 7 g/dl, y ferritina menor a 15 ng/ml) y pedido simultáneo de hemograma, ferritina, ácido fólico y vitamina B12. De este modo, se seleccionaron 175 pacientes.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El hemograma se evaluó por autoanalizador LH 750 (Beckman-Coulter, CA, EE.UU.) y los niveles de ferritina, ácido fólico y vitamina B12 por quimioluminiscencia, autoanalizador Access (Beckman-Coulter, CA, EE.UU.). Se definió DH como ferritina menor a 15 ng/ml, deficiencia de vitamina B12 (DB12) como menor a 200 pg/ml y deficiencia de ácido fólico (DF) como menor a 4 ng/ml, acorde a las publicaciones de la OMS<sup>13</sup>.

## Análisis estadístico

Se dividieron a los pacientes en tres grupos: los que sólo tenían DH, aquellos que tenían DH asociada

a DB12 y los que presentaban DH asociada a DF. Se realizó el análisis estadístico de los resultados obtenidos utilizando análisis de la varianza paramétrico o no paramétrico (Kruskal-Wallis) y test de chi cuadrado. Se consideraron significativos aquellos test con un  $p < 0,05$  en la situación bilateral. Para el análisis estadístico se utilizó el software infostat (Grupo INFOSTAT, Universidad de Córdoba, Argentina).

## RESULTADOS

De los 175 pacientes seleccionados, 115 (66%) presentaron DH aislada, 16 (9%) DH asociada a DF y 44 (25%) DH combinada con DB12. Ninguno de los pacientes seleccionados presentó deficiencia de los tres micronutrientes simultáneamente. Como se observa en la Tabla 1 no hubo diferencias significativas en la edad, la proporción de mujeres, ni

en los niveles de hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, CHCM y ADE entre los tres grupos estudiados ( $p > 0,05$ ). Es llamativo el hecho de que el VCM fue muy similar en los tres grupos, sin observarse diferencias estadísticamente significativas (Tabla 1).

Si bien no hubo diferencias en la edad entre los tres grupos, se encontró una proporción significativamente elevada de pacientes mayores de 65 años en el grupo que presentaba DH asociada a DB12 (Figura 1).

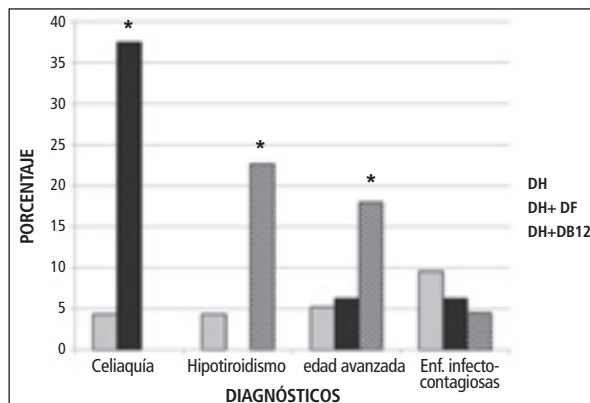
Al evaluar los diagnósticos consignados en las solicitudes médicas se obtuvieron los siguientes resultados: a) entre los pacientes con DH aislada las enfermedades infecto-contagiosas fueron el diagnóstico más prevalente; b) para DH asociada a DB12, el hipotiroidismo y edad avanzada presentaron una prevalencia considerable; c) para DH asociada a DF, la enfermedad celíaca fue la más frecuente (Figura 1).

	DH (n=115)	DH+DB12 (n=44)	DH+DF (n=16)
Edad (años)	42 (32-49)	44 (35-54)	41 (33-48)
Sexo (M/F)	17/98	7/37	2/14
Hb (g/dl)	10,1±1,6	10,1±2,1	10,5±2,1
Hto (%)	32,0±4,4	31,8±6,0	33,4±5,8
VCM (fl)	74,81±8,78	75,8±10,33	77,26±10,45
HCM (pg)	23,7 (20,9-26,7)	24,3 (20,5-27,2)	25,8 (19,1-27,0)
CHCM (g/dl)	31,9 (30,6-32,7)	31,8 (30,5-32,9)	31,4 (30,6-31,9)
ADE (%)	17,4 (14,8-20,0)	19,2 (14,9-20,9)	18,9 (14,6-22,3)
Ferritina (ng/ml)	6,5 (4,0-10,0)	6,5 (4,0-10,0)	7,0 (5,2-9,6)
Fólico (ng/ml)	11,8 (8,9-14,7)	10,6 (7,6-14,9)	3,57 (2,9-3,9)*
B12 (pg/ml)	383 (269-454)	153 (125-171)*	332 (278-360)

\*  $p < 0,05$ .

Hb: hemoglobina; Hto: hematocrito; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; ADE: ancho de la distribución eritrocitaria; M: masculino; F: femenino; DH: deficiencia de hierro; DB12: deficiencia de vitamina B12; DF: deficiencia de ácido fólico.

**Tabla 1:** Datos clínicos y resultados obtenidos en los tres grupos estudiados.



\*  $p < 0,05$ .

DH: deficiencia de hierro; DB12: deficiencia de vitamina B12; DF: deficiencia de ácido fólico. Las diferencias se evaluaron por Test de chi cuadrado utilizando la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

**Figura 1:** Diagnósticos asociados a los grupos estudiados.

## DISCUSIÓN

Uno de los resultados más importantes del presente estudio fue demostrar que las deficiencias combinadas no presentan alteraciones del hemograma ni de los índices hematimétricos que permitan diferenciarlas de una DH aislada. En segundo lugar, se observó una elevada prevalencia de las deficiencias combinadas de micronutrientes en una muestra de la población de nuestro Hospital (34%). Este porcentaje coincide con las prevalencias reportadas en la bibliografía en estudios realizados en otras poblaciones (Stott et al.<sup>4</sup>, Chui et al.<sup>5</sup>). Por tal motivo resulta crucial reconocer las patologías o causas más frecuentes asociadas a déficits combinados de micronutrientes para realizar la corrección nutricional pertinente y resolver la anemia.

En cuanto a los índices hematimétricos se observó que no hubo diferencias significativas entre los tres grupos estudiados. Más aún, al analizar el VCM se detectó que los pacientes no sólo presentan valores dentro del rango de referencia, sino que también por debajo y se hallan pacientes con anemia microcítica y deficiencias combinadas. De este modo, las deficiencias combinadas se comportan como una DH aislada. Este resultado se encuentra en contraposición con lo reportado por Pahadiya et al.<sup>9</sup>, Lindenbaum et al.<sup>10</sup>, Achebe et al.<sup>14</sup> y Vreugdenhil et al.<sup>12</sup> quienes observaron que los pacientes con deficiencias concomitantes de micronutrientes poseen un valor de VCM normal debido a los efectos antagonísticos de ambas deficiencias.

En cuanto a los diagnósticos asociados más frecuentes se detecta que existe una alta prevalencia de pacientes celíacos que presentan DH asociada a DF, al igual que lo observado por Hallert et al.<sup>15</sup>, quienes encontraron que un 85% de los pacientes celíacos no tratados (dieta libre de gluten) presentaba DF. A su vez Wierdsma et al.<sup>16</sup> describieron que un 20% de los pacientes celíacos, previo a su diagnóstico, presentaba DF. De este modo, la DF podría emerger como un marcador biológico de la enfermedad celíaca y contribuiría a la detección de esta patología cuyo diagnóstico aún resulta complejo<sup>17</sup>. Por otro lado, hallamos también un alto porcentaje de pacientes diagnosticados con hipotiroidismo autoinmune que presentaba DH y DB12. En parte este hallazgo podría relacionarse con la asociación entre autoinmunidad tiroidea y anticuerpos anti-células parietales<sup>18</sup>. Asociaciones similares se detectaron en pacientes con otras patologías de naturaleza autoinmune como diabetes tipo 1, entre otras<sup>19</sup>. No obstante, los anticuerpos anti-células parietales no se evaluaron en el presente estudio.

Entre las limitaciones del trabajo, se trata de un estudio retrospectivo y por tal motivo puede estar sesgado por la indicación médica de la determinación simultánea de los tres micronutrientes y no sólo de alguno de los tres. En parte, el pedido de los tres micronutrientes en pacientes con enfermedad celíaca forma parte de la conducta de seguimiento habitual. No obstante, en pacientes de edad avanzada e hipotiroidismo autoinmune no existe recomendación clara. Por tal motivo, estimamos que la muestra analizada es representativa de la población de pacientes que se atiende en nuestro Hospital.

## CONCLUSIONES

En conclusión, los pacientes que padecen anemia ferropénica pueden tener asociada alguna deficiencia de otros micronutrientes debido a diversos factores: desde un estado nutricional deteriorado (baja ingesta de carnes, lácteos, y sus derivados, etc) hasta una disminución de la absorción a nivel gastrointestinal (desde autoinmunidad hasta disminución de la producción de ácido estomacal en pacientes añosos). Por tal motivo resultaría útil evaluar simultáneamente los niveles de ferritina, fólico y vitamina B12 en determinados grupos de pacientes. En el presente estudio, las poblaciones de riesgo identificadas fueron aquellas con hipotiroidismo autoinmune, enfermedad celíaca y edad avanzada. El estudio de un número mayor de pacientes permitiría

una sistematización del rastillaje para las deficiencias combinadas.

### AGRADECIMIENTOS

*Los autores agradecemos al Bioq. Juan María García; a la Jefa de Residentes del Hospital Posadas, Bioq. Daniela Cantarella; a la Jefa del Servicio, Dra. Silvia Balconi; y a la Dra. Liliana Alonso. Asimismo reconocemos y agradecemos a todo el personal técnico del Laboratorio Central del Hospital Posadas por su trabajo de cada día.*

### REFERENCIAS

1. OMS. The global prevalence of anaemia in 2011. Geneva: World Health Organization; 2015.
2. OMS. Evaluating the public health significance of micronutrient malnutrition. Part II. Geneva: World Health Organization; 2015.
3. Sánchez H, Albala C, Hertrampf E, y col. Prevalence of vitamin B-12 deficiency in older adults. *Rev Med Chile* 2010; 138: 44-52.
4. Stott DJ, Langhorne P, Hendry A, et al. Prevalence and haemopoietic effects of low serum vitamin B12 levels in geriatric medical patients. *British Journal of Nutrition* 1997; 78:57-63.
5. Chui CH, Lau FY, Wong R, et al. Vitamin B12 deficiency-need for a new guideline. *Nutrition* 2001; 17:917-920.
6. Remacha A, Sardà MP, Canals C, et al. Combined cobalamin and iron deficiency anemia: a diagnostic approach using a model based on age and homocysteine assessment. *Ann Hematol* 2013; 92:527-531.
7. Hettiarachchi M, Liyanage C, Wickremasinghe R, Hilmers DC, Abrahams SA. Prevalence and severity of micronutrient deficiency: a cross-sectional study among adolescents in Sri Lanka. *Asia Pac J Clin Nutr* 2006; 15 (1):56-63.
8. Encuesta Nacional de Nutrición y Salud (ENNyS), 2005. Ministerio de Salud de la Nación; 2007.
9. Pahadiya HR, Lakhotia M, Choudhary S, Prajapati GR, Pradhan S. Reversible ecchymosis and hyperpigmented lesions: A rare presentation of dietary vitamin B12 deficiency. *Journal of Family Medicine and Primary Care* 2016; 5: 485-487.
10. Lindenbaum J, Healton EB, Savage DG, et al. Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *The New England Journal of Medicine* 1988; 318:1720-1728.
11. Lagarde S, Jovenin N, Diebold MD, et al. Is there any relationship between pernicious anemia and iron deficiency? *Gastroentérologie Clinique et Biologique* 2006; 30(11):1245-1249.
12. Vreugdenhil G, Wognum AW, van Eijk HG, Swaak AJ. Anaemia in rheumatoid arthritis: the role of iron, vitamin B12, and folic acid deficiency, and erythropoietin responsiveness. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1990; 49: 93-98.
13. WHO. Conclusions of a WHO Technical Consultation on folate and vitamin B12 deficiencies. *Food and Nutrition Bulletin* 2008; 29: S238-44.
14. Achebe MM, Gafter-Gvili A. How I treat anemia in pregnancy: iron, cobalamin and folate. *Blood* 2017; 129:940-949.
15. Hallert C, Tobiasson P, Walan A. Serum folate determinations in tracing adult celiacs. *Scand J Gastroenterol* 1981; 16(2):263-267.
16. Wierdsma NJ, van Bokhorst-de van der Schueren MA, Berkenpas M, Mulder CJ, van Bodegraven AA. Vitamin and mineral deficiencies are highly prevalent in newly diagnosed celiac disease patients. *Nutrients* 2013; 5(10): 3975-3992.
17. Ponziani FR, Cazzato IA, Danese S, et al. Folate in gastrointestinal health and disease. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2012; 16:376-385.
18. Nardi N, Brito-Zerón P, Ramos-Casals M, et al. Circulating auto-antibodies against nuclear and non-nuclear antigens in primary Sjögren's syndrome: prevalence and clinical significance in 335 patients. *Clin Rheumatol* 2006; 25(3):341-346.
19. De Block CE, De Leeuw I, Van Gaal L. High prevalence of manifestations of gastric autoimmunity in parietal cell antibody-positive type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1999; 84: 4062-4067.