

Eritroenzimopatías hereditarias

J.-L. VIVES CORRONS

Unidad de Patología Eritrocitaria. Hospital Clínic i Provincial. Universidad de Barcelona

Introducción

La maduración eritroblástica conlleva la desaparición de prácticamente todas las vías metabólicas propias de cualquier otra célula del organismo, quedando únicamente las imprescindibles para mantener el aporte de energía y la defensa frente a los agentes oxidantes. Por ello, su única fuente energética es la glicolisis anaerobia que, aunque exigua, es suficiente para que el eritrocito pueda permanecer unos 120 días en la circulación, que es su tiempo de vida normal.

Las mutaciones genéticas causantes de eritroenzimopatías suelen ir asociadas a tres fenotipos fundamentales: a) síndrome hemolítico con anemia, b) cianosis con metahemoglobinemia o c) eritrocitosis. En algunas enzimopatías muy raras, puede existir también afectación sistémica consistente en trastornos neurológicos, asociados o no a retraso mental, miopatía e infecciones. La gran mayoría de estas mutaciones son esporádicas y su manifestación clínica fundamental es la anemia hemolítica crónica. Otras son endémicas y prácticamente siempre carecen de expresividad clínica. Ejemplo de ello es el déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD), cuya prevalencia viene determinada por la selección genética causada por el paludismo endémico. Las eritroenzimopatías de mayor impacto clínico, además del déficit de G6PD, representativa del metabolismo antioxidante, son el déficit de piruvato cinasa (PK), representativa de la glicolisis anaerobia, el déficit de pirimidina 5' nucleotidasa, representativa del metabolismo nucleotídico y el déficit de citocromo b5 reductasa o diaforasa, representativa del sistema protector de la hemoglobina. Mucho más raras son las que cursan con neuropatía grave y muerte del paciente antes de alcanzar la pubertad (déficit de triosafosfato isomerasa) o con eritrocitosis (déficit de fosfoglucomutasa e hiperactividad adenosinadeaminasa), de interés en el diagnóstico diferencial de la policitemia vera. Finalmente, se hará referencia a recientes avances en el conocimiento de las funciones no enzimáticas de algunas enzimas de la glicolisis y que contribuyen a explicar su expresividad no hematológica y las limitaciones de los procedimientos a nuestro alcance para el diagnóstico de estas enfermedades.

Eritroenzimopatías con hemólisis exclusivamente

Déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD)

La G6PD es una enzima codificada por un gen situado en el cromosoma X y cataliza la primera reacción de la llamada vía de las pentosas-fosfato (Figura 1).

Se halla presente en todas las células del organismo y su función primordial es proteger las proteínas del eritrocito frente a la oxidación. Esta acción protectora la realiza mediante formación de NADPH, un metabolito utilizado para la reducción del glutatión (GSH). De hecho, es el GSH quien en realidad ejerce la acción protectora evitando la desnaturalización de la hemoglobina y la formación de cuerpos de Heinz. El déficit de G6PD se transmite hereditariamente ligado al sexo. Mientras que en los varones sólo puede darse la afectación del único cromosoma X (hemicigoto), en las mujeres pueden existir dos situaciones diferentes: 1) afectación de ambos cromosomas X (homocigoto o doble heterocigoto) y 2) afectación de un solo cromosoma (heterocigoto). En el primer caso, el comportamiento clínico es superponible al del estado hemicigoto y en el segundo depende del tipo e inactivación cromosómica producida durante el desarrollo (fenómeno de Lyon). Si se inactiva el cromosoma X normal, la actividad de G6PD es de 0% y el comportamiento clínico es superponible al estado hemicigoto, mientras que si se inactiva el cromosoma portador del déficit, la actividad G6PD es normal, con lo que en esta situación es prácticamente imposible detectar la existencia de enzimopatía.

Prevalencia y polimorfismo genético

El déficit de G6PD afecta a más de 400 millones de individuos en todo el mundo, por lo que se la considera la enzimopatía más frecuente en el ser humano¹. Su prevalencia varía según la etnia y distribución geográfica, siendo especialmente elevada en individuos de origen africano (regiones subsaharianas), asiático y sur de Europa (región mediterránea). En España la prevalencia del déficit de G6PD se desconoce, aunque se la sitúa alrededor del 1%². Un estudio muy reciente realizado sobre un total de 1.560 muestras de población

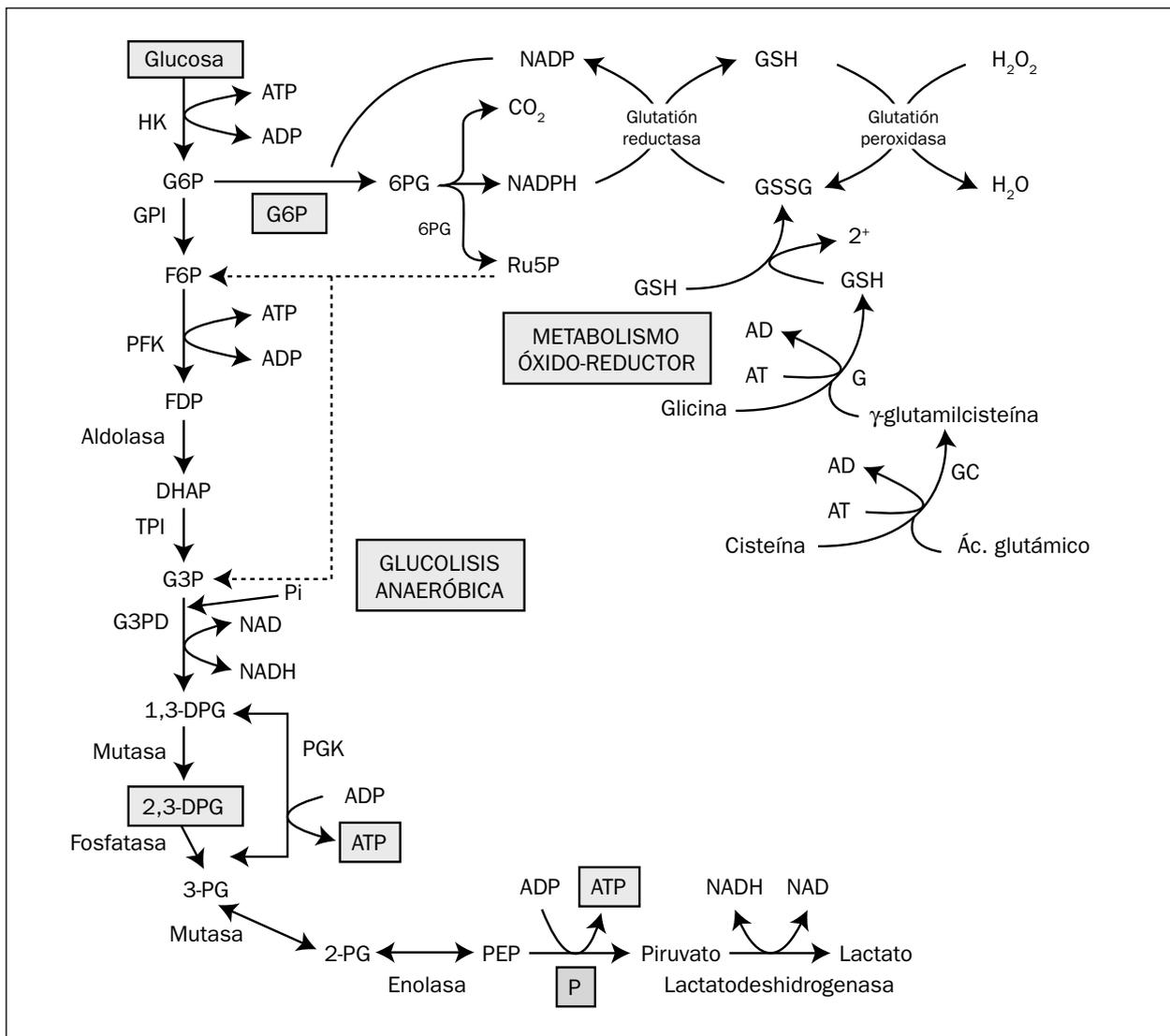


Figure 1. Esquema general del metabolismo eritrocitario.

neonatal de Cataluña ha demostrado que un 0,2% de la población autóctona y un 1,6% de la población inmigrada son portadoras, respectivamente, de un déficit de G6PD⁵. Ello pone de relieve la elevada prevalencia de esta enzimopatía en nuestro país, superior a la que se había estimado hasta la actualidad. La relación entre el déficit de G6PD y el paludismo parece quedar demostrada por el hecho de que las poblaciones con elevada prevalencia del mismo coinciden con aquellas en las que existe, o ha existido, paludismo endémico⁴. De ello se ha deducido que el déficit de G6PD ejerce un efecto protector contra la malaria y, aunque el mecanismo íntimo del mismo aún se desconoce⁵, se han considerado tres posibilidades: a) la dificultad del parásito en atravesar la membrana, b) el efecto inhibitorio de la enzimopatía sobre el crecimiento del parásito o c) la eliminación prematura de los eritrocitos infectados. Lo más probable es que las alteraciones de

membrana inducidas por el parásito en eritrocitos infectados faciliten un envejecimiento prematuro y su eliminación precoz a nivel del bazo⁶. Una de las características más destacadas del déficit de G6PD es su elevado polimorfismo genético, demostrado mediante estudios sistematizados de sus propiedades moleculares y de cinética enzimática empleando el método estandarizado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1967⁷. Ello ha permitido clasificar las variantes fenotípicas del déficit de G6PD en tres grandes grupos (Tabla 1). En el grupo 1, la enzimopatía cursa con un síndrome hemolítico crónico de intensidad variable. Se trata de variantes muy raras y, por tanto, de hallazgo esporádico. En algunas de ellas la hemólisis se asocia a infecciones de repetición debido a un defecto funcional de los granulocitos neutrófilos similar al de la enfermedad granulomatosa crónica⁸. En el grupo 2, la enzimopatía es asintomática

Tabla 1. Clasificación clínico-molecular de las variantes deficientes de G6PD (OMS, 1967)

Grupo o clase	Actividad eritrocitos (%)	Actividad leucocitos (%)	Expresividad clínica	Ejemplo
TIPO 1	0	0	Anemia hemolítica crónica Infecciones de repetición	Variantes raras G6PD Barcelona
TIPO 2	0-5	20-60	Asintomáticas o anemia aguda medicamentosa Favismo	Variantes mediterráneas G6PD Mediterránea Variantes asiáticas G6PD Canton
	5-15	60-80	Asintomáticas o anemia aguda medicamentosa Favismo	Variantes africanas G6PD A- G6PD BÉTICA (A-)
TIPO 3	100	100	Asintomáticas	Enzimas normales G6PD B+ y G6PD A+
	130	150	Asintomáticas	Variantes hiperactivas G6PPD Hecktoen

hasta que el portador entra en contacto con un agente oxidante, en cuyo caso aparece una hemolisis aguda con hemoglobinuria (orinas oscuras) y recuperación espontánea en dos o tres días. Las variantes de este grupo afectan preferentemente a individuos de raza negra, asiática o caucásica del litoral mediterráneo y se caracterizan por una actividad G6PD eritrocitaria muy disminuida (<1%) con hemolisis aguda desencadenada por la ingesta de medicamentos o habas (favismo). Entre ellas, destacan las “variantes mediterráneas” (G6PD mediterránea y similares), las diferentes variantes de G6PD A-(202 G→A, 680 G→T y 968 T→C) y la G6PD Canton. En el grupo 3, las variantes muestran actividad normal y, por tanto, son asintomáticas (G6PD A+ de la raza negra, G6PD B+ de la raza blanca y G6PD Hektoen). La variante G6PD Hektoen presenta una actividad varias veces superior a la normal.

Biología molecular

El gen de la G6PD consta de 13 exones con sus correspondientes intrones y su clonación ha permitido identificar la mutación implicada en muchas de las variantes previamente descritas de acuerdo con el procedimiento de la OMS. Con ello se ha demostrado que muchas de ellas, consideradas como diferentes, son en realidad la misma, y viceversa. Asimismo, estos estudios han demostrado que la variante G6PD A+ es el resultado de una mutación (376 A→G) del gen G6PD B+ (enzima B normal) y que todas las variantes deficientes G6PDA- son debidas a una segunda mutación en el gen de la G6PD A+. Es por ello que todas las variantes de G6PD A- muestran siempre dos mutaciones, una constante y común a la de la variante G6PD A+ (376 A→G) y otra variable de la que, hasta el momento, se han descrito cuatro formas diferentes: 202 G→A (90% de los casos), 680 G→T y

968 T→C (9%) y 95 G→A (1%) (Figura 2). La variante G6PD Mediterránea presenta una mutación característica (563 C→T), que difiere de las otras variantes halladas también en el área mediterránea como, por ejemplo, la G6PD Seattle (Tabla 2). El conocimiento de la mutación en estas variantes comunes de G6PD, permite estandarizar un procedimiento para su identificación, en caso de déficit de G6PD, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se sabe también que mientras las mutaciones del grupo 1 se aglutinan en torno a la región de fijación del NADP, las del grupo 2 se hallan dispersas por todo el gen. En la Figura 3 se indican algunas de las mutaciones descritas en el gen de la G6PD, así como las que se han encontrado en España.

Manifestaciones clínicas

Tanto en varones hemocigotos como mujeres homocigotas, la expresividad clínica viene siempre con-

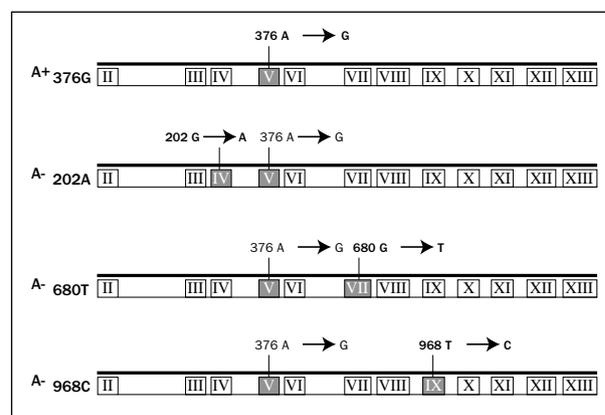


Figura 2. Diferentes genotipos de la variante deficitaria G6PD A-.

Tabla 2. Mutaciones genéticas más frecuentes de déficit de G6PD

Variantes G6PD	Mutación	Substitución
Mediterráneas		
G6PD Mediterránea	563 C→T	188 Ser→Phe
G6PD Seattle	844 G→C	282 Asp→His
Africanas		
G6PD A+	376 A→G	126 Asn→Asp
G6PD A-	376 A→G	126 Asn→Asp
	202 G→A	68 Val→Met
	680 G→T	227 Arg→Leu
	968 T→C	323 Leu→Pro
	95 A→G	32 His→Arg
Asiáticas		
G6PD Canton	1376 G→T	459 Arg→Leu

dicionada por el contacto con agentes oxidantes, mientras que las portadoras heterocigotas suelen ser asintomáticas. En consecuencia, puede considerarse que el déficit de G6PD es una enzimopatía asintomática, ya que individuos portadores y potencialmente sensibles a los agentes oxidantes (hemicigotas y homocigotas), pueden pasar toda su existencia sin saberlo. Cuando aparece, la manifestación clínica, suele ser una crisis de hemolisis, generalmente intensa y acompañada de hemoglobinuria. Esta crisis puede aparecer en cualquier momento de la vida, especialmente cuando el individuo se expone a la acción de ciertos medicamentos (Tabla 3), infecciones o después de la ingesta de habas (favismo). El favismo puede presentarse a cualquier edad, aunque presenta predilección por los niños menores de 5 años y

se atribuye al efecto intensamente oxidante de ciertos derivados de las habas (divicina e isouramilo) metabolizados por el hígado. Igualmente, el efecto de los agentes oxidantes puede agravar la anemia en pacientes con déficit de G6PD y hemolisis crónica. Las crisis hemolíticas suelen autolimitarse por la eliminación de los eritrocitos más viejos (con menor actividad G6PD) y la entrada masiva en la sangre de una población eritrocitaria muy joven (reticulocitos), cuya actividad G6PD es varias veces superior a la de los eritrocitos maduros.

Diagnóstico

El diagnóstico del déficit de G6PD debe ser siempre cuantitativo y para ello es imprescindible el uso de un fotocolorímetro o espectrofotómetro⁹. Durante la fase de crisis hemolítica, no obstante, pueden observarse alteraciones morfológicas eritrocitarias útiles en el diagnóstico precoz de la enzimopatía. Entre ellas, destaca la excentrocitosis o desplazamiento anómalo de la hemoglobina, por la cual ésta se concentra en un extremo del eritrocito (Figura 4). Aunque no pueden considerarse específicas, estas alteraciones morfológicas ponen de manifiesto una agresión oxidativa del eritrocito y generalmente desaparecen poco después de iniciada la crisis de hemolisis, por lo que sólo pueden apreciarse en fases muy iniciales del proceso. Al valorar el resultado de la actividad enzimática, debe tenerse muy en cuenta la concentración de reticulocitos, ya que dada su elevada actividad G6PD pueden enmascarar el resultado (falso negativo). Igualmente, pueden surgir problemas diagnósticos en mujeres portadoras heterocigotas en las que, debido al efecto de inactivación cromosómica aleatoria (fenómeno

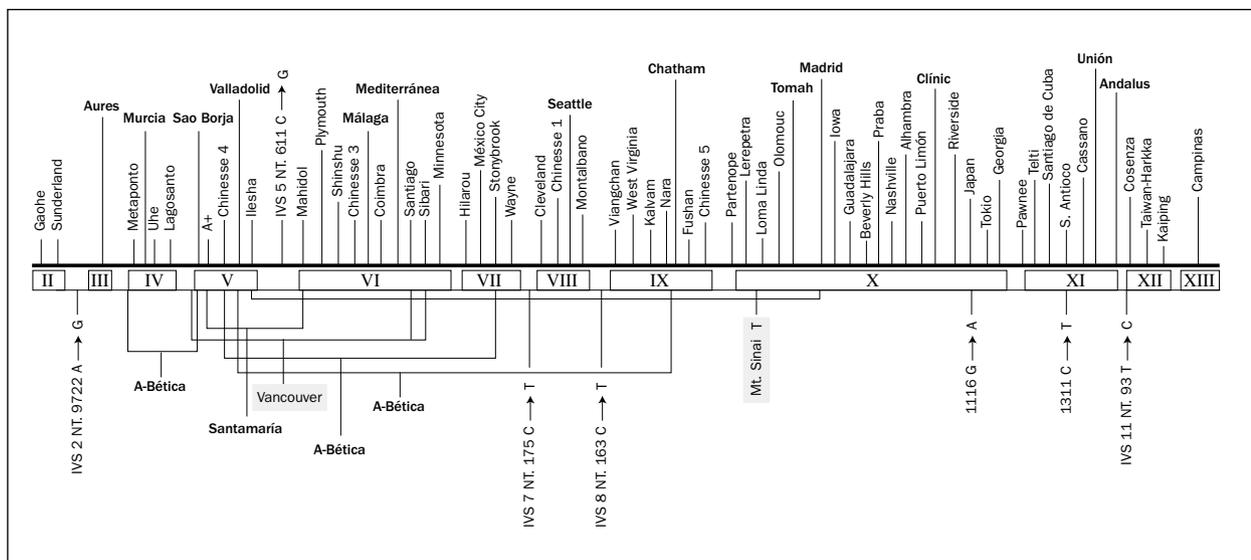


Figure 3. Algunas de las mutaciones descritas en el gen de la G6PD. En negrita se representan las descritas en España.

Tabla 3. Sustancias que pueden causar anemia en el déficit de G6PD

ANALGÉSICOS/ANTIPIRÉTICOS	MISCELÁNEA
Acetanilida	Alfa-metildopa
Acetofenitidina (fenacetina)	Ácido ascórbico (vitamina C)
Amidopirina (aminopirina)	Dimercaprol (BAL)
Antipirina	Hidralazina
Aspirina	Mestranol
Fenacetina	Azul de metileno
Probenicid	Ácido nalidíxico
Piramidón	Naftaleno
ANTIPALÚDICOS	Niridazol
Cloroquina	Fenilhidrazina
Hidroxicloroquina	Piridio
Mepacrina (quinacrina)	Quinina
Pamaquina	Azul de toluidina
Pentaquina	Trinitrotolueno
Primaquina	Uratoxidasa
Quinina	Vitamina K soluble
Quinocida	CITOTÓXICOS/ANTIBACTERIANOS
AGENTES CARDIOVASCULARES	Cloramfenicol
Procainamida	Cotrimoxazol
Quinidina	Furazolidona
SULFONAMIDAS/SULFONAS	
Dapsona	Ácido nalidíxico
Sulfacetamida	Neoarsfenamina
Sulfametoxipirimidina	Nitrofurantoína
Sulfanilamida	Nitrofurazona
Sulfapiridina	PAS
Sulfasalazina	Ácido paraaminosalicílico
Sulfisoxazol	HABAS (favismo)

de Lyon) la actividad G6PD sea normal o muy levemente disminuida. En este caso, si mediante el estudio familiar no puede establecerse el carácter de portadora forzosa, no queda otra alternativa que recurrir al empleo de la biología molecular (PCR o secuenciación del gen G6PD).

Tratamiento

El déficit de G6PD carece de tratamiento etiológico y siempre debe ser paliativo, a base de transfusiones sanguíneas cuando sean necesarias. El mejor tratamiento es el preventivo, evitando en lo posible el contacto del paciente con agentes potencialmente oxidantes (medicamentos y habas). En el caso de los medicamentos

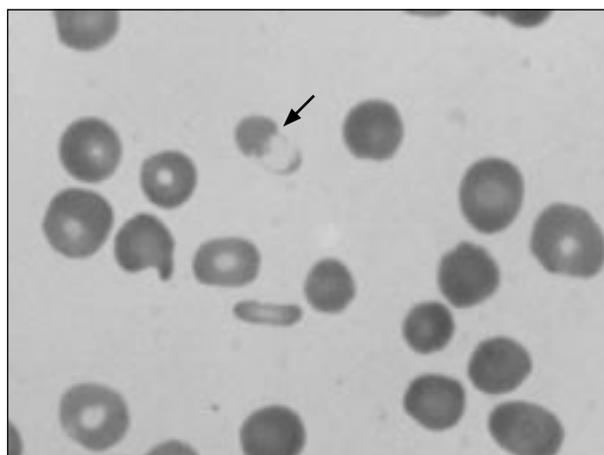


Figure 4. Imagen de un excentrocito (flecha). Apréciase la distribución irregular de la hemoglobina y la existencia de un fragmento de citoplasma eritrocitario totalmente desprovisto de ella.

con efecto oxidante bien conocido pueden utilizarse siempre que la situación lo requiera, procurando no sobrepasar las dosis terapéuticas. En caso de anemia crónica, el tratamiento no difiere del de otras eritroenzimopatías como, por ejemplo, el déficit de PK), siendo la esplenectomía parcialmente eficaz.

Déficit de piruvato cinasa (PK)

La PK es una enzima clave de la glicolisis anaerobia, cuya reacción catalítica produce una molécula de ATP (Figura 1). En el ser humano normal, la PK se halla bajo cuatro formas moleculares diferentes (isoenzimas) que se originan por maduración alternativa de dos genes (PK LR y PK M) con variable expresión en los diferentes tejidos del organismo⁹. El gen PK LR codifica la síntesis de la isoenzima eritrocitaria (PK R) y hepática (PK L), y el gen PK M la de la isoenzima leucocitaria (PK M2), presente también en plaquetas, eritroblastos y tejido nervioso. La PK muscular (PK M1) deriva también del mismo gen PK M por mecanismo de transcripción alternativa (Figura 5). Es reseñable que en el proceso de maduración eritrocitaria, la PK M2 de los eritroblastos es gradualmente reemplazada por la PK R hasta su completa desaparición, habiéndose descrito un único caso de persistencia hereditaria de la PK M2 en los eritrocitos maduros e hiperactividad PK¹⁰. El déficit de PK es la causa más frecuente de anemia hemolítica crónica hereditaria después de la esferocitosis hereditaria (EH) y fue descrita por vez primera en el año 1961 por Valentine, Tanaka y Miwa¹¹. Ello supuso el inicio de la eritroenzimopatología como causa de la llamada “anemia hemolítica crónica no esferocítica (AHCNE)”, término utilizado durante muchos

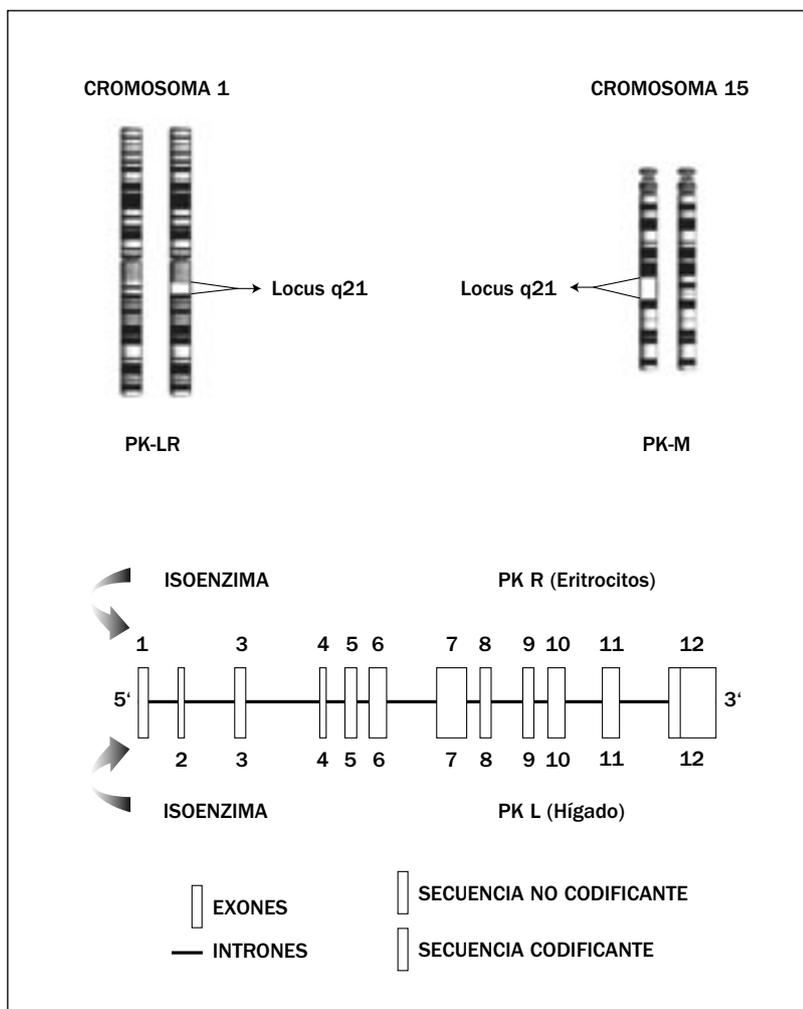


Figure 5. Mecanismo de síntesis de la piruvato cinasa (PK) humana. Arriba: genes cromosómicos implicados en la síntesis de las dos formas de PK: PK-LR (hepática y eritrocitaria) y PK-M (leucocitaria y muscular); abajo: mecanismo de transcripción alternativa (expresión selectiva de exones) en la síntesis de las isoenzimas eritrocitaria (PK R) y hepática (PK L) a partir de un mismo gen (PK-LR).

años para referirse a todas aquellas formas de anemia hemolítica de origen hereditario no debidas a EH, pero de etiología desconocida.

Prevalencia

El déficit hereditario de PK eritrocitaria se transmite con carácter autosómico recesivo y hasta la actualidad se han descrito más de 400 casos distribuidos por toda la geografía mundial. Su prevalencia real se desconoce, pero se sabe que muestra cierta predilección por poblaciones caucásicas del norte europeo y asiáticas. Los únicos estudios sobre prevalencia realizados hasta la actualidad provienen de Alemania donde ésta se estima en un 1%, aproximadamente, y de Hong Kong, donde se sitúa alrededor del 3%. En el Reino Unido se ha calculado una incidencia de 3,2 casos por millón de habitantes y en EE UU se ha localizado una elevada frecuencia de déficit de PK en la población amish de Pensilvania¹. En España, no existen datos orientativos, pero según los hallazgos de pacientes afectos de la enzimopatía, ésta no parecer ser excepcional¹². Aunque experimentalmente se ha de-

mostrado que el déficit de PK protege contra la malaria, ello no ha sido posible en humanos por lo que, a diferencia del déficit de G6PD, no muestra predilección por aquellas zonas geográficas con paludismo endémico presente o pasado².

Fisiopatología y mecanismo molecular

El mecanismo fisiopatológico de la hemólisis en el déficit de PK se desconoce. Aunque históricamente se atribuye a un descenso de la concentración de ATP eritrocitario secundario al bloqueo metabólico, ni los eritrocitos con déficit de PK muestran un descenso real del ATP ni situaciones con intensa disminución del ATP eritrocitario cursan con hemólisis. Algo mejor conocido es el mecanismo molecular de la enzimopatía, ya que, hasta la actualidad, se han descrito más de 100 mutaciones diferentes del gen PK LR con importante disminución de actividad PK R. En la Figura 6 se señala la situación en la molécula de PK de las principales mutaciones descritas en nuestro país. Todas estas mutaciones afectan, preferentemente, regiones exónicas del gen PK LR¹² y,



Figura 6. Imagen obtenida por ordenador de la molécula de PK con indicación de la situación de las mutaciones descritas en España.

aunque se han estudiado de muy diferente forma, aún no se ha podido establecer una correlación evidente entre el tipo de mutación y la intensidad de la hemólisis¹³. Un hallazgo interesante es que la extirpación del bazo en pacientes con déficit de PK produce un descenso de la intensidad de la hemólisis y de la anemia, pero un gran aumento de reticulocitos circulantes, muy superior al observado antes de la esplenectomía. Este fenómeno se atribuye a que el bazo realiza una eliminación selectiva de reticulocitos con déficit de PK, cuyo mecanismo se desconoce.

El estudio de la eritropoyesis a partir de cultivos de progenitores hematopoyéticos esplénicos en estos pacientes ha demostrado que la enzimopatía no sólo disminuye la vida de los eritrocitos, sino también la de sus precursores (eritroblastos), lo que presupone la inducción de una apoptosis o muerte celular prematura¹⁴. La demostración de un fenómeno similar en la médula ósea sería de gran interés para explicar el elevado polimorfismo clínico presente en los pacientes con déficit de PK, ya que constituiría una prueba de que el déficit de PK actúa no solamente sobre el eritrocito maduro, sino también sobre sus precursores, alterando su maduración.

Manifestaciones clínicas

En su forma heterocigota, el déficit de PK suele carecer de expresividad clínica, aunque se han descrito casos con antecedente de hemólisis neonatal o acompañando a situaciones de estrés como, por ejemplo, infecciones, enfermedades metabólicas y embarazo¹.

Aunque se considera que los medicamentos no ejercen acción alguna en el déficit de PK, se ha observado una agudización de la hemólisis tras la ingesta de anovulatorios orales. Clínicamente, el déficit de PK es muy variable y puede presentarse bajo forma de hemólisis bien compensada o de un síndrome hemolítico crónico con anemia grave y requerimiento transfusional. En este último caso, la ictericia y esplenomegalia suelen ser muy evidentes, al igual que las complicaciones del síndrome hemolítico crónico como, por ejemplo, litiasis biliar, úlceras maleolares, y las crisis de eritroblastopenia secundarias a infección intercurrente por el parvovirus humano B19. Estos pacientes son siempre portadores de dos alelos mutados, idénticos (homocigotos) o diferentes (doble heterocigotos) y excepcionalmente de uno solo (heterocigotos).

Diagnóstico

Al igual que en otras eritroenzimopatías, las alteraciones morfológicas de los eritrocitos, si existen, son inespecíficas, aunque en algún caso se ha observado la presencia de equinocitos. Al igual que en el déficit de G6PD, el diagnóstico requiere siempre la demostración de la disminución de actividad PK en los eritrocitos. Con todo, éste no siempre resulta fácil por tres razones fundamentales: 1) el aumento de reticulocitos, con actividad PK muy superior a la de los eritrocitos maduros, hace que el valor sea superior al que corresponde al déficit enzimático, con lo que éste puede pasar desapercibido; 2) la contaminación del hemolizado por leucocitos cuya actividad PK es normal, ejercería un efecto similar al de los reticulocitos, y 3) el empleo de una única concentración de sustrato para medir la actividad de la enzima impide detectar variantes de muy baja afinidad. El primer inconveniente puede prevenirse analizando el cociente PK/HK. Dado que la enzima hexocinasa (HK) muestra también una actividad muy aumentada en caso de reticulocitosis, en caso de déficit de PK existe una disminución proporcional del cociente PK/HK. El segundo, puede prevenirse realizando el análisis a partir de eritrocitos libres de contaminación leucocitaria y, finalmente, el tercero puede evitarse empleando diferentes concentraciones de sustrato.

El diagnóstico del déficit de PK es, por tanto, un procedimiento relativamente simple pero delicado, ya que existen numerosas variables que pueden alterar el resultado. Es por ello que este diagnóstico requiere prácticamente siempre el concurso de laboratorios especializados y con la metodología necesaria para determinar con precisión la actividad PK y realizar, en caso necesario, estudios genéticos y moleculares⁹.

Tratamiento

El déficit de PK carece de tratamiento y en pacientes con anemia muy intensa y requerimiento transfusional frecuente, la esplenectomía suele seguirse de cierto aumento de la concentración de hemoglobina. Así, aunque el beneficio de la esplenectomía no es nunca tan espectacular como el que se observa en la esferocitosis hereditaria, puede suponer un aumento de 10 a 20 g/L de la concentración de la hemoglobina, lo que muchas veces es suficiente para disminuir o incluso suprimir la necesidad de transfusiones. En niños la esplenectomía es aconsejable practicarla pasados los tres años de edad al objeto de disminuir el riesgo de infecciones.

Déficit de pirimidina 5' nucleotidasa

La pirimidina 5' nucleotidasa eritrocitaria (P5 N-1), forma parte de una familia de 5' nucleotidasas codificadas por un mínimo de siete genes diferentes y, aunque su denominación correcta es la de 5' nucleotidasa citosólica III (cN-III), se la conoce como monofosfato hidrolasa-1 (UMPH-1) o más comúnmente pirimidina 5' nucleotidasa tipo I (P5 N-1)¹⁵. Las otras nucleotidasas parecen tener funciones destacadas en la activación de compuestos antivirales (cN-II), de linfocitos T o en los procesos de adhesión celular (ecto-5' nucleotidasa o CD73). La principal función de la P5 N-1 eritrocitaria es el catabolismo de los nucleótidos pirimidínicos uridina monofosfato (UMP) y citidina monofosfato (CMP) resultantes de la degradación fisiológica del ARN durante el proceso de maduración reticulocitaria. Asimismo, debido a su actividad fosfotransferasa, es posible que ejerza también alguna otra función en el metabolismo nucleotídico. El déficit hereditario de P5 N-1 se transmite con carácter autonómico recesivo, y es el tercero en frecuencia después del de PK¹⁶. Al igual que éste, constituye una causa de anemia hemolítica crónica, pero se diferencia en que los eritrocitos muestran un intenso y característico punteado basófilo. Ello se atribuye a que dado que la P5 N-1 participa en la degradación del RNA de los reticulocitos, su déficit produce un gran cúmulo de pirimidinas en el eritrocito maduro que disminuyen su viabilidad en la circulación sanguínea. Trabajos recientes sugieren que el déficit de P5 N-1 podría compensarse *in vivo*, al menos en parte mediante la actividad de otras nucleotidasas o vías del metabolismo nucleotídico¹⁷. Hasta la actualidad, se han descrito unas 16 mutaciones en el gen de la P5 N-1 causantes de anemia hemolítica crónica, cuatro de ellas puntuales y que no afectan la longitud de la molécula y el resto sin sentido (deleciones, inserciones, y alteraciones de la maduración del RNA) acompañadas de importantes cambios estructurales que comportan una

pérdida casi total de actividad¹⁸. Junto al mecanismo congénito, se ha descrito también una disminución adquirida de la actividad P5 N-1 en situaciones diversas, entre las que destacan la intoxicación por el plomo o saturnismo y la talasemia. En el saturnismo, el déficit adquirido de actividad P5 N-1 se atribuye a un efecto inhibitor del metal sobre la actividad de la enzima, por lo que dada la elevada sensibilidad al mismo, la medida de la actividad P5 N-1 en el hemolizado puede emplearse tanto para detectar la existencia de intoxicación como para valorar la respuesta al tratamiento quelante con EDTA². Un dato muy constante en el saturnismo es el punteado basófilo de los eritrocitos que se atribuye al efecto inhibitor del plomo sobre la P5 N-1. Otra situación en la que el punteado basófilo puede atribuirse también al déficit adquirido de P5'N es la talasemia. En esta enfermedad hereditaria la alteración adquirida de la P5 N-1 se atribuye al exceso de peróxidos generados por el desequilibrio en la síntesis de cadenas de globina con acúmulo de pirimidinas durante la fase de maduración eritroblástica¹⁹. El hecho de que la herencia conjunta de hemoglobinopatía E (HbE) y déficit de P5 N-1 curse con un síndrome hemolítico intenso avala esta hipótesis²⁰.

Eritroenzimopatías con hemolisis y afectación sistémica

Durante los últimos años se ha venido dando especial relieve a aquellas enzimas de la glicolisis que, además de su función catalítica, realizan otras funciones no enzimáticas y cuyo déficit contribuye a explicar la coexistencia, junto el síndrome hemolítico, de manifestaciones clínicas no hematológicas. Entre estas funciones destacan la motilidad celular, el control de la apoptosis y la modulación o regulación de oncogenes²¹. Entre ellas destacan el déficit de glucosa fosfato isomerasa (GPI), una enzimopatía de la que hasta ahora se han descrito unos 50 casos no emparentados². Aunque en el eritrocito maduro, la GPI es un homodímero y el déficit cursa con anemia hemolítica, en otros tejidos, las isoformas monoméricas de GPI generadas por transcripción y maduración alternativa del ARN-m, pueden ejercer funciones no enzimáticas de carácter neurotrófico (neurocina) o moduladora de la motilidad celular (factor de motilidad autocrina). A ello se atribuye la neuropatía presente en algunos pacientes con déficit de GPI y anemia hemolítica crónica²¹. Igualmente la hexocinasa (HK), otra enzima de la glicolisis, parece intervenir en la inhibición de la apoptosis celular por interacción con la proteína proapoptótica BAD^{21,22}. Además del déficit de GPI y HK, donde la hemolisis crónica es la manifestación clínica principal y la afectación sistémica

un componente excepcional, existe un grupo de eritroenzimopatías que destacan por la gravedad de sus manifestaciones extrahematológicas. Entre ellas pueden citarse las que se detallan a continuación.

Déficit de fosfofructocinasa (PFK)

Se hereda con carácter autosómico recesivo y hasta la actualidad se ha descrito en 18 pacientes no emparentados, muchos de ellos de origen judío. Cualquier mutación del gen PFK puede afectar la actividad de la enzima eritrocitaria y dar lugar a anemia hemolítica crónica, pero cuando se afecta también la subunidad muscular (M) se añade un cuadro de miopatía (dolor muscular a pequeños esfuerzos) con mioglobiuria (orinas oscuras).

Déficit de fosfoglicerato cinasa (PGK1)

Se asocia al cromosoma X y cursa con anemia hemolítica crónica, neuropatía y afectación muscular generalizada. Hasta la actualidad, el déficit de PGK1 se ha descrito en 14 pacientes con diferente tipo de mutación genética. En España esta enzimopatía no se ha descrito hasta muy recientemente en dos pacientes no emparentados con anemia hemolítica y neuropatía grave²³.

Déficit de triosafosfato isomerasa (TPI)

Se hereda con carácter autosómico dominante y hasta la actualidad se ha descrito en 40 pacientes de los que se ha estudiado la mutación en 14, uno de ellos de origen español²⁴. Es la eritroenzimopatía más grave, ya que la anemia hemolítica, generalmente intensa e inicio neonatal, se acompaña de neuropatía y cardiomiopatía progresivas que terminan con la vida del paciente antes de alcanzar la pubertad. Como dato excepcional, se han descrito dos hermanos de origen húngaro con idéntica mutación en el gen de la TPI y, mientras en uno de ellos ésta produce un síndrome hemolítico moderado, en el otro produce un trastorno neurológico grave²⁵. Este hallazgo ha aumentado el interés por el estudio de esta enzimopatía, ya que es una prueba fehaciente de que existen otros factores, además del genotipo, que influyen en la expresión fenotípica de esta enzimopatía.

Déficit de adenilato cinasa (AK)

La AK es una enzima que se halla en todos los tejidos del organismo y su función es reconvertir los nucleótidos adenílicos AMP y ADP. Su déficit es muy raro y

descrito en sólo 6 individuos no emparentados, uno de ellos de origen español²⁶, cursa con anemia hemolítica crónica, neuropatía y/o retraso mental.

Déficit de glutatión (GSH)

El GSH es un tripéptido sintetizado por dos enzimas que actúan consecutivamente: la glutatión sintetasa (GS) y de gammaglutamil cisteín sintetasa (GCS).

El déficit de GS se hereda con carácter autosómico recesivo y cursa con anemia hemolítica crónica, acidosis metabólica, neuropatía grave y eliminación de 5-oxoprolina por la orina (oxoprolinuria). En España sólo se han descrito dos casos de déficit hereditario de GS con anemia hemolítica como única manifestación clínica que, además de ser los primeros que se describen en nuestro país, presentan un peculiar comportamiento clínico, como es la ausencia de oxoprolinuria²⁷.

El déficit de GCS o glutamato cisteína ligasa, se hereda con carácter autosómico dominante y cursa con anemia hemolítica crónica asociada a degeneración espino celular grave. Hasta el momento, se han descrito sólo cuatro casos, uno de los cuales, con anemia hemolítica y neuropatía degenerativa es de origen español²⁸.

Eritroenzimopatías sin hemólisis

Existen algunas eritroenzimopatías cuya expresividad clínica no es un síndrome hemolítico sino un déficit de monofosfoglicerato mutasa (eritrocitosis) o un déficit de citocromo b5 reductasa (cianosis).

Déficit de monofosfoglicerato mutasa (MPGM)

El metabolito 2,3 difosfoglicerato (2,3 DPG) es sintetizado por una derivación cíclica de la glicolisis anaerobia o vía de Rapoport-Luebering, en la que la enzima interviene bajo tres acciones: sintetasa, mutasa y fosfatasa (Figura 1). El 2,3 DPG es el metabolito eritrocitario más abundante y su función es regular la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Su concentración aumenta en pacientes con déficit de PK y PGK debido al bloqueo metabólico, lo que se traduce en un descenso de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. El resultado es un aumento de la oxigenación de los tejidos y una mejor tolerancia a la anemia. En otras enzimopatías, como el déficit de HK, GPI PFK y TPI, la concentración de 2,3 DPG disminuye y con ello la tolerancia a la anemia. La MPGM es una enzima multifuncional cuya actividad, predo-

minantemente sintásica (síntesis de 2,3 DPG), se alterna con la de fosfatasa (degradación del 2,3 DPG) y de mutasa (transformación reversible de 3PG a 2PG). El déficit de MPMG descrito en sólo dos pacientes, al disminuir la concentración de 2,3 DPG, estimula la formación compensadora de hematíes con aparición de eritrocitosis o aumento de la concentración de eritrocitos²⁹.

Déficit de citocromo b5 reductasa (b5R)

La enzima b5R, conocida también como diaforasa, mantiene la concentración de metahemoglobina eritrocitaria por debajo del 1%. La metahemoglobina es un derivado de la hemoglobina por oxidación del hierro hemínico, situación en la que éste no puede unirse al oxígeno y ser transportado a los tejidos. El aumento de la concentración de metahemoglobina por encima del 1% se lo conoce como metahemoglobinemia, y cursa con cianosis, y la b5R evita su aparición gracias a un sistema enzimático que utiliza NADPH. La b5R es codificada por un único gen cuyas mutaciones pueden dar lugar a dos formas de expresividad clínica: cianosis (tipo I) y cianosis con neuropatía grave (tipo II). El tipo I se observa en un 85%, aproximadamente, de los casos y se atribuye a la síntesis de una enzima inestable cuya expresividad es exclusivamente eritrocitaria (metahemoglobinemia), mientras que el tipo II observado en el 15% restante se atribuya a una pérdida de la actividad enzimática con afectación generalizada, especialmente del tejido nervioso (metahemoglobinemia y neuropatía). En el déficit tipo I, el paciente homocigoto (o doble heterocigoto) presenta, como única manifestación clínica, cianosis y metahemoglobinemia (10 a 30%). Cuando la metahemoglobinemia supera el 40% la cianosis es muy intensa y puede asociarse a una moderada eritrocitosis compensatoria. En los portadores heterocigotos, la actividad b5R es de un 50% aproximadamente de la normal y no existe cianosis excepto después de situaciones de estrés. En el déficit tipo II existe retraso mental y neuropatía progresiva grave con muerte del paciente por insuficiencia cardíaca antes de la pubertad. En ambas situaciones la cianosis puede tratarse mediante administración de azul de metileno o ácido ascórbico.

Conclusiones

Desde que en 1961 Valentine describiera, por vez primera, el déficit de PK eritrocitaria como una causa de anemia hemolítica crónica no esferocítica (AHCNE) hasta la actualidad han transcurrido 45 años, duran-

te los cuales las eritroenzimopatías se han estudiado desde todos los aspectos posibles, clínicos, epidemiológicos, bioquímico-moleculares y terapéuticos. No obstante, cuando se repasan los resultados obtenidos se comprueba, con estupor, que lo que aún queda por conocer es mucho más de lo que se conoce. Así, hoy en día es cada vez más evidente que el fenotipo o expresión clínica de las eritroenzimopatías no sólo depende del comportamiento molecular de las proteínas mutadas, sino de un conglomerado de interacciones entre factores genéticos constitucionales y ambientales, modificaciones transcripcionales y epigenéticas, eritropoyesis ineficaz y función esplénica. A ello debe añadirse también que la expresión extrahematológica o sistémica de algunas de las eritroenzimopatías modifica su comportamiento clínico. De ello se deduce que cualquier investigación futura dirigida a estudiar las relaciones entre genotipo y fenotipo ha de integrar, en lo posible, todos los factores citados. Uno de los aspectos en los que aún es necesario profundizar es en su epidemiología. De hecho, las eritroenzimopatías hereditarias constituyen un subgrupo de enfermedades raras cuya prevalencia en nuestra población aún se desconoce. Esta escasa prevalencia explica el poco conocimiento que de esta patología tienen los profesionales de la salud, en general, y las autoridades sanitarias, en particular. Es por ello que el diagnóstico de una eritroenzimopatía suele pasar desapercibido durante mucho tiempo y sólo la acertada visión de algún clínico puede orientar correctamente el caso.

Durante todo este tiempo, tanto el paciente como sus familiares y el médico que los atiende desconocen la verdadera etiología del problema con los consiguientes problemas psicológicos que esta situación acarrea. Esta limitación, impuesta por las diferencias sanitarias existentes entre los estados de la Unión Europea, hace muy necesario aunar esfuerzos para crear redes internacionales, en nuestro caso europeas, que difundan el conocimiento de estas enfermedades y faciliten la identificación de expertos capaces de atender como es debido a este colectivo de pacientes. En el campo de las anemias, recientemente se ha creado una Red Europea para el estudio de aquéllas con escasa prevalencia o "raras", que se conoce como ENERCA (European Network for Rare and Congenital Anaemias). La red ENERCA engloba todas aquellas enfermedades "raras" cuya manifestación clínica fundamental es la anemia, es decir, todos aquellos defectos congénitos o adquiridos de los eritrocitos (enzimopatías, hemoglobinopatías y membranopatías) y de la eritropoyesis³⁰. ENERCA dispone de una página web (www.enerca.org), donde pueden realizarse consultas y recogerse datos epidemiológicos para la creación de un futuro registro europeo de anemias "raras". Su desarrollo, con inclusión del mayor núme-

ro posible de expertos europeos, permitirá no sólo un mejor conocimiento de esta patología, sino también la posibilidad de prestar una mejor asistencia a los enfermos que la padecen.

Bibliografía

- Prchal JT, Gregg XT. Red cell enzymopathies. In: Hoffman R, Benz E (eds). Hematology: basic principles and practice. 4th ed. 2005: 653-9.
- Vives Corrons JL. Anemias hemolíticas. Aspectos generales. Anemias hemolíticas hereditarias. En: Sans Sabrafen J, Besses Rabel C, Vives Corrons JL (eds). Hematología clínica. 5^a edición. Elsevier; 2006.
- Mañú-Pereira MA, Maya A, Cararach V, Sabrià J, Boixadera J, Quintó L, Vives-Corrons JL. Cribado neonatal de hemoglobinopatías y déficit de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) en Cataluña. Estudio piloto en población anónima no relacionada. *Med Clin (Barc)* 2006; 126: 281-5.
- Luzzatto L, Sodeinde O, Martini G. Genetic variation in the host and adaptive phenomena in *Plasmodium falciparum* infection. *Ciba Found Symp* 1983; 94: 159-73.
- Tishkoff SA, Varkonyi R, Cahinhinan N, et al. Haplotype diversity and linkage disequilibrium at human G6PD: recent origin of alleles that confer malarial resistance. *Science* 2001; 293: 455-62.
- Cappadoro M, Giribaldi G, O'Brien E, et al. Early phagocytosis of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient erythrocytes parasitized by *Plasmodium falciparum* may explain malaria protection in G6PD deficiency. *Blood* 1998; 92: 2527-34.
- Betke K. Standardization of procedures for the study of glucose-6-phosphate dehydrogenase. Report of the WHO Scientific Group. WHO Tech Rep Ser Nr 366; 1967.
- Vives Corrons JL, Feliu E, Pujades MA, Cardellach F. Severe glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency associated with severe chronic hemolytic anemia. Granulocyte dysfunction and increased susceptibility to infections. Description of a new molecular variant (G6PD Barcelona). *Blood* 1982; 59: 428-34.
- Vives Corrons JL, Aguilar Bascompte JL. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. 3^a ed. Elsevier; 2006.
- Kechemir D, Max-Audit I, Rosa R. Comparative study of human M-type pyruvate kinases isolated from human leukocytes and erythrocytes of a patient with red cell pyruvate-kinase hyperactivity. *Enzyme* 1989; 41: 121-30.
- Valentine WN, Tanaka KR, Miwa S. A specific erythrocyte glycolytic enzyme defect (pyruvate kinase) in three subjects with congenital non-spherocytic hemolytic anemia. *Trans Ass Amer Phycns* 1961; 74: 100-10.
- Zarza, Álvarez, Pujades, et al. Molecular characterization of the PK-LR gene in pyruvate kinase deficient Spanish patients *Brit Journal of Haematol* 1998; 103: 377-82.
- Valentini G, Chiarelli LR, Fortin R, et al. Structure and function of human erythrocyte pyruvate kinase. Molecular basis of nonspherocytic hemolytic anemia. *J Biol Chem* 2002; 277: 23807-14.
- Aizawa S, Kohdera U, Hiramoto M, et al. Ineffective erythropoiesis in the spleen of a patient with pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol* 2003; 74: 68-72.
- Bianchi V, Spychala J. Mammalian 5'-nucleotidases. *J Biol Chem.* 2003; 278: 46195-8.
- Rees DC, Duley JA, Marinaki AM. Pyrimidine 5-nucleotidase deficiency. *Br J Haematol* 2003; 120: 375-83.
- Chiarelli LR, Bianchi P, Fermo E, et al. Functional analysis of pyrimidine 5'-nucleotidase mutants causing nonspherocytic hemolytic anemia. *Blood* 2005; 105: 3340-5.
- Chiarelli LR, Fermo E, Abrusci P, et al. Two new mutations of the P5'N-1 gene found in Italian patients with hereditary hemolytic anemia: the molecular basis of the red cell enzyme disorder. *Haematologica* 2006; 91: 1244-7.
- Vives Corrons JL, Pujades MA, Aguilar JM, et al. Pyrimidine 5' nucleotidase and several other red cell enzyme activities in beta-thalassaemia trait. *Brit J Hematol* 1984; 56: 483-94.
- Escuredo E, Marinaki AM, Duley JA, et al. The genetic basis of the interaction between pyrimidine 5' nucleotidase I deficiency and hemoglobin E. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2004; 23: 1261-3.
- Kim J, Dang CV. Multifaceted roles of glycolytic enzymes. *Trends Biochem Sci* 2005; 30: 142-50.
- Majewski N, Nogueira V, Bhaskar P, et al. Hexokinase-mitochondria interaction mediated by Akt is required to inhibit apoptosis in the presence or absence of Bax and Bak. *Mol Cell* 2004; 16: 819-30.
- Noel N, Flanagan J, Kalko S, et al. Two new phosphoglycerate kinase (PGK-1) mutations associated with chronic hemolytic anaemia and neurological dysfunction in two patients from Spain. *British Journal of Haematology* 2005; 132: 523-9.
- Repiso A, Boren J, Ortega F, et al. Triosephosphate isomerase deficiency genetic, enzymatic and metabolic characterization of a new case from Spain. *Hematologica* 2002; 87 (4): ECR12.
- Hollán S, Magócsi M, Fodor E, et al. Search for the pathogenesis of the differing phenotype in two compound heterozygote Hungarian brothers with the same genotypic triosephosphate isomerase deficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 10362-6.
- Vives Corrons JL, García E, Tussell JJ, et al. Red cell adenylate kinase deficiency: molecular study of 3 new mutations (118 G>A, 190 G>A and GAC deletion) associated with hereditary nonspherocytic anemia. *Blood* 2003; 102: 353-6.
- Álvarez R, Zarza R, Pujades A, et al. Hereditary nonspherocytic hemolytic anemia due to red blood cell glutathione synthetase deficiency. Clinical and biological findings in four unrelated Spanish patients. *Brit J Haematol* 2001; 112: 475-82.
- Larsson A, Anderson ME. Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the gamma-glutamyl cycle. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. Vol. 2. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 2205-16.
- Rosa R, Prehu MO, Beuzard Y, Rosa J. The first case of a complete deficiency of diphosphoglycerate mutase in human erythrocytes. *J Clin Invest* 1978; 62: 907-15.
- European Network for Rare and Congenital Anaemias (ENERCA). Public Health (SANCO) Project from the European Commission. www.enerca.org.