

UNIVERSITAT DE BARCELONA  
FACULTAT DE MEDICINA  
DEPARTAMENT DE CIÈNCIES FISIOLÒGIQUES,  
HUMANES I DE LA NUTRICIÓ

Tesi doctoral presentada per En/Na

**Núria GIMÉNEZ GÓMEZ**

amb el títol

**"Estudio del metabolismo del hierro en lactantes  
de una zona de alta y perenne transmisión de  
malaria"**

per a l'obtenció del títol de Doctor/a en  
Medicina

Barcelona, 30 de gener de 2003.

## I. INTRODUCCION

1. Justificación de la tesis .....	1
2. Hipótesis de trabajo y objetivos.....	2
3. Metabolismo del hierro .....	4
3.1. Contenido corporal y su distribución.....	4
3.2. Absorción intestinal .....	6
3.3. Excreción.....	8
3.4. Regulación del metabolismo.....	8
4. Estudio del metabolismo del hierro .....	9
4.1. Magnitudes hematológicas .....	9
4.1.1. Hemograma .....	9
4.1.1.1. Hemoglobina.....	9
4.1.1.1.1. Significado clínico.....	10
4.1.1.1.2. Métodos analíticos.....	10
4.1.1.2. Hematócrito.....	11
4.1.1.2.1. Significado clínico.....	11
4.1.1.2.2. Métodos analíticos.....	11
4.1.1.3. Recuentos celulares .....	12
4.1.1.4. Índices eritrocitarios secundarios.....	12
4.1.1.4.1. Volumen corpuscular medio .....	12
4.1.1.4.2. Hemoglobina corpuscular media .....	13
4.1.1.4.3. Concentración corpuscular media de hemoglobina .....	13
4.1.2. Examen del frotis sanguíneo.....	13
4.1.3. Recuento de reticulocitos .....	14
4.2. Magnitudes bioquímicas .....	14
4.2.1. Hierro .....	14
4.2.1.1. Significado clínico.....	15
4.2.1.2. Métodos analíticos.....	16
4.2.2. Transferrina.....	16

4.2.2.1. Significado clínico.....	18
4.2.2.1. Métodos analíticos.....	19
4.2.3. Ferritina .....	19
4.2.3.1. Significado clínico.....	20
4.2.3.1. Métodos analíticos.....	21
4.2. 4.Receptor de transferrina .....	21
4.2.4.1. Estructura y localización.....	21
4.2.4.1. Ciclo intracelular de la transferrina y su receptor.....	24
4.2.4.2. Significado clínico.....	26
4.2.4.3. Métodos analíticos.....	27
5. Alteraciones del metabolismo del hierro .....	28
5.1. Anemias.....	29
5.1.1. Deficiencia de hierro y anemia ferropénica.....	29
5.1.1.1. Prevalencia.....	29
5.1.1.2. Concepto y etiología.....	31
5.1.1.3. Mecanismo de instauración.....	32
5.1.1.4. Diagnóstico y estudio de la anemia.....	33
5.1.1.5. Manifestaciones clínicas de la deficiencia de hierro....	36
5.1.1.6. Intervenciones.....	37
5.1.2. Anemia de los transtornos crónicos.....	38
5.1.3. Anemia hemolítica.....	41
5.2. Alteraciones congénitas asociadas a la malaria .....	43
5.2.1. Anemia de células falciformes y otras hemoglobinopatías estructurales.....	43
5.2.2.Talasemia.....	44
5.2.3. Deficiencia de la glucosa 6-fosfato deshidrogenasa .....	45
5.2.4. Eliptocitosis congénita.....	45
5.2.5. Ovalocitosis asiática.....	46
6. Inflamación y reacción de fase aguda.....	46
6.1. Consideraciones históricas.....	46

6.2. Definición .....	47
6.3. Proteínas de fase aguda.....	48
6.4. Proteína C reactiva.....	49
6.4.1. Métodos analíticos.....	51
7. Malaria.....	52
7.1. Consideraciones históricas.....	52
7.2. Etiología.....	60
7.3. Ciclo de transmisión del paludismo.....	61
7.3.1. Ciclo en el hombre.....	61
7.3.2. Ciclo en el mosquito.....	62
7.4. Cuadro clínico.....	64
7.5. Diagnóstico y exámenes de laboratorio.....	65
7.6. Profilaxis.....	67

## **II. MATERIAL Y METODOS**

1. Area geográfica.....	68
2. Diseño del estudio y población estudiada.....	70
2.1. Procedimiento general.....	71
2.2. Selección de niños y criterios de exclusión.....	71
2.3. Distribución en los grupos de intervención.....	74
2.4 Muestra de niños estudiada .....	75
2.5. Recogida de datos y seguimiento de los niños.....	77
2.6. Recogida y conservación de las muestras.....	79
3. Métodos .....	80
3.1. Magnitudes hematológicas .....	80
3.2. Magnitudes bioquímicas .....	80
3.2.1. Hierro.....	81
3.2.2. Transferrina.....	83
3.2.3. Ferritina .....	83
3.2.4. Proteína C reactiva.....	86

3.2.5. Receptor soluble de transferrina.....	88
4. Definiciones.....	92
5. Análisis estadístico.....	93

### III. RESULTADOS

1. Descripción de la población: prevalencia de alteraciones patológicas.....	95
1.1. Prevalencia de fiebre.....	95
1.2. Prevalencia de inflamación.....	95
1.3. Prevalencia de malaria.....	98
1.4. Prevalencia de anemia.....	98
1.5. Prevalencia de deficiencia de hierro.....	99
1.6. Prevalencia de microcitosiis.....	99
2. Grupo control: evolución del metabolismo del hierro en el primer año de vida.....	100
3. Efecto de la inflamación y la malaria en el metabolismo del hierro.....	113
4. Utilidad del receptor soluble de transferrina para valorar el tipo de anemia.....	119
4.1. Influencia de la suplementación con hierro y/o Deltaprim sobre el metabolismo del hierro.....	121

### IV. DISCUSION

1. Análisis de la prevalencia de las patologías estudiadas.....	138
1.1. Prevalencia de fiebre.....	138
1.2. Prevalencia de inflamación.....	139
1.3. Prevalencia de malaria.....	140
1.4. Prevalencia de anemia.....	145
1.5. Prevalencia de ferropenia.....	149
1.6. Prevalencia de microcitosiis.....	154
2. Valores normales de las magnitudes bioquímicas y hematológicas y su evolución con la edad.....	154

3. Efecto de la inflamación sobre el metabolismo del hierro.....	163
4. Efecto de la malaria sobre el metabolismo del hierro.....	166
5. Utilidad del receptor soluble de transferrina en áreas endémicas de malaria.....	171
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>185</b>
<b>VI. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>186</b>

## ABREVIATURAS

%	Porcentaje
a. C.	Antes de Cristo
° C	Grados centígrados
Céls	células
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
CTFH	Capacidad total de fijación de hierro
CV	Coeficiente de variación
d. C.	Despues de Cristo
de	Desviación estándar
dL	Decilitro
DNA	Ácido Desoxiribonucleico
EDTA	Ácido Etilendiaminotetracético
EDTA-K3	Ácido Etilendiaminotetracético tripotásico
ELISA	Método inmunoenzimático
Fe	Hierro
Fe <sup>2+</sup>	Ión ferroso
Fe <sup>3+</sup> .	Ión férrico
fl	Fentolitro
Ft	Ferritina
g	gramo
G-6-PD	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
Hb	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina corpuscular media
Htc	Hematócrito
IC	Intervalo de confianza
IFN	Interferón
IL	interleucina
IRMA	Inmunoradiometría
Kg	Kilogramo

L	Litro
LDH	Lactatodeshidrogenasa
máx	Máximo
mg	miligramos
mín	Mínimo
mL	mililitro
mmol	milimol
ng	Nanogramos
OR	Odds ratio
p	Significación estadística
P	Plasmodium
PCR	Proteína C reactiva
PEL	Protoporfirina eritrocitaria libre
pg	picogramo
P.M.	Peso Molecular
r	Coefficiente de correlación
r <sup>2</sup>	Cuadrado del coeficiente de correlación
RBC	Número de hematíes
RTf	Receptor de transferrina
RTf-Tf	Complejo formado por el receptor de transferrina y la transferrina
SER	Sistema reticuloendotelial
SMF	Sistema mononuclear fagocítico
sRTf	Receptor soluble de transferrina
Tf	Transferrina
TNF	Factor de necrosis tumoral
UNICEF	Fondo de la Naciones Unidas para la Infancia
µg	Microgramo
VCM	Volumen corpuscular medio
WBC	Número de leucocitos
WHO	Organización Mundial de la Salud
x	media



## **FIGURAS**

Figura 1.....	22
Figura 2.....	25
Figura 3.....	53
Figura 4.....	54
Figura 5.....	63
Figura 6.....	66
Figura 7.....	72
Figura 8.....	78
Figura 9.....	84

## **MAPAS**

Mapa 1.....	56
Mapa 2.....	69

## **GRÁFICAS**

Gráfica I.....	102
Gráfica II.....	103
Gráfica III.....	104
Gráfica IV.....	105
Gráfica V.....	106
Gráfica VI.....	107
Gráfica VII.....	108
Gráfica VIII.....	109
Gráfica IX.....	110

## TABLAS

Tabla I.....	76
Tabla II.....	76
Tabla III.....	82
Tabla IV.....	82
Tabla V.....	87
Tabla VI.....	87
Tabla VII.....	91
Tabla VIII.....	96
Tabla IX.....	97
Tabla X .....	112
Tabla XI.....	114
Tabla XII.....	116
Tabla XIII.....	117
Tabla XIV.....	118
Tabla XV.....	120
Tabla XVI.....	123
Tabla XVII.....	124
Tabla XVIII.....	125
Tabla XIX.....	126
Tabla XX.....	127
Tabla XXI.....	128
Tabla XXII.....	129
Tabla XXIII.....	130
Tabla XXIV.....	131
Tabla XXV.....	132
Tabla XXVI.....	133
Tabla XXVII.....	134
Tabla XXVIII.....	135

Tabla XXIX.....	136
Tabla XXX.....	137

## 1. JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS

En la actualidad, la malaria y la anemia son dos de los principales problemas de salud pública e importantes causas de morbi-mortalidad a nivel mundial, siendo los recién nacidos y los niños pequeños los grupos poblacionales más afectados (Fleming, 1981; Van den Broeck, 1993; Schellenberg, 1999). A pesar de que la prevalencia de anemia es mayor en los países en desarrollo, donde la presencia de malaria agrava el problema, la mayoría de las investigaciones e intervenciones se realizan en países desarrollados (Dallman, 1984; Expert Scientific Working Group, 1985; Yip, 1987a y b; Looker, 1989; Looker, 1997).

Un problema a tener en cuenta es que, en los pacientes con malaria, los resultados de los tests convencionales de laboratorio que se utilizan para valorar el estado del metabolismo del hierro, como son las determinaciones en suero de hierro, transferrina y ferritina, se alteran por esta infección aumentando la complejidad de la interpretación (Das, 1997). Para compensar la falta de especificidad diagnóstica de estas magnitudes, el tratamiento de los pacientes anémicos que viven en áreas en las que la malaria es endémica, incluye una combinación de fármacos para las causas de anemia más frecuentes en el área (Tarimo, 2001; Chandramohan, 2002). Esta solución repercute en la calidad asistencial e incrementa los gastos sanitarios.

Por otra parte, la confirmación definitiva de la deficiencia de hierro se realiza todavía hoy en día mediante el estudio de la médula osea (Hill, 1972; Hallberg, 1993). Para este fin, en la práctica diaria interesaría poder disponer de nuevos marcadores no invasivos que no se alteraran en presencia de procesos inflamatorios y/o infecciosos.

Algunos estudios han demostrado que la determinación sérica del receptor soluble de transferrina es una prueba no invasiva que permite

diferenciar la anemia por deficiencia de hierro de la anemia de las enfermedades crónicas (Skikne, 1990; Beguin, 1993a; Fleming, 1995), y no se afecta en presencia de enfermedades inflamatorias ni infecciosas (Ferguson, 1992; Punnonen, 1997; Feelders, 1999; Suominen, 2000).

## 2. HIPOTESIS DE TRABAJO Y OBJETIVOS

La mayoría de los estudios que existen sobre el metabolismo del hierro se han realizado en países desarrollados mientras que zonas con menos recursos económicos, como es el caso de las áreas de malaria endémica, han sido menos investigadas. Esta escasez de estudios hace que sea de gran interés investigar el metabolismo del hierro en el primer año de vida en lactantes sanos y enfermos de procesos inflamatorios y/ o infecciosos que viven en estas áreas endémicas, donde posiblemente, tanto la deficiencia de hierro como la anemia, estén aumentadas por las infecciones y la malnutrición.

Por otra parte, se precisaría poder disponer de nuevos marcadores del estado del metabolismo del hierro, preferentemente métodos no invasivos, para el estudio de las anemias. Los marcadores bioquímicos utilizados clásicamente para valorar la deficiencia de hierro (hierro, transferrina y ferritina) se comportan como reactantes de fase aguda, afectándose por la inflamación. El receptor soluble de transferrina podría ser un marcador útil, en áreas endémicas de malaria, para valorar el tipo de anemia encontrada en la población y contribuir al diagnóstico de deficiencia de hierro.

Con esta tesis doctoral nos proponemos conseguir los objetivos siguientes:

1. Analizar la prevalencia de fiebre, inflamación, malaria, anemia, deficiencia de hierro y microcitosis, así como su evolución con la edad, en una muestra de lactantes que viven en un área endémica de malaria en una población rural de Tanzania.

2. Determinar en esta población los valores normales de las magnitudes bioquímicas y hematológicas que permiten valorar el contenido corporal del hierro y analizar su evolución en el primer año de vida.
  
3. Estudiar la influencia de los procesos inflamatorios y de la malaria en los valores de las magnitudes que se utilizan para valorar el metabolismo del hierro.
  
4. Valorar la utilidad de la determinación sérica del receptor soluble de transferrina en el diagnóstico de la deficiencia de hierro y en el diagnóstico diferencial de la anemia en esta población.

### **3. METABOLISMO DEL HIERRO**

El hierro es uno de los metales más abundantes del planeta. Esta abundancia probablemente ha facilitado su incorporación a los seres vivos, en los que constituye uno de los elementos fundamentales. Lo encontramos como componente esencial en todas las formas de vida, desde los organismos unicelulares hasta las formas más complejas.

En el organismo humano su facilidad para oscilar entre las formas iónicas ferrosa y férrica le permite actuar indistintamente, como donante o como aceptor reversible de electrones, durante el metabolismo celular. Interviene en el transporte del oxígeno en la sangre (grupo hemo de la hemoglobina) y forma parte de los citocromos participando en el transporte de electrones. Otras funciones destacadas son su intervención en el transporte de oxígeno al músculo (en la molécula de mioglobina), en numerosas reacciones enzimáticas, en el metabolismo oxidativo y en el crecimiento celular, siendo, por tanto, imprescindible para el desarrollo, diferenciación y proliferación. Como el hierro libre es muy tóxico, por su facilidad para originar radicales de oxígeno muy reactivos (Halliwell, 1984; Ruiz-Larrea, 1995), en su mayor parte se encuentra unido a diferentes proteínas que tienen una gran afinidad por este metal: transferrina (para su transporte) y ferritina (para su almacenamiento) (Woo, 1993).

#### **3.1. CONTENIDO CORPORAL Y SU DISTRIBUCIÓN**

El contenido corporal de hierro es variable y puede verse influido por numerosos factores, entre ellos la edad y el sexo del sujeto. En personas sanas y en circunstancias normales, dos terceras partes del hierro total del organismo se encuentran en la hemoglobina y el tercio restante se reparte mayoritariamente entre las reservas corporales y la mioglobina. En plasma el contenido es mínimo, inferior al 1% del hierro total corporal.

Para estudiar la distribución del hierro se puede utilizar una clasificación en compartimentos priorizando la función que realiza cada fracción en el organismo.

Con este criterio se diferencian tres compartimentos:

1) Compartimento funcional: Es el mayoritario. En él se localiza el 85% del hierro total del organismo. Está constituido por el hierro de la hemoglobina, la mioglobina, los citocromos y el que actúa como cofactor de enzimas.

2) Compartimento de reserva: Formado, como indica su nombre, por las reservas corporales del hierro. Los depósitos de hierro se localizan en hígado, bazo y médula ósea. En estos órganos el hierro se almacena en forma de ferritina y hemosiderina.

3) Compartimento de transporte: Está constituido por el hierro unido a la transferrina. Desempeña un papel fundamental, ya que a través suyo se realiza el intercambio entre los otros dos compartimentos. Sin embargo, en cantidad no llega a representar ni el 1% de todo el hierro del organismo.

El organismo humano conserva y reutiliza el hierro con gran eficacia. En los adultos se tiende a mantener la cantidad total constante, equilibrando ingresos y pérdidas. En los niños las necesidades de hierro están aumentadas debido al crecimiento.



### 3.2. ABSORCIÓN INTESTINAL

La absorción intestinal es la única vía de entrada de hierro en el organismo, lo que confiere a la dieta un papel importante en su homeostasis (Bothwell, 1989; Gavin, 1994). Aunque la absorción puede producirse en cualquier punto del intestino delgado, es máxima en duodeno.

En general, en los sujetos sanos la absorción del hierro de los alimentos oscila entre el 5 y el 10% aproximadamente para compensar las pérdidas diarias. Esta absorción puede aumentar hasta el 20-30% en situaciones de deficiencia de hierro o de aumento de la actividad eritropoyética de la médula. Respecto a la dieta, la absorción del hierro varía con los diferentes alimentos. En general, en los tejidos animales se encuentra el hierro en forma hemo que se absorbe mejor que el hierro de origen vegetal o no hemo. Así, la absorción puede llegar a ser cercana al 20% en el caso de la carne roja. También se asimila bien, aunque en concentraciones algo inferiores, el hierro hemo de las aves de corral, pescado y leche. Por otra parte, la absorción de hierro no hemo oscila entre el 1,4% y el 7% dependiendo de los vegetales.

En los alimentos el hierro se encuentra fundamentalmente en el estado de ión férrico. El ácido clorhídrico gástrico lo reduce a ión ferroso facilitando su óptima absorción (Skikne, 1981). Tras ser absorbido en la mucosa intestinal, el ión ferroso vuelve a oxidarse a ión férrico y se une a la transferrina.

También la composición de la comida puede influir en la cantidad de hierro que se retiene. Así, si una comida contiene ambos tipos de hierro, hemo y no hemo, el primero mejorará la absorción del segundo. Otros factores relacionados con la dieta pueden potenciar o inhibir su absorción. Entre los potenciadores, el ácido ascórbico es el más conocido (Siegenberg, 1991; Hunt, 1994a; Toth, 1995; Khumalo, 1998). Ácidos orgánicos como los ácidos cítrico, málico, tartárico y láctico son también efectivos potenciadores. Los inhibidores de la absorción de

hierro más conocidos son los fitatos y polifenoles (Svanberg, 1993; Lynch, 1997). Varias proteínas animales y vegetales también pueden disminuir la absorción de hierro (Gillooly, 1983; Hurrell, 1992; Lynch, 1994). Otros compuestos que disminuyen la absorción del ión ferroso son los iones fosfato, oxalato y calcio (Cook, 1991; Hallberg, 1991; Gleerup, 1995), ya que forman con él complejos insolubles. El té y el café son otros potentes inhibidores de la absorción de hierro (Disler, 1975; Morck, 1983). El consumo de estas sustancias varía según las culturas, pudiendo ser frecuente incluso en niños pequeños (Dewey, 1997a y b).

Además de los componentes de la dieta, también el estado nutricional del sujeto puede tener un impacto significativo en la absorción del hierro. Con frecuencia junto a la deficiencia de hierro coexisten otras deficiencias nutricionales debidas tanto a una dieta insuficiente como a la interacción de nutrientes (Florentino, 1996; Allen, 2000). Se ha relacionado la deficiencia de hierro con la deficiencia de vitamina A (Mejia, 1988; Muhilal, 1988; Suharno, 1993; Thurnham, 1993; Wolde-Gebriel, 1993; De Pee, 1995; Northrop-Clewes, 1996; West, 1997), de vitamina D (Underwood, 1996; Wharton, 1999b), y con la deficiencia de zinc (Yip, 1985; Yardick, 1989; Ece, 1997; Lynch, 1997). Es por ello que algunos estudios recomiendan en pacientes con ferropenia la suplementación simultánea con hierro y otros micronutrientes (Ekvall, 2000; Ahmed, 2001).

Otros factores que reducen la absorción de hierro son: un tiempo de tránsito intestinal rápido, aquilia, algunos preparados antiácidos, síndromes de malabsorción (De Vizia, 1992) y la malabsorción hereditaria de hierro (Hartman, 1996).

### **3.3. EXCRECIÓN**

En las personas sanas las pérdidas de hierro por las vías de excreción habituales, heces y orina, son mínimas y comparables a la cantidad absorbida. El equilibrio, como se ha comentado anteriormente, se regula a través de la capacidad de absorción de la mucosa intestinal. El hierro eliminado por las heces procede fundamentalmente del que no se ha absorbido de la dieta y de la ferritina contenida en las células descamadas en el tracto intestinal (Petersen, 1996b). Por otra parte, en las personas sanas la eliminación de hierro en la orina es insignificante, debido a que circula unido a proteínas que no se filtran por los glomerulos renales. En determinados estados patológicos sí que se observa una excreción urinaria aumentada. Entre estas patologías destacan la hemólisis intravascular (Sears, 1966), el síndrome nefrótico (Wiltink, 1972), la hemocromatosis (Finch, 1955) y, excepcionalmente, las alteraciones en el metabolismo del hierro (Kildahl-Andersen, 2000).

### **3.4. REGULACIÓN DEL METABOLISMO**

El mantenimiento de la homeostasis del hierro es esencial para el organismo (Eisenstein, 1998). El control de su entrada y utilización tiene que ajustarse a las necesidades de las diversas células corporales (Lash, 1995; Lieu, 2001). Si bien se había creído que un mecanismo fundamental era la regulación de la absorción intestinal (Hallberg, 1997) actualmente se acepta que la pieza clave de la regulación es la propia concentración intracelular de hierro libre, puesto que, en última instancia, es el factor que determina la síntesis de las principales proteínas que participan en su metabolismo (Cox, 1993; Kühn, 1994; Bothwell, 1995; Bouton, 1996; Ponka, 1997b).

Recientemente, se ha descrito que la hormona hepcidina está relacionada con la regulación del metabolismo del hierro en ratones (Nicolas, 2002) aunque falta todavía determinar su papel en el humano.

## **4. ESTUDIO DEL METABOLISMO DEL HIERRO**

### **4.1. MAGNITUDES HEMATOLÓGICAS**

La detección y el estudio inicial de las anemias se basa en el perfil hematológico básico. Este perfil consiste en 3 pruebas básicas : hemograma, examen morfológico del frotis sanguíneo y recuento de reticulocitos (Vives, 1987).

#### **4.1.1. HEMOGRAMA**

El hemograma informa de la concentración de hemoglobina, hematócrito y recuentos celulares (hematíes, leucocitos y plaquetas). Y también de los llamados índices eritrocitarios secundarios: volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH) (Vives, 1987).

##### **4.1.1.1. HEMOGLOBINA**

La hemoglobina es el componente mayoritario de los eritrocitos maduros y su función principal en el organismo es la oxigenación de los tejidos. Estructuralmente, es una proteína de 68 kDa, formada por cuatro cadenas de globina y cuatro grupos hemo. Cada cadena está unida a un grupo hemo mediante enlace no-covalente y entre las cuatro organizan un tetrámero que coordina un átomo de hierro. El adulto normal posee genes que codifican la síntesis de tres tipos de hemoglobina: hemoglobina A (aproximadamente un 96%) formada por dos cadenas  $\alpha$  y dos cadenas  $\beta$  ( $\alpha_2\beta_2$ ), hemoglobina A<sub>2</sub> (alrededor del 2,6%) formada por dos cadenas  $\alpha$  y dos  $\delta$  ( $\alpha_2\delta_2$ ) y hemoglobina F (menos del 1,5%) formada por dos cadenas  $\alpha$  y dos  $\gamma$  ( $\alpha_2\gamma_2$ ). Los defectos congénitos de la hemoglobina se deben a mutaciones en alguno de estos genes. En general, se transmiten con carácter autosómico dominante o codominante. Las

hemoglobinopatías pueden clasificarse en tres grandes grupos según las consecuencias de la mutación: hemoglobinopatías estructurales si se altera la estructura molecular, talasemias si la alteración se encuentra en el mecanismo de síntesis y hemoglobinopatías talasémicas cuando coexisten ambas alteraciones (Vives, 2001).

#### **4.1.1.1.1. SIGNIFICADO CLINICO**

La determinación de la concentración de hemoglobina es uno de los procedimientos más fiables de los que se dispone para el diagnóstico de anemia. Otras posibilidades consisten en utilizar para definir la anemia la determinación del hematócrito o del número de hematíes.

Incluso se ha propuesto utilizar la concentración de hemoglobina como único test para detectar la anemia ferropénica en zonas subdesarrolladas donde, con frecuencia, la anemia se debe a deficiencia de hierro y no están disponibles los test diagnósticos que confirmen la ferropenia. Sin embargo, otros autores han cuestionado que esta estrategia de diagnóstico presuntivo de anemia ferropénica sea válida en áreas donde son frecuentes las hemoglobinopatías (Linpisarn, 1996). También durante el embarazo, el incremento del volumen sanguíneo y la hemodilución dificultan el diagnóstico de anemia por deficiencia de hierro cuando se basa exclusivamente en los valores de hemoglobina (Millman, 1994).

#### **4.1.1.1.2. METODOS ANALITICOS**

Aunque existen otros métodos, el más utilizado es el de la cianometahemoglobina. Entre las ventajas de este método destacan su gran precisión y fiabilidad (ICSH, 1965 y 1978).

#### **4.1.1.2. HEMATÓCRITO**

El hematócrito es la relación del volumen de eritrocitos con el de la sangre total. Acostumbra a expresarse como un porcentaje.

##### **4.1.1.2.1. SIGNIFICADO CLINICO**

En la interpretación de esta magnitud, al igual que sucede con la concentración de hemoglobina y con el número de hematíes, hay que tener en cuenta la edad y el sexo. Un valor por debajo de lo normal indica anemia, mientras que un valor por encima indica policitemia.

El hematócrito refleja la concentración de hematíes, no su masa total. Así, pueden encontrarse valores bajos, por aumento del volumen sanguíneo y la consecuente hemodilución, en mujeres embarazadas, sin que la cifra total de eritrocitos circulantes esté reducida. También en pacientes en shock, acompañado de hemoconcentración, es posible encontrar valores normales o incluso elevados de hematócrito, a pesar de que la masa total de hematíes esté considerablemente disminuida debido a pérdidas de sangre. Así, esta determinación no es fiable para valorar la anemia inmediatamente después de una transfusión o de una hemorragia.

##### **4.1.1.2.2. METODOS ANALITICOS**

Su determinación acostumbra a realizarse de forma indirecta, en aparatos automatizados, como el producto del VCM por el recuento de hematíes (Henry, 1998). También se puede medir directamente por centrifugación (ICSH, 1980).

#### **4.1.1.3. RECuentOS CELULARES**

Incluye el recuento de hematíes, leucocitos y plaquetas. Actualmente se determinan fácilmente gracias al empleo de contadores electrónicos. Los tres recuentos se expresan como células por unidad de volumen de sangre. Inicialmente para su determinación se utilizaba la cámara hemacitómetrica y, por esa razón, la unidad de volumen se expresó originalmente como milímetros cúbicos. Sin embargo, excepto en algunos casos de recuentos plaquetarios y en recuentos leucocitarios bajos, la cámara ha sido sustituida por métodos automatizados y el International Committee for Standardization in Hematology recomienda que la unidad de volumen sea el litro.

#### **4.1.1.4. INDICES ERITROCITARIOS SECUNDARIOS**

Se obtienen relacionando el hematócrito con los llamados índices eritrocitarios primarios, en concreto con, el número de hematíes y la concentración de hemoglobina. Su valoración puede ser compleja y debe realizarse teniendo en cuenta toda la información. Los autoanalizadores los calculan sistemáticamente.

##### **4.1.1.4.1. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO**

Informa sobre el valor medio del volumen de cada hematíe. Es un parámetro muy utilizado sobre el que se basa la moderna clasificación morfológica de las anemias. Permite clasificar las anemias en tres grandes grupos: macrocíticas (VCM > 98 fL), microcíticas (VCM < 82 fL) y normocíticas (VCM entre 82 y 98 fL).

#### **4.1.1.4.2. HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA**

Informa sobre el contenido medio de hemoglobina en cada eritrocito. Su valor normal se sitúa entre 28 y 32 picogramos. Disminuye en las anemias microcíticas, lo que corresponde al criterio morfológico de hipocromía. Por el contrario, aumenta en las anemias macrocíticas.

#### **4.1.1.4.3. CONCENTRACIÓN DE HEMOGLOBINA CORPUSCULAR MEDIA**

Informa sobre el contenido medio de hemoglobina por mL de eritrocitos, relacionando así el VCM con la HCM. Sus valores normales se encuentran entre 32 y 36%. En la práctica no ha mostrado mucha utilidad excepto en ciertas enfermedades, como en la esferocitosis hereditaria y en la xerocitosis congénita, en las que presenta aumentos característicos.

#### **4.1.2. EXAMEN DEL FROTIS SANGUÍNEO**

El examen de la extensión de sangre es muy importante para la correcta evaluación hematológica. Respecto a los eritrocitos, en los individuos sanos los hematíes se presentan, cuando no están aglomerados, como discos circulares homogéneos de tamaño casi uniforme. Cada hematíe tiene el centro más pálido que la periferia. Las alteraciones en contenido de hemoglobina, tamaño, forma, propiedades de tinción y estructura de los eritrocitos proporcionan una valiosa información.

Además, las cuatro especies de *Plasmodium* que pueden parasitar al hombre pueden visualizarse en el interior de los eritrocitos en el frotis teñido.



### **4.1.3. RECUESTO DE RETICULOCITOS**

Los reticulocitos son hematíes inmaduros, sin núcleo, que contienen ácido ribonucleico (RNA). En sangre periférica, tardan aproximadamente un día en perder su RNA y convertirse en eritrocitos. Su recuento proporciona información sobre la producción de eritrocitos.

Para su determinación se emplea una tinción con azul cresil brillante o con azul de metileno, puesto que ambos colorantes son capaces de precipitar el RNA. Microscópicamente se visualiza una malla o retículo azul oscuro que permite identificar los reticulocitos.

## **4.2. MAGNITUDES BIOQUÍMICAS**

Las magnitudes bioquímicas utilizadas, con mayor frecuencia, en el estudio de la deficiencia de hierro y/o de las anemias son: hierro, transferrina y ferritina (Van Eijk, 1992). Recientemente se ha incorporado la determinación del receptor soluble de transferrina en suero (Brugnara, 1999).

### **4.2.1. HIERRO**

La concentración de hierro en suero, concretamente del ión férrico, refleja principalmente la cantidad de hierro unido a la transferrina. En la práctica su determinación de forma aislada es poco fiable y puede conducir fácilmente a conclusiones erróneas debido a que representa tan sólo el 0,1% del contenido en el organismo. Asimismo, está sujeto a una gran variabilidad biológica debido al sexo, al ritmo circadiano y otros ritmos cíclicos y al embarazo (Lammi-Keefe, 1996).

Respecto al sexo, la concentración sérica de hierro es mayor en el hombre que en la mujer. Una posible explicación a este hallazgo, basada en razones

hormonales, relaciona los andrógenos con la tendencia a aumentar la concentración de hierro y los estrógenos con su disminución. Además, esta explicación justifica la observación de que la diferencia entre ambos sexos depende de la edad: no se manifiesta en la infancia, aparece en la pubertad y desaparece en la menopausia.

En cuanto a las variaciones cíclicas, la concentración sérica de hierro presenta un marcado ritmo circadiano. La concentración máxima se observa por la mañana y la mínima por la noche, con una diferencia entre la noche y el día de alrededor del 30%. Este ritmo está invertido en los trabajadores de turnos nocturnos. No se ha observado la existencia de un ritmo estacional. Se han descrito variaciones de la concentración sérica de hierro con el ciclo menstrual en la mujer por las pérdidas de sangre (Zilva, 1966) aunque también se han asociado con factores hormonales (Kim, 1993).

#### **4.2.1.1. SIGNIFICADO CLÍNICO**

En el apartado dedicado a los diferentes tipos de anemias se describen las alteraciones específicas de la determinación del hierro que se asocian a cada una de ellas. Otras enfermedades, aparte de la ferropenia y la anemia de los trastornos crónicos allí descritas, en las que también se observa una disminución de la concentración sérica de hierro son las que cursan con hipoproteinemias intensas, la policitemia vera y la hemosiderosis pulmonar idiopática. Por el contrario, la concentración de hierro en suero aumenta en las hepatopatías, la hemocromatosis, el alcoholismo y el tratamiento oral y parenteral con hierro (Jurczyk, 2001). Asimismo, se encuentra aumentado cuando la médula ósea no puede utilizar el hierro para la síntesis de hemoglobina, como sucede en la anemia megaloblástica, las talasemias y las anemias asociadas a la existencia de hemoglobinas anormales o a hemólisis.

#### 4.2.1.2. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA SU DETERMINACION

La determinación de hierro es muy sensible a problemas técnicos (Bakker, 1991; Blijenberg, 1994; Chalmers, 1995; Yamanishi, 1996a), y además, la muestra puede contaminarse fácilmente. Se dispone de numerosos métodos analíticos para realizar esta determinación (Fujita, 1994; Yamanishi, 1996b), siendo el más utilizado el método automatizado colorimétrico con ferrozina sin precipitación de proteínas (Ramon, 2000 y 2002).

#### 4.2.2. TRANSFERRINA

La transferrina, también conocida como siderofilina, es una macromolécula encargada de transportar el hierro desde los lugares donde se libera hasta los lugares en que se necesita. La unión no específica del hierro a otras proteínas, como la albúmina, sólo se produce en cantidad significativa en situaciones de sobrecarga de hierro con valores elevados de saturación de la transferrina.

Estructuralmente es una  $\beta$ -1-glicoproteína formada por una sola cadena polipeptídica que contiene 687 aminoácidos y un 6% de carbohidratos. Su peso molecular es de 79.550 (MacGillivray, 1982). En su secuencia de aminoácidos se observa la existencia de dos dominios homólogos y cada uno de ellos tiene un centro para la fijación del hierro, especialmente el ión férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Por lo tanto, cada molécula de transferrina puede fijar dos átomos de  $\text{Fe}^{3+}$ . Se ha observado que los dos centros, aunque son homólogos, no son completamente idénticos. En realidad, presentan pequeñas diferencias en su secuencia y en su afinidad hacia otros metales, distintos del  $\text{Fe}^{3+}$ . Normalmente la transferrina suele encontrarse saturada en un 33% de su capacidad, mientras que los dos tercios restantes representan su capacidad latente para unirse al hierro. Así, la molécula de transferrina puede circular de tres formas:

1. Diférrica: 100% de saturación. Con dos átomos de  $\text{Fe}^{3+}$ , uno en

cada centro. En condiciones normales, se encuentra en este estado una novena parte de las moléculas de transferrina.

2. Monoférrica: 50% de saturación. Con un átomo de  $Fe^{3+}$ , en uno u otro centro. Incluye cuatro novenas partes de las moléculas de transferrina.

3. Apotransferrina: 0% de saturación. Ningún átomo de  $Fe^{3+}$ . En individuos sanos, aproximadamente cuatro novenas partes de la transferrina circulante se encuentra libre de hierro.

La síntesis de transferrina se realiza mayoritariamente en el hígado, aunque una pequeña proporción se sintetiza en las células del sistema retículo endotelial y en glándulas endocrinas como los testículos y los ovarios. Su vida media es de 8 a 12 días.

Parece que la regulación de los niveles séricos depende de la biodisponibilidad del hierro. De forma que su síntesis puede verse incrementada en la deficiencia de hierro, para volver a normalizarse tras el tratamiento con hierro. Cuando la ferropenia es muy intensa, la concentración de transferrina puede aumentar hasta niveles de pseudoparaproteinemia con apariencia, en el proteinograma, de una paraproteína (Zawadzki, 1970).

La molécula de transferrina puede presentar mutaciones, habiéndose reconocido numerosas variantes genéticas. Hasta ahora se consideraba que los polimorfismos de la transferrina no tenían transcendencia clínica, y únicamente se detectaban como variantes electroforéticas. Sin embargo, recientemente alguna de estas mutaciones se ha relacionado con alteraciones funcionales y se considera un factor de riesgo de anemia ferropénica (Lee, 2001).

Se han descrito casos excepcionales de atransferrinemia congénita en los que el hierro no puede unirse a la transferrina en suero a pesar de que se absorbe

bien en el intestino. Estos casos se caracterizan por la presencia de una anemia hipocrómica severa, resistente al hierro, junto a concentraciones de transferrina sérica muy bajas (Goya, 1972; Hamill, 1991). Paradójicamente, el cuadro descrito se acompaña de exceso de hierro en los tejidos, sobre todo en hígado y miocardio (Pintado Cros, 2001).

#### **4.2.2.1. SIGNIFICADO CLÍNICO**

La concentración de transferrina informa de la cantidad máxima de hierro que puede ser transportada. Su determinación, en suero o plasma, es de utilidad principalmente para el diagnóstico diferencial del tipo de anemia y para la monitorización de su tratamiento (Gambino, 1996 y 1997).

Son numerosos los factores que influyen en la concentración plasmática de transferrina. Entre otros, el ciclo menstrual (Kim, 1993), el uso de anovulatorios y la gestación, incluso cuando las reservas de hierro no están alteradas (Mendenhall, 1970).

Como se describe en el apartado sobre anemia ferropénica, la deficiencia de hierro y la anemia que produce se asocian a un aumento de la transferrina. Por otra parte, la transferrina se comporta como un reactante de fase aguda negativo y disminuye en suero en los procesos inflamatorios o malignos. Otras patologías, que cursan con niveles disminuidos de transferrina son, además de la anemia de los trastornos crónicos, los estados en los que se produce una sobrecarga de hierro, las talasemias y anemias sideroblásticas, el síndrome nefrótico (por eliminarse en orina concentraciones elevadas de esta proteína) y otras nefropatías o enteropatías que se acompañan de pérdidas proteicas. Se encuentra también disminuida cuando su síntesis disminuye, como sucede en las hepatopatías crónicas severas (Jurczyk, 2001) y en la malnutrición. Puede utilizarse como marcador del estado nutricional del individuo, junto a otras proteínas como la prealbúmina y la proteína fijadora del retinol.

#### **4.2.2.1. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA SU DETERMINACIÓN**

Los métodos más utilizados son la turbidimetría y la nefelometría. De los dos, en nuestro medio, se utiliza con mayor frecuencia el método turbidimétrico (Ramon, 2000 y 2002). Se ha generalizado la utilización del calibrador internacional de referencia CRM 470.

#### **4.2.3. FERRITINA**

El hierro se almacena unido a la ferritina o a la hemosiderina. La ferritina es una macromolécula que tiene una cubierta proteica, la apoferritina, formada por 24 subunidades polipeptídicas que rodean un núcleo central de hierro. Con una capacidad máxima para 4.500 átomos de hierro, la molécula suele contener un promedio de aproximadamente 2.500 en estado de ión férrico. La apoproteína tiene un peso molecular de 440.000 daltons. De las 24 subunidades que la forman, 12 son cadenas pesadas o subunidades H y 12 cadenas ligeras o subunidades L. La proporción entre hierro y polipéptido no es constante puesto que la proteína tiene la capacidad de incorporar y eliminar hierro, según las necesidades fisiológicas.

Cuando el hierro se encuentra en exceso, la capacidad de almacenamiento de la apoferritina recién sintetizada puede quedar superada y lleva a la deposición de hierro al lado de las esferas de ferritina, en forma de hierro amorfo que se denomina, histológicamente, hemosiderina.

La síntesis de ferritina está inducida por el hierro que llega a las células unido a la transferrina, o en el interior del grupo hemo de la hemoglobina en caso de hemólisis. Si bien todas las células del organismo son capaces de sintetizar esta proteína para poder almacenar el hierro, en la práctica son las células del parénquima hepático y las células reticuloendoteliales de la médula ósea, el

hígado y el bazo, los puntos principales de almacenamiento, acaparando más del 90% del depósito de hierro del organismo. Las moléculas de ferritina presentan variaciones según los tejidos de los que proceden. Se han descrito al menos 20 tipos de isoferritinas que pueden diferenciarse, entre sí, por su contenido de cadenas ligeras y pesadas, que da lugar a diferencias en su movilidad electroforética.

Una fracción representativa de la ferritina sintetizada es glicosilada y liberada al torrente circulatorio, por lo que la ferritina contenida en las células suele estar en equilibrio con la ferritina sérica. Una característica de la ferritina sérica es que su contenido en hierro es considerablemente inferior al de la ferritina celular, pudiendo llegar a ser prácticamente sólo apoferritina.

#### **4.2.3.1. SIGNIFICADO CLÍNICO**

En los sujetos sanos, la concentración sérica de ferritina es proporcional a la cantidad de hierro depositado. Debido a ello, su principal aplicación clínica reside en su capacidad para evaluar los depósitos férricos en la médula ósea, evitando la realización de exploraciones invasivas (Bridges, 1991). Su comportamiento en los diferentes tipos de anemia se especifica en los apartados correspondientes: anemia ferropénica (página 32), anemia de los trastornos crónicos (página 39) y anemia hemolítica (página 42).

Entre los factores que influyen en la concentración sérica de ferritina se encuentran: el sexo, la edad, las donaciones de sangre, el contenido en hierro de la dieta, el nivel socioeconómico y el acceso a la atención sanitaria (Leggett, 1990). Por otra parte, durante el embarazo se observa característicamente una disminución progresiva de la concentración de ferritina conforme disminuye el hierro sérico (Taylor, 1982; Milman, 1991). A veces es difícil diferenciar la existencia de una anemia ferropénica verdadera de la hemodilución que aparece por la expansión fisiológica del volumen plasmático durante la gestación. El

tratamiento con hierro produce un aumento rápido de la ferritina sérica.

A pesar de que, en numerosas ocasiones, la concentración de ferritina sérica refleja de forma muy exacta los depósitos tisulares de hierro, la determinación de esta magnitud también tiene sus limitaciones (Cavill, 1999). Entre ellas, destaca que la ferritina es un reactante de fase aguda positivo, es decir, su concentración sérica aumenta en presencia de un proceso infeccioso y/o inflamatorio (Beldjord, 1982; Baynes, 1986; Coenen, 1991). Otras enfermedades en las que la concentración de ferritina puede aumentar son la hemocromatosis, las hepatopatías (Jurczyk, 2001), las enfermedades crónicas (como la enfermedad de Still o el hipertiroidismo), los procesos hematológicos malignos (como linfomas), tras la ingesta de etanol (Leggett, 1990) o en enfermos politransfundidos.

#### **4.2.3.2. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA SU DETERMINACIÓN**

Los métodos más utilizados para su determinación son: la turbidimetría, nefelometría e inmunoradiometría (IRMA). De los tres, en nuestro medio, el método turbidimétrico se utiliza con mayor frecuencia (Ramon, 2000 y 2002).

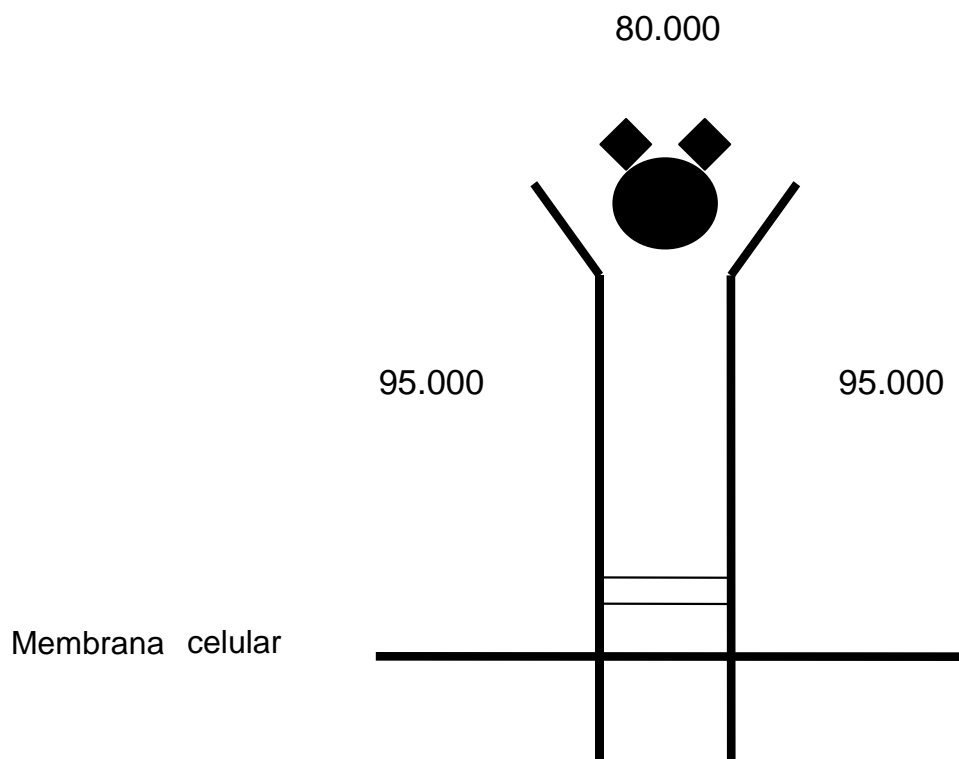
#### **4.2.4. RECEPTOR DE TRANSFERRINA**

##### **4.2.4.1. ESTRUCTURA Y LOCALIZACIÓN**

El receptor de transferrina humano, o CD71, es una glicoproteína transmembrana compuesta por dos subunidades idénticas, de 95.000 daltons, que están unidas por puentes disulfuro (figura 1). Se cree que cada subunidad se combina con un molécula de transferrina teniendo el complejo transferrina-receptor de transferrina un peso molecular aproximado de 350.000 daltons.



**Figura 1.** Representación esquemática del receptor de transferrina. Localizado en la membrana celular. El receptor de transferrina está compuesto por dos monómeros (P.M.: 95.000), unidos por dos puentes disulfuro, y ligados a una molécula de transferrina (P.M.: 80.000) (Beguin, 1992).



Cada subunidad posee un pequeño dominio citoplasmático interno, una gran región hidrofóbica situada en el interior de la membrana celular, y una gran cadena polipeptídica extracelular C-terminal (Bali, 1991; Fuchs, 1998). Si se trata con tripsina se producen dos fragmentos de 70.000 daltons cada uno que conservan su capacidad para unirse a la transferrina (Testa, 1985; Turkewitz, 1988).

Un pequeño número de estos receptores celulares de transferrina se escinden y circulan en forma libre en el plasma denominándose, cada uno de ellos, receptor soluble de transferrina (sRTf) (Beguin, 1992; Baynes, 1993 ;Baynes, 1994c). Se trata de un monómero truncado de 74 kDa, que circula unido a la transferrina (Ahn, 1993).

El gen que codifica el receptor de transferrina está situado en el cromosoma 3, cercano al gen de la transferrina. El receptor de transferrina está presente en todos los tejidos, aunque en distintas cantidades. La cantidad de receptores presentes en las células es un reflejo directo de la necesidad de hierro de esas células y constituye el determinante principal del aporte de hierro (Aisen, 1992; Chan, 1994; Baynes, 1995). Su expresión es especialmente elevada en las células de los órganos que captan grandes cantidades de hierro, como el hígado y la placenta, y es máxima en las células que son capaces de sintetizar hemoglobina: los precursores eritroides y eritrocitos (Enns, 1981). Se ha calculado que dos tercios del receptor sérico de transferrina proceden del tejido eritropoyético (Cook, 1993). También, el número de receptores de transferrina que están presentes en la membrana celular depende de la fase del ciclo celular, de forma que las células en reposo mitótico tienen muy pocos receptores mientras que las células que tienen una elevada capacidad de división contienen concentraciones elevadas (Theil, 1990; Inoue, 1993; Kuhn, 1994). Por esta característica, es un marcador útil de proliferación celular.

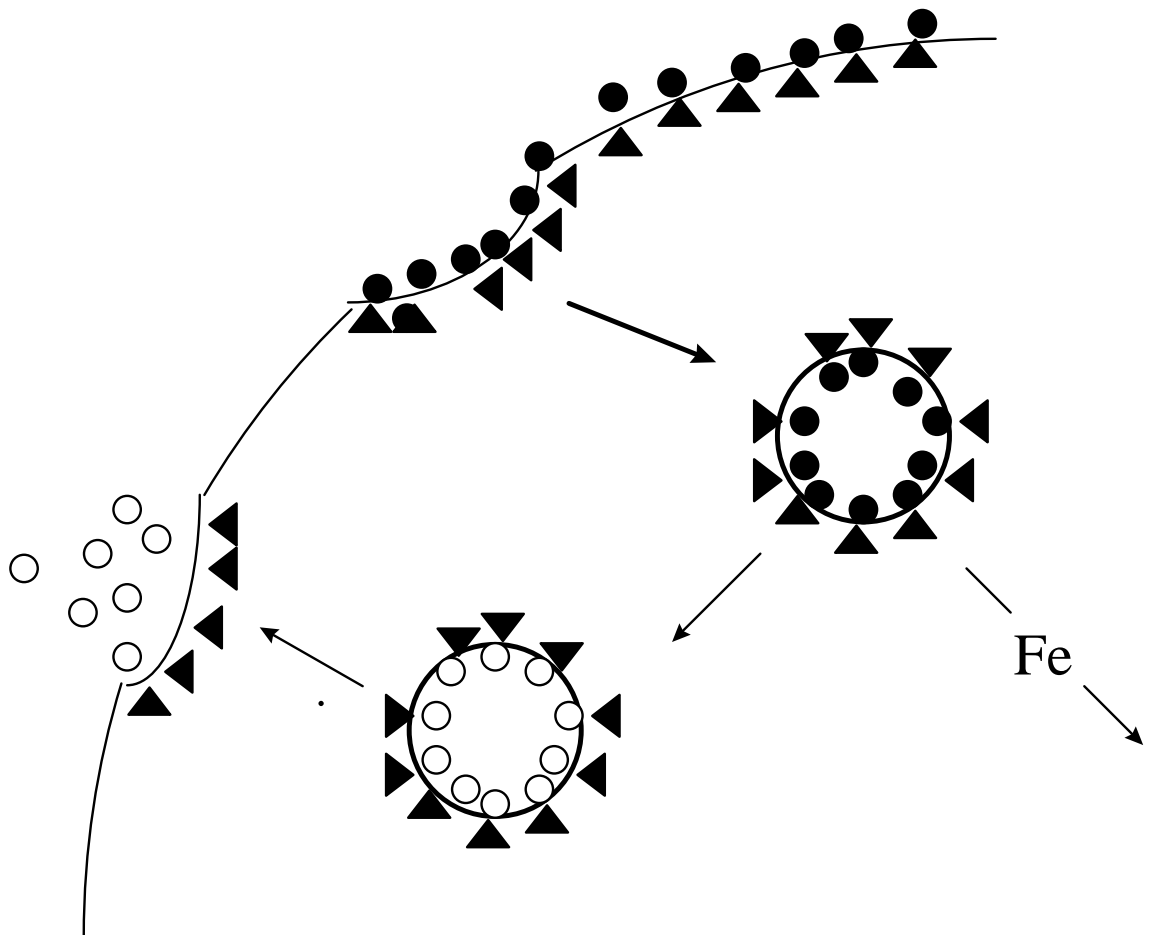
Otra característica del receptor de transferrina es que muestra mayor afinidad por la transferrina diférrica que por la apotransferrina o por la transferrina monomérica.

Sin embargo, la transferrina no es la única proteína que puede unirse al receptor de transferrina. Recientemente se ha descrito una proteína, la HFE, que compete con la transferrina por unirse a su receptor (West, 2001). Esta proteína se codifica en un gen localizado en el cromosoma 6. También se ha estudiado una mutación de esta proteína que da lugar a una proteína anómala responsable de la hemocromatosis hereditaria (Feder, 1996; Pietrangelo, 1998; Parkkila, 2001).

#### **4.2.4.2. CICLO INTRACELULAR DE LA TRANSFERRINA Y SU RECEPTOR**

Los receptores localizados en la superficie celular captan los complejos hierro-transferrina (Bali, 1992). La transferrina se une a su receptor formando un complejo que se internaliza en un endosoma o vacuosoma (Egan, 1993). En el vacuosoma el  $\text{Fe}^{3+}$  se acidifica con lo que se desprende de la transferrina y se libera al citoplasma en forma de hierro oxidado ( $\text{Fe}^{2+}$ ) (Trowbridge, 1992) (figura 2). En el proceso de liberación del hierro interviene como catalizador una enzima conocida con las siglas DMT 1 (Transportador 1 de Metales Divalentes) o también como Nramp2/DCT1 (Proteína 2 asociada a resistencia natural a macrófagos/ Transportador 1 de Cationes Bivalentes) (Lee, 1998; Canonne-Hergaux, 2001). Esta enzima pertenece a una familia de proteínas especializadas en el transporte de metales bivalentes. Así, en el ápex de las vellosidades intestinales esta proteína se encarga del transporte del hierro desde la luz intestinal hasta el interior del enterocito y en el eritroblasto transporta el hierro de los siderosomas al citoplasma.

**Figura 2.** Ciclo intracelular de la transferrina y su receptor. Después de unirse la transferrina (círculos negros) al receptor de transferrina (triángulos), el complejo formado por receptor de transferrina-transferrina es endocitado en una vacuola, y el hierro liberado al citoplasma. El receptor de transferrina regresa a la membrana celular y la apotransferrina (círculos blancos) al plasma (Beguin, 1992).



El complejo receptor-apotransferrina retorna a la superficie celular donde se disocia volviendo la apotransferrina al suero y reciclándose el receptor en la membrana celular, donde puede ser reutilizado.

Se han descrito otros posibles mecanismos para la internalización del hierro independientes del receptor de transferrina (Seligman, 1991; Chan, 1992b; Qian, 1995; Richardson, 1997; Trinder, 1997; Lieu, 2001). El receptor de transferrina tipo 2 es un nuevo receptor que posee un 66% de homología con el receptor clásico. Una diferencia fundamental entre ambos receptores consiste en que el tipo 2 carece de las llamadas regiones IRE, que son sensibles a la concentración de hierro y regulan la síntesis postranscripcional del receptor clásico (Andrews, 1999; Andrews, 2000; Kawabata, 2000). Por ello, el receptor de transferrina tipo 2 no está regulado por el hierro intracelular. También es capaz de unirse a la transferrina pero con menor afinidad que el receptor clásico. No se conoce bien su función en el metabolismo del hierro, aunque se sospecha que debe ser importante, pues su ausencia provoca una forma de hemocromatosis. Se expresa principalmente en los eritroblastos y en el hígado (Kawabata, 1999; Pintado Cros, 2001). Actualmente se está intentando determinar su significado clínico en pacientes con leucemia (Kawabata, 2001).

#### **4.2.4.3. SIGNIFICADO CLÍNICO**

Se ha descrito que los niveles del receptor soluble de transferrina en plasma permiten determinar de forma indirecta la concentración total del receptor de transferrina del organismo, ya que se producen en cantidades proporcionales (R'zik, 2001). Además, la concentración de receptor soluble de transferrina también depende de la actividad eritroide (Cook, 1994b; Kuiper-Kramer, 1998b; Huebers, 1990; Feelders, 1999).

El receptor soluble de transferrina se encuentra aumentado en: la anemia ferropénica (Huebers, 1990; Skikne, 1990; Akesson, 1998), la anemia megaloblástica (Carmel, 1992), trastornos hematológicos que cursan con hiperplasia del tejido eritroide tipo anemia hemolítica (Kohgo, 1987) y en determinadas enfermedades con aumento de proliferaciones celulares tipo leucemia linfática crónica y las talasemias. También está aumentado en otras enfermedades, como la esquizofrenia y la depresión mayor (Maes, 1995). Por el contrario, disminuye en pacientes con cáncer (Feelders, 1998) y en pacientes con anemia hipoproliferativa como, por ejemplo, en la anemia aplásica (Kohgo, 1987; Schrezenmeier, 1994). Y asimismo se encuentra disminuido en aquellas alteraciones que infiltran la médula y desplazan la serie eritroblástica, como en el caso de las leucemias agudas (Bradstock, 1994; Del Poeta, 1997; Takubo, 2000; Kollia, 2001). Se ha sugerido que esta disminución podría deberse a inestabilidad o plegamiento erróneo de la proteína receptor de transferrina (Kuznetsov, 1998). Se ha descrito que el receptor soluble de transferrina es un buen índice de la actividad eritropoyética en pacientes con anemia asociada a insuficiencia renal crónica en tratamiento con diálisis (Beguin, 1993b; De Paoli Vitali, 1996; Deira, 1996).

#### **4.2.4.4. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA SU DETERMINACIÓN**

Inicialmente se utilizaron técnicas de enzimoimmunoanálisis (Virtanen, 1998). En la actualidad se dispone, además, de métodos nefelométricos y turbidimétricos, que resultan más prácticos al poder adaptarse a analizadores automatizados y permitir la utilización rutinaria de esta determinación (Hikawa, 1996; Yeung, 1998; Akesson, 1999; Flowers, 1999; Suominen, 1999; Cotton, 2000; Punnonen, 2000; Vernet, 2000).

## 5. ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL HIERRO

Las alteraciones del metabolismo del hierro son muy variadas (Bonkousky, 1996; Bergamaschi, 1999). Algunas tienen su origen en una deficiencia ocasionada por un desequilibrio entre el aporte y las pérdidas y/o necesidades. En otros casos se produce una sobrecarga excesiva, consecuencia del aumento del aporte (por ejemplo, por transfusiones sanguíneas repetidas o tratamiento inadecuado con hierro) o de la absorción. Asimismo, existen alteraciones relacionadas con problemas en la distribución de hierro entre los diferentes compartimentos (Andrews, 1999).

La alteración del balance de hierro en el organismo puede tener dos consecuencias diferentes según el balance sea negativo o positivo. Si es negativo, disminuye la síntesis de hemoglobina y se desarrolla una anemia microcítica e hipocroma y si es positivo aparecen signos de intoxicación y lesiones parenquimatosas. Esta última alteración se denomina hemocromatosis.

La cantidad de hierro utilizada para la síntesis de hemoglobina en un adulto normal es, aproximadamente, entre 20 y 25 mg/día. Una médula que funcione normalmente puede incrementar por seis su producción de hematíes y de hemoglobina. Por tanto, con una estimulación máxima se podrían utilizar hasta 100 a 125 mg de hierro/día. En situaciones especiales, como el embarazo, se produce un incremento notable de la demanda de hierro y pueden precisarse aportes suplementarios de hierro.

## **5.1. ANEMIAS**

La anemia se define como la disminución de la concentración de hemoglobina. Invariablemente se acompaña de un descenso del valor del hematócrito y, casi siempre, del número de hematíes.

En la práctica, la Organización Mundial de la Salud recomienda considerar anemia, en los adultos, cuando la concentración de hemoglobina es inferior a 13,0 g/dL en el varón o inferior a 12,0 g/dL en la mujer. En los niños, este criterio varía según la edad, de forma que, desde los 6 meses hasta los 6 años, el límite inferior de la hemoglobina es de 11,0 g/dL y, entre 6 y 14 años, es de 12,0 g/dL. En la gestación por el aumento del volumen plasmático se puede originar una pseudoanemia dilucional, y se acepta como cifra inferior de la normalidad hemoglobina de 11,0 g/dL (Farreras, 2000).

Con mucho, la causa más frecuente de anemia es la ferropenia, seguida por la anemia de los trastornos crónicos. Otro tipo de anemia que puede tener importancia en áreas endémicas de malaria es la anemia hemolítica.

### **5.1.1. DEFICIENCIA DE HIERRO Y ANEMIA FERROPÉNICA**

#### **5.1.1.1. PREVALENCIA**

La deficiencia de hierro es el trastorno nutricional de mayor prevalencia en el mundo (DeMaeyer, 1985; Brittenham, 1991; Hercberg, 2001). Se calcula que afecta aproximadamente al 20 - 30% de la población. En casi la mitad de los casos, se asocia a anemia siendo, de esta forma, la ferropenia la causa más frecuente de anemia en el mundo (Dallman, 1993a).

Los principales grupos de riesgo para la deficiencia de hierro y anemia ferropénica son los lactantes y niños en edad preescolar (Blot, 1989), los



adolescentes, las mujeres en edad fértil (Ballin, 1992; Scholl, 1992; Bruner, 1996; Farrell, 1998), las gestantes, los ancianos y los deportistas. Constituyen también grupos de riesgo las personas con una dieta inadecuada en hierro y los donantes de sangre.

Los factores socioeconómicos influyen en la salud y nutrición de la población. Así, la prevalencia de ferropenia es menor en los países de elevado nivel económico como los Estados Unidos, Japón y Europa (Cook, 1979; Dallman, 1984; Whalen, 1997; Hercberg, 2001) que en los países subdesarrollados (Calvo, 1990), donde una gran parte de la población sigue dietas muy deficientes en hierro, con contenido alto de cereales y bajo de proteínas animales (Adish, 1999b). Esto sucede en Tanzania (Tatala, 1998), donde se ha realizado este estudio. Se ha descrito que la prevalencia de ferropenia es de alrededor del 50% en niños y mujeres en edad fértil que viven en áreas subdesarrolladas, mientras que es del 10% en áreas desarrolladas (Scott, 1967; Expert Scientific Working Group, 1985; WHO, 1990). Esta diferencia motiva la realización de estudios encaminados a disminuir su elevada prevalencia en los países en desarrollo, ya sea facilitando su diagnóstico o a través de la efectividad potencial de intervenciones (Tatala, 1998). Por ejemplo, se han estudiado posibilidades como fomentar el empleo de material de cocina de hierro (Borigato, 1998; Adish, 1999a; Brabin, 1999) o suplementar con hierro el agua para beber (Dutra-de-Oliveira, 1994 y 1996) o el azúcar (Viteri, 1995), como métodos para prevenir la anemia accesibles a la población de estos países.

Paradójicamente, se observa este mismo problema nutricional en determinados grupos de población de países desarrollados, como los vegetarianos o las personas que siguen dietas hipocalóricas (Beard, 1997; Beguin, 1997).

### 5.1.1.2. CONCEPTO Y ETIOLOGÍA

La anemia ferropénica se define como el descenso de la concentración de hemoglobina en sangre secundario a una disminución de las reservas de hierro en el organismo.

La deficiencia de hierro es el resultado de uno de los siguientes factores o de su combinación: aporte insuficiente (por dieta inadecuada o por absorción alterada), aumento de las necesidades (embarazo, lactancia, períodos de crecimiento, etc.), pérdidas excesivas (hemorragia, anquilostomiasis, etc.), déficit de absorción y/o alteración del transporte. En casos excepcionales el origen se encuentra en un trastorno congénito del metabolismo del hierro (atransferrinemia, aceruloplasminemia).

Los niños constituyen una población de riesgo debido a un aumento de los requerimientos de hierro. Las necesidades fisiológicas de hierro, aunque constantes durante todo el período de crecimiento, son especialmente intensas al final de la vida intrauterina y en el primer año de vida. En ambos momentos, estas necesidades llegan a ser entre 2 y 3 veces superiores a las de otros períodos de la vida. La deficiencia de hierro es frecuente en los lactantes y casi general en los niños nacidos pretérmino (Fuchs, 1993; Wharton, 1999a), a no ser que se administren suplementos de hierro. Las reservas de hierro que el recién nacido recibe de la madre se agotan hacia el sexto mes de vida extrauterina. En los lactantes, los principales factores de riesgo para desarrollar deficiencia de hierro se considera que son: bajo peso en el nacimiento, consumo temprano de leche de vaca, índice de crecimiento rápido y la ingesta de una dieta baja en hierro (Ziegler, 1990). Como medidas preventivas han demostrado ser efectivas las fórmulas infantiles y los cereales enriquecidos con hierro (Yip, 1987a; Walter, 1993b; Ziegler, 1996; American Academy of Pediatrics, 1999). Otra ventaja de la administración de suplementos de hierro es que, parece que, las alteraciones que provoca la ferropenia son reversibles

cuando se corrige la deficiencia de hierro (Angeles, 1993; Idjradinata, 1993; Lawless, 1994; Schultink, 1995; Angeles-Agdeppa, 1997; Palupi, 1997; Thu, 1999).

### **5.1.1.3. MECANISMO DE INSTAURACIÓN**

La evolución de la anemia por deficiencia de hierro es progresiva y se desarrolla en varias etapas sucesivas, en el orden expuesto a continuación:

#### Ferropenia prelatente

En una primera fase se produce una reducción progresiva en los depósitos de hierro. El agotamiento del hierro almacenado puede evidenciarse por una disminución de la concentración sérica de ferritina. No obstante, la cantidad de hierro disponible, es aún suficiente para mantener una eritropoyesis y síntesis de hemoglobina correctas, y no se producen todavía manifestaciones clínicas (Oski, 1983; Cook, 1989; Wharton, 1999a).

#### Ferropenia latente

También llamada eritropoyesis deficiente o eritropoyesis ferropénica. Si la deficiencia de hierro se mantiene, desciende la concentración de este metal en sangre y su proteína transportadora, la transferrina, deja de estar saturada. Es posible detectar modificaciones en los valores de transferrina, así como un aumento en la concentración de protoporfirina eritrocitaria libre (Oski, 1983; Cook, 1989; Wharton, 1999a). Comienza el deterioro del aporte de hierro a la médula ósea y se resiente la eritropoyesis, sin embargo, la síntesis de hemoglobina se mantiene dentro de la normalidad. En esta etapa puede notarse una disminución en el rendimiento físico.

### Ferropenia manifiesta o anemia ferropénica

Por último, cuando la ferropenia está muy desarrollada ya no se dispone de hierro suficiente para mantener la producción normal de hemoglobina. La deficiencia prolongada de hierro da lugar a la aparición de anemia microcítica-hipocroma (Oski, 1983; Cook, 1989; Beaton, 1989; Wharton, 1999a).

#### **5.1.1.4. DIAGNÓSTICO Y ESTUDIO DE LA ANEMIA**

En la actualidad existen numerosas magnitudes que permiten detectar la anemia ferropénica de forma relativamente sencilla (Beaton, 1989; Taylor, 1993). Sin embargo, no hay ningún test de laboratorio que sea capaz por sí sólo de identificar correctamente la deficiencia de hierro y hay que recurrir a la determinación combinada de varios parámetros (Dallman, 1981).

A continuación se muestran las magnitudes que permiten valorar la deficiencia de hierro en los diferentes compartimentos:

##### Compartimento funcional:

- |                                 |            |
|---------------------------------|------------|
| • Hemoglobina                   | disminuida |
| • Hemoglobina corpuscular media | disminuida |
| • Volumen corpuscular medio     | disminuido |

##### Compartimento de reserva:

- |                    |            |
|--------------------|------------|
| • Ferritina sérica | disminuida |
|--------------------|------------|

Compartimento de transporte:

- |                                      |            |
|--------------------------------------|------------|
| • Hierro sérico                      | disminuido |
| • Transferrina                       | disminuida |
| • Protoporfirina eritrocitaria libre | aumentada  |

El diagnóstico de anemia se establece teniendo en cuenta la disminución en la concentración de hemoglobina. Si la anemia es micro o normocítica, el segundo paso será descartar la deficiencia de hierro.

En la anemia ferropénica, la concentración de hierro sérico disminuye, la capacidad de la transferrina para unirse al hierro aumenta en gran medida, el nivel de protoporfirina libre de los eritrocitos se incrementa y el contenido sérico de ferritina disminuye. Si, además, se realiza un examen de la médula ósea, se observa una reducción de la cantidad de hierro almacenado en las células reticuloendoteliales y del número de sideroblastos o precursores de hematíes que contienen hierro oxidable. En los individuos que han recibido una transfusión en los meses inmediatamente anteriores o preparados de hierro por vía parenteral, el estudio de la médula ósea muestra la existencia de hierro, en los depósitos reticuloendoteliales, en presencia de una anemia ferropénica bien desarrollada.

Es mucho más difícil realizar el diagnóstico de ferropenia o de anemia ferropénica leve que el diagnóstico de anemia ferropénica grave. La ferropenia, en ausencia de anemia, incluso puede pasar desapercibida (Bellamy, 1998). Los enfermos ligeramente anémicos no tienen los hematíes hipocrómicos y microcíticos característicos del estado de deficiencia de hierro grave. Ni tampoco se observan cambios en la concentración de hierro y transferrina séricos. Sin embargo, los niveles de ferritina en suero suelen reducirse rápidamente en la ferropenia, incluso antes de que aparezcan los primeros síntomas de anemia ferropénica o de que se altere la concentración de hemoglobina, la morfología de

los eritrocitos o el volumen corpuscular medio. También aumenta la concentración eritrocitaria de protoporfirina libre. Con excepción de los enfermos que han recibido transfusiones de sangre o tratamiento con hierro por vía parenteral, los depósitos de hierro de la médula ósea se vacían, incluso en el grado más leve de deficiencia de hierro.

En cuanto al diagnóstico diferencial, es importante diferenciar la anemia ferropénica de otras anemias (Yip, 1988; Enguix, 1996), en especial de aquellas anemias que pueden simularla (Di Gregorio, 1998), como ocurre en los enfermos con  $\beta$ -talasemia menor (Aghai, 1986; Eldibany, 1999). La anemia hipocroma en la  $\beta$ -talasemia menor acostumbra a asociarse a depósitos de hierro normales en la médula ósea, así como a valores normales de hierro sérico. El diagnóstico de la talasemia se establece demostrando el aumento de la hemoglobina  $A_2$  en el caso de la  $\beta$ -talasemia menor y la presencia de hemoglobina H en el de la  $\alpha$ -talasemia. Para diferenciar la anemia ferropénica de la anemia hipocrómica debida a la herencia de una hemoglobina inestable o a una anemia sideroblástica hereditaria o adquirida se tiene que tener presente que los enfermos que padecen estas anemias tienen reservas abundantes de hierro en la médula ósea, la concentración este metal en suero es normal o elevada y la capacidad de la transferrina para unirse al hierro suele ser normal o reducida. La diferenciación de la anemia sideropénica de las anemias sideroblásticas es particularmente importante, ya que estos enfermos tienden a acumular el hierro sobrante en los tejidos y desarrollan un trastorno de su almacenamiento, por lo que el tratamiento con hierro, además de no beneficiar al enfermo, puede acelerar la aparición de complicaciones.

El receptor soluble de transferrina es un indicador sensible y específico de la deficiencia tisular de hierro (Skikne, 1990; Thorstensen, 1993). Frente a la determinación de la ferritina, los valores del receptor de transferrina aumentan precozmente tras el inicio de la deficiencia de hierro, precediendo incluso a la disminución de ferritina sérica (Skikne, 1990; Worwood, 1997). Además, presenta

la ventaja de que no se altera en los trastornos crónicos si no se acompañan de deficiencia de hierro (Jason, 2001). Esta característica lo convierte en el único test no invasivo disponible actualmente que permite diferenciar la anemia ferropénica de la anemia de las enfermedades crónicas (Ferguson, 1992; Petterson, 1994).

#### **5.1.1.5. MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA DEFICIENCIA DE HIERRO**

La ferropenia es un proceso sistémico, con frecuencia asintomático, que se asocia a multitud de efectos que incrementan tanto la morbilidad como la mortalidad de la población vulnerable (Dallman, 1989b; Fairchild, 1989; Baynes, 1990; Walter, 1993a; Beard, 1995; Bruner, 1996). Cuando coexisten ferropenia y anemia, se observan los síntomas clásicos de cualquier tipo de anemia, como palidez, apatía, fatiga, palpitaciones y disnea de esfuerzo. En ocasiones, en niños con anemia ferropénica grave, es posible una confusión inicial con otras patologías como la enfermedad cardíaca cianótica (Olcay, 1996) o también con distress respiratorio y asma (Hetzl, 1998). La deficiencia de hierro puede repercutir en su desarrollo físico y mental (Garn, 1981; Walter, 1989; Lozoff, 1991; Lafuente, 1992; Moffatt, 1994; Chen, 1995; De Andraca, 1997; Anttila, 1997; Kwiatkowski, 1999), habiéndose asociado a alteraciones de la capacidad de atención, disminución del rendimiento intelectual, fracaso escolar y anormalidades de la conducta (Webb, 1973; Oski, 1978; Oski, 1983; Lozoff, 1987; Soewondo, 1989; Walter, 1994). Se ha descrito que la anemia ferropénica produce secuelas neurológicas como irritabilidad, cefaleas y retraso del crecimiento (Dallman, 1989a). También, en niños, excepcionalmente, se ha asociado a papiledema, pseudotumor cerebral y accidente vascular cerebral isquémico (Hartfield, 1997).

Otro aspecto que se ha observado es que existe una relación entre deficiencia de hierro y alteraciones de la inmunidad, especialmente frente a las enfermedades infecciosas. Existiendo cierta controversia sobre si el hierro promueve o protege frente a las infecciones (Walter, 1997; Fishbane, 1999).

Sin embargo, hasta el momento no se han demostrado aspectos beneficiosos de la ferropenia en niños, mientras que se dispone de numerosos estudios sobre los efectos negativos a corto y a largo plazo de esta alteración (Buchanan, 1999).

#### **5.1.1.6. INTERVENCIONES**

El control de la deficiencia de hierro es una prioridad de salud pública en todo el mundo (Scrimshaw, 1991; WHO, 1994a; WHO, 1994b; Freire, 1997; Centers for disease control and prevention, 1998; Scrimshaw, 2000). Todavía hoy en día sigue constituyendo una de las principales deficiencias nutricionales incluso en los países desarrollados (Hercberg, 2001).

Una de las ventajas de la lucha contra la ferropenia consiste en que es uno de los problemas más tratables debido a la posibilidad de intervenir con un coste relativamente bajo. En los países más desarrollados algunas intervenciones han contribuido a reducir la prevalencia de este tipo de anemia mediante la recomendación de dietas diversificadas, la utilización de leches infantiles y cereales suplementados con hierro (Daly, 1996 y 1997; Dalton, 1997; Walter, 1998; Williams, 1999b), el uso de anticonceptivos orales en las mujeres fértiles y la suplementación con hierro en las mujeres embarazadas. Sin embargo, la suplementación excesiva con hierro puede ser perjudicial, las dosis excesivas de hierro de los preparados farmacológicos pueden producir problemas gastrointestinales (Cook, 1995). Recientemente también se ha relacionado la suplementación excesiva de hierro con el incremento de la incidencia del riesgo de enfermedad cardiovascular o de cáncer (Schumann, 2001).

El tratamiento de la deficiencia de hierro debe adecuarse, de forma individual, a cada país y a cada cultura (Cohen, 1999b; Faber, 1999; Madhavan Nair, 2001). En las mujeres embarazadas se recomienda la suplementación con hierro (Menéndez, 1993; Menéndez, 1994; Ekström, 1996; Beard, 2000). En los



niños, existe controversia sobre las medidas a adoptar (Heaton, 1991; Feightner, 1994; West, 1996; Ziegler, 1996; Childs, 1997; Eden, 1997; Grajeda, 1997; James, 1997; Christian, 1998; Elbourne, 1998; Walker, 1998; Goodhart, 1999; Bogen, 2000). Una propuesta consiste en realizarles siempre que acudan al hospital una determinación de hemoglobina, recuento de hematíes e índices eritrocitarios secundarios para detectar la deficiencia de hierro (Wharton, 1999a). Muchos estudios muestran que el tratamiento con hierro mejora el desarrollo psicomotor (Aukett, 1986; Idjradinata, 1993; Beard, 1995; Ashby, 1996; Brunner, 1996; Hollan, 1996; Walker, 1996; Akobeng, 1999), aunque no siempre es así (Morley, 1999). Si se decide proporcionar suplementos de hierro regulares, parece que una etapa ideal para administrarlos es desde los tres meses y hasta los siete o doce meses de edad, puesto que es el período en que las reservas de hierro son más bajas.

En áreas donde la malaria es endémica tanto la malaria como la anemia se han considerado prioritarias para mejorar la supervivencia infantil. En Tanzania se ha desarrollado un programa nacional para el control y la prevención de la anemia (UNICEF, 1990; Tatala, 1998).

### **5.1.2. ANEMIA DE LOS TRASTORNOS CRÓNICOS**

Por su elevada frecuencia es el segundo tipo de anemia en la población, después de la anemia ferropénica (Means, 1999).

Clásicamente se define como la anemia asociada a infecciones crónicas, procesos inflamatorios, traumáticos o neoplasias y cursa con alteraciones características en el metabolismo del hierro (Cartwright, 1971). Existe una patología relacionada, el síndrome de reutilización defectuosa primaria del hierro que se diagnostica en aquellos pacientes con anemia de los trastornos crónicos en los que no se consigue demostrar una enfermedad asociada (Besa, 2000).

Cualquiera de los procesos crónicos citados anteriormente es capaz de producir anemia por interferir en la disponibilidad del hierro, ya que impide su liberación de los lugares donde se halla almacenado (Cazzola, 1996). Se observa así disminución de la sideremia, de la transferrina y de su saturación, con ferritina y depósitos corporales de hierro repletos. La expresión del receptor de transferrina en los eritroblastos puede encontrarse alterada y de esta forma en la artritis reumatoide se ha encontrado una disminución en el número y en la afinidad de los receptores de transferrina en los eritroblastos (Feelders, 1993; Zoli, 1994).

La gravedad de esta anemia se correlaciona con la actividad de la enfermedad subyacente (Biesma, 1995). La infección o la inflamación estimula la producción de citoquinas que intervienen activándose como parte de la respuesta inmune a la infección y, simultáneamente, actúan como mediadoras de profundos cambios en el metabolismo del hierro ya que activan el sistema reticuloendotelial y bloquean la utilización del hierro (Jongen-Lavrencic, 1997; Walter, 1997; Feelders, 1998; Jason, 2001). Se observan niveles elevados de factor de necrosis tumoral, interleucina 1 e interferones que producen la inhibición del desarrollo de las Unidades Formadoras de Colonias Eritroides y provocan la anemia y una disminución de la síntesis de eritropoyetina (Walter, 1997). Por esta razón, resulta útil la administración terapéutica de eritropoyetina a estos pacientes (Walter, 1997; Ricard Andrés, 2001). También la interleucina 1 actúa activando la liberación de lactoferrina por los neutrófilos e inhibiendo la síntesis de transferrina en el hígado, produciéndose una hiposideremia en un intento del organismo de disminuir la virulencia de la infección (Ricard Andrés, 2001). Así, es característico de la respuesta de fase aguda y de la anemia de los trastornos crónicos la hiposideremia asociada a incremento de la síntesis de ferritina.

Existen numerosos estudios sobre la relación entre las infecciones y el

metabolismo del hierro (Oski, 1979; Scrimshaw, 1997; Sunder-Plassmann, 1999; Jason, 2001), encontrándose en ellos cierta controversia sobre si el hierro promueve las infecciones o si tiene un papel protector frente a ellas (Walter, 1997; Fishbane, 1999). Se ha hipotetizado que los suplementos de hierro podrían incrementar la morbilidad en pacientes con enfermedades infecciosas, puesto que el aumento de la disponibilidad de hierro favorecería el desarrollo de los microorganismos patógenos al tratarse de un nutriente esencial para su crecimiento (Murray, 1978; Brunser, 1993). En contrapartida el organismo utiliza el secuestro del hierro como un mecanismo de control de la proliferación bacteriana. A pesar de esto, no hay razones suficientes para recomendar modificar las estrategias habituales de tratamiento con hierro (Menendez, 1997; Fishbane, 1999).

Respecto a la malaria, se sugirió que la anemia y la malnutrición podrían conferir cierto grado de protección frente a la infección por *Plasmodium falciparum*, ya que en estudios *in vitro* se demostró que los parásitos responsables de la malaria necesitan hierro para su crecimiento (Targett, 1981). Por otra parte la administración de hierro en pacientes con deficiencia de este metal se asociaba con una mayor prevalencia de la infección por *Plasmodium* (Oppenheimer, 1986; Smith, 1989b). Ahora bien, estudios más recientes indican que ni la anemia ni la malnutrición parecen proporcionar protección contra la malaria ni contra el nivel de parasitemia en niños (Ghost, 1995) y que son adecuadas las políticas de salud que recomiendan la administración de hierro como profilaxis a niños que viven en áreas endémicas de malaria (Menendez, 1997; Beck, 1999).

### 5.1.3. ANEMIA HEMOLÍTICA

Es un trastorno caracterizado por la destrucción prematura de hematíes. Puede clasificarse en dos grandes grupos según el lugar en que se localiza el defecto que ocasiona la hemólisis, si está dentro del hematíe (factor intrínseco) o fuera de éste (factor extrínseco) (Nelson, 1993).

Las causas de la anemia hemolítica son múltiples, destacando infecciones, ciertos medicamentos, trastornos autoinmunes y trastornos hereditarios. En nuestro estudio nos interesan especialmente las primeras.

Los procesos infecciosos se acompañan a menudo de anemia. Entre los numerosos factores pueden intervenir en su patogenia destacan: los mecanismos inmunológicos, la inflamación y la supresión medular. La anemia hemolítica por mecanismo inmune puede desarrollarse en respuesta a todo tipo de agente infeccioso, sea bacteria, virus o protozoo. Aunque la hemólisis también puede producirse por otros mecanismos no mediados por anticuerpos, como cuando el mecanismo principal es la agresión directa del hematíe por el parásito o el microorganismo o sus toxinas que ocasiona hemólisis intravascular y aumento de la actividad del sistema mononuclear fagocítico. En estos casos, los agentes microbianos responsables pueden ser bacterias o protozoos y, más raramente, virus. Los virus con mayor frecuencia se relacionan con hemólisis inmunológica.

La hemólisis, en el conjunto de las infecciones agudas y crónicas, constituye un fenómeno poco frecuente. Aún así, existen infecciones en las que la hemólisis puede ocupar un lugar destacado. Entre las múltiples bacterias capaces de provocar anemia hemolítica por agresión directa del germen o de sus toxinas destacan *Clostridium welchii* y *Bartonella bacilliformis*. Es el caso de la septicemia por *Clostridium welchii*, este patógeno elabora una toxina con potente actividad lecitinasasa capaz de lisar la membrana eritrocitaria con extremada rapidez. *Bartonella bacilliformis* es la bacteria gramnegativa responsable de la fiebre de

Oroya, enfermedad frecuentemente fatal del Perú, que se caracteriza por la anemia hemolítica que produce y la fiebre elevada que da nombre a la enfermedad. Su reservorio es un flebotomo que habita determinadas áreas de Sudamérica (Perú, Ecuador y Colombia) y el contagio humano se realiza a través de la picadura.

En algunas infecciones protozoarias, la anemia hemolítica adquiere gran relevancia clínica cuando el parásito penetra de alguna forma en el interior del hematíe y facilita su rotura o fagocitosis por el sistema mononuclear fagocítico. Entre estos parásitos destacan dos protozoos: el *Plasmodium* en sus diferentes variedades (*Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium falciparum*), causante del paludismo o malaria y la *Babesia microti* que provoca la babesiosis. La babesiosis es mucho menos frecuente que el paludismo y a diferencia de éste, el reservorio natural del parásito es la rata. Clínicamente, cursa con una anemia de intensidad variable y en alguna ocasión con insuficiencia renal que puede causar la muerte del paciente. El diagnóstico se basa esencialmente en un examen morfológico minucioso del frotis sanguíneo con observación del parásito (anillo rojo similar al plasmodio) en el interior de los hematíes.

Otros protozoos que pueden ocasionar anemia hemolítica, aunque con menor frecuencia, son el tripanosoma y el toxoplasma.

En la hemólisis, la destrucción de los hematíes se acompaña de cambios morfológicos característicos en el frotis y de signos de respuesta medular con aumento de los reticulocitos. Generalmente se acompaña de aumento del hierro y de la ferritina en suero. Otras pruebas bioquímicas que pueden ayudar a su diagnóstico son la LDH y la bilirrubina indirecta, que están aumentadas, y la haptoglobina, que está disminuida.

## **5.2. ALTERACIONES CONGÉNITAS ASOCIADAS A LA MALARIA**

El hombre ha seleccionado como un mecanismo de defensa frente al plasmodio algunas alteraciones congénitas en los hematíes: eritroenzimopatías, defectos de la estructura de la hemoglobina y de la membrana del hematíe que dificultan el desarrollo de los plasmodios en el interior de los eritrocitos. Por esta razón, la malaria endémica ejerce una presión positiva sobre determinadas patologías genéticas (Gendrel, 1991; Anderson, 1994 y 1995a; Elagib, 1998). La incidencia de estas enfermedades es mayor en aquellas regiones geográficas en las que el paludismo es o ha sido una enfermedad frecuente. Entre estas patologías destacan por su frecuencia la anemia de células falciformes, la talasemia y la deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (Thakur, 1992; Kaneko, 1998). Estas tres patologías se encuentran presentes en Tanzania (Mitchell, 1972; Godber, 1976; Corachan, 1979; Kimati, 1980; Kalokola, 1983; Kitundu, 1991; Stirnadel, 1999).

Por otra parte, estudios realizados utilizando modelos animales muestran que el desarrollo de los plasmodios en el interior de los eritrocitos es capaz de producir modificaciones en la hemoglobina y los hematíes (Weber, 1994).

### **5.2.1. ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES Y OTRAS HEMOGLOBINOPATÍAS ESTRUCTURALES**

Las hemoglobinopatías son las adaptaciones genéticas más frecuentes frente al paludismo que hacen que el plasmodio crezca con dificultad en el interior del eritrocito, ofreciendo una ventaja genética a los individuos heterocigotos en zonas endémicas de malaria (Allison, 1957; Bienzle, 1975; Corachan, 1979; Ringelhann, 1976; Hill, 1991; Greenwood, 1991; Allen, 1992; Chippaux, 1992; Flint, 1998; Le Hesran, 1999; Agarwal, 2000; Ashley-Koch, 2000; Aidoo, 2002). Dentro de este grupo de hemoglobinopatías estructurales se encuentran las relacionadas con las hemoglobinas S, C y E.

De todas ellas, la más extendida en el mundo es la hemoglobina S, responsable de la anemia de células falciformes, llamada así por el aspecto en hoz que adquieren los hematíes. Su prevalencia es muy elevada en áreas endémicas de malaria (Dumbo, 1992; Hood, 1996). No se conoce con detalle el mecanismo protector frente al paludismo en los heterocigotos con hemoglobina AS (Abu-Zeid, 1992). Por otra parte, los homocigotos sufren una enfermedad grave que suele acompañarse de anemia, produce alteraciones crónicas en muchos órganos y cursa con agudizaciones especialmente graves cuando se ocluye la microcirculación de territorios que comprometen la vida. Además, recientemente se ha demostrado que esta anemia predispone a los niños a padecer infecciones por bacterias y virus (Wong, 2001).

Las hemoglobinopatías C y E son menos frecuentes. La hemoglobina C muestra una prevalencia elevada en África occidental y variable en diferentes regiones del área mediterránea como Grecia, Chipre, sur de Italia, Sicilia, España y Portugal. Respecto a la hemoglobina E, se estima que en el mundo existen unos 30 millones de portadores y tiene su mayor prevalencia en India y en islas de Indonesia, donde puede llegar a afectar a más del 50% de la población (Hutagalung, 1999).

### **5.2.2. TALASEMIA**

Se trata también de un defecto congénito de la hemoglobina que se asocia, en los portadores heterocigotos, a un efecto protector frente a la malaria (Sakai, 2000). La enfermedad, acompañada de anemia, se manifiesta en los individuos homocigotos. Las talasemias muestran una frecuencia variable según zonas geográficas, aunque presentan una especial predilección por las poblaciones del área Mediterránea (Grecia, Chipre, Sur de Italia, Cerdeña, Sicilia y España) con frecuencias que varían entre un 1 y 30% y predominio de la  $\beta$  talasemia. En las poblaciones de Oriente Medio, Sudeste asiático y China las frecuencias varían entre un 5 y 40%, con claro predominio de la  $\alpha$ -talasemia. También en Africa la  $\alpha$ -

talasemia es la hemoglobinopatía más frecuente (Muklwala, 1989; Hill, 1992). A pesar de los estudios realizados, no se conoce con exactitud el mecanismo por el cual la  $\alpha$ -talasemia protege frente a la malaria (Luzzi, 1990; Adekile, 1993; Allen, 1993).

### **5.2.3. DEFICIENCIA DE GLUCOSA 6-FOSFATO DESHIDROGENASA**

Otra de las adaptaciones frente a la malaria es la deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa. Es la eritroenzimopatía más frecuente y mejor conocida, con más de 400 millones de individuos portadores de la alteración (Beutler, 1991 y 1994; Efferth, 1995). Presenta una transmisión hereditaria ligada al cromosoma X y afecta preferentemente a los varones. Su relación con el paludismo es un hecho bien conocido y explica su elevada frecuencia en todas aquellas áreas geográficas donde existe o ha existido paludismo endémico (Beutler, 1979; Bangchang, 1994). Es relativamente frecuente en Cerdeña, Grecia, Israel, India, África oriental y occidental. En España es especialmente frecuente en el sur de la península y Baleares, donde su incidencia puede situarse entre un 0,1 y 1% de la población. Sin embargo, se ha observado que cuando no existe el factor selectivo de la malaria la frecuencia de estos genes disminuye. Esta observación se basa en el estudio de las zonas en que la enfermedad se ha erradicado, como es el caso de la cuenca mediterránea, y también de las poblaciones desplazadas, como la afroamericana.

### **5.2.4. ELIPTOCITOSIS CONGÉNITA**

Se trata de una membranopatía congénita de herencia autosómica dominante. Las mutaciones que la producen dificultan la asociación de las moléculas de espectrina, haciendo que el eritrocito no pueda recuperar su forma después de una elongación. El resultado es una elongación irreversible del eritrocito con aumento del diámetro longitudinal en relación al transversal, alteración que dificulta la entrada y crecimiento de plasmodios en los hematíes



(Chrishti, 1996).

Aparentemente, tiene una incidencia, en la raza blanca, algo menor que la esferocitosis hereditaria, aunque es posible que, en realidad, esté infradiagnosticada. En el África ecuatorial la frecuencia de eliptocitosis congénita varía entre el 0,6 y 1% de la población, por efecto de la presión genética positiva ejercida por el paludismo (Vives, 2001).

### **5.2.5. OVALOCITOSIS ASIÁTICA**

Es otra membranopatía congénita, menos extendida que la eliptocitosis, que también se asocia a un aumento de la resistencia a la entrada del plasmodio (Bunyaratvej, 1997; O'Donnell, 1998; Allen, 1999). Afecta a individuos del sudeste asiático, principalmente de Tailandia, Filipinas y Papúa-Nueva Guinea. Entre la población aborigen de la raza melanesia pueden observarse prevalencias de hasta el 30%.

## **6. INFLAMACION Y REACCION DE FASE AGUDA**

### **6.1. CONSIDERACIONES HISTÓRICAS**

La inflamación está presente en la historia de la humanidad, y ha sido objeto de estudio, desde siempre. En los papiros egipcios del segundo milenio a. C. ya se encuentran descripciones sobre el pus. La descripción de los 4 signos cardinales de la inflamación aguda: rubor, calor, dolor y tumor, fue enunciada por Celsius, médico romano que vivió entre el 30 a. C. y el 38 d. C. Refiriéndose con el término tumor a la tumefacción del tejido debida al edema inflamatorio. Posteriormente Galeno (130-200 d. C.) añadió el quinto signo, la impotencia funcional.

### **6.2. DEFINICIÓN**

Actualmente la inflamación se define como un proceso que tiene lugar en todo el tejido mesenquimático vascularizado, ante la acción de una noxa física, química o biológica, desencadenando sucesivamente fenómenos vasculares, humorales, exudativos, celulares, reparativos y proliferativos, que tienden a limitar la acción de la noxa.

En la respuesta inflamatoria pueden diferenciarse varias fases. Las principales son:

1ª fase o fase vascular: Interviene la pared vascular y se produce vasodilatación.

2ª fase o fase leucocitaria inicial: Se produce durante las primeras horas (1-2 horas). Intervienen neutrófilos y monocitos.

3ª fase o fase leucocitaria tardía: Se observa entre las 12 y las 24 horas. Intervienen neutrófilos y macrófagos.

4ª fase o fase de inflamación crónica: Intervienen linfocitos, macrófagos y fibroblastos.

La respuesta inflamatoria es una reacción morfológicamente estereotipada, frente a la agresión, en la que intervienen una serie de sistemas biológicos complejos. En la actualidad se ha conseguido desarrollar modelos animales que permiten el estudio detallado de la inflamación y de los sucesivos cambios que se producen en la respuesta inflamatoria de las células (May, 2000; Thorne, 2000; Hu, 2001). Además de las múltiples patologías que clásicamente se asocian a la inflamación, cada vez es mayor el número de enfermedades que se están relacionando con la inflamación como causa subyacente (Bazzino, 2001; Best, 2001; Cavusoglu, 2001; Doo, 2001; Engelhardt, 2001; Jones, 2001).

### 6.3. PROTEÍNAS DE FASE AGUDA

Durante la inflamación se producen una serie de factores como algunas interleucinas y el factor de necrosis tumoral que actúan sobre el hepatocito modulando la síntesis de algunas proteínas, las proteínas de fase aguda (Dinarello, 1984; Gauldie, 1987; Ballou, 1992; Arvin, 1995; Cairo, 1995). Se denominan así, a aquellas proteínas cuyas concentraciones plasmáticas se modifican en un 25% o más por la acción de las citocinas en el hepatocito, en los siete días siguientes al inicio del daño tisular (Kushner, 1982). Se clasifican en dos grupos: positivas, cuando su síntesis aumenta como consecuencia del proceso inflamatorio ( $\alpha$ -1-glicoproteína ácida,  $\alpha$ -1-antitripsina,  $\alpha$ -1-antiquimiotripsina, ceruloplasmina, factores C3 y C4 del complemento, fibrinógeno, haptoglobina, proteína C reactiva y sustancia A del amiloide) y negativas, cuando su síntesis está inhibida (prealbúmina, proteína ligadora del retinol, albúmina y transferrina). La proteína de fase aguda ideal es aquella que responde rápidamente, con un gran cambio en su concentración plasmática tras producirse el proceso inflamatorio, no se afecta por otros síndromes clínicos distintos a la inflamación, retorna precozmente a su concentración basal al cesar ésta y su concentración en plasma puede medirse de manera rápida y precisa (Chambers, 1989; Whicher, 1990; Richardson, 1996). Por lo tanto, no todas las proteínas de fase aguda pueden utilizarse indistintamente en la monitorización del proceso inflamatorio, bien porque su respuesta sea moderada (ceruloplasmina, factores C3 y C4 del complemento, prealbúmina, proteína ligadora del retinol, transferrina y albúmina), bien porque se alteren por otros síndromes clínicos (fibrinógeno, haptoglobina,  $\alpha$ -1-antitripsina) o por tratamientos con esteroides o porque las concentraciones basales de estas proteínas tengan una gran variabilidad interindividual ( $\alpha$ -1-antitripsina y haptoglobina) (Fleck, 1989).

Entre las aplicaciones clínicas más frecuentes de las proteínas de fase aguda destacan: diagnóstico diferencial de las infecciones; detección de infecciones intercurrentes; valoración de la respuesta al tratamiento

antiinflamatorio o antiinfeccioso; diagnóstico diferencial, monitorización y valor pronóstico en las enfermedades del aparato digestivo; factor pronóstico en las enfermedades cardiovasculares y detección de complicaciones asociadas al síndrome inflamatorio (Fleck, 1990; Chew, 2001).

#### **6.4. PROTEÍNA C REACTIVA**

Es la clásica proteína reactante de fase aguda, muy sensible como marcador sistémico de inflamación (Pepys, 1981 y 2001; DeBeer, 1984; Young, 1991). Se utiliza en todos los perfiles para el estudio de la inflamación por la sencillez, rapidez y economía de los procedimientos de medida.

Interviene en la respuesta inflamatoria iniciando la opsonización, la fagocitosis y la lisis de células extrañas, siendo tal vez su función principal la de reconocer sustancias autógenas, potencialmente tóxicas, liberadas por los tejidos lesionados, fijarlas y contribuir a que sean eliminadas de la circulación.

El gen que codifica la proteína C reactiva se encuentra localizado en el cromosoma 1 (Whitehead, 1983). Esta proteína se sintetiza en el hígado y su peso molecular oscila entre 118.000 y 144.000 presentando un elevado contenido en hidratos de carbono. Consta de 5 unidades polipeptídicas idénticas entre ellas, unidas por enlaces no covalentes, que se asocian formando un polímero de estructura cíclica pentamérica. Mediante electroforesis, migra en la zona de las gamma globulinas y puede formar una banda de aspecto monoclonal en pacientes que presentan una respuesta inflamatoria intensa.

En el suero de los individuos sanos está en concentraciones mínimas. Sus niveles séricos se incrementan rápidamente, en las primeras 24-48 horas, en respuesta a diversas patologías, relacionadas con agentes infecciosos, estímulos inmunológicos, inflamaciones, lesión tisular (traumatismos e intervenciones quirúrgicas) y neoplasias (Morley, 1982).

Se utiliza para el cribaje de enfermedades orgánicas y en el diagnóstico, pronóstico y manejo clínico de pacientes con enfermedades inflamatorias e infecciosas. Se ha demostrado la utilidad clínica de sus determinaciones seriadas para el control y monitorización de diversas enfermedades inflamatorias e infecciosas (Fisher, 1976; Gosling, 1992; Rouman, 1992; Yentis, 1995; Kalantar-Zadeh, 2001). Así, es de gran utilidad en reumatología para vigilar la progresión o remisión de una enfermedad autoinmune. Llama la atención que, en algunas patologías, el grado de respuesta de la proteína C reactiva varía en procesos aparentemente similares. Por ejemplo, el aumento de proteína C reactiva en el lupus eritematoso sistémico o en la colitis ulcerosa es muy pequeño, a pesar de que los síntomas y signos inflamatorios son evidentes, en comparación con la respuesta exagerada que se da en la artritis reumatoide o en la enfermedad de Crohn. Niveles elevados de proteína C reactiva se observan precozmente en infecciones bacterianas, en enfermedad reumática activa, enfermedad de Crohn, infarto de miocardio agudo (Pietila, 1993) y tras cirugía o traumas importantes. Recientemente la determinación basal de proteína C reactiva ha demostrado ser uno de los nuevos factores predictores de enfermedad coronaria cardíaca aguda y de su pronóstico (Braunwald, 2000; De Sutter, 2001; Kervinen, 2001; Ridker, 2001; Zhu, 2001).

Respecto a la malaria, es una de las enfermedades que clásicamente se han asociado con la inflamación y sus alteraciones (Nussler, 1991; Elhassan, 1994). Así, es conocido que los niveles de proteína C reactiva aumentan durante los ataques agudos de malaria por *Plasmodium falciparum* (Ree, 1971; Naik, 1984; Eriksson, 1989; Chagnon, 1992; Hurt, 1994a). También la proteína C reactiva junto a la haptoglobina puede ser útil para valorar programas de intervención sobre malaria (McGuire, 1996).

#### **6.4.1. MÉTODOS ANALÍTICOS PARA SU DETERMINACIÓN**

Actualmente se dispone de diversas técnicas de laboratorio que permiten determinarla de forma rápida. Los procedimientos más habituales utilizados en el laboratorio clínico son: nefelometría a punto final, nefelometría cinética o continua y turbidimetría (Bergón Jiménez, 1999; Ramon, 2000). En nuestro medio, el método utilizado con mayor frecuencia para la determinación de proteína C reactiva es el turbidimétrico con el calibrador CRM 470 (Ramon, 2000 y 2002).

## 7. MALARIA

El paludismo o malaria es una infección causada por protozoos intracelulares del género *Plasmodium*, que se transmite al hombre por la picadura de las hembras del mosquito del género *Anopheles* (figura 3 y 4). Está considerada como la enfermedad infecciosa que ha provocado el mayor daño y al mayor número de personas. A pesar de que la humanidad lleva mucho tiempo luchando contra esta enfermedad e intentando controlarla, todavía continúa siendo un grave problema de salud pública en el área tropical (Breman, 1992).

### 7.1. CONSIDERACIONES HISTÓRICAS

Se cree que el hombre prehistórico ya padeció esta infección. Probablemente se originó en Africa y se extendió, acompañando al hombre en sus migraciones, hasta el Mediterráneo, la India y Asia. Su nombre se deriva del italiano, la malaria o “mal aire”, también se llamaba fiebre romana. El paludismo, y las fiebres tercianas y cuartanas que produce, ya se relacionaba en la antigüedad con ciertas aguas. Entre las primeras referencias a esta relación se encuentran los escritos de Hipócrates en el 400 a. C. Otros documentos reflejan incluso medidas de saneamiento consecuentes a esta relación causa efecto. Entre las primeras medidas adoptadas, Columela, en el año 60 a. C. consideraba que “los pantanos no deben ser tolerados ni permitirse cerca de las viviendas o de las grandes calzadas”. También existen numerosas citas árabes, entre los siglos VIII al XIII, sobre prohibiciones y obligaciones en el uso de las aguas, que pueden considerarse como indicios rudimentarios de medidas de control (Blázquez, 1986).

En citas médicas posteriores ya se encuentran algunos atisbos intuitivos que relacionan las fiebres palúdicas con la presencia de insectos y con el cultivo del arroz, típico generador de criaderos de mosquitos. Sin embargo, la demostración definitiva del vínculo existente entre el mosquito y la malaria no

**Figura 3.** El mosquito *Anopheles*, vector de la malaria.



**Figura 4.** Mosquito atravesando la piel de un ser humano para chupar su sangre.  
Fotografía de Lennart Nilsson.

tuvo lugar hasta el último decenio del siglo XIX (Blázquez, 1986).

En la actualidad, esta patología constituye un problema grave de salud ampliamente difundido en el planeta y está considerada como la infección protozoaria más importante de la humanidad.

Se calcula que 2.000 millones de seres humanos, el 41% de la población mundial, viven en zonas endémicas expuestas a esta enfermedad (WHO, 1991). Además de las importantes consecuencias socioeconómicas que ello implica, esta enfermedad, a nivel individual, causa una morbilidad y una mortalidad elevadas. Cada año, se producen entre 300 y 500 millones de casos nuevos y más de 2 millones de muertes, un millón de ellas en niños (Farreras, 2000).

Afecta a todas las regiones tropicales del mundo, produciéndose su transmisión en más de 100 países en África, Asia, Oceanía, Oriente Medio, algunas islas del Caribe y Turquía. La localización de las zonas endémicas del paludismo puede observarse en el mapa 1. Destacan, por la gravedad de su situación, los de África, en donde se concentra el 90% de enfermos y de portadores asintomáticos del parásito. Centrándonos exclusivamente en el continente africano, la estimación de la incidencia de paludismo es de 200 millones de casos al año, de los cuales el 2% son graves (Greenwood, 1991). En gran parte de África, más del 25% de todas las visitas hospitalarias se deben a esta enfermedad.

**Mapa 1.** Áreas de distribución de la malaria en el mundo, indicando la sensibilidad del plasmodio al tratamiento con cloroquina.

A pesar de los esfuerzos realizados para controlar el paludismo actualmente sigue siendo, como lo ha sido durante siglos, un grave problema que afecta principalmente a las poblaciones de los trópicos. En los últimos años el mapa epidemiológico no ha mejorado significativamente, e incluso se han producido reactivaciones en algunas áreas. Los factores que han contribuido a que todavía no se haya conseguido el control efectivo de la enfermedad son múltiples. Por una parte, los problemas políticos, sociales y económicos que afectan a estos países impiden aplicar, total o parcialmente, las medidas de control de la enfermedad. Por otra parte, ha supuesto un contratiempo importante la aparición de resistencias tanto del mosquito vector a los insecticidas como de *Plasmodium falciparum* a los fármacos antipalúdicos (Mockenhaupt, 2001). El plasmodio posee una gran complejidad genética (Creasen, 1990; Babiker, 1995), lo que le ayuda a desarrollar mutaciones que le hacen resistente a fármacos y dificulta el diseño de una vacuna definitiva contra la enfermedad (Mu, 2002). En los últimos 40 años las resistencias de los plasmodios a los fármacos antipalúdicos, en especial la resistencia de *Plasmodium falciparum* a la cloroquina, se han extendido ampliamente por todas las regiones endémicas (Gascon, 1986), incluyendo a Tanzania (Fowler, 1993) e influyendo profundamente en la evolución del plasmodio (Wootton, 2002). Recientemente se ha conseguido identificar la mutación de *Plasmodium falciparum* responsable de la resistencia a la cloroquina y se ha intensificado la búsqueda de nuevas estrategias para el control de la enfermedad: actualización frecuente de la situación de la malaria y de su desarrollo, diseño de intervenciones factibles y efectivas, seguir investigando en el desarrollo de nuevos fármacos antipalúdicos (Anderson, 1995b; Gamboa, 1996; Von Seidlein, 1997; Federici, 2000; Wengelnik, 2002; Zhang, 2002) y potenciar las medidas personales que eviten el contacto con el mosquito, como por ejemplo, el uso de repelentes y de mosquiteras (Virk, 2001). Ha demostrado cierta utilidad el uso de mosquiteras impregnadas con insecticidas (Alonso, 1991; Alonso, 1993b; D'Alessandro, 1995; Fraser-Hurt, 1999; Browne, 2001; Curtis,

2001; Onwujekwe, 2001). Para el control de la malaria se considera un punto crítico el concienciar a la población para que aplique regularmente insecticidas a las mosquiteras ya que no es raro que, en África, en la práctica, se utilicen mosquiteras que ya no tienen insecticida. Por otra parte, algún estudio muestra que incluso el uso de mosquiteras sin insecticidas, en las viviendas más pobres, puede ofrecer cierta protección frente a la malaria (Clarke, 2001). Otras líneas de investigación, en las que se está trabajando activamente se basan en el desarrollo de vacunas antipalúdicas y la valoración de su efectividad (Beck, 1994; Alonso, 1994; Dutta, 2001; Rogers, 2001; Theisen, 2001; Thomas, 2001). Otra posible intervención, utilizada con éxito históricamente, es combatir la malaria mediante la lucha biológica. Por ejemplo, en España cuando se intentaba conseguir la erradicación del paludismo, se importaron gambusias de Estados Unidos. La gambusia es un pececillo, voraz comedor de larvas de mosquitos. Desde España partió la posterior difusión y distribución a toda Europa (Blázquez, 1986). Se continúan estudiando los hábitats en que viven las larvas del mosquito *Anopheles* y los factores que influyen en su desarrollo (Pope, 1994). Y se estudia la introducción de mosquitos genéticamente alterados que impidan el desarrollo del plasmodio y no puedan ser vehículo de transmisión de la malaria (Ito, 2002).

En España el paludismo representó un problema importante en el pasado. La epidemia era generalizada en la mayor parte del territorio, con la excepción del norte de España, siendo las regiones más afectadas las situadas en la mitad sur del país, y en los grandes valles de los ríos principales. Finalmente, se consiguió erradicar esta enfermedad en la década de los años 60. Concretamente, el último caso de paludismo autóctono registrado fue debido a *Plasmodium vivax* y se detectó en el Rosalejo (Cáceres) en mayo de 1961. El certificado de erradicación fue emitido por la Organización Mundial de la Salud en octubre de 1964, tras los 3 años de ausencia de casos autóctonos (Blázquez, 1986). Sin embargo, conviene tener presente que los mosquitos vectores de plasmodios en la cuenca mediterránea europea, al menos en teoría, siguen siendo capaces de transmitir la enfermedad, por lo que continúa existiendo la posibilidad de que la enfermedad

pueda reintroducirse (Blázquez, 1986).

Entre los grupos de población que presentan mayor riesgo de contraer malaria destacan los niños menores de cinco años y las mujeres embarazadas, siendo la mortalidad muy elevada en los niños infectados por *Plasmodium falciparum* (Greenwood, 1987a; Alonso, 1991; Alonso, 1993a; Greenwood, 1993).

En los niños, se observa que la morbilidad y la mortalidad relacionada con la malaria disminuye gradualmente a medida que aumenta la edad, probablemente como consecuencia del desarrollo gradual de protección, gracias a mecanismos inmunológicos después de repetidas infecciones por *Plasmodium falciparum* (Marsh, 1989). Así, se ha descrito una marcada disminución de la malaria grave después de los cinco años de edad (Trape, 1987). En cuanto a la forma de presentación de la enfermedad, los niños que viven en áreas endémicas de malaria pueden manifestar la enfermedad de forma muy diversa. Es frecuente que se presente de forma asintomática, observándose parasitemia por *Plasmodium falciparum* tolerada sin desarrollar signos de enfermedad (Greenwood, 1987c). Aunque también es posible que se manifieste a través de un variado espectro de síntomas. De todos ellos, el que predomina es la fiebre, aunque también son muy frecuentes otros como la cefalea, escalofríos, mialgias y náusea y vómitos. La anemia grave es frecuente, sobretodo en niños pequeños y se asocia a un peor pronóstico (Marsh, 1995). Otros factores que influyen en la morbilidad por malaria son la prevalencia de esta enfermedad en la zona y su nivel de transmisión, el nivel socioeconómico y las características genéticas de la población y las características de las cepas patógenas del parásito (Deloron, 1999). También el nivel de transmisión del paludismo está muy relacionado con los cambios climáticos. Así, en las áreas endémicas, la lluvia y la temperatura determinan en que meses del año se producen las tasas de transmisión más elevadas (Bouma, 1994).

## **7.2. ETIOLOGÍA**

Aunque existen más de 100 especies de plasmodios, únicamente hay cuatro especies que infectan al hombre: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* y *Plasmodium ovale*. El *Plasmodium falciparum*, especie predominante en África subsahariana, Nueva Guinea y Haití, es el responsable de la mayoría de casos y del 99% de la mortalidad por malaria. Le sigue en importancia *Plasmodium vivax*, que predomina en muchos países de Centroamérica y en la India, aunque en el último decenio se ha producido un aumento de las infecciones por *Plasmodium falciparum* en la India. Ambas especies presentan aproximadamente la misma frecuencia en Sudamérica, este de Asia y Oceanía. *Plasmodium malariae* se encuentra en la mayor parte de las regiones, especialmente en África occidental y central, pero es poco frecuente. *Plasmodium ovale* se encuentra, casi exclusivamente, en África.

En la población de niños de Tanzania la especie mayoritaria es *Plasmodium falciparum* (Babiker, 1999), pero también se encuentra un pequeño porcentaje, inferior al 5%, de las especies *Plasmodium malariae* y *Plasmodium ovale* (Farnert, 1997; Stoltzfus, 1997b). Normalmente los pacientes se infectan por una única especie, sin embargo, algunos pacientes pueden presentar infecciones mixtas por dos especies diferentes de plasmodios (Black, 1994; Alifrangis, 1999). Los niños con frecuencia presentan infecciones múltiples y asintomáticas por diferentes cepas de *Plasmodium falciparum* (Ntoumi, 1995; Daubersies, 1996; Babiker, 1999).

Como se ha comentado el *Plasmodium falciparum* es el principal causante de la morbilidad y mortalidad por malaria en el mundo. Una de las características destacadas de este parásito es su diversidad biológica y antigénica (Goldring, 1992). Las diferentes cepas del parásito presentan diferentes propiedades patológicas y clínicas, y diferente susceptibilidad a fármacos. En la actualidad, gracias al desarrollo de técnicas basadas en reacción en cadena de la polimerasa, que permiten genotipar los plasmodios, se está profundizando en el estudio de las subpoblaciones de estos parásitos (Viriyakosol, 1993).

La inmunidad al parásito tiene un marcado componente específico de cepa. La adquisición de inmunidad hacia la malaria es lenta y necesita una repetida exposición a una amplia diversidad de cepas del plasmodio. En áreas endémicas, los individuos se encuentran continuamente expuestos a mosquitos infectados y muchos niños hospedan parásitos sin signos de enfermedad clínica, a veces incluso con densidades de parásitos relativamente elevadas.

### **7.3. CICLO DE TRANSMISIÓN DEL PALUDISMO**

Las cuatro especies de plasmodios desarrollan un ciclo evolutivo muy complejo (Farreras, 2000). Aunque se conocía que el mosquito *Anopheles* jugaba un papel importante en la transmisión de la malaria, no se identificaron todas las etapas de su ciclo vital hasta 1948. Los parásitos necesitan dos huéspedes para su desarrollo: el hombre, que actúa únicamente como huésped intermediario del ciclo vital del plasmodio, y el mosquito *Anopheles*, que interviene como huésped definitivo y como vector.

#### **7.3.1. CICLO EN EL HOMBRE**

En el hombre, la infección se inicia con la picadura de una hembra del mosquito reservorio *Anopheles*. Al picar a un ser humano, y antes de aspirar la sangre, la hembra le inyecta los esporozoitos del plasmodio alojados en sus glándulas salivales. Los esporozoitos son pequeñas formas móviles, que se trasladan rápidamente por la sangre hasta fijarse en el hígado. Una vez allí, entran en las células parenquimatosas hepáticas, las invaden y se multiplican mediante reproducción asexual. Esta fase se conoce como merogonia intrahepática o esquizogonia pre-eritrocítica. Después de unos días un hepatocito puede tener varios miles de parásitos jóvenes llamados merozoitos. Se trata de un proceso de amplificación en el que un sólo esporozoito engendra varios miles de merozoitos hijos. Las células hepáticas hinchadas estallan finalmente y sueltan los



merozoítos que pasan a la corriente sanguínea. Estos merozoitos libres entran en los eritrocitos comenzando, así, la fase sanguínea o sintomática de la infección.

En la sangre las pequeñas "formas en anillo" (figura 5) de los cuatro parásitos tienen un aspecto similar en las fases iniciales del desarrollo. A medida que los trofozoítos se desarrollan se hacen evidentes los caracteres específicos de cada especie, el pigmento se vuelve visible y el parásito adopta una forma irregular o ameboide. Hacia el final de las 48 horas que dura el ciclo, o 72 horas en el caso de *Plasmodium malariae*, el parásito se ha desarrollado hasta ocupar la mayor parte del eritrocito. Comienza entonces la división nuclear múltiple, con formación de la merogonia, y rotura de los hematíes dejando libres de 6 a 32 merozoítos hijos, cada uno de los cuales es capaz de invadir a un nuevo eritrocito y de repetir el ciclo. En el hombre, la enfermedad se debe a los efectos directos de la invasión y destrucción de los hematíes y a las reacciones del huésped a ese proceso.

### **7.3.2. CICLO EN EL MOSQUITO**

El plasmodio se introduce en el mosquito al ser ingerido con la sangre infectada durante la picadura por un *Anopheles* hembra. Los gametocitos masculino y femenino del plasmodio, que circulan por la sangre, se fusionan en el aparato digestivo del mosquito formando un cigoto, que posteriormente madura para formar un oocineto que atraviesa la pared intestinal del mosquito y se enquistas. El oocisto resultante se desarrolla por división asexual durante días, hasta que se rompe y libera miríadas de esporozoitos móviles que emigran a las glándulas salivales preparados para ser inoculados a otro ser humano la próxima vez que el mosquito pique al hombre.

**Figura 5.** Frotis de sangre. Paludismo por *Plasmodium falciparum*. Los parásitos presentes son trofozoitos de la forma en anillo de sello. Tinción de May-Grünwald-Giemsa x 1200.

El ciclo extrínseco completo desde la ingestión del gametocito hasta la inoculación del esporozoito supone un mínimo de siete días, variable según la temperatura. Los mosquitos vectores más eficaces son los de larga vida, los que alcanzan mayor concentración y los que pican frecuentemente a los seres humanos.

#### **7.4. CUADRO CLÍNICO**

La gran mayoría de niños infectados por malaria se encuentran asintomáticos (Ghost, 1995). Cuando se acompaña de sintomatología clínica, la fiebre es el síntoma predominante con paroxismos de fiebre elevada, en el 25% de los pacientes, que se repiten cada 48-72 horas según la especie de plasmodio. La fiebre viene precedida de escalofríos, mialgias, cefaleas, náuseas y sudación profusa. Al inicio del proceso hay esplenomegalia en el 50% de los enfermos y conforme avanza el proceso este porcentaje aumenta hasta alcanzar la mayoría de los pacientes. Puede acompañarse de ictericia y hepatomegalia. En los casos más graves hay afectación cerebral (Aikawa, 1988 y 1990; Carlson, 1990). La alteración hematológica más destacada es la anemia, que puede llegar a ser muy frecuente, sobre todo en el caso de infección por *Plasmodium falciparum*. La anemia acostumbra a ser multifactorial, pero destaca el componente hemolítico por destrucción eritrocitaria. El mecanismo fisiopatológico de la hemólisis es la rotura o estallido del hematíe a consecuencia de la multiplicación intraeritrocitaria del parásito (figura 6). También hay destrucción esplénica de los hematíes por fagocitosis parcial de los eritrocitos parasitados, que presentan mayor fragilidad osmótica y pérdida de deformabilidad. Otros factores, que pueden contribuir a agravar el cuadro anémico, son la inhibición de la eritropoyesis (Abdalla, 1990) y la aparición de anticuerpos contra el parásito o contra el fármaco utilizado en el tratamiento del paludismo (anemia hemolítica inmunoalérgica). La anemia grave mortal, con frecuencia acompañada de parasitemia por plasmodios, es una de las causas

más frecuentes de ingreso hospitalario y muerte entre los niños que viven en áreas hiperendémicas de esta enfermedad.

La intensidad del cuadro anémico depende de las características biológicas del parásito. Así, el *Plasmodium falciparum* se acompaña de anemia grave, debido a que el parásito invade todos los hematíes, independientemente de su edad. Por el contrario, otras formas de parasitosis se acompañan de un cuadro anémico menos intenso, como la debida al *Plasmodium vivax* o al *Plasmodium ovale*, que invaden sólo los hematíes reticulocitos, o al *Plasmodium malariae* (malaria cuartana) que ataca exclusivamente a hematíes maduros.

No suele observarse signos de hemólisis intravascular excepto en las crisis conocidas como “fiebres de las aguas negras”. Se trata de una complicación rara de la infección por *Plasmodium falciparum*. Se caracteriza por una intensa anemia hemolítica y hemoglobinuria, que conlleva en muchas ocasiones la muerte del paciente por insuficiencia renal aguda. Esta complicación se observa sólo en las regiones tropicales con paludismo endémico y en su mecanismo fisiopatológico, además del efecto del parásito, se cree que se sobreañade un mecanismo inmune.

## **7.5. DIAGNÓSTICO Y EXÁMENES DE LABORATORIO**

El diagnóstico se basa, junto a las características del cuadro clínico, en el antecedente del contacto previo con áreas endémicas y en la confirmación de la presencia del parásito en el frotis de sangre periférica (figura 5) o en la gota gruesa. El diagnóstico de certeza consiste en la demostración del parásito en la sangre. Para ello es preferible utilizar sangre obtenida de los pacientes poco antes del acceso palúdico, momento en que estará parasitada la mayor cantidad de eritrocitos y, por tanto, es mucho más fácil localizarlos.

**Figura 6.** Rotura de un hematíe al dividirse el plasmodio causante de la malaria. Fotografía de Lennart Nilsson.

Para la tinción se utilizan las técnicas de Giemsa o de Wrigth. La observación de la gota gruesa permite detectar la existencia de parásitos, y el frotis se utiliza para determinar las características morfológicas del parásito, la etapa de desarrollo en que se encuentra y la especie de plasmodio de que se trata. Asimismo, también sirve para observar si existen anomalías de los eritrocitos (hipocromia, anisocitosis, poiquilocitosis u otras).

En ocasiones la parasitemia en pacientes con malaria es muy baja, hasta el punto de que puede resultar indetectable con un microscopio. En estos casos puede diagnosticarse con otros exámenes de laboratorio. Entre ellos, en la actualidad es posible la detección del plasmodio mediante la utilización de pruebas basadas en la reacción en cadena de la polimerasa o la realización de serologías mediante pruebas ELISA o de inmunofluorescencia.

## **7.6. PROFILAXIS**

Incluye todas las medidas que contribuyen a la disminución de la transmisión de plasmodios. Destacan la eliminación de mosquitos mediante el uso de insecticidas (Aikins, 1993; Mnzava, 1993) y la profilaxis farmacológica (Basco, 1994; Cot, 1998). Actualmente se continua trabajando en el desarrollo de vacunas antipalúdicas y en otras posibles intervenciones ya comentadas en la página 57.

## 1. AREA GEOGRAFICA

Los niños incluidos en este estudio han nacido en el hospital de St. Francis en Ifakara. La ciudad de Ifakara pertenece al distrito de Kilombero, en la Región Morogoro, en el sudeste de Tanzania (08° 9' S; 36° 40' E) (Mapa 2). Se encuentra situada al sur de las montañas de Udzungwa, en la llanura del río Kilombero.

El clima es de tipo ecuatorial, con temperaturas siempre elevadas. Hay dos estaciones lluviosas, la principal que empieza en marzo y continua hasta finales de mayo, y la de lluvias cortas de diciembre a enero. Además hay una estación fría seca que sigue a la estación de lluvias largas y que se produce en junio y julio (Tanner, 1991). La cantidad de lluvia en 1995 fue de 1439 mm (Menendez, 1997).

La población de Ifakara se calcula que es de, aproximadamente, 50.000 personas. La mayoría de los habitantes son granjeros de subsistencia, que cultivan arroz y maíz, aunque cada vez hay un número mayor de pequeños comerciantes. Las casas están típicamente construidas con paredes de barro, tejados de paja y pequeñas ventanas (Menendez, 1997).

La llanura del río Kilombero, donde está localizada la ciudad de Ifakara, es un área endémica de malaria, con transmisión de malaria intensa y perenne. El principal vector es el mosquito *Anopheles*. Aunque el número de mosquitos y la exposición presentan una gran variación estacional, la transmisión se produce durante todo el año, siendo la prevalencia de parasitemia asintomática por *Plasmodium falciparum* elevada y sin cambios estacionales.

Los datos de una ciudad cercana (Idete), con las mismas características de transmisión de malaria intensa y perenne, indican que el índice de inoculación entomológico es de 300 picaduras infectivas por persona y año (Clyde, 1967;

**Mapa 2.** La ciudad de Ifakara, perteneciente al distrito de Kilombero en la Región Morogoro, está situada en el sudeste de Tanzania (08° 9' S; 36° 40' E)



Smith, 1993).

El 90% de las infecciones de malaria se deben a la especie *Plasmodium falciparum*, que es adquirida en alrededor del 80% de los niños a los 7 meses de edad (Kilama, 1991). La transmisión de las otras especies de plasmodios es baja e inestable.

Este estudio se ha realizado en colaboración con el hospital público St. Francis, que es el hospital del distrito de Kilombero y cubre una población de aproximadamente 200.000 personas. El hospital tiene 375 camas, de las cuales 70 pertenecen al Departamento Pediátrico. En la sala de maternidad se atienden de media unos 3.500 partos al año y, aproximadamente, la mitad de ellos son de mujeres que viven en la ciudad de Ifakara (Menendez, 1997).

La malaria clínica es una de las principales causas de ingreso infantil hospitalario, observándose que tanto la mayoría de ingresos por malaria como la mayoría de muertes por esta enfermedad se produce en el primer año de vida (Schellenberg, 1999). La principal estrategia para el control de la malaria en el distrito se basa en la detección precoz y el tratamiento de los casos sospechosos con cloroquina.

## **2. DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACION ESTUDIADA**

Esta tesis forma parte de un estudio de intervención aleatorizado placebo-control con suplementación con hierro y/o quimioprofilaxis de la malaria, coordinado por la Dra. Clara Menéndez y el Dr. Pedro Alonso. El estudio ha podido realizarse gracias a becas de la Agencia Española de Cooperación Internacional y del Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS 95/-863). Asimismo, este ensayo clínico ha recibido apoyo financiero del UNDP/World Bank/ WHO en

su programa especial para la Investigación y Formación en Enfermedades Tropicales. La aprobación ética para este ensayo clínico la dió el Comité Coordinador de la Investigación Médica del Instituto Nacional para la investigación médica a través de la Comisión de Tanzania de Ciencia y Tecnología, y también, el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico de Barcelona.

## **2.1. PROCEDIMIENTO GENERAL**

Los pasos seguidos en el estudio de cada niño, han sido los siguientes:

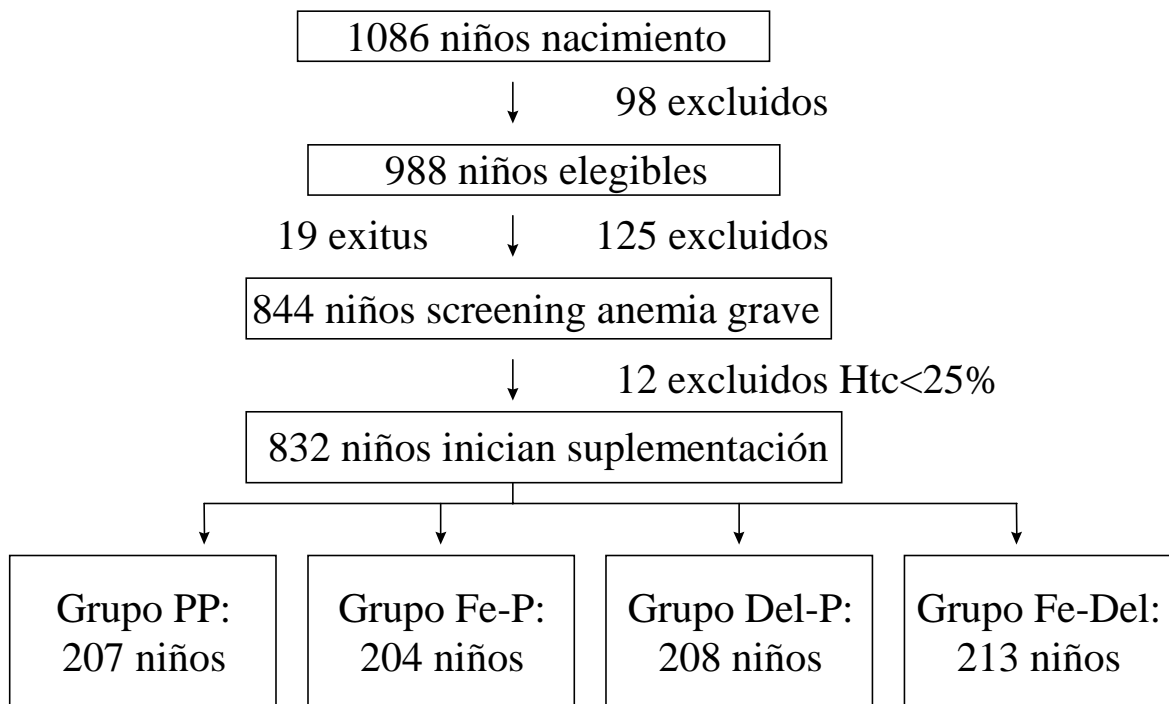
1. Selección según los criterios de inclusión y exclusión.
2. Consentimiento informado de las madres.
3. Seguimiento de los niños.
4. Recogida de muestras a las edades de dos, cinco, ocho y doce meses.
5. Procesamiento y análisis de parte de las muestras en el Hospital de Ifakara y centrifugación y congelación de plasmas, para su su posterior traslado y análisis en el Hospital Clínico de Barcelona.

## **2.2. SELECCIÓN DE NIÑOS Y CRITERIOS DE EXCLUSION**

En el estudio principal se incluyeron 1.086 niños, pertenecientes a familias con residencia permanente en Ifakara. Todos los niños habían nacido en el hospital de St. Francis en Ifakara, en el período comprendido entre enero y octubre de 1995. Se obtuvo el consentimiento informado, de las madres de los niños, en el momento de la admisión hospitalaria para el alumbramiento.

En la figura 7 se muestra el grupo de niños seleccionado inicialmente y los niños que, finalmente, tras varios cribados de selección, que se detallan a continuación, participaron en el estudio.

**Figura 7.** Niños que participan en el estudio.



En la selección de los niños que participaron en el estudio se tuvieron en cuenta unos criterios estrictos.

Así, se establecieron los siguientes criterios de exclusión en el nacimiento:

- Malformación congénita grave como: espina bífida, hidrocefalia o anencefalia.
- Gemelos.
- Peso en el nacimiento < 1.500 g.
- Signos clínicos de anoxia cerebral.
- Signos clínicos de infección congénita o neonatal.
- Madre no fiable (sorda, minusválida mental).

La aplicación de estos criterios dio lugar a la exclusión de 98 niños en el momento del nacimiento. Las principales causas de estas exclusiones fueron:

- |                                    |          |
|------------------------------------|----------|
| • Anoxia cerebral                  | 21 niños |
| • Gemelaridad                      | 18 niños |
| • Peso en el nacimiento < 1.500 g  | 9 niños  |
| • Infección neonatal               | 6 niños  |
| • Malformaciones congénitas graves | 3 niños  |
| • Nacidos muertos                  | 2 niños  |

Posteriormente, y antes de la asignación a los grupos de intervención, murieron 19 niños y se excluyeron del estudio otros 125 niños, basándose en las siguientes causas:

- Desconocer su dirección 66 niños
- Traslado de residencia 48 niños
- Anemia grave 7 niños
- Rechazaron participar 4 niños

En el último cribado antes de iniciar las suplementaciones se excluyeron los 12 niños que presentaron anemia grave definida como hematócrito inferior al 25%.

Finalmente inician el estudio los 832 niños de dos meses de edad que presentaban un hematócrito igual o superior al 25%.

### **2.3. DISTRIBUCIÓN EN LOS GRUPOS DE INTERVENCIÓN:**

Se realizó por aleatorización individual mediante la asignación de números de participación en el estudio en el orden numérico de reclutamiento, y en bloques de 20 niños. De cada 20 niños, 5 fueran asignados a cada uno de los cuatro grupos de intervención:

1. Grupo placebo-placebo: formado por 207 niños que recibieron diaria y semanalmente jarabe placebo.
2. Grupo hierro-placebo: formado por 204 niños que recibieron diariamente 2 mg/Kg de jarabe de hierro oral y semanalmente jarabe placebo.

3. Grupo placebo-Deltaprim: formado por 208 niños que recibieron diariamente jarabe placebo y semanalmente 2,5 mL de jarabe Deltaprim (combinación de pirimetamina y dapsona).

4. Grupo hierro-Deltaprim: formado por 213 niños que recibieron diariamente 2 mg/Kg de jarabe de hierro oral y semanalmente 2,5 mL de jarabe Deltaprim.

#### **2.4. MUESTRA DE NIÑOS ESTUDIADA**

En la presente tesis se presentan fundamentalmente los resultados de los análisis realizados en las muestras de los 207 niños del grupo de intervención placebo-placebo, que no han recibido ni suplementaciones ni tratamientos. Respecto al sexo, este grupo está formado por 125 niños (60%) y 82 niñas (40%). La media de peso al nacimiento fue de 2.860 g y la desviación estándar de 411 g. El peso fue inferior a 2.500 g en 30 niños (14%). A los cinco meses de edad se estudiaron sus genotipos de hemoglobina, cuyos resultados se muestran en la tabla I.

El estudio de la utilidad del receptor soluble de transferrina se realizó exclusivamente en el plasma recogido en la visita de los ocho meses de edad. De los 611 niños disponibles se seleccionaron aleatoriamente 296 (48%). Esta muestra estaba formada por 152 (51,3%) niños y 144 (48,7%) niñas. En 125 niños se estudió el genotipo de la hemoglobina a la edad de cinco meses y 39 de ellos (31,2%) tenían el genotipo AS (Tabla II).

**Tabla I.** Genotipos de hemoglobina en niños del grupo placebo.

Niños del grupo placebo (n=207)	n/N (%)
AA	68/166 (41)
AF	79/166 (48)
AS	19/166 (11)
FS	-

**Tabla II.** Características de la muestra de niños de ocho meses de edad a los que se les determinó el receptor soluble de transferrina.

	n/N (%)
Sexo (varones)	152/296 (51,3)
Fiebre (Temperatura axilar > 37,5 ° C)	11/187 (3,8)
Genotipo de hemoglobina AS	39/125 (31,2)
Parasitemia por malaria	45/296 (15,2)
Deficiencia de hierro	35/296 (11,8)
Anemia (hematócrito < 33%)	137/296 (46,3)
Inflamación (PCR > 0,8 mg/dL)	95/296 (32,1)
Microcitosis (MCV < 70 fL)	132/284 (46,5)

## 2.5. RECOGIDA DE DATOS Y SEGUIMIENTO DE LOS NIÑOS

El tratamiento en los cuatro grupos de intervención se inició a los dos meses de edad. La información sobre el estado de los niños del estudio se obtuvo mediante visitas mensuales a sus casas. El seguimiento clínico y parasitológico para la detección de los casos, se realizó cuando los niños tenían cinco, ocho y doce meses de edad. Todos los niños del estudio que se presentaban enfermos en el hospital maternoinfantil de St. Francis de Ifakara fueron atendidos por personal médico relacionado con este proyecto, que cubrían las 24 horas del día. El procedimiento estándar empleado incluía la identificación del niño, la medida de su temperatura axilar, completar un cuestionario sobre morbilidad y un examen físico. En aquellos casos en que la temperatura fue de 37,5 ° C o superior, o en los casos en que los padres informaban de que el niño había tenido fiebre durante la pasada noche, se tomaba muestra de sangre para la determinación del hematócrito, y se preparaban dos frotis de sangre. A los niños que requirieron ingreso hospitalario se les realizó un examen físico y un cuestionario más detallado.

En la figura 8 se muestra el seguimiento de los niños del grupo placebo incluidos en la tesis. Durante los doce meses de seguimiento en este grupo se perdieron 89 niños por las siguientes causas:

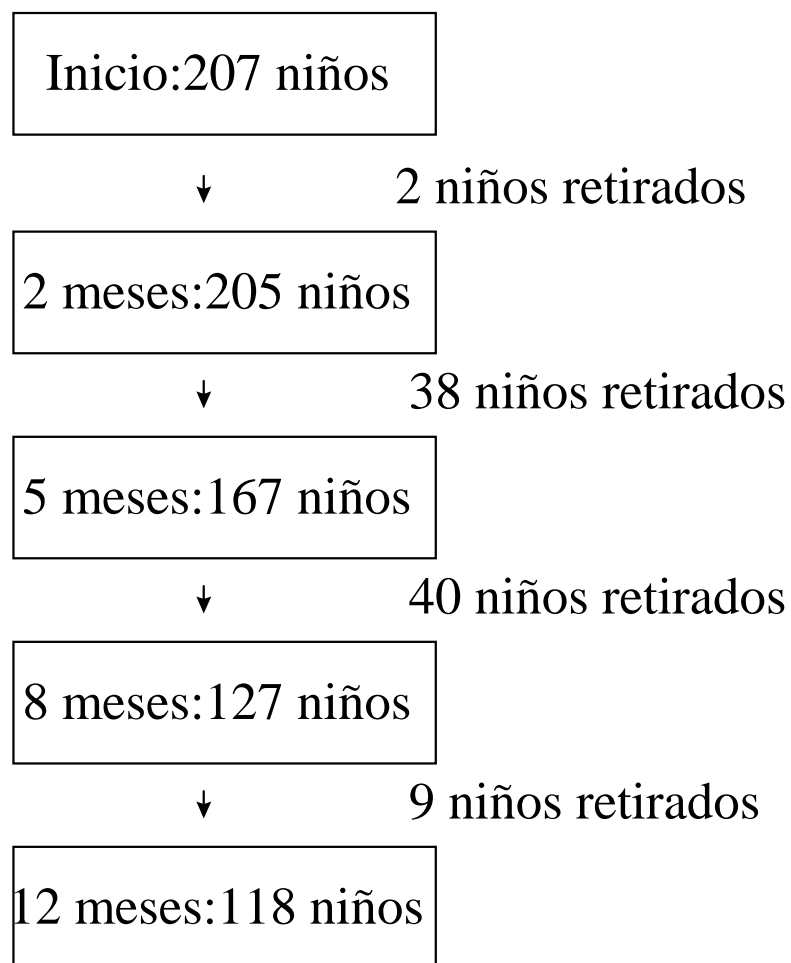
- |                                   |            |
|-----------------------------------|------------|
| • Anemia grave (hematócrito <25%) | 64 (30,9%) |
| • Migración                       | 14 (6,8%)  |
| • Rechazo                         | 1 (0,5%)   |
| • Muertes                         | 10 (4,8%)  |

Los niños eliminados del estudio por presentar anemia grave recibieron tratamiento siguiendo la guía del hospital con dos semanas de hierro oral (6 mg/kg diariamente) y con cloroquina (25 mg/kg durante tres días). Los niños que



presentaron malaria clínica recibieron tratamiento y permanecieron en el estudio,

**Figura 8.** Seguimiento de los niños del grupo placebo.



recibiendo la suplementación correspondiente a su grupo.

## **2.6. RECOGIDA Y CONSERVACION DE LAS MUESTRAS**

Las muestras, de cada niño, se obtuvieron cuando acudía a las visitas programadas en el Hospital de Ifakara, coincidiendo con las edades de dos, cinco, ocho y doce meses. En cada visita se tomaba la temperatura axilar con un termómetro electrónico (Beckton Dickinson, UK), se recogían dos frotis de sangre (normal y gota gruesa), y microtubos con anticoagulante EDTA-K3 y heparina litio (Beckton Dickinson). El estudio hematimétrico se realizó en sangre entera, en el Hospital de Ifakara. Asimismo en Ifakara se realizó el estudio en frotis de sangre de la morfología de los hematíes y de la presencia de parásitos. Las magnitudes bioquímicas se determinaron, en plasma, en el Hospital Clínico de Barcelona. Para ello, se utilizó heparina litio como anticoagulante. El plasma se obtuvo centrifugando la sangre a 3.500 rpm (x g) durante cinco minutos. Todas las muestras, así obtenidas, se guardaron congeladas en el Hospital de Ifakara y se mantuvieron congeladas durante el traslado en avión al Hospital Clínico de Barcelona. A su llegada se almacenaron, a -70° C, hasta el momento de realizar las determinaciones de los niveles plasmáticos de hierro, transferrina, ferritina, receptor soluble de transferrina y proteína C reactiva.

### **3. MÉTODOS**

#### **3.1. MAGNITUDES HEMATOLÓGICAS**

Engloban: el perfil hematológico básico, el estudio de la parasitemia y el estudio del tipo de hemoglobina mediante electroforesis. Todas estas magnitudes se realizaron en el Hospital de Ifakara.

Para el perfil hematológico básico se utilizó un contador celular semiautomático (Sysmex F800 microcell counter, TOA Medical Electronics, Kobe, Japan). Los parámetros hematológicos que se determinaron fueron: recuento de hematíes, hemoglobina, hematócrito, índices eritrocitarios (VCM, HCM y CHCM), recuento absoluto y diferencial de leucocitos y plaquetas. También se valoró el frotis de sangre periférica.

El estudio de la parasitemia por *Plasmodium falciparum* se realizó mediante observación del plasmodio, al microscopio, en frotis de sangre periférica y en gota gruesa. Para ello se siguieron los procedimientos estandarizados y de control de calidad habituales en el laboratorio del Hospital de Ifakara.

#### **3.2. MAGNITUDES BIOQUÍMICAS**

Comprenden la determinación de hierro, transferrina, ferritina, receptor soluble de transferrina y proteína C reactiva. Se realizaron en el Laboratorio del Hospital Clínico.

### 3.2.1 HIERRO

Se ha determinado la concentración de hierro en plasma mediante técnica colorimétrica sin desproteinización (con FerroZine) (ICSH, 1990). Se utilizaron reactivos comercializados por Roche y la técnica adaptada en un analizador de flujo discreto multicanal Roche Cobas Mira S.

#### Principio del método

El fundamento de esta técnica consiste en: separar el  $\text{Fe}^{3+}$  de la transferrina mediante una mezcla de detergente en un medio con pH ligeramente ácido, reducir el  $\text{Fe}^{3+}$  a  $\text{Fe}^{2+}$  (con ácido ascórbico) y medir el complejo de color que forma el  $\text{Fe}^{2+}$  con FerroZine.

#### Reactivos

- Ácido ascórbico: 380 mg en 100 mL de tampón.
- Cromógeno: FerroZine 80 mmol/L.
- Estándar: Solución estándar de hierro N<sup>o</sup>. 827452.

#### Imprecisión

La imprecisión se determinó en dos sueros control comerciales compuestos por líquidos basados en albúmina bovina (Monitrol 1 y Monitrol 2 de Dade Behring). Se incorporaron ambos controles internos en cada serie de análisis. Las imprecisiones intraserie e interserie así obtenidas se encuentran en la tabla III.

**Tabla III.** Hierro: Imprecisión intraserie e interserie (resultados expresados en  $\mu\text{g/dL}$ ).

<i>Imprecisión</i>	<i>Monitrol I</i>			<i>Monitrol II</i>		
	<i>media</i>	<i>de</i>	<i>CV</i> (%)	<i>Media</i>	<i>de</i>	<i>CV</i> (%)
Intraserie (n=10)	96	4	4,3	198	10	5,2
Interserie (n= 30)	97	6	6,8	199	18	9,4

**Tabla IV.** Transferrina: Imprecisión intraserie e interserie (resultados expresados en  $\text{mg/dL}$ ).

<i>Imprecisión</i>	<i>Monitrol I</i>			<i>Monitrol II</i>		
	<i>media</i>	<i>de</i>	<i>CV</i> (%)	<i>Media</i>	<i>de</i>	<i>CV</i> (%)
Intraserie (n=10)	264	13	5,4	344	21	6,3
Interserie (n= 30)	263	27	10,1	342	39	11,5

### 3.2.2. TRANSFERRINA

Se ha utilizado un test inmunoturbidimétrico para la determinación de transferrina. Los reactivos comercializados por Roche se adaptaron en un analizador Cobas Mira S.

#### Principio del método

Ver figura 9.

#### Reactivos

- Tampón TRIS/HCl: 20 mmol/L, pH 8,0; cloruro sódico: 100 mmol/L; polietilenglicol: 3,3%.
- Suero de cabra anti-transferrina humana (anticuerpo): en tampón TRIS/HCl: 20 mmol/L, pH 8,0; cloruro sódico: 100 mmol/L.

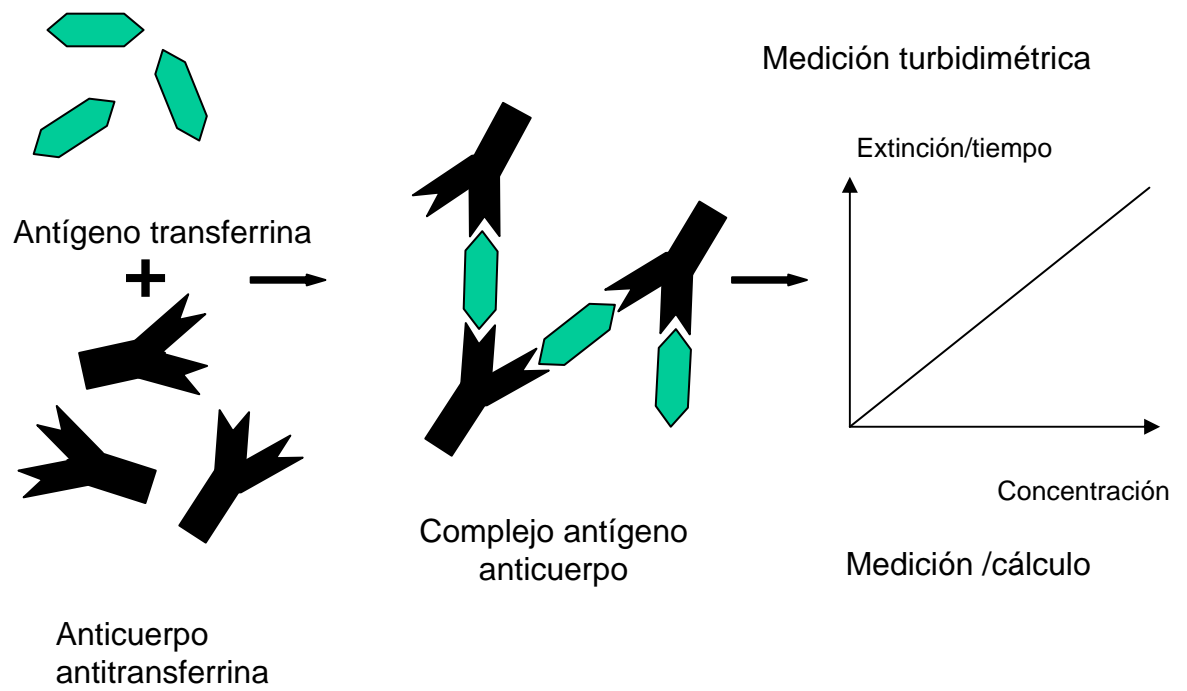
#### Imprecisión

Se calcularon a partir de los resultados obtenidos con los controles, Monitrol 1 y Monitrol 2 (Dade Behring), analizados en cada grupo de determinaciones analíticas. La imprecisión intraserie e interserie obtenidas para la determinación de transferrina se encuentran en la tabla IV.

### 3.2.3. FERRITINA

La valoración de la ferritina se ha realizado mediante una técnica inmunoradiométrica (IRMA) de doble anticuerpo comercializada por Hybritech: Tandem-R Ferritin (Hybritech Inc, San Diego, U.S.A.) (Addison, 1972).

**Figura 9.** Principio del método de determinación de la transferrina.



### Principio del método

Se basa en un método inmunoradiométrico en fase sólida con dos determinantes antigénicos. Se hacen reaccionar las muestras, que contienen ferritina, con una bola de plástico (fase sólida) cubierta por anticuerpos monoclonales dirigidos contra un sitio antigénico único de la molécula de ferritina. Además, hay otro anticuerpo monoclonal radiomarcado dirigido contra un sitio antigénico distinto de la misma molécula de ferritina. A continuación se forma un complejo en sandwich fase sólida-ferritina-anticuerpo marcado. Finalmente la bola se lava para retirar los anticuerpos marcados no ligados. La radioactividad ligada a la fase sólida se mide en un contador gamma. La radioactividad es directamente proporcional a la concentración de ferritina en la muestra. Se ha utilizado el contador Compugamma CS LKB-1282 (Wallac, Turku, Finland).

### Reactivos

- Anticuerpo marcado antiferritina: Anticuerpo monoclonal de ratón de clase IgG (anti-ferritina) marcado con  $^{125}\text{I}$ , en una matriz proteica (bovino/ratón) conteniendo aproximadamente 8,5  $\mu\text{Ci}$  por frasco de 10 mL, un colorante azul y 0,1% de azida sódica como conservante.
- Bolas de plástico recubiertas de anticuerpos antiferritina: Bolas de plástico recubiertas de anticuerpos monoclonales de ratón de clase IgG (antiferritina) en una solución tampón conteniendo 0,1% de azida sódica como conservante.
- Diluyente /Calibrador 0: Matriz de proteínas bovinas exenta de ferritina (0 ng/mL) y 0,1% de azida sódica como conservante.



- Siete calibradores de ferritina: Matriz de proteínas bovinas conteniendo 5, 25, 50, 250, 500, 750 y 1000 ng ferritina/mL y 0,1% de azida sódica como conservante.
- Solución de lavado concentrada: Solución detergente conteniendo 0,3% de azida sódica como conservante.

### **Imprecisión**

Para valorar la imprecisión se utilizaron 3 niveles de sueros control comerciales (Biorad). El resumen del estudio de la imprecisión intra e interserie del método de determinación de ferritina se presenta en la tabla V.

### **3.2.4. PROTEÍNA C REACTIVA**

Se ha determinado la concentración de proteína C reactiva en suero mediante técnica nefelométrica en un nefelómetro Behring BNA (Behring Diagnostics GmbH, Marburg, Germany).

### **Principio del método**

El método se basa en que las partículas de latex de poliestireno, recubiertas con anticuerpos monoclonales contra la proteína C reactiva, se aglutinan al mezclarse con las muestras de suero que contienen proteína C reactiva. La intensidad de la luz dispersada en el nefelómetro depende de la concentración de proteína C reactiva en la muestra sérica, de tal forma que por comparación con estándares de concentraciones conocidas es posible determinar el contenido de proteína C reactiva existente en la muestra.

**Tabla V.** Ferritina: Imprecisión intraserie e interserie (resultados expresados en ng/mL).

<i>Imprecisión</i>	<i>Biorad I</i>		<i>Biorad II</i>		<i>Biorad III</i>				
	<i>media</i>	<i>de</i>	<i>CV</i>	<i>media</i>	<i>de</i>	<i>CV</i>			
			(%)			(%)			
Intraserie (n=10)	244	6	2,5	117	4	3,4	73	4	5,5
Interserie (n= 30)	245	8	3,3	114	11	9,6	67	10	14,9

**Tabla VI.** Proteína C reactiva: Imprecisión intraserie e interserie (resultados expresados en mg/dL).

<i>Imprecisión</i>	<i>Nivel I</i>			<i>Nivel II</i>		
	<i>media</i>	<i>de</i>	<i>CV</i>	<i>media</i>	<i>de</i>	<i>CV</i>
			(%)			(%)
Intraserie (n=10)	1,2	0,1	5,0	4,5	0,1	3,3
Interserie (n= 30)	1,3	0,1	8,4	4,6	0,3	5,8

## Reactivos

- Reactivo Latex: Formado por una suspensión de partículas de poliestireno recubiertas con un anticuerpo monoclonal, obtenido en ratón, contra la proteína C reactiva. Viene preparado para su uso, se conserva entre 2 y 4 °C y debe agitarse cuidadosamente, cada día, antes de su utilización.
- Estándar.
- Reactivo de precipitación.
- Diluyente.

## Imprecisión

Como controles internos utilizamos pools de sueros a dos niveles de concentración. Las imprecisión intraserie e interserie obtenidas se muestran en la tabla VI.

### 3.2.5. RECEPTOR SOLUBLE DE TRANSFERRINA

Se ha determinado mediante técnica de enzimoimmunoanálisis comercial cuantitativo tipo “sandwich” (Orion Diagnostica, Espoo, Finland).

#### Principio del método

El método se basa en un enzimoimmunoanálisis tipo “sandwich” no competitivo. Un anticuerpo monoclonal, obtenido en ratones, contra el receptor

soluble de transferrina, se encuentra en los pocillos de la placa. El primer paso consiste en dispensar muestras y estándares en la placa. En un segundo paso se permite reaccionar al enzima ligado al anticuerpo monoclonal con el antígeno. Después de dos incubaciones de una hora y de sus correspondientes lavados, la concentración de anticuerpo, que permanece, es directamente proporcional a la concentración de antígeno. Las concentraciones desconocidas de las muestras se obtienen por medición a 405 nm comparando con la curva estándar obtenida a partir de concentraciones conocidas del antígeno del receptor sérico de transferrina analizadas en paralelo con las muestras.

### **Reactivos**

- Placa recubierta de anticuerpos: una placa con 96 pocillos recubiertos de anticuerpos monoclonales de ratón antireceptor soluble de transferrina.
- Calibradores: Seis preparados liofilizados de receptor soluble de transferrina humano conteniendo 0; 0,45; 1,2; 2,1; 4,5 y 8,5 mg/L. Se reconstituyen con solución tampón.
- Enzima antireceptor soluble de transferrina marcado: Solución con anticuerpos monoclonales de ratón antireceptor soluble de transferrina marcados con enzima.
- Solución tampón para receptor soluble de transferrina: Solución lista para su utilización. Contiene 0,1% de azida sódica.
- Sustrato concentrado.
- Solución tampón para sustrato: solución lista para su

utilización. Contiene 0,1% de azida sódica.

- Solución de parada: Lista para su utilización.
- Solución de lavado concentrada: Contiene 1% Kathon como conservante.
- Solución diluyente para muestras: Lista para su utilización.

### **Imprecisión**

Se muestran los datos de la imprecisión intra e interserie presentados por Orion Diagnostica en la tabla VII.

**Tabla VII.** Receptor soluble de transferrina: Imprecisión intraserie e interserie (resultados expresados en mg/L).

<i>Imprecisión</i>	Nivel I		Nivel II		Nivel III		Nivel IV	
	<i>media</i>	<i>CV (%)</i>	<i>media</i>	<i>CV (%)</i>	<i>media</i>	<i>CV (%)</i>	<i>media</i>	<i>CV (%)</i>
Intraserie (n=20)	1,3	8,5	2,1	5,1	4,8	5,7	6,0	3,4
Interserie (n= 10)	1,8	7,1	2,4	4,7	4,1	4,1	6,5	4,5

#### 4. DEFINICIONES

Se consideró:

Malaria: como la presencia de parasitemia por *Plasmodium falciparum* en la muestra de sangre, independientemente de la densidad de parásitos encontrada. Se consideró malaria clínica cuando la temperatura axilar era mayor de 37,5 °C y como malaria asintomática si la temperatura axilar era menor o igual que 37,5 °C.

Deficiencia de hierro: como una ferritina inferior a 12 ng/mL en los niños entre dos y cinco meses , o una ferritina inferior a 10 ng/mL en los niños entre ocho y doce meses de edad, o bien como hierro plasmático inferior a 11 µg/dL y concentración de transferrina superior a 347 mg/dL para todas las edades estudiadas (Meites, 1989).

Anemia: definida por un hematócrito inferior al 33%, y diferenciando entre:

- anemia moderada: hematócrito inferior al 33% pero igual o superior al 25%.
- anemia grave: hematócrito inferior al 25% (DeMaeyer, 1989).

Se administró tratamiento y se excluyeron del estudio los niños con anemia grave, habiéndose escogido el hematócrito inferior a 25% como punto de corte porque se asocia con una elevada mortalidad (Stoltzfus, 1997c).

Inflamación: definida como proteína C reactiva superior a 0,8 mg/dL.

Microcitosis: definida como

- Volumen corpuscular medio inferior a 77 fL., para los niños entre dos y cinco meses de edad.
- Volumen corpuscular medio inferior a 70 fL., para los niños entre ocho y doce meses de edad.

Fiebre: definida como temperatura axilar mayor o igual a 37,5°C.

## 5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A continuación se detallan las pruebas empleadas en el análisis estadístico de los resultados:

Para el análisis univariable las variables continuas se presentaron con, al menos una medida de centralización (media y mediana) y una de dispersión (desviación estándar o tipo y extremos o rango). Se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y para aquellas determinaciones que no seguían una distribución normal, se realizó una transformación logarítmica de los datos. En estos casos, los resultados están expresados como media geométrica y su intervalo de confianza del 95%. Las variables categóricas se presentaron por medio de su frecuencia absoluta (número de casos) y relativa (de una variable respecto al número total).

Para el análisis bivariante se utilizó, en el grupo de niños control, el análisis de la variancia para la comparación de las medias de las magnitudes estudiadas entre los cuatro grupos de edad.

Mediante análisis multivariante, utilizando modelos de regresión lineal múltiple, ajustado por edades, se analizaron las relaciones de los



constituyentes que permiten valorar el metabolismo del hierro (número de hematíes, hemoglobina, hematócrito, VCM, hierro, transferrina y ferritina séricos) con la inflamación y la malaria.

En el estudio de la utilidad del receptor soluble de transferrina se empleó un modelo de análisis de regresión lineal múltiple, ajustado por grupos de intervención, para comparar los resultados obtenidos de todas las magnitudes utilizadas para valorar el hierro corporal entre los diferentes grupos a la edad de 8 meses.

Se utilizó como nivel de significación estadística 0,05 para todas las comparaciones.

## **SOFTWARE**

El análisis de los datos se realizó con el paquete de software estadístico STATA version 5.0 (StataCorp, 1997. Texas, USA).

---

## **1. DESCRIPCION DE LA POBLACION: PREVALENCIA DE ALTERACIONES PATOLÓGICAS**

Se han incluido en el estudio los 205 niños que pertenecían al grupo de intervención placebo-placebo, cuyas características ya se han descrito en el apartado de material y métodos.

Se ha valorado la prevalencia de fiebre, inflamación, malaria, anemia, deficiencia de hierro y microcitosis en todos los niños que presentaban cada una de esas alteraciones, independientemente de que, además, presentaran, o no, alguna otra de las patologías estudiadas. Los resultados obtenidos pueden verse en la tabla VIII. Se incluyeron en el estudio en total: 205 niños a la edad de dos meses, 167 niños a la edad de cinco meses, 127 niños de ocho meses y 118 niños de doce meses de edad.

### **1.1. Prevalencia de fiebre**

La fiebre se definió como temperatura axilar mayor o igual a 37,5°C. Utilizando esa definición la prevalencia de fiebre fue del 3,9% en los lactantes de dos meses y disminuye con la edad, aunque no de forma significativa (tablas VIII y IX).

### **1.2. Prevalencia de inflamación**

La prevalencia de inflamación, definida como proteína C reactiva superior a 0,8 mg/dL, se incrementaba progresivamente con la edad como se muestra en las tablas VIII y IX. Se observa que a los dos meses de edad únicamente el 12,7% de los niños cumplen los criterios de inflamación, mientras que a los doce meses de edad lo hacen el 40,7% (tabla VIII). Así, los niños de cinco meses tienen un riesgo de presentar inflamación entre 1,2 y 3,8 veces superior al de los niños de dos meses de edad; el riesgo de los niños de ocho meses es

**Tabla VIII.** Prevalencia de las patologías estudiadas en la cohorte de lactantes.

<i>Patología</i>	<i>2 meses</i> <i>n/N</i> <i>(%)</i>	<i>5 meses</i> <i>n/N</i> <i>(%)</i>	<i>8 meses</i> <i>n/N</i> <i>(%)</i>	<i>12 meses</i> <i>n/N</i> <i>(%)</i>
Fiebre	8/205 (3,9)	6/167 (3,6)	4/127 (3,1)	2/118 (1,7)
Inflamación	26/205 (12,7)	39/167 (23,3)	39/127 (30,7)	48/118 (40,7)
Malaria	4/205 (1,9)	19/167 (11,4)	16/127 (12,6)	7/118 (5,9)
Anemia	68/205 (33,2)	71/167 (42,5)	77/127 (60,6)	50/118 (42,4)
Ferropenia	1/205 (4,9)	20/167 (12,0)	31/127 (24,4)	44/118 (37,3)
Microcitosis	12/205 (5,8)	104/167 (62,3)	70/127 (55,1)	66/118 (55,9)

**Tabla IX.** Estimación del Odds ratio en los niños con las patologías estudiadas a las diferentes edades respecto a la edad de dos meses.

Patología	5 meses OR (IC 95%)	8 meses OR (IC 95%)	12 meses OR (IC 95%)
Fiebre	0,9 (0,3-2,7)	0,8 (0,2-2,8)	0,4 (0,1-2,0)
Inflamación	2,1* (1,2-3,8)	3,0* (1,8-5,2)	4,7* (2,7-8,2)
Malaria	4,8* (1,6-14,7)	5,3* (1,7-16,8)	2,5 (0,7-8,9)
Anemia	1,5* (1,0-2,2)	3,1* (2,0-4,9)	1,5 (0,9-2,3)
Ferropenia	27,8* (4,0-190,8)	66,2* (8,9-494,7)	120,7* (16,2-896,0)
Microcitosis	35,1* (18,2-67,5)	20,1* (10,6-38,1)	18,2* (9,5-34,7)

\*p<0.05 versus grupo de niños de dos meses de edad.

entre 1,8 y 5,2 veces superior al de los niños de dos meses de edad; y en el grupo de niños de doce meses el riesgo es entre 2,7 y 8,2 veces mayor que el que presenta el grupo de niños de dos meses de edad (tabla IX).

### **1.3. Prevalencia de malaria**

La malaria se definió como presencia de parasitemia por *Plasmodium falciparum* en la muestra de sangre, independientemente de la densidad de parásitos encontrada. Se observaron variaciones en la prevalencia de malaria según la edad de los niños. El porcentaje de niños con malaria oscila entre el 1,9% y el 12,6% (tabla VIII). En la tabla IX se muestra que los niños de cinco y ocho meses tienen un riesgo de presentar malaria entre 1,6 y 16,8 veces superior al de los lactantes de dos meses de edad. Sin embargo a los doce meses el riesgo de presentar malaria vuelve a ser similar que el del grupo de dos meses de edad.

### **1.4. Prevalencia de anemia**

En este apartado hay que tener en cuenta que no se incluyen las anemias graves, sino únicamente las anemias moderadas (hematócrito superior a 25% e inferior a 33%). La prevalencia de anemia varía en función de la edad de los niños y oscila entre el 33,2% y el 60,6%, como se observa en la tabla VIII. La tabla IX muestra que los niños de cinco meses tienen un riesgo de presentar anemia entre 1,0 y 2,2 veces superior al de los niños de dos meses de edad; y este riesgo es algo mayor en los niños de ocho meses. A los doce meses el riesgo disminuye, no siendo significativamente diferente al que presenta el grupo de niños de dos meses de edad.

### **1.5. Prevalencia de deficiencia de hierro**

La deficiencia de hierro se definió como una ferritina inferior a 10 ng/mL en los niños entre ocho y doce meses de edad o inferior a 12 ng/mL en los niños entre dos y cinco meses, o bien sideremia inferior a 11  $\mu$ g/dL y transferrina superior a 347 mg/dL para todas las edades. Al igual que las patologías previamente descritas, también en la prevalencia de ferropenia se observan variaciones en función de la edad de los niños (tabla VIII). Destaca que el riesgo de presentar deficiencia de hierro se incrementa con la edad. Así, mientras que en el grupo de dos meses sólo hay un lactante con ferropenia, al llegar a los doce meses afecta al 37,3 % de los niños. Con respecto a la interpretación de los elevados resultados del Odds ratio que se observan en la tabla IX, hay que tener en cuenta que están condicionados por el hecho de que a los dos meses de edad únicamente encontremos un caso de deficiencia de hierro.

### **1.6. Prevalencia de microcitosis**

La microcitosis se definió como:

- VCM < 77 fL., para los niños de dos y cinco meses de edad.
- VCM < 70 fL., para los niños de ocho y doce meses de edad.

En las tablas VIII y IX se observan las variaciones en la prevalencia de microcitosis en función de la edad. El mayor riesgo de presentar microcitosis se produce en el grupo de niños de cinco meses, y es entre 18,2 y 67,5 veces superior al de los niños de dos meses de edad.

---

## **2. GRUPO CONTROL: EVOLUCION DEL METABOLISMO DEL HIERRO EN EL PRIMER AÑO DE VIDA.**

Se incluyeron en el grupo control aquellos niños del grupo placebo que no presentaban ni malaria, ni ferropenia, ni anemia, ni inflamación. Estas características las presentaron 93 de 205 niños a los dos meses (45,3%), 65 de 167 niños a los cinco meses (38,9%), 26 de 127 niños a los ocho meses (20,5%) y 26 de 118 niños a los doce meses (22,0%). El porcentaje de niños que cumplen los criterios para ser incluidos en el grupo control disminuye a la mitad entre los cinco meses y los ocho meses debido a la elevada frecuencia con la que desarrollan alguno de los procesos estudiados.

Los valores normales del hierro y su variación con la edad se muestran en la gráfica I. La mayor concentración de hierro se observa en los niños de dos meses de edad. Los valores disminuyen significativamente a los cinco meses no presentando, a partir de ese momento, variaciones. El análisis comparativo confirma que, efectivamente, la disminución de la concentración de hierro a los cinco, ocho y doce meses es significativa con respecto al grupo de niños de dos meses de edad.

En la gráfica II se presentan los valores normales de la transferrina. La concentración de transferrina en suero es significativamente inferior en los niños de dos meses y muestra una tendencia a incrementarse con la edad.

Con respecto a la ferritina, los resultados obtenidos pueden verse en la gráfica III. Los valores más elevados de ferritina en suero se encontraron en los niños de dos meses de edad, y disminuyen significativamente en los niños de cinco meses, existiendo una tendencia a continuar descendiendo a partir de esta edad.

Los valores del hematócrito se muestran en la gráfica IV. El estudio comparativo de los resultados de hematócrito en el grupo de niños control, mostró una disminución significativa a los cinco y ocho meses. Sin embargo, a la edad de doce meses los valores vuelven a ser similares a los que se obtenían a los dos meses.

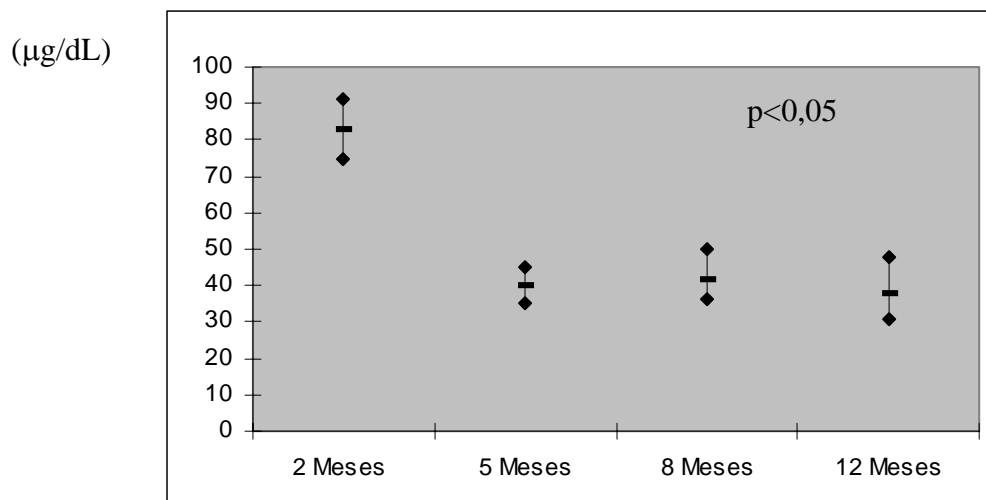
Los valores de hemoglobina y su evolución con la edad se muestran en la gráfica V. Frente al grupo de niños de dos meses de edad, las diferencias en los valores de hemoglobina no llegaban a ser significativas a los cinco meses de edad, aunque si que la disminución de esta magnitud era significativa a los ocho y doce meses.

La variación del VCM con la edad se muestra en la gráfica VI. Los valores encontrados fueron superiores a los dos meses de edad y disminuyeron significativamente en el grupo de niños de cinco meses de edad, no presentando a partir de ese momento más variaciones.

En cuanto al número de hematíes, los valores normales se muestran en la gráfica VII. El análisis estadístico demostró que a los cinco, ocho y doce meses el número de hematíes era significativamente superior con respecto al grupo de niños de dos meses.

No se observan variaciones ni en el número de leucocitos ni en la proteína C reactiva debidas a la edad. Los valores normales y la ausencia de variación en la cohorte de niños se muestran en las gráficas VIII y IX.

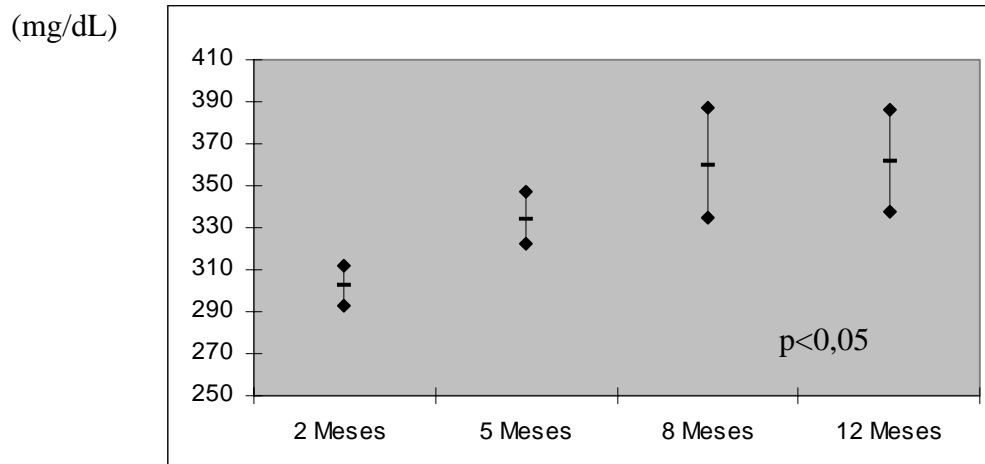


**Gráfica I.** Variación del hierro con la edad (media geométrica e IC 95%).

Edad	$x$ geométrica(IC 95%)	$x \pm de$	Mín-máx
2 meses (n=93)	83 (75-91)	$89 \pm 40$	21-273
5 meses* (n=65)	40 (35-45)	$45 \pm 20$	7-108
8 meses* (n=26)	42 (36-50)	$45 \pm 20$	14-100
12 meses* (n=26)	38 (31-48)	$42 \pm 21$	8-107

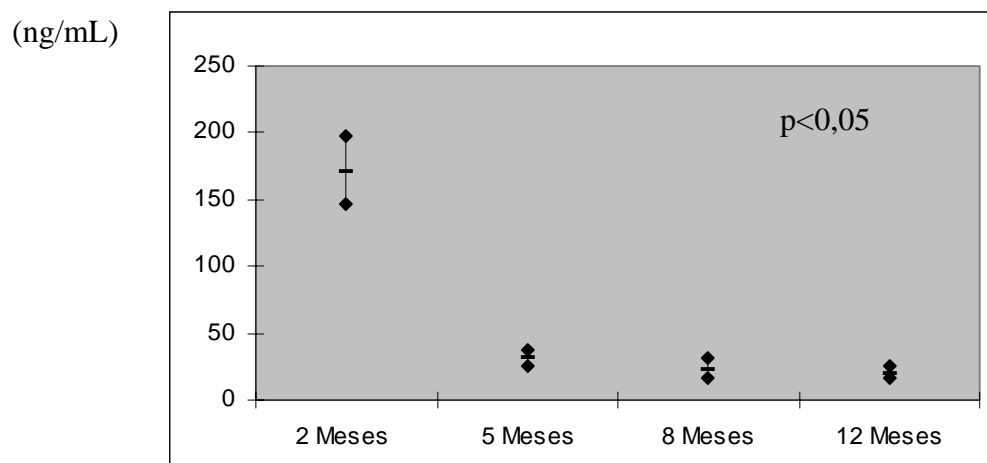
\* $p < 0,05$  versus grupo de niños de dos meses de edad.

**Gráfica II.** Variación de la transferrina con la edad (media geométrica e IC 95%).



<i>Edad</i>	<i>x geométrica (IC 95%)</i>	<i>x ± de</i>	<i>Mín-máx</i>
2 meses (n=93)	302 (293-312)	305 ± 45	203-409
5 meses* (n=65)	334 (322-347)	336 ± 49	208-431
8 meses* (n=26)	360 (335-387)	368 ± 61	212-481
12 meses* (n=26)	361 (338-386)	370 ± 58	259-475

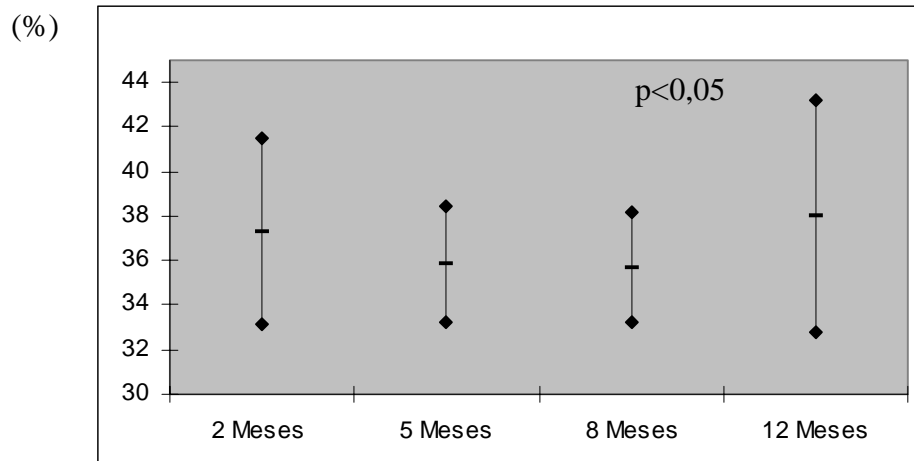
\*p<0,05 versus grupo de niños de dos meses de edad.

**Gráfica III.** Variación de la ferritina con la edad (media geométrica e IC 95%).

<i>Edad</i>	<i>x geométrica (IC 95%)</i>	<i>x ± de</i>	<i>Mín-máx</i>
2 meses (n=93)	171 (147-198)	$209 \pm 143$	28-810
5 meses* (n=65)	31 (26-38)	$49 \pm 59$	12-369
8 meses* (n=26)	23 (17-31)	$32 \pm 26$	11-106
12 meses* (n=26)	20 (16-25)	$22 \pm 12$	10-62

\* $p < 0,05$  versus grupo de niños de dos meses de edad.

**Gráfica IV.** Variación del hematócrito con la edad (media y desviación estándar).

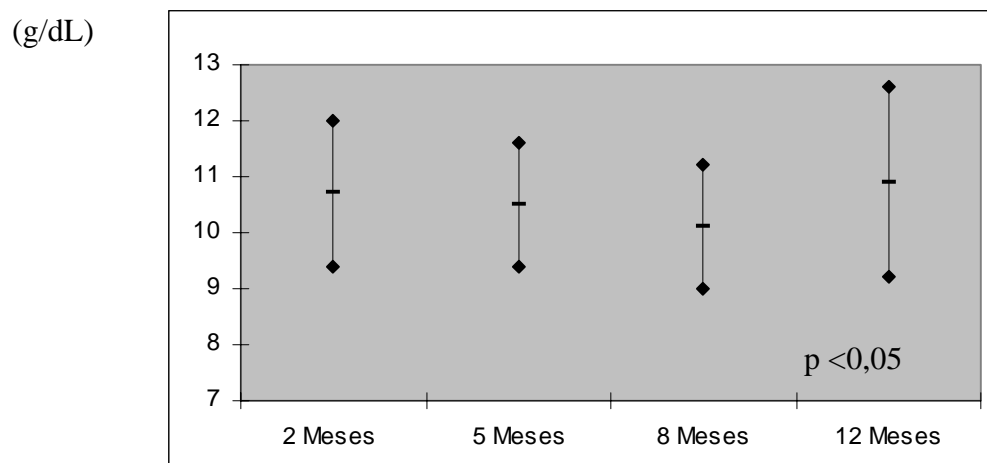


<i>Edad</i>	$x \pm de$	<i>Mín-máx</i>
2 meses (n=93)	37,3 $\pm$ 4,2	33,0-55,7
5 meses* (n=65)	35,8 $\pm$ 2,6	33,0-44,3
8 meses* (n=26)	35,7 $\pm$ 2,5	33,0-45,9
12 meses (n=26)	38,0 $\pm$ 5,2	33,2-55,8

\*p<0,05 versus grupo de niños de dos meses de edad.

No se han calculado medias geométricas por seguir una distribución normal.

**Gráfica V.** Variación de la hemoglobina con la edad (media y desviación estándar).



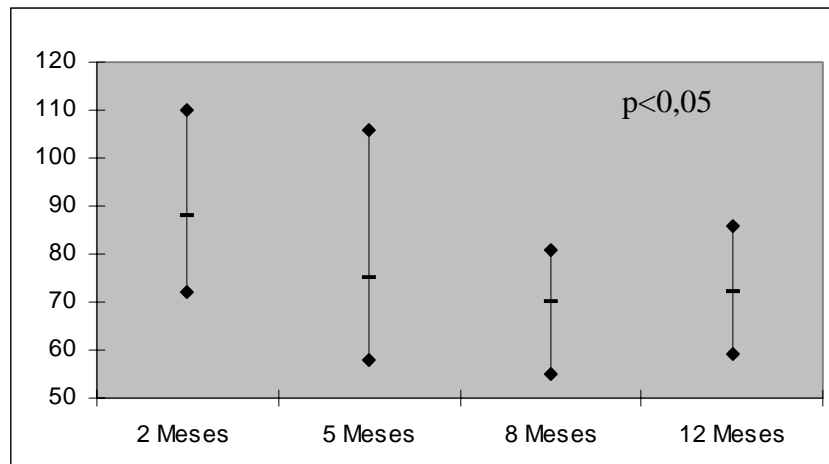
<i>Edad</i>	<i>x ± de</i>	<i>Mín-máx</i>
2 meses (n=93)	10,7 ± 1,3	7,5-14,0
5 meses (n=65)	10,5 ± 1,1	7,7-13,2
8 meses* (n=26)	10,1 ± 1,1	7,3-12,0
12 meses* (n=26)	10,9 ± 1,7	8,7-16,5

\*p<0,05 versus grupo de niños de dos meses de edad.

No se han calculado medias geométricas por tener una distribución normal.

**Gráfica VI.** Variación de la VCM con la edad (media y desviación estándar).

(fL)

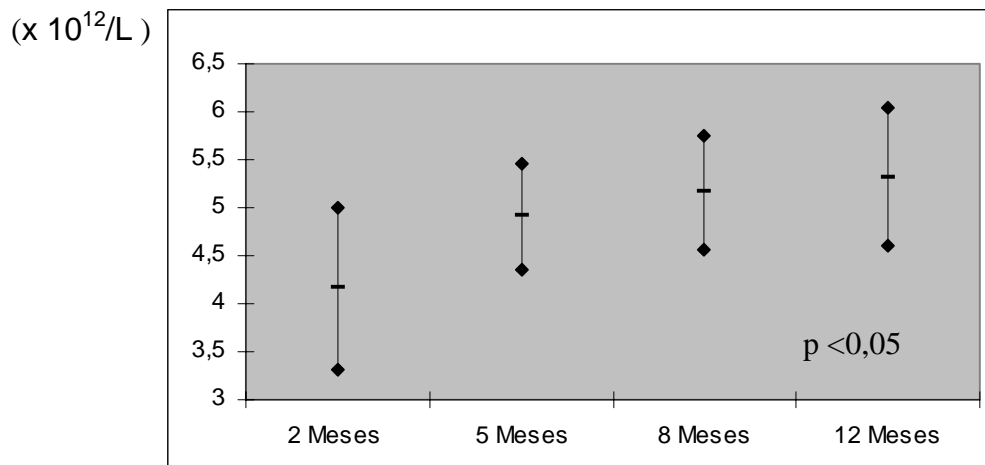


<i>Edad</i>	<i>x ± de</i>	<i>Mín-máx</i>
2 meses (n=93)	88 ± 6	72-110
5 meses* (n=65)	75 ± 7	58-106
8 meses* (n=26)	70 ± 7	55-81
12 meses* (n=26)	72 ± 7	59-86

\*p<0,05 versus grupo de niños de dos meses de edad.

No se han calculado medias geométricas por seguir una distribución normal.

**Gráfica VII.** Valores normales del número de hematíes y su variación con la edad (media y desviación estándar).



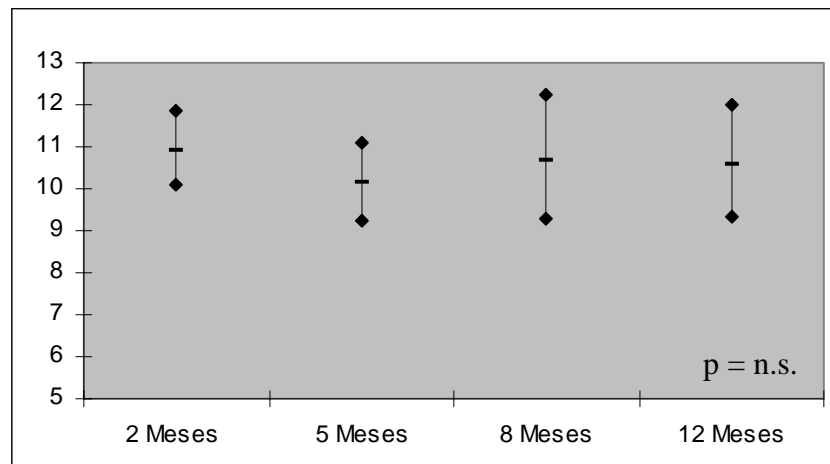
<i>Edad</i>	<i>x ± de</i>	<i>Mín-máx</i>
2 meses (n=93)	4,16 ± 0,85	0-6,60
5 meses* (n=65)	4,91 ± 0,55	3,68-6,58
8 meses* (n=26)	5,16 ± 0,59	4,22-6,37
12 meses* (n=26)	5,32 ± 0,72	4,19-7,08

\*p<0,05 versus grupo de niños de dos meses de edad.

No se han calculado medias geométricas por tener una distribución normal.

**Gráfica VIII.** Valores normales de número de leucocitos y su variación con la edad (media geométrica e IC 95%).

(x 10<sup>9</sup>/L )

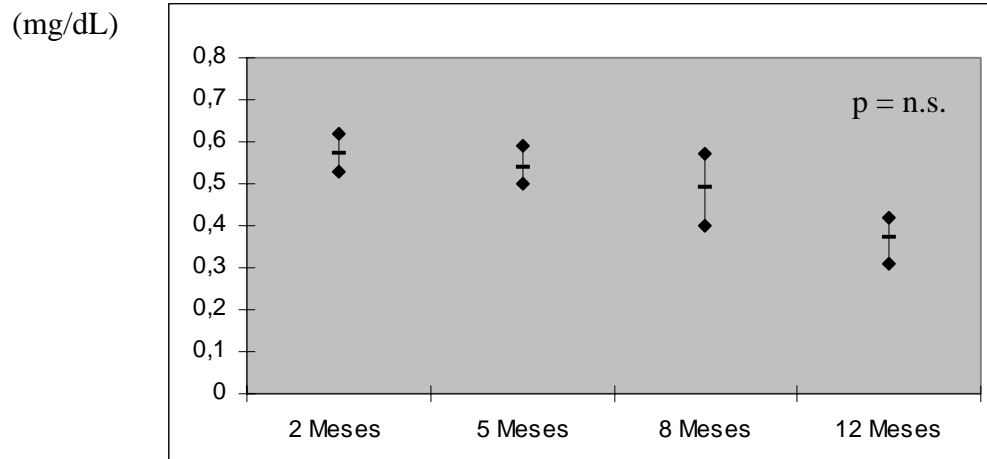


<i>Edad</i>	<i>x geométrica (IC 95%)</i>	<i>x ± de</i>	<i>Mín-máx</i>
2 meses (n=93)	10,9 (10,08-11,85)	11,6 ± 4,9	5,0-35,9
5 meses (n=65)	10,12 (9,25-11,09)	10,9 ± 3,9	5,1-24,7
8 meses (n=26)	10,66 (9,28-12,24)	11,2 ± 3,2	5,1-16,0
12 meses (n=26)	10,57 (9,32-11,98)	10,9 ± 3,2	6,1-18,7

\*p<0,05 versus grupo de niños de dos meses de edad.



**Gráfica IX.** Variación de la proteína C reactiva con la edad (media geométrica e IC 95%).



<i>Edad</i>	<i>x geométrica (IC 95%)</i>	<i>x ± de</i>	<i>Mín-máx</i>
2 meses (n=93)	0,57 (0,53-0,62)	$0,57 \pm 0,21$	0,02-0,76
5 meses (n=65)	0,54 (0,50-0,59)	$0,55 \pm 0,20$	0,24-0,78
8 meses (n=26)	0,49 (0,40-0,57)	$0,48 \pm 0,21$	0,24-0,72
12 meses (n=26)	0,37 (0,31-0,42)	$0,37 \pm 0,13$	0,24-0,71

\* $p < 0,05$  versus grupo de niños de dos meses de edad.

En resumen, en la tabla X se muestran los resultados obtenidos para la valoración del metabolismo del hierro en el grupo de niños control, expresados en forma de media aritmética y desviación estándar. En todas las magnitudes estudiadas relacionadas con el metabolismo del hierro se encontró que presentan variaciones significativas a lo largo del primer año de vida. Únicamente el número de leucocitos y la proteína C reactiva no mostraron diferencias significativas debidas a la edad.

**Tabla X.** Magnitudes para la valoración del metabolismo del hierro en el grupo de niños control.

<i>Magnitudes</i>	<i>2 meses</i> (n=93)	<i>5 meses</i> (n=65)	<i>8 meses</i> (n=26)	<i>12 meses</i> (n=26)
Hierro (µg/dL)	89 ± 40	45 ± 20*	45 ± 20*	42 ± 21*
Transferrina (mg/dL)	305 ± 45	336 ± 49*	368 ± 61*	370 ± 58*
Ferritina (ng/mL)	209 ± 143	49 ± 59*	32 ± 26*	22 ± 12*
Hematócrito (%)	37,3 ± 4,2	35,8 ± 2,6*	35,7 ± 2,5*	38,0 ± 5,2
Hemoglobina (g/dL)	10,7 ± 1,3	10,5 ± 1,1	10,1 ± 1,1*	10,9 ± 1,7*
VCM (fL)	88 ± 6	75 ± 7*	70 ± 7*	72 ± 7*
Nº hematíes (x 10 <sup>12</sup> /L)	4,16 ± 0,85	4,91 ± 0,55*	5,16 ± 0,59*	5,32 ± 0,72*
Nº leucocitos (x 10 <sup>9</sup> /L )	11,6 ± 4,9	10,9 ± 3,9	11,2 ± 3,2	10,9 ± 3,2
PCR (mg/dL)	0,57 ± 0,21	0,55 ± 0,20	0,48 ± 0,21	0,37 ± 0,13

Media aritmética ± desviación estándar

\*p&lt;0,05 versus grupo de niños de dos meses de edad.

---

### **3. EFECTO DE LA INFLAMACION Y LA MALARIA EN EL METABOLISMO DEL HIERRO.**

El estudio se ha realizado en aquellos niños del grupo placebo que presentaban inflamación y malaria, utilizando las definiciones descritas en el apartado de material y métodos.

En la tabla XI se muestran los valores de las magnitudes estudiadas en el grupo de niños que presenta inflamación. En el análisis multivariante, tabla XIII, se encontró que el hierro, el hematócrito, la hemoglobina, el VCM y el número de hematíes disminuyen significativamente en los niños que presentan un proceso inflamatorio frente a los niños del grupo control. Mientras que la transferrina y la ferritina no mostraban diferencias entre ambos grupos, aunque la concentración de ferritina mostraba una tendencia a aumentar en el grupo de niños con inflamación. También era significativo el incremento del número de leucocitos en el grupo de niños con inflamación respecto al grupo control.

**Tabla XI.** Magnitudes para la valoración del metabolismo del hierro en el grupo de niños con inflamación.

<i>Magnitudes</i>	<i>2 meses</i> <i>(n=25)</i>	<i>5 meses</i> <i>(n=38)</i>	<i>8 meses</i> <i>(n=39)</i>	<i>12 meses</i> <i>(n=48)</i>
Hierro** (µg/dL)	64 ± 31 (13-134)	39 ± 42 (14-275)	39 ± 26 (11-129)	40 ± 39 (5-271)
Transferrina (mg/dL)	267 ± 40 (199-346)	357 ± 48 (269-456)	350 ± 54 (239-471)	385 ± 63 (270-621)
Ferritina (ng/mL)	218 ± 125 (68-567)	80 ± 108 (6-420)	46 ± 47 (5-203)	34 ± 46 (4-229)
Hematócrito*** (%)	33,2 ± 4,0 (26,1-38,3)	32,7 ± 4,4 (21,0-43,3)	32,1 ± 4,0 (24,9-41,0)	32,9 ± 5,9 (20,1-53,2)
Hb*** (g/dL)	9,6 ± 1,4 (7,1-12,0)	9,5 ± 1,3 (6,8-12,2)	9,2 ± 1,4 (6,2-12,3)	9,3 ± 1,8 (6,0-16,1)
VCM* (fL)	87,7 ± 6,4 (72,3-99,8)	71,6 ± 8,3 (56,5-92,4)	68,6 ± 6,1 (58,1-78,5)	65,9 ± 5,8 (53,6-77,9)
Nº hematíes* (x 10 <sup>12</sup> /L)	3,99 ± 0,57 (2,75-5,32)	4,69 ± 0,90 (1,51-6,28)	4,74 ± 0,63 (3,46-6,00)	5,02 ± 0,92 (2,58-7,72)
Nº leucocitos* (x 10 <sup>9</sup> /L)	12,99 ± 5,08 (6,30-23,70)	12,08 ± 3,52 (6,30-19,30)	12,33 ± 4,70 (5,30-26,70)	12,35 ± 4,95 (3,50-28,20)
PCR*** (mg/dL)	2,8 ± 2,7 (0,8-12,2)	2,0 ± 1,5 (0,8-6,1)	2,9 ± 3,5 (0,8-15,6)	2,9 ± 2,1 (0,8-10,2)

*Media ± desviación estándar (rango)*

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 versus grupo niños control ajustado por edad.

En la tabla XII se detallan los valores de las magnitudes estudiadas en el grupo de niños con malaria. El análisis multivariante se muestra en la tabla XIII. Se observó que las concentraciones del hierro y la ferritina eran significativamente mayores en los niños que presentan malaria; mientras que los valores de hematócrito, hemoglobina y número de hematíes estaban significativamente disminuidos en estos niños; finalmente, el resto de los parámetros estudiados (transferrina, VCM, número de leucocitos y proteína C reactiva) no mostraron diferencias significativas, ajustando por edad, entre ambos grupos de niños.

En resumen, en la tabla XIV se muestra como se alteran las magnitudes medidas por la acción de la inflamación y la malaria.

**Tabla XII.** Magnitudes para la valoración del metabolismo del hierro en el grupo de niños con malaria.

Magnitudes	2 meses (n=4)	5 meses (n=19)	8 meses (n=16)	12 meses (n=7)
Hierro* (µg/dL)	100 ± 35 (66-147)	85 ± 69 (22-275)	43 ± 21 (12-95)	54 ± 17 (38-88)
Transferrina (mg/dL)	289 ± 29 (246-306)	344 ± 47 (253-474)	353 ± 54 (248-470)	386 ± 46 (323-437)
Ferritina* (ng/mL)	226 ± 140 (91-420)	177 ± 167 (17-666)	61 ± 59 (6-203)	86 ± 61 (17-179)
Hematócrito*** (%)	34,0 ± 5,5 (28,0-41,2)	28,4 ± 5,8 (12,4-38,8)	30,7 ± 5,6 (21,9-40,9)	30,7 ± 6,4 (21,7-39,7)
Hemoglobina *** (g/dL)	10,5 ± 2,6 (8,2-12,9)	8,0 ± 1,8 (2,8-10,5)	8,7 ± 1,7 (6,2-12,3)	8,6 ± 2,1 (6,0-11,1)
VCM (fL)	82,0 ± 8,3 (72,5-87,0)	72,8 ± 6,7 (60,2-82,2)	70,4 ± 5,4 (59,0-78,1)	70,1 ± 7,1 (59,6-80,9)
Nº hematíes*** (x 10 <sup>12</sup> /L)	4,24 ± 0,48 (3,82-4,76)	3,97 ± 1,23 (1,51-6,11)	4,41 ± 0,75 (3,10-5,84)	4,42 ± 1,05 (3,52-6,07)
Nº leucocitos (x 10 <sup>9</sup> /L)	9,5 ± 3,0 (6,6-12,5)	12,9 ± 5,1 (4,9-20,5)	12,4 ± 4,2 (5,9-20,2)	11,3 ± 3,5 (6,6-16,2)
PCR* (mg/dL)	1,5 ± 1,8 (0,3-4,2)	1,4 ± 1,7 (0,2-6,1)	1,3 ± 1,7 (0,2-6,2)	2,5 ± 1,5 (0,3-4,9)

*Media ± desviación estándar (rango)*

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 versus grupo niños control ajustado por edad.

**Tabla XIII.** Modelos de regresión múltiple para valorar el efecto de la inflamación y la malaria sobre las magnitudes que valoran el metabolismo del hierro.

<i>Magnitud</i>	$r^2$	Inflamación	Malaria	Constante
		Coficiente(IC95%) EE p	Coficiente(IC95%) EE p	Coficiente(IC95%) EE p
Hierro	0,30	-11,1(-17,9 a -4,2) 3,5 <b>0,002</b>	19,3(1,4 a 37,3) 9,1 <b>0,035</b>	84,1(77,6 a 90,7) 3,3 0,000
Transferrina	0,37	-12,4(-25,4 a 0,5) 6,6 0,060	-1,5(-21,3 a 18,3) 10,0 0,883	301 (293 a 310) 4,4 0,000
Ferritina	0,47	12,8(-8,1 a 33,8) 10,6 0,228	60,9(9,9 a 111,9) 25,8 <b>0,020</b>	205 (182 a 229) 12,0 0,000
Hematócrito	0,34	-3,4(-4,5 a -2,3) 0,5 <b>0,000</b>	-6,2(-8,4 a -3,9) 1,1 <b>0,000</b>	37,3(36,6 a 38,0) 0,3 0,000
Hemoglobina	0,13	-0,8(-1,1 a -0,4) 0,2 <b>0,000</b>	-1,8(-2,6 a -0,9) 0,4 <b>0,000</b>	10,8(10,5 a 11,1) 0,1 0,000
VCM	0,55	-2,5(-4,6 a -0,4) 1,1 <b>0,017</b>	-1,9(-4,7 a 0,9) 1,4 0,184	88,0(86,7 a 89,4) 0,7 0,000
Nº hematíes	0,24	-0,3(-0,5 a -0,1) 0,1 <b>0,018</b>	-0,8(-1,3 a -0,4) 0,2 <b>0,000</b>	4,2(4,0 a 4,4) 0,1 0,000
Nº leucocitos	0,02	1,4(0,2 a 2,5) 0,6 <b>0,019</b>	1,5(-0,3 a 3,3) 0,9 0,099	11,5(10,6 a 12,4) 0,4 0,000
Proteína C reactiva	0,33	2,2(1,7 a 2,7) 0,3 <b>0,000</b>	0,1(-0,1 a 0,2) 0,1 0,325	0,5(0,5 a 0,6) 0,0 0,000

Respecto al grupo de niños control.

Ajustado por edad.



**Tabla XIV.** Efecto de la inflamación y la malaria sobre el metabolismo del hierro.

<i>Magnitudes</i>	<i>Inflamación</i>	<i>Malaria</i>
Hierro	↓	↑
Transferrina	–	–
Ferritina	–	↑
Hematócrito	↓↓	↓↓
Hemoglobina	↓↓	↓↓
VCM	↓	–
Número hematíes	↓	↓↓
Número leucocitos	↑	–
Proteína C reactiva	↑↑	–

↓  $p < 0,05$ ; ↓↓  $p < 0,001$ ; ↑  $p < 0,05$ ; ↑↑  $p < 0,001$ ; –  $p = n.s.$

---

#### 4. UTILIDAD DEL RECEPTOR SOLUBLE DE TRANSFERRINA PARA VALORAR EL TIPO DE ANEMIA

Los niveles plasmáticos del receptor soluble de transferrina se determinaron en 296 muestras de niños seleccionados aleatoriamente de entre los 611 niños visitados a los ocho meses. Las características generales de este grupo se encuentran en la tabla II del apartado de material y métodos.

Los datos se analizaron clasificando a los niños en cuatro grupos:

- Grupo control: formado por 148 niños que no presentaban ninguna de las alteraciones estudiadas (sin malaria, sin anemia, sin deficiencia de hierro y sin inflamación).
- Grupo con anemia ferropénica: formado por 17 niños sin malaria y con anemia ferropénica.
- Grupo con anemia sola: formado por 100 niños con anemia y sin malaria y sin deficiencia de hierro.
- Grupo con anemia y malaria: formado por 31 niños con malaria y con anemia.

Para ello se han utilizado las definiciones descritas en el apartado de material y métodos.

En la tabla XV se muestra el resumen de los resultados del receptor soluble de transferrina y de los principales parámetros bioquímicos y hematológicos obtenidos en el estudio del grupo de niños que no recibieron ningún tipo de suplementación. Estos resultados coinciden con los obtenidos en el total de los niños estudiados (n=296), y para cuyo análisis se han utilizado

**Tabla XV.** Parámetros bioquímicos y hematológicos en el estudio del grupo de niños con anemia asignados al grupo placebo.

	Control (n=26)	Anemia sola (n=23)	Anemia + malaria (n=10)	Anemia + ferropenia (n=5)
STRf (ng/mL)	4,4 ± 1,6 (2,0-8,7)	5,5 ± 3,9*** (1,9-21,2)	8,6 ± 4,1*** (2,9-18,4)	7,1 ± 3,8** (4,1-13,7)
Hierro (µg/dL)	44 ± 25 (12-105)	47 ± 39 (12-195)	46 ± 15 (14-70)	24 ± 8*** (12-34)
Transferrina (mg/dL)	342 ± 59 (212-481)	343 ± 45 (237-408)	348 ± 65** (248-470)	373 ± 40** (345-445)
Ferritina (ng/mL)	33 ± 28 (9-106)	47 ± 46 (9-156)	58 ± 52*** (17-169)	5 ± 1*** (4-6)
Hematócrito (%)	35,5 ± 2,5 (33,0-45,9)	29,3 ± 3,6*** (20,0-32,4)	27,4 ± 3,2*** (21,9-32,0)	30,1 ± 2,0*** (28,1-32,8)
Hemoglobina (g/dL)	9,8 ± 1,1 (7,3-12,0)	8,4 ± 1,4*** (5,5-9,8)	8,0 ± 1,2*** (6,2-10,1)	8,3 ± 1,3*** (5,9-9,1)
VCM (fL)	70 ± 6 (59-81)	71 ± 7* (59-82)	68 ± 5 (59-75)	67 ± 13* (58-91)
Nº hematíes (x 10 <sup>12</sup> /L)	5,11 ± 0,53 (4,31-6,37)	4,26 ± 0,50*** (3,52-5,13)	4,10 ± 0,69*** (3,10-5,32)	4,63 ± 0,86** (3,12-5,19)
Nº leucocitos (x 10 <sup>9</sup> /L)	11,3 ± 3,6 (5,1-16,0)	11,6 ± 5,6 (3,5-26,7)	11,7 ± 4,1 (5,9-20,2)	14,2 ± 5,5 (6,9-19,3)
PCR (mg/dL)	0,5 ± 0,2 (0,2-0,7)	1,4 ± 2,3*** (0,2-9,3)	1,1 ± 1,4*** (0,2-5,0)	0,7 ± 0,2 (0,4-0,8)

Los resultados están expresados como media aritmética ± desviación estándar (mínimo - máximo).

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 frente al grupo de niños control y ajustado por grupo de tratamiento.

---

modelos de regresión múltiple ajustados para los grupos de tratamiento (tabla XXVII).

Los tres grupos de niños con anemia presentan concentraciones del receptor soluble de transferrina significativamente aumentadas frente al grupo de niños control (tablas XV y XVII). Los valores más elevados del receptor soluble de transferrina se encontraron en el grupo de niños con anemia y malaria, siendo mayores incluso a los que presentaban los niños con anemia ferropénica (tablas XV y XVII).

No se encontraron diferencias significativas de la concentración del receptor soluble de transferrina ni por sexo, fiebre o genotipo de hemoglobina. Aunque sí que se encontró una correlación significativa y directa entre el receptor soluble de transferrina y la densidad de la parasitemia ( $r=0,34$ ;  $p<0,001$ ).

#### **4.1. INFLUENCIA DE LA SUPLEMENTACION CON HIERRO Y/O DELTAPRIM SOBRE EL METABOLISMO DEL HIERRO**

Los valores del receptor soluble de transferrina y del resto de magnitudes bioquímicas y hematológicas detallados por tipo de anemia y por grupos de intervención se encuentran en las tablas XVII a XXVI. Se observa un posible efecto beneficioso de la suplementación en todos los grupos. En la tabla XVI se muestra el efecto de la suplementación sobre la prevalencia de los diferentes tipos de anemia. El grupo suplementado exclusivamente con hierro muestra menor prevalencia de anemia ferropénica y el suplementado con Deltaprim menor porcentaje de anemia asociada a malaria. El mayor efecto se observa en el grupo que recibe ambas suplementaciones, hierro y Deltaprim, que claramente es el que presenta la menor prevalencia de todos los tipos de anemias.

---

Para analizar el efecto del tipo de anemia sobre cada magnitud se utilizaron los modelos de regresión múltiple mostrados en la tabla XXVI. Todos los modelos se calcularon con respecto al grupo de niños control y se ajustaron por grupo de intervención.

El resumen del efecto del tipo de anemia sobre las magnitudes, bioquímicas y hematológicas, que permiten valorar el metabolismo del hierro, se muestra en la tabla XXVIII.

Para analizar el efecto de la suplementación (con hierro, con Deltaprim o con ambos) sobre cada magnitud estudiada también se utilizaron modelos de regresión (tabla XXIX). Todos estos modelos se han comparado respecto al grupo de niños placebo y han sido ajustados por patología.

Se observa que la magnitud más sensible a la suplementación es el propio receptor soluble de transferrina con valores menores en los tres grupos suplementados con respecto al grupo placebo (tablas XVII, XXIX y XXX). Las únicas magnitudes que no se alteraban por el efecto de las intervenciones (tablas XVIII y XXX) fueron el número de hematíes (tabla XXIV), el número de leucocitos (tabla XXV) y la proteína C reactiva (tabla XXVI). El resto de magnitudes, es decir, el hierro (tabla XVIII), la transferrina (tabla XIX), la ferritina (tabla XX), el hematócrito (tabla XXI), la hemoglobina (tabla XXII) y el VCM (tabla XXIII), sí que mostraban el efecto de la intervención (tablas XIX y XXX).

El resumen del efecto de las suplementaciones con hierro y/o Deltaprim en las magnitudes, bioquímicas y hematológicas, que permiten valorar el metabolismo del hierro, se muestra en la tabla XXX.

**Tabla XVI.** Efecto de la suplementación sobre la prevalencia de anemia.

	<i>Control</i> <i>n/N (%)</i>	<i>Anemia</i> <i>n/N (%)</i>	<i>Anemia+</i> <i>malaria</i> <i>n/N (%)</i>	<i>Anemia+</i> <i>ferropenia</i> <i>n/N (%)</i>
Placebo-placebo n=64	26/64 (40,6)	23/64 (35,9)	10/64 (15,7)	5/64 (7,8)
Placebo-hierro n=70	31/70 (44,3)	29/70 (41,4)	9/70 (12,9)	1/70 (1,4)
Placebo-Deltaprim n=82	34/82 (41,5)	30/82 (36,6)	7/82 (8,5)	11/82 (13,4)
Deltaprim-hierro n=80	57/80 (71,3)	18/80 (22,5)	5/80 (6,2)	0

**Tabla XVII.** Receptor soluble de transferrina: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

<i>sTrf</i> (ng/ml)	<i>Control</i>	<i>Anemia</i> <sup>***</sup>	<i>Anemia + malaria</i> <sup>***</sup>	<i>Anemia + ferropenia</i> <sup>**</sup>
	<i>n</i> <i>x ± de</i> mín-máx	<i>n</i> <i>x ± de</i> mín-máx	<i>n</i> <i>x ± de</i> mín-máx	<i>n</i> <i>x ± de</i> mín-máx
Placebo-placebo n=64	26 4,4 ± 1,6 2,0-8,7	23 5,5 ± 3,9 1,9-21,2	10 8,6 ± 4,0 2,9-18,4	5 7,1 ± 3,8 4,1-13,7
Placebo-hierro <sup>+++</sup> n=70	31 3,1 ± 1,0 1,5-5,2	29 4,2 ± 2,8 1,7-14,8	9 7,4 ± 1,7 5,0-10,3	1 3,6 ± 0 3,6-3,6
Placebo-Deltaprim <sup>+</sup> n=82	34 4,2 ± 2,1 1,6-13,2	30 4,6 ± 1,9 2,4-10,3	7 7,2 ± 2,6 3,6-10,5	11 5,5 ± 2,0 3,7-10,3
Deltaprim-hierro <sup>+++</sup> n=80	57 3,1 ± 1,0 1,2-7,5	18 5,3 ± 3,0 2,1-11,3	5 7,1 ± 3,1 2,9-11,4	0

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

<sup>+</sup>p<0,05; <sup>++</sup>p<0,01; <sup>+++</sup>p<0,001 frente al grupo control y ajustado por patología.

**Tabla XVIII.** Hierro: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

Hierro ( $\mu\text{g/dL}$ )	<i>Control</i>	<i>Anemia</i>	<i>Anemia + malaria</i>	<i>Anemia + ferropenia***</i>
	<i>n</i> $x \pm de$ mín-máx	<i>n</i> $x \pm de$ mín-máx	<i>n</i> $x \pm de$ mín-máx	<i>n</i> $x \pm de$ mín-máx
Placebo-placebo n=64	26 44 $\pm$ 25 12-105	23 47 $\pm$ 39 12-195	10 46 $\pm$ 15 14-70	5 24 $\pm$ 8 12-34
Placebo-hierro n=70	31 46 $\pm$ 25 10-129	29 40 $\pm$ 23 11-118	9 56 $\pm$ 18 25-88	1 21 $\pm$ 0 21-21
Placebo-Deltaprim <sup>+</sup> n=82	34 39 $\pm$ 17 15-86	30 30 $\pm$ 11 9-55	7 37 $\pm$ 14 20-59	11 36 $\pm$ 28 4-109
Deltaprim-hierro n=80	57 41 $\pm$ 18 11-101	18 36 $\pm$ 16 10-70	5 32 $\pm$ 20 2-57	0

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

<sup>+</sup> $p < 0,05$ ; <sup>++</sup> $p < 0,01$ ; <sup>+++</sup> $p < 0,001$  frente al grupo control y ajustado por patología.



**Tabla XIX.** Transferrina: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

Transferrina (mg /dL)	<i>Control</i>	<i>Anemia</i>	<i>Anemia + malaria**</i>	<i>Anemia + ferropenia**</i>
	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>
	mín-máx	mín-máx	mín-máx	mín-máx
Placebo-placebo n=64	26 342 ± 59 212-481	23 343 ± 45 237-408	10 348 ± 65 248-470	5 373 ± 40 345-445
Placebo-hierro n=70	31 332 ± 36 267-393	29 327 ± 70 247-635	9 351 ± 60 273-435	1 407 ± 0 407-407
Placebo-Deltaprim n=82	34 340 ± 57 237-457	30 347 ± 44 238-447	7 397 ± 44 337-484	11 386.4 ± 46 330-489
Deltaprim-hierro <sup>+++</sup> n=80	57 309 ± 41 209-391	18 311 ± 40 244-386	5 341 ± 37 298-380	0

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

+p<0,05; ++p<0,01; +++p<0,001 frente al grupo control y ajustado por patología.

**Tabla XX.** Ferritina: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

Ferritina (ng /mL)	<i>Control</i>	<i>Anemia</i>	<i>Anemia + malaria***</i>	<i>Anemia + ferropenia***</i>
	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>
	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>
Placebo-placebo n=64	26 33 ± 28 9-106	23 47 ± 46 9-156	10 58 ± 52 17-169	5 5 ± 1 4-6
Placebo-hierro <sup>++</sup> n=70	31 60 ± 49 12-197	29 76 ± 81 9-300	9 138 ± 93 16-297	1 4 ± 0 4-4
Placebo-Deltaprim n=82	34 40 ± 36 9-173	30 27 ± 19 9-79	7 92 ± 82 23-234	11 17 ± 34 4-61
Deltaprim-hierro <sup>++</sup> n=80	57 59 ± 56 9-293	18 74 ± 91 13-384	5 176 ± 99 28-305	0

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

+p<0,05; ++p<0,01; +++p<0,001 frente al grupo control y ajustado por patología.

**Tabla XXI.** Hematócrito: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

Hematócrito (%)	Control	Anemia <sup>***</sup>	Anemia + malaria <sup>***</sup>	Anemia + ferropenia <sup>***</sup>
	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
	<i>x</i> ± de	<i>x</i> ± de	<i>x</i> ± de	<i>x</i> ± de
	mín-máx	mín-máx	mín-máx	mín-máx
Placebo-placebo n=64	26 35,5 ± 2,5 33,0-45,9	23 29,3 ± 3,6 20,0-32,4	10 27,4 ± 3,2 21,9-32,0	5 30,1 ± 2,0 28,1-32,8
Placebo-hierro n=70	31 37,1 ± 4,6 33,2-49,7	29 30,8 ± 2,3 23,0-32,9	9 27,5 ± 4,5 19,8-32,6	1 32,1 ± 0 32,1-32,1
Placebo-Deltaprim n=82	34 36,9 ± 4,5 33,1-55,3	30 30,0 ± 1,9 26,4-32,9	7 27,0 ± 3,8 21,6-32,6	11 29,7 ± 1,9 26,9-32,2
Deltaprim-hierro <sup>+++</sup> n=80	57 38,0 ± 5,0 33,2-59,5	18 30,0 ± 2,4 24,4-32,8	5 26,3 ± 5,1 20,4-32,7	0

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

+p<0,05; ++p<0,01; +++p<0,001 frente al grupo control y ajustado por patología.

**Tabla XXII.** Hemoglobina: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

<i>Hemoglobina</i> (g/dL)	<i>Control</i>	<i>Anemia***</i>	<i>Anemia + malaria***</i>	<i>Anemia + ferropenia***</i>
	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>
	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>
Placebo-placebo n=64	26 9,8 ± 1,1 7,3-12,0	23 8,4 ± 1,4 5,5-9,8	10 8,0 ± 1,2 6,2-10,1	5 8,3 ± 1,3 5,9-9,1
Placebo-hierro <sup>+</sup> n=70	31 10,8 ± 1,1 8,5-12,7	29 9,0 ± 1,2 5,0-10,5	9 8,0 ± 1,6 5,7-10,6	1 9,2 ± 0 9,2-9,2
Placebo-Deltaprim n=82	34 10,4 ± 1,5 7,4-16,4	30 8,7 ± 1,0 6,0-10,3	7 7,9 ± 1,3 6,4-10,1	11 8,4 ± 0,8 7,0-9,6
Deltaprim-hierro <sup>+</sup> n=80	57 10,8 ± 1,1 7,7-13,3	18 8,8 ± 1,2 5,7-10,4	5 7,7 ± 1,8 5,6-10,1	0

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

<sup>+</sup>p<0,05; <sup>++</sup>p<0,01; <sup>+++</sup>p<0,001 frente al grupo control y ajustado por patología.

**Tabla XXIII.** VCM: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

VCM (fL)	<i>Control</i>	<i>Anemia**</i>	<i>Anemia + malaria</i>	<i>Anemia + ferropenia**</i>
	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>
	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>
Placebo-placebo n=64	26 70 ± 6 59-81	23 71 ± 7 59-82	10 68 ± 5 59-75	5 67 ± 13 58-91
Placebo-hierro n=70	31 74 ± 7 62-86	29 69 ± 7 57-82	9 76 ± 4 71-82	1 72 ± 0 72-72
Placebo-Deltaprim <sup>+</sup> n=82	34 70 ± 6 54-83	30 66 ± 6 54-74	7 66 ± 8 55-76	11 64 ± 6 53-72
Deltaprim-hierro <sup>+</sup> n=80	57 74 ± 6 61-93	18 70 ± 6 54-78	5 78 ± 5 70-82	0

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

<sup>+</sup>p<0,05; <sup>++</sup>p<0,01; <sup>+++</sup>p<0,001 frente al grupo control y ajustado por patología.

**Tabla XXIV.** Número de hematíes: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

<i>Nº hematíes</i> ( $\times 10^{12}/L$ )	<i>Control</i>	<i>Anemia<sup>***</sup></i>	<i>Anemia +</i> <i>malaria<sup>***</sup></i>	<i>Anemia +</i> <i>ferropenia<sup>**</sup></i>
	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>	<i>x ± de</i>
	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>	<i>mín-máx</i>
Placebo-placebo n=64	26 5,11 ± 0,53 4,31-6,37	23 4,26 ± 0,50 3,52-5,13	10 4,10 ± 0,69 3,10-5,32	5 4,63 ± 0,86 3,12-5,19
Placebo-hierro n=70	31 5,05 ± 0,58 4,21-6,54	29 4,51 ± 0,47 3,76-5,67	9 3,64 ± 0,73 2,52-4,50	1 4,46 ± 0 4,46-4,46
Placebo-Deltaprim n=82	34 5,29 ± 0,74 4,00-7,13	30 4,57 ± 0,56 3,77-6,10	7 4,08 ± 0,23 3,76-4,34	11 4,75 ± 0,51 3,72-5,63
Deltaprim-hierro n=80	57 5,23 ± 0,78 4,21-8,08	18 4,33 ± 0,65 3,36-5,99	5 3,37 ± 0,50 2,90-4,06	0

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  frente al grupo control y ajustado por patología.

**Tabla XXV.** Número de leucocitos: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

<i>Nº leucocitos</i> ( $\times 10^9/L$ )	<i>Control</i>	<i>Anemia</i>	<i>Anemia + malaria</i>	<i>Anemia + ferropenia</i>
	<i>n</i> <i>x ± de</i> <i>mín-máx</i>	<i>n</i> <i>x ± de</i> <i>mín-máx</i>	<i>n</i> <i>x ± de</i> <i>mín-máx</i>	<i>n</i> <i>x ± de</i> <i>mín-máx</i>
Placebo-placebo n=64	26 11,3 ± 3,6 5,1-16,0	23 11,6 ± 5,6 3,5-26,7	10 11,7 ± 4,1 5,9-20,2	5 14,2 ± 5,5 6,9-19,3
Placebo-hierro n=70	31 12,4 ± 3,9 6,3-19,6	29 10,2 ± 2,7 6,0-18,2	9 12,8 ± 5,2 6,2-22,2	1 9,3 ± 0 9,3-9,3
Placebo-Deltaprim n=82	34 13,3 ± 5,0 6,2-24,3	30 11,7 ± 4,3 4,5-22,4	7 14,5 ± 5,8 7,0-24,6	11 12,9 ± 7,4 5,7-30,0
Deltaprim-hierro n=80	57 12,0 ± 3,1 6,0-18,4	18 11,7 ± 4,2 5,4-21,7	5 8,8 ± 3,2 5,1-11,9	0

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

\* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$  frente al grupo control y ajustado por patología.

**Tabla XXVI.** Proteína C reactiva: efecto del tipo de anemia y de la suplementación.

PCR (mg/dL)	<i>Control</i>	<i>Anemia**</i>	<i>Anemia + malaria***</i>	<i>Anemia + ferropenia</i>
	<i>n</i> <i>x ± de</i> <i>mín-máx</i>	<i>n</i> <i>x ± de</i> <i>mín-máx</i>	<i>n</i> <i>x ± de</i> <i>mín-máx</i>	<i>n</i> <i>x ± de</i> <i>mín-máx</i>
Placebo-placebo n=64	26 0,5 ± 0,2 0,2-0,7	23 1,4 ± 2,3 0,2-9,3	10 1,1 ± 1,4 0,2-5,0	5 0,7 ± 0,2 0,4-0,8
Placebo-hierro n=70	31 0,5 ± 0,2 0,2-0,7	29 0,9 ± 0,7 0,2-2,9	9 3,3 ± 3,8 0,2-10,6	1 0,7 ± 0 0,7-0,7
Placebo-Deltaprim n=82	34 0,6 ± 0,1 0,2-0,7	30 1,5 ± 1,1 0,2-3,9	7 6,7 ± 6,0 0,7-15,9	11 1,2 ± 1,3 0,2-4,8
Deltaprim-hierro n=80	57 0,5 ± 0,2 0,2-0,7	18 0,9 ± 0,7 0,2-3,3	5 3,4 ± 1,8 1,5-5,7	0

\*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001 frente al grupo control y ajustado por grupo de tratamiento.

+p<0,05; ++p<0,01; +++p<0,001 frente al grupo control y ajustado por patología.



**Tabla XXVII.** Modelos de regresión múltiple para valorar el efecto del tipo de anemia sobre las magnitudes estudiadas a la edad de ocho meses.

Magnitud	R <sup>2</sup>	Anemia	Anemia + Malaria	Anemia+Ferropenia	Constante
		Coeficiente(IC95%)	Coeficiente(IC95%)	Coeficiente(IC95%)	Coeficiente(IC95%)
		EE	EE	EE	EE
		p	p	P	p
sTRf	0,27	1,1 (0,5 a 1,7) 0,3 <b>0,000</b>	3,9(3,0 a 4,8) 0,4 <b>0,000</b>	1,9(0,7 a 3,1) 0,6 <b>0,002</b>	4,5(3,8 a 5,1) 0,3 0,000
Hierro	0,05	-4,9(-10,7 a 0,9) 2,9 0,096	1,2(-7,5 a 9,9) 4,4 0,782	-9,2(-20,6 a 2,3) 5,8 <b>0,000</b>	46,0(39,7 a 52,3) 3,2 0,000
Transferrina	0,15	1,7(-11,5 a 15,0) 6,7 0,794	26,7(6,9 a 46,5) 10,1 <b>0,008</b>	41,6(15,4 a 67,8) 13,3 <b>0,002</b>	338 (323 a 352) 7,3 0,000
Ferritina	0,18	8,2(-6,5 a 22,9) 7,5 0,275	62,9(40,6 a 85,1) 11,3 <b>0,000</b>	-19,6 (-49,1 a 9,9) 15,0 <b>0,000</b>	28,5 (12,4 a 44,5) 8,1 0,001
Hematócrito	0,53	-6,9(-7,8 a -5,9) 0,5 <b>0,000</b>	-9,7 (-11,2 a -8,2) 0,7 <b>0,000</b>	-6,7 (-8,6 a -4,7) 1,0 <b>0,000</b>	36,1(35,0 a 37,2) 0,5 0,000
Hb	0,44	-1,7(-2,0 a -1,4) 0,2 <b>0,000</b>	-2,5 (-3,0 a -2,0) 0,2 <b>0,000</b>	-1,9 (-2,5 a -1,3) 0,3 <b>0,000</b>	10,0(9,7 a 10,4) 0,2 0,000
VCM	0,15	-3,0(-4,8 a -1,2) 0,9 <b>0,001</b>	-0,4(-3,0 a 2,2) 1,3 0,769	-4,9(-8,5 a -1,4) 1,8 <b>0,006</b>	71,5(69,5 a 73,5) 1,0 0,000
Nº hematíes	0,36	-0,7(-0,9 a -0,6) 0,1 <b>0,000</b>	-1,3(-1,6 a -1,1) 0,1 <b>0,000</b>	-0,5(-0,9 a -0,2) 0,2 <b>0,002</b>	5,1(4,9 a 5,3) 0,1 0,000
Nºleucocitos	0,03	-1,1(-2,3 a 0,1) 0,6 0,066	-0,1(-1,8 a 1,6) 0,9 0,914	0,3 (-2,0 a 2,7) 1,2 0,775	12,1(10,8 a 13,4) 0,7 0,000
PCR	0,17	2,1(1,5 a 2,7) 0,3 <b>0,001</b>	2,4 (1,7 a 3,1) 0,3 <b>0,000</b>	-0,2 (-1,1 a 0,7) 0,5 0,725	0,7 (0,2 a 1,2) 0,2 0,005

Respecto al grupo de niños control.

Ajustado por grupo de intervención.

**Tabla XXVIII.** Efecto del tipo de anemia sobre el metabolismo del hierro

<i>Magnitudes</i>	<i>Anemia sola</i>	<i>Anemia + malaria</i>	<i>Anemia + ferropenia</i>
sTRf	↑↑↑	↑↑↑	↑↑
Hierro	-	-	↓↓↓
Transferrina	-	↑↑	↑↑
Ferritina	-	↑↑↑	↓↓↓
Hematócrito	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
Hemoglobina	↓↓↓	↓↓↓	↓↓↓
VCM	↓↓	-	↓↓
Nº hematíes	↓↓↓	↓↓↓	↓↓
Nº leucocitos	-	-	-
Proteína C reactiva	↑↑	↑↑↑	-

↓ p<0,05; ↓↓ p<0,01; ↓↓↓ p<0,001; ↑ p<0,05; ↑↑ p<0,01; ↑↑↑ p<0,001;

- p=n.s.

**Tabla XXIX.** Modelos de regresión múltiple para valorar el efecto de la suplementación con hierro y/o Deltaprim sobre las magnitudes estudiadas a la edad de ocho meses.

Magnitud	$r^2$	Placebo-Hierro	Placebo-Deltaprim	Deltaprim-Hierro	Constante
		Coeficiente(IC95%) EE p	Coeficiente(IC95%) EE P	Coeficiente(IC95%) EE p	Coeficiente(IC95%) EE p
sTRf	0,07	-1,6 (-2,5 a -0,8) 0,4 <b>0,000</b>	-1,1(-1,9 a -0,3) 0,4 <b>0,010</b>	-1,9(-2,7 a -1,1) 0,4 <b>0,000</b>	5,8 (5,2 a 6,4) 0,3 0,000
Hierro	0,02	0,9 (-6,5 a 8,2) 3,7 0,817	-7,4 (-14,4 a -0,4) 3,6 <b>0,039</b>	-1,6 (-8,6 a 5,3) 3,5 0,649	42,8 (37,6 a 48,0) 2,6 0,000
Transferrina	0,09	-12,9 (-29,9 a 4,1) 8,6 0,138	8,0 (-8,1 a 24,2) 8,2 0,327	-31,9 (-47,9a-15,9) 8,1 <b>0,000</b>	348 (336 a 360) 6,1 0,000
Ferritina	0,08	31,5 (11,8 a 51,1) 10,0 <b>0,002</b>	-6,7 (-25,6 a 12,1) 9,6 0,480	30,3 (11,6 a 49,1) 9,5 <b>0,002</b>	41,6 (27,5 a 55,6) 7,1 0,000
Hematócrito	0,06	1,4 (-0,3 a 3,1) 0,9 0,098	0,6 (-1,0 a 2,3) 0,8 0,438	3,5 (1,9 a 5,1) 0,8 <b>0,000</b>	32,0 (30,8 a 33,2) 0,6 0,000
Hb	0,08	0,7(0,2 a 1,2) 0,2 <b>0,005</b>	0,3 (-0,2 a 0,8) 0,2 0,210	1,1 (0,7 a 1,6) 0,2 <b>0,000</b>	9,0(8,6 a 9,3) 0,2 0,000
VCM	0,09	2,1 (-0,2 a 4,4) 1,2 0,070	-2,4(-4,6 a -0,2) 1,1 <b>0,034</b>	3,0 (0,8 a 5,3) 1,1 <b>0,008</b>	70,0 (68,4 a 71,7) 0,8 0,000
Nº hematíes	0,01	0,2 (-0,3 a 0,4) 0,2 0,929	0,2 (-0,1 a 0,6) 0,2 0,243	0,1 (-0,3 a 0,4) 0,2 0,725	4,7 (4,4 a 4,9) 0,1 0,000
Nºleucocitos	0,01	-0,3 (-1,8 a 1,2) 0,8 0,661	0,7 (-0,7 a 2,2) 0,7 0,324	-0,5 (-2,0 a 0,9) 0,7 0,463	11,9 (10,8 a 13,0) 0,5 0,000
PCR	0,01	-0,1 (-0,7 a 0,5) 0,3 0,751	0,4 (-0,1 a 1,0) 0,3 0,141	0,1 (-0,5 a 0,7) 0,3 0,727	1,2 (0,8 a 1,6) 0,2 0,000

Respecto al grupo de niños control.

Ajustado por patología.

**Tabla XXX.** Efecto de la suplementación sobre el metabolismo del hierro

<i>Magnitudes</i>	<i>Hierro</i>	<i>Deltaprim</i>	<i>Hierro + Deltaprim</i>
sTRf	↓↓↓	↓	↓↓↓
Hierro	-	↓	-
Transferrina	-	-	↓↓↓
Ferritina	↑↑	-	↑↑
Hematócrito	-	-	↑↑↑
Hemoglobina	↑↑	-	↑↑↑
VCM	-	↓	↑↑
Nº hematíes	-	-	-
Nº leucocitos	-	-	-
Proteína C reactiva	-	-	-

↓ p<0,05; ↓↓ p<0,01; ↓↓↓ p<0,001; ↑ p<0,05; ↑↑ p<0,01; ↑↑↑ p<0,001;

- p=n.s.

## **1. ANÁLISIS DE LA PREVALENCIA DE LAS PATOLOGÍAS ESTUDIADAS**

Es conocido que entre las prioridades actuales de la Salud Pública Mundial se encuentran la búsqueda y la aplicación de medidas para el control de la anemia y de la malaria, debido a la elevada prevalencia de ambas patologías. Gracias a los esfuerzos realizados se ha conseguido una notable disminución, en las últimas décadas, de la prevalencia de anemia ferropénica, sobre todo, en los países más desarrollados (Hercberg, 2001). Aún así, este problema todavía afecta a más de 500 millones de personas en todo el mundo (Cook, 1994), siendo los niños uno de los grupos de población donde es más frecuente (McElroy, 2001). En la población infantil coexisten, con frecuencia, ferropenia y alteraciones de tipo inflamatorio e infeccioso, que también son capaces de producir anemia. Además, en áreas endémicas de malaria, la infección por plasmodios contribuye a aumentar el número de anemias. Otra característica de estas áreas es que, simultáneamente, coinciden otras circunstancias económicas y sociales que agravan el problema. En la actualidad, se calcula que el 40% de la población mundial vive en zonas donde existe el riesgo de contraer paludismo, siendo esta enfermedad la principal causa de mortalidad infantil en el África subsahariana.

El primer objetivo de esta tesis fue analizar la prevalencia de fiebre, inflamación, malaria, anemia, ferropenia y microcitosis, y su evolución con la edad, en una muestra de lactantes que viven en un área endémica de malaria en una población rural de Tanzania.

### **1.1. Prevalencia de fiebre**

La fiebre es un síntoma inespecífico y muy frecuente en los niños que tiene especial importancia en las áreas endémicas de malaria. Con frecuencia, la fiebre y la anemia son las primeras manifestaciones clínicas de la enfermedad. Así, se acepta que en niños pequeños el antecedente de fiebre

reciente tiene una elevada especificidad hacia la infección por malaria (Slutsker, 1996). Por esta razón, son numerosos los partidarios de que a los niños con fiebre que viven en estas áreas, en aquellos casos en que no se dispone del apoyo de un laboratorio para confirmar el diagnóstico, se opte por administrarles fármacos antimaláricos (Tarimo, 2001; Chandramohan, 2002).

En nuestro estudio, aproximadamente el 3% de los niños presentaban fiebre sin mostrar diferencias con la edad. Esta prevalencia es similar a la encontrada en otros estudios en lactantes en comunidades con malaria endémica. Por ejemplo, en un área endémica de malaria en Ghana presentaban fiebre el 3,6% de niños de cero a doce meses de edad (Wagner, 1998). Aunque, contrariamente a nuestros resultados, en ese estudio, sí encuentran variaciones en la prevalencia de fiebre con la edad. Así, los lactantes hasta los tres meses de edad tenían una prevalencia de fiebre de 1,8%, significativamente menor a la que encontraron en los lactantes de tres a doce meses de edad que oscilaba entre el 4,5% y el 4,6% (Wagner, 1998). Otros estudios en niños pequeños, en áreas endémicas de malarías, muestran prevalencias de fiebre cercanas al 6% (McGuire, 1996; Verhoef, 2001). La fiebre es un síntoma muy inespecífico y en el que pueden influir numerosos factores, entre los que destacan la edad y la estación del año. Se relaciona la estación lluviosa con mayor prevalencia de fiebre (Bloland, 1999b). Cuando se estudian poblaciones de niños se observa que la prevalencia de fiebre disminuye con la edad, siendo inferior en niños mayores. Así, un estudio muestra una prevalencia de fiebre del 32% en los lactantes de seis a once meses mientras que la prevalencia en los niños de diez a catorce años se sitúa en el 5% (Bloland, 1999b).

## **2.2. Prevalencia de inflamación**

Otro proceso muy frecuente es la inflamación puesto que se trata de la primera respuesta del cuerpo humano frente a cualquier agresión. La etiología

de la inflamación es muy variada, siendo la malaria una de las enfermedades a las que clásicamente se ha asociado (Naik, 1984; Chagnon, 1992; Hurt, 1994a).

En la muestra de niños estudiada la prevalencia de inflamación aumenta significativamente con la edad, llegando a afectar a más de un tercio de niños (40,7%) a la edad de doce meses. Esta prevalencia es elevada y algo superior a la descrita en otros estudios en muestras de niños sanos que viven en países afectados por el problema del paludismo (McGuire, 1996; Dewey, 1997b; Rosales, 2000). Un factor que puede influir es que hemos definido la inflamación como el hallazgo de un valor de proteína C reactiva mayor de 0,8 mg/dL. Varios estudios que coinciden en utilizar esta misma definición, en niños pequeños de áreas endémicas de malaria, encuentran resultados similares con una prevalencia de inflamación cercana al 40% (McGuire, 1996; Verhoef, 2001). Sin embargo, otros estudios han utilizado un punto de corte más elevado, y definen inflamación como concentraciones de proteína C reactiva mayores de 1,0 mg/dL (Dewey, 1997b; Rosales, 2000; Asobayire, 2001; Olivares, 2001). Uno de estos estudios fue realizado en niños, de doce a veinticuatro meses, de Guatemala, país en el que la malaria representa un importante problema de salud pública. En este caso, la prevalencia de inflamación fue del 24% y no variaba con la edad (Dewey, 1997b). En otro estudio realizado en niños mayores, con una media de edad de treintaiocho meses, realizado también en un área endémica de malaria, en Nueva Guinea, se muestra una prevalencia de inflamación del 34% (Rosales, 2000). El estudio con mayor prevalencia es el realizado en Costa de Marfil, en el que el 46% de los niños preescolares presentaban inflamación (Asobayire, 2001).

### **1.3. Prevalencia de malaria**

Con respecto a la malaria, *Plasmodium falciparum* es, probablemente, el más importante de los patógenos que afectan a los niños del África subsahariana. La malaria es una de las principales causas de mortalidad y

---

morbilidad en África, y los niños son uno de los grupos de población más afectados (Renaudin, 1994; Newton, 1998). Son diversos los factores que influyen sobre el nivel de transmisión de la malaria y sobre su presentación clínica (Beadle, 1995; Deloron, 1999; Wolff, 2001). Hay diferencias en los niveles de transmisión de malaria entre áreas urbanas y rurales, por edad y por época del año (Baird, 1991; Modiano, 1998). En general, en las zonas rurales las condiciones ambientales favorecen la diseminación de la enfermedad, mientras que en áreas urbanas la malaria acostumbra a tener una prevalencia inferior. También influye la estación del año, siendo la prevalencia de malaria mayor durante la estación lluviosa (McGuinness, 1998; Wagner, 1998; Vounatsou, 2000; Saute, 2002). En áreas endémicas de malaria la prevalencia de esta enfermedad es muy elevada en niños pequeños (Slutsker, 1996; Hautvast, 2000a). En Tanzania, la malaria es uno de los principales problemas de salud pública (Mwaluko, 1991; National Malaria Control Programme, 1997). En el área concreta donde viven los niños que han participado en este estudio, el Valle del Kilombero, la transmisión de la enfermedad es perenne e intensa. Se ha observado que la malaria junto a la anemia grave son los principales diagnósticos en los niños que acuden al Hospital de Ifakara (Font Sierra, 2002). Además, en Ifakara, la malaria clínica es una de las principales causas de ingreso hospitalario en niños y aproximadamente la mitad de todos los ingresos hospitalarios y las muertes se producen en niños menores de un año (Schellenberg, 1999). De los niños ingresados en el hospital, el 35% de los menores de 5 años y el 41% de los menores de un año presentan anemia moderada o grave (Menendez, 2001).

Es conocido que cualquier niño que crece en un área endémica de malaria es infectado, en algún momento de su infancia, por *Plasmodium falciparum*, aunque sólo una pequeña proporción de estos niños llega a sufrir complicaciones graves (Greenwood, 1991). En general, la prevalencia de la morbilidad por malaria es difícil de valorar, debido tanto a factores ambientales como clínicos. Los factores ambientales son responsables de la gran



variabilidad geográfica, observándose incluso grandes diferencias en las prevalencias de malaria en los niños que viven en comunidades separadas únicamente por muy pocos kilómetros (Snow, 1997). Otro factor ambiental destacable es la influencia de la estación del año sobre la intensidad de la transmisión de la enfermedad (McGuinness, 1998). Además, en lactantes, hay que tener en cuenta, incluso, la estación en que se produce su nacimiento, puesto que puede influir sobre la protección frente a la malaria. Se ha observado que los niños nacidos, en áreas endémicas de malaria, en la estación de elevada transmisión muestran una probabilidad menor de ser infectados durante las primeras semanas de vida que los niños nacidos en la estación de baja transmisión (Riley, 2000). En el diseño de este proyecto se han tenido en cuenta las variaciones estacionales, al durar el reclutamiento un año completo.

Entre las razones clínicas que dificultan la valoración de la malaria se encuentra el hecho de que las infecciones por plasmodios en lactantes menores de un año, en áreas endémicas, son con frecuencia transitorias, de corta duración, y se resuelven espontáneamente sin alcanzar densidades elevadas de parásito y sin causar enfermedad clínica (Wagner, 1998; Franks, 2001). La elevada prevalencia de infección por *Plasmodium falciparum* en el valle del río Kilombero, a diferencia de lo que sucede en otras áreas endémicas, parece deberse más a la elevada frecuencia de adquisición de infecciones que a la duración de las mismas (Smith, 1999b). Estudios realizados en lactantes que viven en Tanzania, en Idete, ciudad próxima a Ifakara, muestran que la media de la duración de la infección por plasmodios es corta. Concretamente, un estudio obtiene una media de veintitres días (Smith, 1999c) y el otro de sesentaicuatro días (Kitua, 1996). Además, otra dificultad es la naturaleza fluctuante, tanto de la fiebre como de la densidad de parásitos, en los pacientes con malaria. Las variaciones en la densidad de parásitos pueden ser muy grandes en un mismo individuo al analizar muestras extraídas en distintos días, e incluso, a distintas horas, en un mismo día (Delley, 2000).

---

También en lactantes infectados por *Plasmodium falciparum* que viven en Tanzania se han descrito alternancia en horas de densidades de parásitos, en sangre, elevadas y bajas (Farnert, 1997).

Hemos encontrado que la prevalencia de malaria varía con la edad, siendo menor en lactantes de dos meses, elevándose significativamente a la edad de cinco y ocho meses y volviendo a disminuir en los niños de doce meses. El hallazgo de una prevalencia menor en el grupo de niños de dos meses, y además, el que la mayoría de estos casos sean asintomáticos puede atribuirse a la protección que los lactantes que viven en áreas endémicas de malaria presentan frente al desarrollo de episodios de malaria clínica (Kitua, 1996; Slutsker, 1996; McGuinness, 1998; Riley, 2001). Aunque esta prevalencia de parásitos y su densidad aumentan rápidamente después de los dos o tres primeros meses de vida, indicando que a partir de esa edad disminuye la protección frente a la malaria (Achidi, 1996). Las causas de la aparente protección frente a la malaria en los lactantes de pocos meses todavía se están investigando. Una posible explicación se basa en el papel de los anticuerpos maternos (Rasheed, 1995). Otras explicaciones hacen referencia a la presencia de hemoglobina fetal, la inmadurez de los hematíes en estas edades o la ausencia de factores de crecimiento esenciales para el parásito en la sangre de los lactantes (Riley, 2001).

La mayor prevalencia de malaria en lactantes entre cinco y ocho meses de edad coincide con los resultados de otros estudios, realizados también en esta zona de Tanzania. Uno de ellos encuentra un pico de morbilidad por malaria a los seis meses de edad (Kitua, 1996) y otro en los niños menores de nueve meses (Vounatsou, 2000). Por otra parte, observamos que los niños de doce meses vuelven a mostrar una prevalencia menor de malaria, aproximadamente del 6%. Este resultado concuerda con el 4% de prevalencia de malaria encontrado a esa misma edad (un año), en un estudio realizado también en Ifakara (Schellenberg, 2001). Y también coincide con otro estudio

que encuentra una disminución de la prevalencia de la parasitemia por plasmodios a partir de los doce meses de edad (Bloland, 1999). Estos resultados difieren de los obtenidos por otros autores, en estudios realizados en otras áreas endémicas, que no detectan una disminución de la prevalencia a los doce meses. Es el caso, de lo observado en Ghana, donde el riesgo de malaria en los lactantes se incrementa con la edad desde las dieciocho semanas de vida hasta el año (Wagner, 1998).

Otros estudios, en lactantes en áreas endémicas de malaria, muestran prevalencias de malaria claramente mayores que las encontradas en los niños de Ifakara (Renaudin, 1994; Slutsker, 1996; Wagner, 1998; Bloland, 1999; Asobayire, 2001). Una explicación es que, es posible que, en Ifakara sean muy frecuentes las infecciones subclínicas asintomáticas y que, mayoritariamente, se resuelvan espontáneamente (Wagner, 1998). Además, existe la posibilidad de que en nuestros resultados la prevalencia de malaria esté infravalorada, a pesar de que se ha publicado que la sensibilidad y especificidad de la definición de malaria que hemos utilizado es del 88 y del 100%, respectivamente, durante el primer año de vida (Smith, 1994; Menendez, 1997). Dos problemas pueden haber contribuido a esta infravaloración de la enfermedad: la técnica microscópica utilizada para su diagnóstico y los criterios de exclusión seguidos en este estudio. Se ha demostrado que entre los lactantes que viven en áreas endémicas las infecciones asintomáticas subclínicas por plasmodios son frecuentes y la utilización del microscopio para su diagnóstico puede infraestimar la incidencia de la infección (Bottius, 1996; Wagner, 1998; Mockenhaupt, 2000). Aún así, otros estudios en niños preescolares en áreas endémicas de malaria llegan a detectar prevalencias del plasmodio elevadas utilizando únicamente la microscopia como técnica diagnóstica.

Aunque actualmente se dispone también de otras técnicas (Beadle, 1994; Black, 1994; Gascon, 1999; Lema, 1999; Tarimo, 2001), la visualización del plasmodio en el frotis de sangre mediante microscopio es el método clásico,

y más utilizado, para el diagnóstico de la malaria (Trape, 1985; Petersen, 1996). La microscopia precisa de personal bien entrenado, y aún así, las densidades del parásito pueden ser tan bajas que resulten indetectables. Desde que se dispone de métodos más sensibles para detectar el parásito, basados en reacción en cadena de la polimerasa (Snounou, 1993), se ha observado que existen numerosos casos de niños con parasitemia bajas y asintomáticas (Bottius, 1996; Wagner, 1998; Mockenhaupt, 1999c).

En cuanto a la infravaloración de la enfermedad debido a los criterios de exclusión utilizados, esta hipótesis se basa en que, en este estudio, los niños diagnosticados de anemia grave recibían tratamiento y, por tanto, tuvieron que ser excluidos. Por otros estudios realizados recientemente en Ifakara, se sabe que la malaria es el mayor contribuidor a la etiología de la anemia grave entre estos lactantes, siendo responsable de alrededor del 60% de todos los episodios (Menendez, 1997).

Otro aspecto, a tener en cuenta, es que este estudio se ha realizado en lactantes de la población general. Como es previsible, la prevalencia de malaria es mayor en estudios con lactantes seleccionados por acudir a consultar al hospital (Afolabi, 2001) o por tener historia previa de enfermedad (Salako, 2001).

#### **1.4. Prevalencia de anemia**

La anemia es una patología muy frecuente en lactantes y niños constituyendo una de las principales causas de su morbilidad y mortalidad en todo el mundo, pero especialmente en los países en vías de desarrollo. En áreas endémicas de malaria, la anemia afecta con frecuencia a este grupo poblacional que la adquiere muy pronto y constituye un factor de riesgo que incrementa la mortalidad (McGuire, 1996; Molineaux, 1997; Snow, 1997). Así, un estudio en niños ingresados en un hospital de Kenia, muestra prevalencias

alarmantes de anemia grave, más del 25% de los pacientes menores de 3 años tenían hemoglobinas inferiores a 5,0 g/dL (Lackritz, 1992). En Tanzania, al igual que en los países próximos de su alrededor, es una patología muy frecuente, que afecta a un tercio de la población (Kavishe, 1993). Los niños pequeños son, como sucede en otros países, uno de los grupos más afectados (Premji, 1995; Tatala, 1998), siendo la anemia grave una de las causas más frecuentes de ingreso hospitalario y de muerte (Kavishe, 1993). En concreto, los datos del Hospital de Ifakara muestran que la anemia grave (hematócrito inferior al 25%), la malaria y ambas patologías juntas representan el 20, 23 y 36% de todos los ingresos de lactantes y el 27, 13 y 23% de todas las muertes de lactantes, respectivamente (Menendez, 1997). Sin embargo, estas elevadas frecuencias de anemia grave no se observan al estudiar las causas de muerte de los niños no ingresados en hospitales, aunque es probable que se deba a que el diagnóstico de las autopsias realizadas, en estos casos, es menos fidedigno (Snow, 1992).

Hemos encontrado que la prevalencia de anemia es elevada durante el primer año de vida en los lactantes de Ifakara y está influenciada por la edad, con un máximo (60,6%) en los niños de ocho meses de edad. Estos datos coinciden con los obtenidos en otros estudios en áreas endémicas de malaria, como el realizado en Kenia, donde detectan la mayor prevalencia de esta patología (superior al 80%), en el grupo de lactantes de entre seis y once meses (Bloland, 1999). Y el estudio realizado en lactantes de seis a nueve meses en Zambia que describe prevalencias de anemia del 96% (Hautvast, 2000a). Nuestra menor prevalencia (60%) probablemente se debe a su infravaloración, ya que aquellos niños que presentaron en algún momento anemia grave, recibieron tratamiento con hierro y cloroquina, y por lo tanto, tuvieron que ser excluidos del estudio. Concretamente, de los 207 niños del grupo placebo desarrollaron anemia grave, con hematócrito inferior a 25%, 81 niños, o sea, que el 39,1% de los niños fueron excluidos del estudio por este motivo. Si tuvieramos en cuenta esta cifra obtendríamos prevalencias similares

a las anteriormente descritas. También otro estudio, en Tanzania, en el distrito Lindi, encuentra que los niños pequeños son el grupo con mayor prevalencia de anemia. Concretamente, los menores de dos años de edad presentaban anemia en más del 90% de los casos y los menores de un año tenían anemia grave en más del 50% de los casos (Tatala, 1998). En ese estudio, al igual que en el nuestro no se encontraron diferencias debidas al sexo, con respecto a la prevalencia de anemia.

Diversos estudios realizados en niños pequeños, muestran que la edad es un factor relevante sobre la prevalencia de anemia. En estudios recientes se observa que la prevalencia es mayor en niños de uno y dos años, disminuyendo significativamente a las edades de tres y cuatro años (Adams, 1998; Verhoef, 2001). No se conoce con exactitud la explicación, pero parece que un número importante de las anemias de los lactantes se deben a una etiología reversible, que podría estar en relación con correcciones de la ferropenia (Arija Val, 1990) o con el desarrollo de protección inmunológica frente a la malaria. En nuestros resultados, coincidiendo con otros estudios, se observa ya a la edad de doce meses una disminución de la prevalencia de anemia (Kitua, 1997).

Una dificultad para comparar prevalencia de anemia es la gran variabilidad en su definición (Cook, 1989; Hallberg, 1993; Cohen, 1999a). Las diferencias se deben, sobre todo, a los distintos criterios a la hora de definir lo patológico, aunque también, en menor medida, podría influir la variedad de métodos de análisis (Willows, 2000). En nuestro estudio se ha optado por definir anemia como hematócrito inferior al 33%, siguiendo la recomendación de la OMS (DeMaeyer, 1989). El valor del hematócrito del 33% se corresponde, aproximadamente, a una hemoglobina de 11,0 g/dL que es una definición utilizada en numerosos estudios (Oski, 1983; Abellan Ripoll, 1992; Muñoz Pérez, 1995; Pisacane, 1995; Stoltzfus, 1997b; Adams, 1998; Tatala, 1998; Olivares, 2001). Sin embargo, no es infrecuente encontrar estudios que utilizan

puntos de corte inferiores: así, algunos estudios definen la anemia en lactantes como hemoglobina inferior a 10,0 g/dL (Emond, 1996; Sherriff, 1999). Otros utilizan como punto de corte una hemoglobina menor de 10,5 g/dL (Makrides, 1998) o un hematócrito menor del 30% (Cot, 1998).

Los factores que influyen en la prevalencia de anemia y de ferropenia son múltiples. La variabilidad en la prevalencia de anemia es grande entre distintos países, siendo el grado de desarrollo del país uno de los factores fundamentales que la determinan. En los países en desarrollo, por las circunstancias desfavorables que influyen, la prevalencia de anemia observada es mayor que la de los países desarrollados (Mekki, 1989; Salas, 1990; Yip, 1996; Zlotkin, 1996; Arija Val, 1997; Adams, 1998; Aranceta, 1998). Se observan diferencias entre distintos grupos sociales, incluso dentro de un mismo país (Duggan, 1991; Frith-Terhune, 2000). Los hábitos alimentarios son otro factor importante, así como el nivel socioeconómico y educativo. En lactantes se ha demostrado la influencia del nivel de estudios de la madre (Sherriff, 1999). Además, según las áreas puede adquirir importancia algunos factores específicos. Por ejemplo, en el trópico, entre las causas de anemia se encuentra la presencia de parásitos intestinales, sobre todo en las zonas de bajo nivel socioeconómico.

En Tanzania, la pobreza en hierro de la dieta, coexiste con otras causas de anemia, entre las que destaca la elevada prevalencia de diversas enfermedades que potencian la ferropenia, como la anquilostomiasis (UNICEF, 1990; Stoltzfus, 1997b; Tatala, 1998). Así, un estudio, realizado en el distrito Lindi, que muestra como en esa zona, la anemia es el resultado del sinergismo de varias causas, siendo la ferropenia la principal de ellas, superando a la malaria (Tatala, 1998). En ese mismo estudio, las prevalencias de anemia en la población infantil son muy elevadas. Concretamente, entre los niños tanzanos preescolares de uno a cinco años, el 83,9% presentan anemia; 67,8% ferropenia y 59,7% anemia por deficiencia de hierro (Tatala, 1998). Otros

estudios en lactantes menores de un año, en otras áreas endémicas de malaria, también encuentran prevalencias de ferropenia elevadas (Renaudin, 1994; Asobayire, 2001).

La investigación sobre posibles estrategias para disminuir la prevalencia de anemia en estos niños se dirige hacia las principales etiologías, entre las que destacan: la deficiencia de hierro de origen nutricional, las infecciones, la malaria y la inflamación. En áreas endémicas de malaria, gran parte de las esperanzas para afrontar el problema de la anemia están depositadas en las estrategias de actuación para evitar la infección por *Plasmodium falciparum* durante el embarazo y los primeros meses de vida (Reed, 1994).

### **1.5. Prevalencia de ferropenia**

Se calcula que hay en el mundo aproximadamente unos 1.000 millones de personas con deficiencia de hierro (DeMeyer, 1985). Al igual que en el caso de las anemias, el estado de desarrollo del país tiene una gran influencia sobre la prevalencia de ferropenia en la población, observándose grandes diferencias entre los países ricos y pobres (Hercberg, 1998; Makrides, 1998; Virella, 1998). Países como Estados Unidos tienen prevalencias relativamente bajas (Cook, 1986; Benjamín, 1991), contrastando con las elevadas prevalencias de los países en desarrollo, en los que coinciden diversos factores que favorecen la ferropenia. Incluso, dentro de un mismo país, se observan diferencias relacionadas con las costumbres alimentarias y con el nivel socioeconómico y/o educativo (Sargent, 1996; Lawson, 1998). Los lactantes son uno de los grupos más afectados por la ferropenia debido, en parte, a aspectos fisiológicos en el metabolismo del hierro (Arija, 1990). La tendencia a encontrar mayor prevalencia de anemia en los niños más pequeños sugieren un desequilibrio entre el hierro ingerido y los requerimientos debido al elevado índice de crecimiento (Dallman, 1980). Al no cubrirse estas necesidades elevadas de hierro, se agotan los depósitos y aparece primero la deficiencia y después la



anemia. Así pues, la mayor prevalencia de ferropenia en niños se observa en lactantes debido a que el incremento de hierro contenido en la hemoglobina por unidad de peso corporal es mayor en este período de la vida. Además, se precisa, por estar en crecimiento, hierro para la mioglobina a medida que se desarrolla la musculatura.

Hemos encontrado que la prevalencia de ferropenia aumenta significativamente con la edad, llegando a afectar a más de un tercio de los lactantes (37,3%) a los doce meses y observándose, también, que la prevalencia de anemia es considerablemente mayor que la de ferropenia. Una explicación, de este hallazgo, es que aunque la ferropenia es muy frecuente, es únicamente uno de las múltiples etiologías de la anemia. Otra explicación es que, probablemente, en áreas donde los procesos infecciosos e inflamatorios tienen una elevada prevalencia la hemoglobina, por sí sola, no es un buen indicador del estado del metabolismo del hierro. Resultados similares a los obtenidos en esta tesis se han encontrado en otros estudios realizados en áreas endémicas de malaria (Asobayire, 2001; Verhoef, 2001). Hay que tener en cuenta que en estas áreas con malaria puede resultar difícil detectar la ferropenia, debido a su coexistencia con infección o inflamación y su repercusión sobre la concentración de ferritina.

La prevalencia de ferropenia y anemia es muy elevada en Tanzania (Kimati, 1986; Redding-Lallinger, 1994). Un estudio muestra prevalencias de anemia y ferropenia en niños tanzanos mayores incluso que las encontradas en nuestro trabajo (Tatala, 1998). No hay que olvidar que los resultados, aquí presentados, se han obtenido tras excluir los niños con anemia grave. Entre los factores que influyen en el desarrollo de la ferropenia juega un papel fundamental la composición de la dieta (Boultry, 1996; Mira, 1996; Ziegler, 1999). En Tanzania, tanto la composición de la dieta como los hábitos dietéticos, de niños y de adultos favorecen que se produzca ferropenia y anemia nutricional, ya que la población consume principalmente vegetales y

cereales. Como es sabido, los cereales tienen un elevado contenido de ácido fítico que inhibe la absorción de hierro. Por otra parte, debido a la pobreza, es muy baja la ingesta de alimentos como la carne, las aves de corral o el pescado, que mejoran la absorción de hierro (Tatala, 1998).

Entre las dificultades para la comparación de las prevalencias de deficiencia de hierro, entre los diferentes estudios, se encuentra la variabilidad de criterios utilizados para definir la ferropenia. La deficiencia de hierro, se trata de un proceso complejo que consta de varios estadios. En primer lugar se produce una deplección del hierro corporal que puede detectarse por la disminución de ferritina sérica, luego se afecta la eritropoyesis y finalmente se produce la anemia ferropénica (Oski, 1983). Así el marcador más precoz de ferropenia, en estadio inicial, es la ferritina, y es su determinación el método clásicamente utilizado para detectar esta deficiencia. No se dispone de un punto de corte, universalmente aceptado, que pueda utilizarse en todas las circunstancias para definir la ferropenia. Se han realizado numerosos estudios comparando la presencia o ausencia de hierro en las extensiones de la médula ósea con diversos puntos de corte de los valores de la ferritina sérica (Hallberg, 1993). Idealmente, los puntos exactos de corte deberían ajustarse teniendo en cuenta el método de laboratorio utilizado y las características de la población estudiada (Leggett, 1990). Aún así, la mayoría de estudios utilizan un punto de corte bibliográfico. En este trabajo, se ha definido la ferropenia como una concentración de ferritina inferior a 12 ng/mL en niños entre dos y cinco meses de edad o ferritina inferior a 10 ng/mL en niños entre ocho y doce meses de edad, o bien como una concentración de hierro plasmático inferior a 11  $\mu$ g/dL y de transferrina superior a 347 mg/dL para todas las edades (Meites, 1989). En la bibliografía se observa una considerable variación en la definición de ferropenia, con valores de ferritina que oscilan entre 7 ng/mL (Siimes, 1974; Caballo Roig, 1993; Muñoz Pérez, 1995) y 30 ng/mL (Thompson, 1988; Asobayire, 2001).

Nuestra definición concuerda con la utilizada para definir deficiencia de hierro en niños por numerosos autores (Lipschitz, 1974; Taylor, 1993; Pisacane, 1995; Makrides, 1998). Otro valor frecuentemente utilizado es el de ferritina inferior a 12 ng/mL (WHO, 1972; Cook, 1974; Dallman, 1980; Cook, 1989; Dewey, 1997a). Con menor frecuencia se utilizan otros puntos de corte como ferritina inferior a 15 ng/mL (Redondo Granado, 1994) o ferritina sérica inferior 18 ng/mL (Stoltzfus, 1997b).

Así, dependiendo del punto de corte utilizado en la determinación de ferritina para definir la ferropenia o en la determinación de hemoglobina para definir la anemia ferropénica la prevalencia de estas patologías oscila enormemente incluso en un mismo estudio (Muñoz Pérez, 1995; Makrides, 1998). En nuestro trabajo las prevalencias de anemia y ferropenia son considerables, a pesar de que no lo potencian los puntos de corte utilizados si se comparan con los que emplean otros autores.

Debido a que los valores normales de ferritina también se modifican con la edad del lactante, hay autores que proponen utilizar diferentes definiciones de ferropenia según la edad del niño (Sherriff, 1999).

Hemos observado que la prevalencia de ferropenia en lactantes tiende a aumentar con la edad, lo que coincide con los resultados de otros estudios, realizados en países desarrollados (Olazábal Malo de Molina, 1994; Sherriff, 1999). Este hallazgo parece lógico conociendo la disponibilidad y las necesidades de hierro que caracterizan el primer año de vida.

En general, se acepta que los niños nacidos a término son capaces de mantener un adecuado estado del hierro hasta los seis meses de edad, contribuyendo a ello la elevada biodisponibilidad del hierro contenido en la leche materna. Después de los seis meses es necesario un aporte adicional de hierro para prevenir la ferropenia. La deficiencia de hierro no es infrecuente en

los lactantes a partir de los seis meses de edad, en todo el mundo. Sin embargo, sobre la prevalencia de anemia ferropénica influye notablemente el grado de desarrollo del país.

Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en otra área endémica de malaria, en Kenia, en niños de cero a tres años, donde observan también que la prevalencia de ferropenia aumenta con la edad llegando al valor máximo, mayor al 60%, en los niños de entre uno y dos años. A partir de los dos años de edad, aunque se mantiene elevada lo hace con cifras inferiores a las citadas (Verhoef, 2001).

Se ha recomendado que dada la elevada prevalencia de anemia y ferropenia en estos niños se precisan medidas dirigidas a combatir la anemia y a mejorar la ingesta de hierro y a proteger frente a malaria. Entre estas medidas, la suplementación con hierro puede ser beneficiosa porque puede prevenir la anemia, y también los posibles retrasos en el desarrollo mental y motor (Moffatt, 1994). Numerosos estudios han demostrado que la administración de suplementos de hierro disminuye la prevalencia de ferropenia en niños preescolares (Schultink, 1995; Palupi, 1997; Thu, 1999). Esto coincide con lo que se observa, en este mismo estudio, al analizar, además de en los niños del grupo placebo, la prevalencia de ferropenia en todos los grupos de intervención. La suplementación de hierro, sólo o con profilaxis antimalárica, en niños de dos a seis meses de edad, disminuye de manera significativa la prevalencia de deficiencia de hierro y anemia ferropénica en lactantes expuestos a transmisión de malaria intensa y perenne. La combinación de ambas intervenciones tiene un impacto mayor que cuando se administran por separado, sugiriendo un efecto de la malaria en la deficiencia de hierro y la competencia de riesgos en la anemia ferropénica por ambas condiciones (Menendez, 2000).

### **1.6. Prevalencia microcitosis**

La causa, más frecuente, de esta alteración es la deficiencia de hierro, razón por la que se recomienda su determinación rutinaria junto a la hemoglobina en la valoración de la ferropenia (Kim, 1996). Al valorar la microcitosis, en lactantes, es fundamental tener en cuenta que sus valores se modifican con la edad (Dallman, 1979). Este dato se tuvo en cuenta en la definición de microcitosis.

En nuestro estudio se observa una prevalencia baja (5,8%) a los dos meses de edad y mayor del 50% a partir de ese momento. La mayoría de estudios, en lactantes, en áreas endémicas de malaria, no muestran datos del volumen corpuscular medio. Un estudio realizado en Nigeria, en niños de entre seis meses y once años describe una prevalencia inferior a la que hemos observado en Ifakara, pero el estudio excluye los niños con malaria grave y con anemia grave por malaria (Mockenhaupt, 1999c).

La microcitosis es una alteración hematológica presente en diversas enfermedades (Di Gregorio, 1998). Por esta razón, es un indicador poco fidedigno de ferropenia en poblaciones donde son frecuentes hemoglobinopatías como la talasemia (Williams, 1996; Mockenhaupt, 1999b; Mockenhaupt, 1999c).

## **2. VALORES NORMALES DE LAS MAGNITUDES BIOQUÍMICAS Y HEMATOLÓGICAS Y SU EVOLUCIÓN CON LA EDAD**

Nos planteamos como segundo objetivo describir los valores normales de las magnitudes que permiten valorar el contenido corporal de hierro, en lactantes que viven en un área endémica de malaria.

Los valores de referencia de las determinaciones de laboratorio deben adaptarse a la población estudiada, a los factores que afectan a esa población, a las técnicas utilizadas y a las condiciones del laboratorio. Son numerosos los factores que pueden influir sobre estos valores, dependiendo de las magnitudes, es posible que se vean influidas por: la raza, la alimentación, las condiciones de vida y ambientales, el clima, la educación, los recursos sanitarios, las prácticas higienicas, el grado de exposición a diversas enfermedades, la pobreza y la accesibilidad al agua potable (Kent, 1993).

Disponer de valores normales de lactantes sanos resulta algo más difícil que en otros grupos de población, debido a la dificultad para obtener muestras de sangre. Por esta razón los estudios publicados sobre valores de referencia en niños menores de un año son muy escasos.

No se dispone de estudios que permitan valorar la evolución de estas magnitudes en niños sanos que viven en áreas endémicas de malaria. Diversos factores característicos del área pueden incidir en las diferencias en el rango de valores de referencia de las magnitudes que valoran el contenido de hierro corporal. Uno de los factores que tiene un papel destacado es la alimentación. Se sabe que la malnutrición está relacionada con la anemia ferropénica (Kwiatkowski, 1999). En la zona de Ifakara la mayoría de los habitantes son granjeros de subsistencia, que cultivan arroz y maíz, y siguen una dieta pobre en hierro. Influyen en la alimentación costumbres propias de cada zona. Por ejemplo, en la población seminómada del norte de Tanzania, la estación del año es uno de los factores que influyen en las decisiones que toman las madres respecto a la lactancia y alimentación complementaria de sus hijos, existiendo una tendencia a finalizar la lactancia al final de la estación lluviosa (Sellen, 2001). Parece que en Ifakara no existe una costumbre que está muy extendida en algunos países de Latinoamérica y Africa, de dar café a niños pequeños. En las zonas donde esta práctica está arraigada, pueden iniciar el consumo de café incluso en lactantes de dos meses, y este hábito repercute en

el metabolismo del hierro y en la morbilidad de estos niños (Morck, 1983; Dewey, 1997a y b; Kuvibidila, 1992). Entre las características particulares de Tanzania, destaca el riesgo de padecer enfermedades propias del clima tropical. Así, son frecuentes entre los niños la esquistosomiasis y la anquilostomiasis, y ambas parasitosis se asocian a anemia (Tatala, 1998). En el caso de la población de lactantes estudiada en esta tesis se trata de niños que todavía son demasiado pequeños para estar expuestos a estas infecciones. Otra característica de Tanzania, común en la mayoría de áreas endémicas de malaria, es la dificultad del sistema sanitario para hacer frente a la elevada prevalencia de malaria entre los niños (Nsimba, 2002).

Los resultados obtenidos muestran que todas las magnitudes utilizadas habitualmente para la valoración del metabolismo del hierro presentan variaciones significativas de sus valores a lo largo del primer año de vida. Así, la edad en niños menores de un año es un factor determinante de la concentración de hierro, transferrina, ferritina sérica, hematócrito, hemoglobina, volumen corpuscular medio y número de hematies. De las magnitudes determinadas, únicamente el número de leucocitos y la proteína C reactiva no varían significativamente, en niños, entre las edades de dos y doce meses. Es importante destacar las repercusiones que estas variaciones tienen, por lo que se tiene que ser cauto, por ejemplo, en la utilización de la ferritina sérica como un indicador del estado del hierro corporal en lactantes puesto que las concentraciones de esta magnitud varían rápidamente, con la edad, durante el primer año de vida.

Con respecto a la concentración plasmática de hierro se observa que varía con la edad, siendo significativamente mayor en los niños de dos meses. Este hallazgo no es fortuito, puesto que concuerda con las concentraciones disminuidas de transferrina y elevadas de ferritina. No se dispone de otros estudios en lactantes sanos de dos meses de edad. La mayoría de estudios en lactantes se realizan, como mínimo, a partir de los seis meses de edad aunque

lo habitual es que participen niños a partir de un año de edad. A esas edades los resultados que obtienen otros estudios son similares a nuestros resultados. Es el caso de un estudio en niños sanos australianos que muestra concentraciones de hierro muy similares a las obtenidas en los lactantes de Ifakara a las edades de seis y doce meses (Makrides, 1998).

Los valores que se han encontrado en el área de Ifakara, en lactantes de doce meses de edad, son similares a los descritos, a esa misma edad, en población sueca (Virtanen, 1999). La OMS recomendó considerar como valores normales, en lactantes, concentraciones séricas superiores a 50  $\mu\text{g/dL}$  (OMS, 1968; OMS, 1972). Otra normalidad, utilizada en niños, consiste en sideremia superior a 20  $\text{mg/dL}$  (Koerper, 1977). Con frecuencia los autores siguen la recomendación de la OMS (Redondo, 1994). Los valores normales de sideremia de los lactantes son significativamente menores que los de adultos y adolescentes (Henry, 1998; Virtanen, 1999).

La sideremia es el marcador clásico del estado del hierro corporal que menos información proporciona (Wians, 2001). Su escaso valor, cuando se valora aisladamente, se debe a la gran variación de sus valores dentro de la normalidad y a que sobre ella influyen múltiples factores. Entre ellos, no se dispone de métodos analíticos para su determinación que no sean problemáticos, pudiéndose producir fácilmente infravaloraciones de la concentración de hierro presente en la muestras (Bakker, 1991; Blijenberg, 1994; Tietz, 1994; Eckfeldt, 1994; Chalmers, 1995; Tietz, 1996).

Con respecto a la concentración plasmática de transferrina, como ya se ha comentado al hablar del hierro, se observa que es significativamente menor en los lactantes de dos meses, concordando estos resultados con las concentraciones elevadas de hierro y ferritina a esa edad.



Las valores de transferrina encontrados en nuestro estudio son ligeramente superiores a los valores encontrados en lactantes en la bibliografía (Makrides, 1998; Virtanen, 1999). Un estudio en niños sanos australianos no encuentra diferencias en las concentraciones de transferrina, en lactantes, entre las edades de seis y doce meses. Sin embargo, en ambas edades las concentraciones son algo menores a las obtenidas en las muestras de los niños de Ifakara (Makrides, 1998). Estas concentraciones inferiores coinciden con las encontradas en lactantes suecos de doce meses (Virtanen, 1999). Los valores aumentados en la población de Ifakara en relación a los obtenidos en los países desarrollados podrían reflejar cierto grado de deficiencia corporal de hierro. En general, los valores normales de transferrina son mayores en lactantes que en el adulto sano (Virtanen, 1999).

Con respecto a la concentración de ferritina, en la muestra de niños estudiada los valores más elevados de ferritina se han encontrado a los dos meses y a partir de ese momento muestran una tendencia a disminuir con la edad. La misma tendencia, y con valores similares, se ha encontrado en otro estudio realizado en lactantes australianos (Makrides, 1998). Y en lactantes ingleses, que tienen concentraciones de ferritina sérica significativamente mayores en los niños de doce meses que en los niños de dieciocho meses (Sherriff, 1999). Otro estudio, en lactantes suecos de doce meses de edad, muestra valores de ferritina prácticamente idénticos a los de los lactantes de esa edad de Ifakara (Virtanen, 1999). Contrastando con los resultados de un estudio realizado en lactantes ingleses de ocho meses de edad, en el que se observan valores de ferritina mayores a los obtenidos a esa edad en la muestra de niños de Ifakara (Emond, 1996). Aunque una posible explicación es que los niños ingleses de este estudio podrían tener ferritinas algo más elevadas por vivir en un país desarrollado, eso no justificaría la similitud de resultados entre los lactantes suecos y los de Ifakara (Virtanen, 1999).

En los lactantes, en conjunto, se han descrito concentraciones de ferritina significativamente menores a las de los hombres adultos (Virtanen, 1999).

Es interesante remarcar que las variaciones de la ferritina con la edad, durante el primer año de vida, son significativas y por ello es recomendable utilizar diferentes puntos de corte de la ferritina para adaptar la definición de la ferropenia a la edad, como se ha hecho en este trabajo y en otros estudios (Sherriff, 1999).

Estos resultados tienen una explicación fisiológica. La determinación de ferritina permite valorar de forma bastante aproximada las reservas férricas del organismo. El recién nacido tiene un hematócrito elevado que desciende rápidamente durante sus primeros días de vida. El hierro liberado se almacena explicando la marcada elevación de la ferritina a los dos meses. Sin embargo, debido a la gran velocidad de crecimiento que caracteriza este período de la vida se produce una tendencia de la ferritina a disminuir con la edad en los lactantes. Es un hecho conocido que el riesgo de ferropenia es mayor en los niños que crecen rápidamente durante el primer año de vida. Otro factor que aumenta el riesgo de ferropenia en los lactantes es presentar bajo peso al nacer (Emond, 1996; Sherriff, 1999).

En nuestra muestra de lactantes no hemos encontrado diferencias en cuanto al sexo en la concentración de ferritina. En algunos estudios sí que encuentran valores mayores de este parámetro en las niñas a los ocho y doce meses de edad, pero no se confirma la diferencia entre sexos en los lactantes al cumplir los dieciocho meses de edad (Emond, 1996; Sherriff, 1999).

El hematócrito, disminuyó significativamente en el grupo de lactantes de cinco y ocho meses de edad, pero aumentó a los doce meses. La

concentración de hemoglobina muestra una evolución similar a la del hematócrito, aunque no completamente idéntica. Es conocido que en el momento del nacimiento el hematócrito y la concentración de la hemoglobina se encuentran aumentados por la relativa hipoxia intrauterina en la que se encuentra el feto. En el recién nacido el valor del hematócrito se sitúa de media alrededor del 54% (Vives y Aguilar, 1987) y 55% (Nelson, 1992), según los autores. Posteriormente se ha descrito que desciende aproximadamente un 30% hasta 11,0 g/dL durante las primeras ocho semanas de vida, seguido de un aumento hasta 12,5 g/dL a los cuatro meses. Después la hemoglobina aumenta gradualmente hasta llegar a 13,5 g/dL en preadolescentes (Dallman, 1993b). En los lactantes de Ifakara, la evolución es parecida, a los dos meses de edad la hemoglobina se sitúa cercana a los 11,0 g/dL, pero en vez de aumentar continua disminuyendo hasta los ocho meses. A los doce meses se detecta una recuperación con valores similares a los obtenidos a la edad de dos meses. Otros trabajos, que estudian la evolución de hemoglobina y hematócrito, en lactantes entre seis y dieciocho meses de edad, no llegan a detectar variaciones en estos dos parámetros a esas edades (Edmond, 1996; Makrides, 1998; Sherriff, 1999).

Nuestros resultados en los lactantes de Ifakara muestran valores de hematócrito y hemoglobina menores que los encontrados en estudios realizados en lactantes de países desarrollados (Edmond, 1996; Makrides, 1998; Sherriff, 1999). La explicación puede deberse a múltiples factores, entre los que destacan que los lactantes de Ifakara viven en un país subdesarrollado, con hábitos dietéticos y atención sanitaria muy diferente a la de los lactantes ingleses. Otros factores son la edad, el sexo, la raza, la altitud del área geográfica en la que se vive e incluso el nivel de estudios de la madre, ya que se han descrito concentraciones de hemoglobina mayores en los hijos de madres con estudios superiores (Sherriff, 1999).

Es conocido que tanto la edad como el sexo son factores que influyen en los valores normales de hemoglobina o del hematócrito en el hombre. Por ello, se recomienda adaptar la definición de anemia a las diferencias ocasionadas por estas variables. Aunque las diferencias debidas al sexo en la concentración de hemoglobina son notorias en los adultos (Rushton, 2001; Waalen, 2002), en los lactantes parece que el sexo no es un factor clave. Así, en nuestro estudio no se han observado diferencias entre niños y niñas, ni en la hemoglobina ni en el hematócrito, a ninguna edad. Algún estudio, realizado en lactantes, sí encuentra diferencias debidas al sexo en la concentración de hemoglobina, siendo esta menor en los niños respecto a niñas a la edad de dieciocho meses. Aunque en ese mismo estudio no observan diferencias debidas al sexo a los doce meses de edad (Sherriff, 1999).

Otro factor que puede influir es la raza. Todos los niños de Ifakara incluidos en este estudio eran de raza negra. Algunos estudios han descrito que los valores normales de hemoglobina son menores en personas de raza negra comparando con los valores observados en la raza blanca. Esto es así, incluso ajustando por los principales factores que influyen sobre la hemoglobina, incluido el estado nutricional (Johnson-Spear, 1994). En general, se acepta que para una misma edad y un estado socioeconómico equivalente, los niños de raza negra tienen, en promedio, alrededor de 0,5 g/dL menos de hemoglobina que los niños de raza blanca u oriental, lo que posiblemente está relacionado, en parte, con la mayor incidencia de talasemia y anemias carenciales en la población de raza negra. Por otra parte, en los hematíes de los niños de raza negra se han encontrado valores mayores de 2,3-difosfoglicerato. Estos niveles aumentados en el caso de que no intervenga ningún mecanismo de adaptación a una anemia, permiten una mejor liberación del oxígeno a los tejidos y una cifra menor de hemoglobina (Nelson, 1997).

Finalmente, es conocido que los valores de referencia de la hemoglobina son mayores en las poblaciones que viven en altitudes elevadas (Dewey,

1997), por lo que es recomendable utilizar correcciones de la hemoglobina teniendo en cuenta la altitud (Dirren, 1994). Ifakara es una ciudad situada en el valle del río Kilombero y no precisa de esta corrección.

En la muestra de lactantes estudiada el volumen corpuscular medio varía con la edad, siendo significativamente mayor en los niños de dos meses y no variando hasta los doce meses. Los valores del volumen corpuscular medio son mayores en el momento del nacimiento, considerando normal en el recién nacido un valor de aproximadamente 105 fL. Posteriormente, el volumen corpuscular medio disminuye progresivamente con la edad (Dallman, 1979; Vives, 1987). Nuestros resultados muestran esa misma tendencia, con valores muy similares a los de la literatura (Kim, 1996; Booth, 1997; Mockenhaupt, 1999c; Olivares, 2001). Teniendo en cuenta la variación observada con la edad, en este estudio se ha optado por utilizar diferentes definiciones de microcitosis, adaptadas a la edad de los lactantes.

El número de hematíes aumenta de forma significativa con la edad, en el grupo de lactantes estudiado. La hemoglobina y el hematócrito siguen un comportamiento similar.

La proteína C reactiva no muestra variaciones, ni con el sexo ni con la edad, de los lactantes estudiados. Se ha descrito que a lo largo de la vida los valores de referencia de la proteína C reactiva aumentan con la edad, siendo menores en los recién nacidos que en niños mayores y adultos (Henry, 1998).

En nuestro estudio, no se observaron variaciones del número de leucocitos entre los dos y doce meses de edad, habiéndose encontrado una media de  $11 \times 10^9$  leucocitos/L, muy similar a la media de  $10 \times 10^9$  leucocitos/L descrita por otros autores (Vives, 1987; Nelson, 1997). Se sabe que los valores de leucocitos en el recién nacido sano están aumentados en relación a las demás etapas de la vida, con una media de  $18 \times 10^9$  leucocitos/L (Vives, 1987;

Nelson, 1997). A las dos semanas de vida ya se observa una disminución considerable situándose entonces la media en  $12 \times 10^9$  leucocitos/L. Entre los dos meses y el año de vida no se producen grandes variaciones en su valor, aunque la tendencia es a disminuir con la edad. En los adultos, el valor de la media es de  $7,5 \times 10^9$  leucocitos/L (Nelson, 1997).

### **3. EFECTO DE LA INFLAMACION EN EL METABOLISMO DEL HIERRO**

Nuestros resultados demuestran que los procesos inflamatorios alteran los parámetros que permiten valorar el metabolismo del hierro en lactantes expuestos a la malaria.

Es conocido que las infecciones y las inflamaciones pueden dar lugar a anemia, por alteración en la utilización del hierro, sin que se acompañe de ferropenia, es la llamada anemia de las enfermedades crónicas (Cook, 1989; Beaton, 1989; Means, 1992; Taylor, 1993).

Nuestros resultados muestran que los niños con inflamación presentan anemia, con valores menores, frente al grupo control, del hematócrito, la hemoglobina, el número de hematíes y la sideremia. En cambio no se observan variaciones significativas de la transferrina y la ferritina, al comparar con el grupo control, aunque la ferritina muestra una tendencia a encontrarse elevada.

Se considera que la anemia de la inflamación es la segunda causa más frecuente de anemia después de la ferropenia (Jaye, 1997). El patrón característico de este tipo de anemia consiste en sideremia y transferrinemia bajas, acompañadas de valores elevados de ferritina sérica (Konijn, 1994).

Con respecto al hierro, se debe ser muy cuidadoso en la interpretación de sus valores, pues la concentración de este micronutriente puede verse afectada por el estado nutricional o por procesos infecciosos asintomáticos.

Nuestros resultados muestran la disminución de la concentración de hierro característica de la inflamación, coincidiendo con otros estudios en niños con este tipo de procesos (Hautvast, 2000a).

Respecto a la transferrina, se trata de un reactante de fase aguda negativo cuya concentración disminuye durante la inflamación (Jaye, 1997). Sin embargo, a partir de nuestros resultados, no queda claro este papel ya que no se observa esta disminución de la concentración de transferrina en los lactantes con inflamación. Las razones de esta discrepancia no están claras, aunque, en parte, puede influir el hecho de que en las áreas donde la malaria es endémica la interpretación de las magnitudes que valoran el metabolismo del hierro es compleja como consecuencia de la influencia simultánea de diversos factores.

La misma situación se repite al tratar de interpretar los valores de ferritina obtenidos. Clásicamente, la determinación de ferritina se emplea como marcador de ferropenia en ausencia de respuesta de fase aguda (Coenen, 1991). Es conocido que la ferritina es un reactante de fase aguda positivo que aumenta en caso de inflamación o infección (Blake, 1981; Harju, 1984; Fitzsimons, 1986; Witte, 1991). En un estudio en lactantes, de seis a nueve meses, en áreas endémicas de malaria se describe la correlación entre la proteína C reactiva sérica y la concentración de ferritina sérica (Hautvast, 2000a).

En nuestros resultados, la concentración de ferritina muestra tendencia a aumentar en el grupo de niños con inflamación frente al grupo control, aunque sorprendentemente esta elevación no llega a ser significativa. Aunque lo habitual es que la elevación de la proteína C reactiva se acompañe de incrementos significativos de la ferritina, hay otros estudios que ocasionalmente tampoco encuentran esta asociación. Es el caso, por ejemplo, de un estudio, en población adulta australiana, que no encuentra correlación entre el

incremento de la proteína C reactiva y el aumento de la ferritina. Se trata de un estudio realizado en una población sana asintomática en la que muy pocos individuos presentan proteína C reactiva superior a 1,0 mg/dL y en ningún caso la proteína C reactiva fue superior a 1,5 mg/dL (Leggett, 1990). Tampoco se encontró aumento de ferritina en un grupo de mujeres de Zaire con procesos inflamatorios que no estaban amamantando aunque sí se observó aumento de ferritina en el grupo de mujeres que daban lactancia (Kuvibidila, 1994).

La anemia de los trastornos crónicos habitualmente es normocítica y normocrómica, aunque también puede ser ligeramente microcítica (Konijn, 1994; Abshire, 1996). En nuestro estudio el volumen corpuscular medio es significativamente menor en el grupo de niños con inflamación con respecto al grupo control. Además, este grupo de lactantes con inflamación, también presentaban un número de leucocitos mayor que el grupo de niños control, indicando probablemente que la inflamación, en este grupo, está asociada a infecciones.

Otro factor que puede influir sobre los resultados que se obtienen es el criterio utilizado para definir la inflamación. En primer lugar se dispone de numerosas proteínas que pueden utilizarse como marcadores de la respuesta de fase aguda. Sin embargo, con frecuencia se emplea como marcador de inflamación la proteína C reactiva, puesto que se trata de un reactante de fase aguda que ofrece una respuesta sensible y precoz a los procesos inflamatorios (Jaye, 1997). En segundo lugar influye, incluso en los estudios que optan por utilizar la misma proteína como marcador de inflamación, el punto de corte elegido. Las diferencias en el punto de corte acostumbran a estar relacionadas con los diferentes métodos de análisis y con los distintos criterios a la hora de definir lo patológico. En estudios experimentales sobre inflamación se observa que, dependiendo del grado, el incremento de la proteína C reactiva puede ser mínimo y estar incluido en el intervalo de referencia (Chambers, 1991). En nuestro estudio se ha considerado inflamación cuando la proteína C reactiva en



plasma es igual o mayor a 0,8 mg/dL. Esta es la misma definición utilizada en otros estudios en áreas endémicas de malaria (McGuire, 1996). Otro punto de corte similar y también muy utilizado es 1,0 mg/dL (Tietz, 1990; Jaye, 1997; Hautvast, 2000a).

#### **4. EFECTO DE LA MALARIA EN EL METABOLISMO DEL HIERRO**

Los criterios que pueden utilizarse para definir posibles episodios de malaria son diversos (Gillespie, 1991; Chagnon, 1992). Entre los más empleados destacan la fiebre, la elevación de la proteína C reactiva y la densidad de parásitos (Allen, 1993; Hurt, 1994; McGuire, 1996; Bouvier, 1997; Hautvast, 2000a; WHO, 2000). La fiebre es el síntoma predominante en los niños con malaria clínica. Estudios en niños menores de un año, en áreas endémicas de malaria, relacionan el porcentaje de fiebre atribuible a malaria con la edad y la estación. Se ha descrito que el umbral de la densidad de plasmodios que se precisa para desencadenar fiebre varía con la edad (Kitua, 1996; Smith, 1994). En los lactantes la gran mayoría de infecciones por plasmodios se acompañan de densidades de parásitos muy bajas y no se acompañan de síntomas de enfermedad (Wagner, 1998). Se ha estimado que 100 parásitos por  $\mu\text{L}$  en sangre es el umbral de la densidad de parásitos necesario para el desarrollo de episodios febriles en lactantes, mientras que se precisan como mínimo 3500 parásitos por  $\mu\text{L}$  en los niños mayores de un año (McGuinness, 1998).

También se ha demostrado que la densidad de parásitos se correlaciona con la concentración de proteína C reactiva tanto en los pacientes con fiebre nocturna como en los pacientes afebriles. Algunos de estos pacientes con aumento de la proteína C reactiva son casos de malaria, y presentan fiebre intermitente. Cuando el incremento de la proteína C reactiva es debido principalmente a otras causas no se relaciona con la densidad de parásitos (Hurt, 1994). Los niveles elevados de proteína C reactiva, asociados con

elevada parasitemia, pueden ser una manera de identificar casos recientes de malaria febril en pacientes que no presentan fiebre medible (Hurt, 1994).

En nuestro estudio los lactantes con malaria se asocian a un significativo aumento de la proteína C reactiva, probablemente, en relación con la respuesta inflamatoria del organismo humano frente a la malaria.

Es conocido que la malaria influye en las magnitudes que permiten valorar el metabolismo del hierro (Das, 1999). Así, la anemia, junto con la fiebre, acostumbra a ser una de las primeras manifestaciones de la malaria (Newton, 1998). El paludismo es una de las principales etiologías de las anemias en los niños en áreas endémicas, pudiendo ser estas muy graves (Weatherall, 1982; Newton, 1997) y constituyendo, por sí mismas, un gran y silente contribuidor al conjunto de la mortalidad (Molineaux, 1997; Zucker, 1997).

El mecanismo patofisiológico de la anemia de la malaria es complejo y multifactorial. Entre los mecanismos que se han relacionado con la anemia por *Plasmodium falciparum* se encuentran: hemólisis, hiperesplenismo, mecanismos autoinmunes y eritropoyesis inefectiva (Dörmer, 1983; Silverman, 1987; Phillips, 1992; Ekvall, 2001). La contribución relativa de los diferentes mecanismos está influida por la intensidad y duración de la infección. La hemólisis afecta, por supuesto, a los eritrocitos parasitados, aunque también se ha observado una disminución de la vida media de los hematíes no parasitados (Looaresuwan, 1987).

Las manifestaciones clínicas de la infección por *Plasmodium falciparum* dependen de la edad y de la intensidad de la transmisión. Todavía se sigue investigando sobre el mecanismo responsable de la anemia asociada con niveles bajos de parasitemia crónica, intermitente y asintomática en niños en áreas endémicas de malaria (Anstey, 1999). Los niños pequeños tienen

---

tendencia a presentar anemias de mayor gravedad que las que desarrollan los niños mayores. Otro factor que puede contribuir a la gravedad de la anemia es la preexistencia de deficiencia de hierro.

Hemos observado que, efectivamente, la malaria se asocia a anemia en los lactantes de un área endémica, encontrándose que disminuye los valores del hematócrito, la hemoglobina y el número de hematíes. Estos hallazgos coinciden con los resultados de otros estudios en grupos de lactantes, infectados por *Plasmodium falciparum*, que viven en áreas endémicas de malaria (Mockenhaupt, 1999c; Afolabi, 2001). Se ha relacionado la gravedad de la anemia con la fiebre y la densidad de parásitos, cuanto mayores son la fiebre y la densidad de parásitos menor es el hematócrito (Renaudin, 1994; Afolabi, 2001). Esta misma observación es válida entre los lactantes de Ifakara, entre los que se ha descrito que la prevalencia de anemia es mayor cuanto mayor es la densidad de parásitos (Kitua, 1997). También se ha sugerido que la definición de malaria debería adecuarse a la edad y de la estación del año, con la finalidad de poder valorar adecuadamente el riesgo de enfermedad en la infancia (McGuinness, 1998).

Con respecto a las magnitudes bioquímicas, se observan concentraciones plasmáticas mayores de hierro y de ferritina que las encontradas en el grupo de lactantes control, mientras que la transferrina no mostraba diferencias entre los dos grupos de niños. Si analizamos cada magnitud por separado, la elevación del hierro sérico puede explicarse por la hemólisis inducida por la malaria (Abdalla, 1980; Weatherall, 1982; McGuire, 1996). Se han descrito, en otros estudios, resultados discrepantes. Coincidiendo con nuestros resultados, algunos autores encuentran también una elevación del hierro sérico en pacientes con malaria (Aremu, 1989; Ayatse, 1994; Hautvast, 2000a), mientras que otros autores no la describen (Das, 1997). Cuando se observan detalladamente los resultados, en los niños de ocho meses de edad, no se observan variaciones en la concentración de hierro en los niños

con malaria en relación a los niños control. Esta observación se confirma, posteriormente, en el estudio realizado en el subgrupo de niños estudiado a esa edad. Estos resultados remarcan el interés de disponer de valores normales. Lo habitual en pacientes con infecciones no asociadas a hemólisis o sometidos a estres quirúrgico es encontrar una disminución del hierro sérico (Fitzsimons, 1986).

Respecto al efecto de la malaria sobre la transferrina, sorprende que la transferrina sea la única magnitud que no se altera en los lactantes con esta enfermedad. Una posibilidad es que esta aparente ausencia de efecto de la malaria sea la consecuencia de la convergencia simultánea, sobre la concentración de transferrina, de la acción de varios factores que, en conjunto, se hayan compensado. El factor más destacado que puede contribuir a que la transferrina disminuya en lactantes con malaria es la respuesta de fase aguda, puesto que se trata de un reactante de fase aguda negativo. Los factores que pueden actuar aumentando la concentración de transferrina son diversos. Por una parte, la síntesis de transferrina se estimula en dos situaciones frecuentes en estos niños, la ferropenia y la anemia hemolítica. Y por otra parte, la hipoxia asociada a la infección por malaria puede aumentar la transferrina. Otros estudios realizados en niños con malaria muestran resultados contradictorios. Así, un estudio en niños con malaria que viven en Gambia obtiene resultados similares a los nuestros, al no encontrar efecto de la malaria en los niveles de transferrina (Snow, 1991). Mientras, otros estudios, muestran que la malaria incrementa la concentración de transferrina sérica (Aremu, 1989; Ayatse, 1994). Por otra parte, otros estudios encuentran disminuida la transferrina sérica en la malaria (Das, 1997). Destaca, en nuestros resultados, que cuando la malaria se acompaña de anemia, a los ocho meses de edad, sí que se observa aumento de la transferrina plasmática.

En nuestro estudio se encontraron valores elevados de ferritina en los niños con malaria. Otros autores ya habían descrito que la malaria puede ser

---

responsable de elevaciones de las concentraciones de ferritina séricas (Kimati, 1986; Phillips, 1986; Adelekan, 1990; Premji, 1995; Das, 1997; Hautvast, 2000a). En algún estudio, en lactantes menores de un año, encontraron una correlación positiva entre el recuento de plasmodios y la ferritina, junto a la correlación positiva entre el recuento de parásitos de malaria y la proteína C reactiva (Hautvast, 2000a). Sin embargo, aunque la ferritina está aumentada debido, en parte, a la respuesta de fase aguda, éste no es el único factor que influye en su elevación, puesto que los niños con inflamación y sin malaria presentan un incremento menor de la ferritina a pesar de que la concentración de proteína C reactiva es mayor en estos lactantes. Es posible que la hemólisis asociada a la malaria también intervenga aumentando los valores de ferritina.

La edad también puede influir, los niños al crecer desarrollan una inmunidad parcial protectora que previene de la malaria asintomática responsable de alteraciones en la concentración de hemoglobina y de ferritina. De hecho, algunos estudios en áreas endémicas de malaria han sugerido que la malaria aumenta la concentración de ferritina sérica en niños pequeños pero no en niños mayores (Stoltzfus, 1997c; Stoltzfus, 2000).

Otro factor que influye en el efecto de la malaria sobre las magnitudes estudiadas es la gravedad de la enfermedad (Das, 1997; McElroy, 2000). En nuestro estudio la mayoría de niños presentan malaria asintomática, definida como hallazgo de cualquier densidad de *Plasmodium falciparum* en sangre periférica pero sin manifestaciones clínicas (Menéndez, 1997). Esta presentación asintomática es muy frecuente (Greenwood, 1987c; Ghost, 1995; Wagner, 1998), especialmente en lactantes, y con un número de parásitos muy reducido (Wagner, 1998; Franks, 2001). Además, en lactantes menores de cinco meses, la mayoría de infecciones por plasmodios son pasajeras, de duración inferior a un mes, y se resuelven espontáneamente sin alcanzar densidades elevadas de parásito y sin causar enfermedad clínica (Franks, 2001). En nuestro estudio es posible que, al utilizar el microscopio para el

---

diagnóstico, se hayan infradiagnosticado los casos de malaria debido a infecciones submicroscópicas por *Plasmodium falciparum*, que en estas áreas pueden ser frecuentes y contribuyen a la anemia y a la inflamación. Probablemente esta es una de las razones por la que el efecto de la malaria sobre el metabolismo del hierro parece escaso cuando se comparan los valores de las magnitudes de laboratorio entre el grupo de niños con malaria y el grupo de niños sin malaria. La otra razón es que, en esta tesis, se han excluido del estudio los lactantes con anemias graves, y probablemente son estos lactantes los que muestran el mayor efecto de la malaria sobre el metabolismo del hierro.

La especie de plasmodio que predomina, en Ifakara, es *Plasmodium falciparum* (Felger, 1999). En Tanzania, también están presentes *Plasmodium malariae* y *Plasmodium ovale* (Farnert, 1997), aunque con prevalencias muy bajas (0,3%) (Tarimo, 2001). En algunos pacientes coexisten más de una especie de plasmodio (Farnert, 1997; Stoltzfus, 1997b; Alifrangis, 1999).

## **5. UTILIDAD DEL RECEPTOR SOLUBLE DE TRANSFERRINA EN ÁREAS ENDÉMICAS DE MALARIA**

En áreas endémicas de malaria, el diagnóstico de anemia ferropénica puede complicarse debido a la influencia que la infección por plasmodios puede tener sobre las determinaciones utilizadas convencionalmente para valorar el estado del metabolismo del hierro. Debido a la falta de especificidad que demuestran las magnitudes que se utilizan para diagnosticar la ferropenia, se están buscando nuevos marcadores que no se vean afectados por la infección o por la inflamación. En la actualidad se dispone de la posibilidad de cuantificar el receptor soluble de transferrina, que permite valorar la eritropoyesis e identificar la deficiencia de hierro (Baynes, 1993 y 1994a). Tiene la ventaja de que es una técnica no invasiva que ha demostrado, en países desarrollados sin malaria, su utilidad para diferenciar la anemia por deficiencia de hierro de la anemia de las enfermedades crónicas (Ferguson, 1992; Baynes, 1993; Baynes,

1994; Punnonen, 1994; Olivares, 1995; Punnonen, 1997; Suominen, 1997; Remacha, 1998). Las concentraciones del receptor soluble de transferrina se elevan en pacientes con anemia ferropénica, independientemente de que se asocie o no a inflamación. Sin embargo, en los pacientes que presentan infección o inflamación, como única alteración, la concentración del receptor soluble de transferrina se mantiene dentro de los valores de referencia (Punnonen, 1997).

Se han realizado cinco estudios sobre la utilidad del receptor soluble de transferrina, en niños, en áreas endémicas de malaria. Los resultados obtenidos en ellos han sido contradictorios, abarcando todas las posibilidades. Dos estudios no encuentran afectación del receptor soluble de transferrina por la malaria (Kuvibidila, 1995; Asobayire, 2001), otro encuentra concentraciones disminuidas (Williams, 1999) y, los otros dos estudios, encuentran concentraciones aumentadas (Mockenhaupt, 1999; Verhoef, 2001). La necesidad de aclarar la utilidad de esta determinación, en una población de lactantes que podría beneficiarse en el caso de que su concentración no se afecte por la malaria y contribuya al diagnóstico de ferropenia, justifica la realización de este estudio.

Ante la pregunta que nos hemos planteado sobre si la determinación de la concentración en suero de receptor soluble de transferrina puede ser útil para diagnosticar anemia ferropénica en los lactantes que viven en áreas endémicas de malaria, podemos contestar, a la vista de nuestros resultados, que no es útil, puesto que la malaria se asocia, también, a un aumento de la concentración del receptor soluble de transferrina. La explicación que hemos considerado, como más probable, es que la hemólisis inherente a esta infección parasitaria es la causa de la elevación de la concentración del receptor soluble de transferrina. El hallazgo de una correlación directa entre la densidad de plasmodios y la concentración del receptor soluble de transferrina apoya esta hipótesis.

Es conocido que la anemia ferropénica incrementa la concentración del receptor soluble de transferrina (Ferguson, 1992; Gimferrer, 1997a). El aumento del receptor soluble de transferrina en los niños con anemia por malaria, que participaron en este estudio, coincide con los resultados encontrados en dos de los estudios anteriormente citados (Mockenhaupt, 1999; Verhoef, 2001). Destaca en nuestros resultados que la concentración del receptor soluble de transferrina es incluso más elevada en los niños con anemia y malaria que en los niños diagnosticados de anemia ferropénica.

Se ha descrito que la concentración de receptor soluble de transferrina está aumentada en situaciones relacionadas con una actividad eritropoyética elevada incluyendo hemoglobinopatías (Rees, 1998), hemólisis (Ricci, 1995; Nagral, 1999), ferropenia, eritropoyesis inefectiva, anemia megaloblástica (Kohgo, 1987; Carmel, 1992) y producción aumentada de eritropoyetina (Ferguson, 1992). Parece que la explicación más probable que justifica el aumento de la concentración del receptor soluble de transferrina en los lactantes estudiados, que viven en Ifakara, es la hemólisis asociada a la infección por plasmodios. La mayoría de estos lactantes presentaban malaria asintomática, coincidiendo con un estudio realizado en la misma área geográfica en Tanzania, en el que se sugiere que la hemólisis puede ser el principal factor responsable de la anemia producida en niños con infección por *Plasmodium falciparum* con densidad de parásitos baja (Kitua, 1997). En uno de los estudios, en los que no se encuentra afectación del receptor soluble de transferrina por la malaria, al analizar por subgrupos sí que observan que los niños con malaria subclínica tienen tendencia a presentar valores del receptor soluble de transferrina mayores que los de los niños sin infección o con malaria clínica (Kuvibidila, 1995).

Otra explicación, que justifica el que la concentración de receptor soluble de transferrina esté aumentada en niños con infección por *Plasmodium falciparum* y anemia, es la presencia de una eritropoyesis efectiva en respuesta



---

a la hemólisis de los hematíes. Se ha descrito que los eritroblastos producen la mayoría del receptor soluble de transferrina (Frazier, 1982), por lo que su concentración en plasma es un reflejo de la actividad eritropoyética medular (Huebers, 1990). Esta actividad muestra diferencias según la gravedad de la malaria. En modelos animales, utilizando ratones con infección por *Plasmodium berghei*, se ha encontrado deseritropoyesis y eritrofagocitosis de médula ósea en los casos con infección grave, pero no en los controles con infección asintomática (Clark, 1988). Asimismo, en humanos hay estudios que no encuentran signos de deseritropoyesis entre sujetos con infección crónica por *Plasmodium falciparum* y densidades de parásitos bajas (Gandapur, 1997). Mientras que, otros estudios, en pacientes con malaria clínica aguda encuentran que en la patogénesis de la anemia de la malaria interviene un mecanismo de inhibición de la eritropoyesis (Woodruff, 1979; Abdala, 1980; Dormer, 1983; Phillips, 1992). Así pues, la malaria no siempre se acompaña de la supresión de la respuesta de la médula ósea. Concretamente, en este estudio la mayoría de lactantes tenían infecciones asintomáticas y medias por *Plasmodium falciparum*, siendo posible, por tanto, una respuesta de la médula ósea adecuada con presencia de una eritropoyesis efectiva en respuesta a la hemólisis de los hematíes. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos en otro estudio en niños con infección por *Plasmodium falciparum* asintomática y media (Mockenhaupt, 1999).

En general, mientras que en los niños que padecen malaria grave aguda prevalece la depresión de la eritropoyesis y, en consecuencia, se asocia a concentraciones disminuidas de receptor soluble de transferrina; los niños con una anemia por malaria leve o moderada muestran, por el contrario, incremento de la concentración del receptor soluble de transferrina como reflejo de actividad eritroide medular (Srichaikul, 1967; Phillips, 1986). Por el diseño de este estudio, se han excluido del estudio los niños que presentan anemia grave, que serían quizás los que con mayor frecuencia presentan lesión de la eritropoyesis debida a la infección por malaria. Probablemente, este hecho contribuye al

hallazgo de niveles elevados del receptor soluble de transferrina en asociación con la infección por malaria.

Más difícil es explicar el aumento del receptor soluble de transferrina en el grupo de lactantes con anemia sin malaria ni ferropenia. En principio, algunos de estos niños podrían tener anemia de las enfermedades crónicas en la que otros estudios han descrito que el receptor soluble de transferrina no se altera (Ferguson, 1992). Apoya la hipótesis, de que este grupo está formado por lactantes con anemia de las enfermedades crónicas, el hecho de que es el grupo de niños con mayor concentración de proteína C reactiva. Una explicación posible del moderado pero significativo aumento del receptor soluble de transferrina en el grupo con anemia pero sin malaria ni ferropenia, es la presencia, en algunos niños de este grupo, de una parasitemia por plasmodios baja y subclínica, no detectable con el microscopio. Los efectos hematológicos de la malaria pueden persistir, incluso aunque los parásitos no puedan detectarse al examinar una extensión de sangre. Otra posibilidad alternativa es que algunos niños hayan padecido una infección reciente por malaria asintomática, no diagnosticada, y resuelta en el momento de extraer la muestra. No hay que olvidar que la hemólisis por malaria puede persistir durante días o semanas después de que la parasitemia haya desaparecido (Phillips, 1992).

Los resultados de este estudio difieren de tres estudios en población infantil. En dos de ellos no encuentran que se altere el receptor soluble de transferrina por la malaria (Kuvibidila, 1995; Asobayire, 2001), y el otro encuentra concentraciones disminuidas (Williams, 1999). Hay varias posibles explicaciones para estos hallazgos contradictorios. La epidemiología del paludismo es compleja (Podzamczar, 2000), pudiéndose observar variaciones importantes incluso dentro de zonas geográficas relativamente pequeñas. Se consideran determinantes epidemiológicos fundamentales: la composición inmunológica y genética de la población, la especie de los parásitos y de los

---

mosquitos en la comunidad de riesgo, el nivel de pluviosidad, la temperatura, la distribución de los lugares de cría de los mosquitos, el uso de fármacos antipalúdicos y la aplicación de otras medidas de control para disminuir la transmisión.

El único estudio que encuentra disminución del receptor soluble de transferrina en la malaria (Williams, 1999), se ha realizado en Vanuatu, archipiélago situado en el Pacífico suroeste que posee unas características propias. Por una parte, en ese archipiélago la prevalencia de talasemia y de deficiencia de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa son elevadas (Ganczakowski, 1995a y b), y ambas patologías se asocian a alteraciones de los valores del receptor soluble de transferrina. Otra diferencia es que mientras que en Ifakara la transmisión de la malaria es intensa, en Vanuatu la prevalencia de malaria es de alrededor del 30% (Maitland, 1996). Paradójicamente, se ha observado que el riesgo de malaria grave en la infancia es mayor en las poblaciones expuestas a intensidades de transmisión de baja a moderada que en las poblaciones con elevadas intensidades de transmisión. La edad media a la que se adquiere la enfermedad también varía con la intensidad de la transmisión, siendo más baja la edad cuanto mayor es la intensidad de la transmisión (Snow, 1997). Por lo tanto, en principio en Vanuatu los niños enferman a una edad más tardía que en Ifakara y tienen con mayor frecuencia infecciones graves por malaria. También es factible que la diversidad geográfica de las especies y cepas del parásito sea la responsable de los diferentes efectos sobre la eritropoyesis. En Vanuatu es frecuente la malaria por *Plasmodium falciparum* y por *Plasmodium vivax*, mientras que en Ifakara está última especie no se encuentra. Se ha demostrado que diferentes cepas de *Plasmodium falciparum* varían considerablemente en su habilidad para inducir la producción del factor de necrosis tumoral, una citocina que se cree está relacionada con la inhibición de la eritropoyesis (Clark, 1988; Allan, 1995).

La gravedad de la malaria es diferente en las poblaciones de los distintos estudios. Así, mientras que la población de lactantes estudiados en Ifakara presentaban infecciones por malaria mayoritariamente asintomáticas y leves; en el estudio realizado en niños en Vanuatu (Williams, 1999) y en el estudio en pacientes adultos europeos (Beesley, 2000) que padecen malaria clínica, encuentran una disminución de la concentración plasmática de receptor soluble de transferrina atribuible, posiblemente, a la inhibición de la eritropoyesis descrita en la malaria clínica aguda.

El receptor soluble de transferrina presenta la ventaja de tener poca variabilidad biológica y analítica (Cooper, 1996). La mayoría de estudios sobre receptor soluble de transferrina se han realizado en adultos, con valores de referencia adecuados para esa población (Kato, 1992; Ferguson, 1992; Ricci, 1995; Gimferrer, 1997). Sin embargo los lactantes presentan peculiaridades que deben conocerse para la correcta interpretación de los resultados. Durante la vida intrauterina la expresión del receptor soluble de transferrina es elevada e independiente del estado del hierro, probablemente en relación con la proliferación celular y el crecimiento tisular que caracterizan la vida fetal (Carpani, 1996). Esta independencia de la concentración del receptor soluble de transferrina del metabolismo del hierro se mantendría, por lo menos durante los primeros días de vida (Kuiper-Kramer, 1998a). Otra característica es que los valores normales de receptor soluble de transferrina, en lactantes, son mayores que los encontrados en niños mayores y en adultos (Virtanen, 1999; Suominen, 2001). Probablemente en relación con la respuesta fisiológica a los depósitos bajos de hierro (Virtanen, 1999). Los cambios de concentración de receptor soluble de transferrina relacionados con la edad pueden explicarse por una mayor actividad eritropoyética por unidad de peso corporal durante la infancia y la contribución relativa de los precursores de células rojas a los valores de receptor soluble de transferrina que podría ser superior en este período de la vida. Por tanto, es recomendable adaptar los valores normales de las concentraciones del receptor soluble de transferrina a nuestra población de lactantes que viven

en un área endémica de malaria. En nuestro estudio se encontró que los lactantes que pertenecían al grupo control a la edad de ocho meses tenían una media de concentración del receptor soluble de transferrina de 4,4 ng/mL, coincidiendo con los resultados descritos en lactantes canadienses de 9 a 15 meses de edad (Yeung, 1997). Aunque los niños tienen valores de receptor soluble de transferrina mayores que los adultos (Yeung, 1997; Choi, 1999; Virtanen, 1999), un estudio en niños que reciben suplementación de hierro, durante los siete primeros meses de vida, encuentra valores comparables a los de los adultos (Kling, 1998). Probablemente en estos niños la suplementación ha producido la disminución en la concentración del receptor soluble de transferrina, lo que coincide con nuestros resultados.

En plasma podemos encontrar circulando una pequeña cantidad del receptor de transferrina. Los precursores eritroides de la médula ósea son los principales determinantes de esa concentración sérica (Beguin, 1992; Baynes, 1994). En los procesos en que aumenta la actividad eritroide medular la concentración de receptor soluble de transferrina se eleva, mientras que en la aplasia o hipoplasia eritroide la concentración del receptor soluble de transferrina disminuye (Flowers, 1989; Huebers, 1990; Beguin, 1992). La concentración de receptor soluble de transferrina también depende de la disponibilidad de hierro. Cuando los depósitos de hierro se agotan y la disponibilidad de hierro está comprometida, se produce un precoz y progresivo aumento de la concentración de receptor soluble de transferrina (Skikne, 1990). El receptor soluble de transferrina es un marcador del estado del hierro corporal en niños (Olivares, 2000). Conforme la severidad de la deficiencia de hierro progresa, hay un aumento gradual de su concentración plasmática.

Otro factor que influye es la altitud, un estudio realizado en adultos que viven en altitudes elevadas muestra aumento del receptor soluble de transferrina, probablemente relacionado con el aumento de masa eritroide corporal total (Allen, 1998).

Una de las limitaciones de este estudio es que no se dispone del examen de médula ósea para la confirmación del diagnóstico de ferropenia. Aún así, es muy poco probable que en la práctica clínica, en zonas endémicas de malaria, se pueda obtener un diagnóstico de deficiencia de hierro disponiendo de más medios y pruebas diagnósticas que las que se han utilizado en este estudio.

Otro aspecto a valorar es la influencia de las hemoglobinopatías en la concentración del receptor soluble de transferrina. La anemia de células falciformes es una de las causas conocidas de elevación de la concentración del receptor soluble de transferrina (Singhal, 1993; Franco, 1997). En nuestro estudio la prevalencia del genotipo de hemoglobina AS fue muy elevada entre los lactantes a los que se les determinó el receptor soluble de transferrina, concretamente del 31,2% (Menendez, 2001), lo que podría favorecer un aumento del receptor soluble de transferrina en los lactantes con malaria. Probablemente más que corresponder a la prevalencia del genotipo de hemoglobina AS real de la población, está relacionada con variaciones debidas al azar al aleatorizar los niños que han formado la muestra en la que se determinó receptor soluble de transferrina, puesto que es una prevalencia mayor que la presentada en el total de la muestra de niños estudiada, que era del 13% (Menendez, 1997) y que la descrita en otro estudio realizado también en Ifakara, que es del 11,7% (Schellenberg, 2001). Por otra parte, es poco probable que la elevada prevalencia del genotipo de hemoglobina AS en nuestro estudio pueda ser la responsable de los niveles incrementados del receptor soluble de transferrina en los niños anémicos infectados por malaria puesto que la concentración del receptor soluble de transferrina fue similar entre los niños con hemoglobina AA media geométrica 4,4 ng/mL IC95%: 3,9-4,8 y los niños con hemoglobina AS media geométrica 3,8 ng/mL IC95%: 3,3-4,5 (Menendez, 2001).

La talasemia es otra de las causas conocidas de elevación del receptor soluble de transferrina (Camaschella, 1996; Ho, 1997; Rees, 1998). En este estudio en la población de lactantes de Ifakara se encontró una elevada prevalencia de  $\alpha$ -talasemia (44,3% y 10,3% para heterocigotos y homocigotos respectivamente). Sin embargo, al igual que en otro estudio, en niños nigerianos, se detectó también en este caso una ligera, pero no significativa, elevación de la concentración de receptor soluble de transferrina en los niños homocigotos para la  $\alpha$ -talasemia (Mockenhaupt, 1999b).

Otra causa que podría producir un aumento del receptor soluble de transferrina es que un número elevado de lactantes presentaran deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa, pero este dato no pudo valorarse. Esta deficiencia puede ocasionar anemia hemolítica (Ragusa, 1993; Alfinito, 1994). Precisamente en el estudio anteriormente comentado, realizado en Nigeria, encuentran resultados similares a los nuestros y detectan una ligera, pero no significativa, elevación de la concentración de receptor soluble de transferrina en los niños con deficiencia de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (Mockenhaupt, 1999b).

En este estudio las muestras de los lactantes que se han utilizado para valorar la utilidad del receptor soluble de transferrina provenían de un ensayo clínico en el que se realiza una intervención para la prevención de la malaria y de la anemia (Menendez, 1997), por lo que algunos niños habían recibido suplementación con hierro y/o Deltaprim. Para evitar que esta suplementación ocasionara un sesgo todos los niños fueron escogidos aleatoriamente. Se observa que el efecto de la malaria sobre el receptor soluble de transferrina es mucho más intenso que el de la suplementación recibida.

El efecto que puede producir la suplementación con hierro en áreas endémicas de malaria todavía en la actualidad es motivo de controversia. Algún

estudio ha indicado que la suplementación con hierro puede aumentar la susceptibilidad a la malaria (Oppenheimer, 1986). Mientras que otros estudios, en lactantes que viven en Ifakara y han recibido suplementación con hierro, no encuentran ninguna relación entre la suplementación recibida y la susceptibilidad a la malaria (Menendez, 1997). En cambio, otros autores sí que han encontrado una susceptibilidad disminuida a la malaria en presencia de anemia microcítica, independientemente de que su causa sea la ferropenia o la talasemia (Mockenhaupt, 1999c).

Aunque no era uno de nuestros objetivos, hemos analizado el efecto de la suplementación con hierro y con Deltaprim sobre las magnitudes que valoran el metabolismo del hierro, con la finalidad de descartar que la suplementación interfiera en los resultados obtenidos. Un efecto que se asocia a esta suplementación es que disminuye la prevalencia de deficiencia de hierro y de anemia ferropénica (Menendez, 2000).

Hemos observado que, de alguna manera, todas las magnitudes relacionadas con el metabolismo del hierro se alteran con alguna de las dos suplementaciones administradas o con la combinación de ambas. La magnitud que muestra mayor sensibilidad a la suplementación es el receptor soluble de transferrina, disminuyendo significativamente su concentración en los tres grupos de niños suplementados. Estudios realizados en cultivos celulares han descrito que cuando se reduce el aporte de hierro a las células, éstas responden aumentando la síntesis del receptor de transferrina. Por el contrario, al administrar suplementos de hierro a cultivos celulares se observa una disminución del número de receptores de transferrina (Baynes, 1991). Aparentemente, se trata de un mecanismo para regular la entrada de hierro en las células. Coincidiendo con esta observación, un estudio realizado en adultos que viven en Zimbabwe, encuentra que el receptor soluble de transferrina está disminuido en adultos que presentan sobrecarga de hierro respecto a adultos sanos o con ferropenia (Khumalo, 1998). Los estudios que valora el receptor



soluble de transferrina en niños suplementados con hierro encuentran que su concentración disminuye con la suplementación, coincidiendo con nuestros resultados (Kling, 1998; Lin, 2001). Otros estudios, en adultos obtienen resultados diferentes. Así, un estudio en adultos que reciben un suplemento de hierro oral durante 3 meses mostró que en las mujeres el receptor soluble de transferrina aumentaba y también aumentaba la ferritina, mientras que en el mismo estudio en los hombres la suplementación con hierro no alteraba los valores ni de receptor soluble de transferrina ni de ferritina (Suominen, 1998).

El efecto de la suplementación con hierro varía según los estudios. En nuestros resultados se ha observado que, además de disminuir el receptor soluble de transferrina, también aumenta la concentración de ferritina y de hemoglobina. En algunos estudios el efecto de la suplementación con hierro puede pasar desapercibido en niños sanos. Así, en un ensayo clínico en niños australianos sanos de 6 meses no se encontraron diferencias en los valores de hierro, transferrina, ferritina y hemoglobina entre los niños que siguieron una dieta normal y los niños que siguieron una dieta enriquecida con hierro (Makrides, 1998). Por el contrario, en áreas endémicas de malaria, parece que el efecto de la suplementación con hierro sí que es evidente. Así, un estudio realizado en Ifakara ha demostrado que la profilaxis con sulfato ferroso reduce el porcentaje de anemias graves (Menendez, 1997). Es conocido el efecto beneficioso de la suplementación con hierro en pacientes con ferropenia. En estos sujetos la administración de hierro produce un aumento de la concentración hemoglobina y ferritina (Suominen, 1998). Otro grupo de población con elevada prevalencia de ferropenia que se beneficia con esta suplementación es el de las mujeres embarazadas (Sloan, 2002).

Respecto al efecto de la suplementación con fármacos antipalúdicos, se observa que su administración influye sobre el metabolismo del hierro. Así, en este trabajo se ha administrado a los niños de forma profiláctica Deltaprim, que es una combinación de pirimetamina y dapsona. La pirimetamina

pertenece al grupo de fármacos inhibidores de la síntesis de ácido fólico. Su mecanismo de acción se caracteriza por inhibir con gran selectividad la enzima dihidrofolato-reductasa de microorganismos e impedir de ese modo la síntesis de ácido tetrahidrofólico (Bzik, 1987). Su toxicidad selectiva, contra los plasmodios, se relaciona con el hecho de que la dihidrofolato-reductasa de estos parásitos es mucho más sensible a la inhibición que la enzima del hombre. Además, la pirimetamina presenta acción sinérgica cuando se combina con sulfonamidas (como la sulfadoxina) o con sulfonas (como la dapsona). Sulfadoxina y dapsona son fármacos análogos estructurales del ácido p-aminobenzoico que inhiben la biosíntesis del ácido dihidropterico (Brooks, 1994; Triglia, 1994). Se observa en los resultados que el Deltaprim influye sobre algunas de las magnitudes estudiadas y que su efecto es mayor cuando se asocia a la suplementación con hierro. Otro estudio, también en Ifakara, ha demostrado que la suplementación intermitente con la combinación de sulfadoxina-pirimetamina en niños pequeños reduce el índice de malaria clínica en un 59% y el de anemia grave en un 50% y reduce también en un 30% los ingresos hospitalarios y en un 13% los episodios de fiebre (Schellenberg, 2001).

Como ya se ha comentado anteriormente, se debe ser muy cuidadoso en la interpretación de los valores del hierro. Esta magnitud, considerada de forma aislada, tiene escaso valor por la gran variación de sus valores dentro de la normalidad, por estar influida por múltiples factores y por ser el marcador clásico del estado del hierro corporal que menos información proporciona (Wians, 2001). Teniendo esto en cuenta, la disminución de la concentración de hierro en el grupo de niños suplementado con Deltaprim puede tener varias explicaciones. Por una parte, es posible que, en parte, el hallazgo tenga algún componente en el que haya intervenido el azar, puesto que la disminución de la concentración del hierro únicamente se observa en el grupo de niños suplementado con Deltaprim pero no en el grupo que recibe hierro además de Deltaprim. Pero lo más probable es que esté relacionado con el efecto protector

del Deltaprim frente a la malaria. Si en el grupo suplementado con Deltaprim el número de niños con malaria es inferior, y si también es inferior el número de niños con hemólisis asociada a la malaria, es lógico que los valores del hierro sean inferiores.

Cuando se diseñan estrategias para luchar contra la malaria es necesario valorar los posibles efectos que pueden ocasionar, puesto que hay estudios que apoyan que la morbilidad por malaria disminuye cuando los niveles de transmisión son elevados (Snow, 1997). Según este punto de vista, el control efectivo de la exposición al parásito entre poblaciones que tradicionalmente se han encontrado expuestas a transmisión intensa por *Plasmodium falciparum* puede repercutir en un incremento de la edad en la que se adquiere una respuesta inmune efectiva frente a la enfermedad. Esto puede aumentar la susceptibilidad a las formas más graves de malaria por *Plasmodium falciparum*, como la malaria cerebral, y puede repercutir en un paradójico incremento del riesgo de la enfermedad en la infancia. Por tanto, a la hora de diseñar estrategias para el control de la malaria, hay que tener en cuenta que puede ser diferente los beneficios de intervenciones para reducir la transmisión de la enfermedad en áreas de baja o moderada transmisión que en áreas de transmisión intensa (Snow, 1997).

1. La edad influye en la prevalencia de inflamación, malaria, anemia, ferropenia y microcitosis en la población infantil de Ifakara. Únicamente la prevalencia de fiebre no muestra variaciones con la edad.

2. Las magnitudes que permiten valorar el metabolismo del hierro: hierro, transferrina, ferritina, hematócrito, hemoglobina, volumen corpuscular medio y número de hematíes, varían entre los dos y doce meses de edad. Los valores de hierro, ferritina y volumen corpuscular medio son mayores en los niños de dos meses que en los de cinco, ocho y doce meses, mientras que la transferrina y el número de hematíes son menores a la edad de dos meses que en el resto de edades estudiadas. La edad no es un factor determinante del número de leucocitos ni de la concentración de proteína C reactiva.

3. Las medidas de prevención de la deficiencia de hierro y de la anemia deberían iniciarse, como muy tarde, antes de los cinco meses de edad en una población de estas características.

4. Tanto los procesos inflamatorios como la malaria alteran las magnitudes que permiten valorar el metabolismo del hierro en lactantes expuestos a esta enfermedad.

5. La determinación de la concentración plasmática del receptor soluble de transferrina no contribuye al diagnóstico de la anemia por deficiencia de hierro en los lactantes que viven en áreas endémicas de malaria. Además de la ferropenia, también la hemólisis asociada a la malaria es capaz de elevar la concentración del receptor soluble de transferrina.

**Abdalla S, Weatherall DJ, Wickramasinghe SN, Hughes M.** The anaemia of *Plasmodium falciparum* malaria. Br J Haematol 1980;46:171-83.

**Abdalla SH.** Iron and folate status in Gambian children with malaria. Ann Trop Paediatr 1990;10:265-72.

**Abellan Ripoli A, Alcaraz Quiñonero M, Mengual Cos M, Morcillo Caballero A, Martínez Gutierrez F, Gonzalez Moro Prats L, Rodenas García V.** Prevalencia de ferropénica en la primera infancia y factores relacionados en una comarca de la región de Murcia. An Esp Pediatr 1992;36:265-8.

**Abshire TC.** The anemia of inflammation. A common cause of childhood anemia. Pediatr Clin North Am 1996;43:623-37.

**Abu-Zeid YA, Abdulhadi NH, Theander TG, Hviid L, Saeed BO, Jepsen S, Jensen JB, Bayoumi RA.** Seasonal changes in cell mediated immune responses to soluble *Plasmodium falciparum* antigens in children with haemoglobin AA and haemoglobin AS. Trans R Soc Trop Med Hyg 1992;86:20-2.

**Achidi EA, Salimonu LS, Asuzu MC, Berzins K, Walker O.** Studies on *Plasmodium falciparum* parasitemia and development of anemia in Nigerian infants during their first year of life. Am J Trop Med Hyg 1996;55:138-43.

**Adams WG, Geva J, Coffman J, Palfrey S, Bauchner H.** Anemia and elevated lead levels in underimmunized inner-city children. Pediatrics 1998;101:462.

**Addison GM, Beamish MR, Hales CN, Hodkings M, Jacobs A, Liewelin P.** An immunoradiometric assay for ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron-deficiency and iron overload. J Clin Pathol 1972;25:326-32.

**Adekile AD, Liu JC, Sulzer AJ, Huisman TH.** Frequency of the alpha-thalassemia-2 gene among Nigerian SS patients and its influence on malaria antibody titers. Hemoglobin 1993;17:73-9.

**Adelekan DA, Thurnham DI.** Plasma ferritin concentrations in anaemic children: relative importance of malaria, riboflavin deficiency, and other infections. Am J Clin Nutr 1990;51:453-6.

**Adish AA, Esrey SA, Gyorkos TW, Jean-Baptiste J, Rojhani A.** Effect of consumption of food cooked in iron pots on iron status and growth of young children: a randomised trial. Lancet 1999a;353:712-6.

**Adish AA, Esrey SA, Gyorkos TW, Johns T.** Risk factors for iron deficiency anaemia in preschool children in northern Ethiopia. Public Health Nutr 1999b;2:243-52.

**Afolabi BM, Salako LA, Mafe AG, Ovwigho UB, Rabiou KA, Sanyaolu NO, Ibrahim MM.** Malaria in the first 6 months of life in urban African infants with anemia. Am J Trop Med Hyg 2001;65:822-7.

**Agarwal A, Guindo A, Cissoko Y, Taylor JG, Coulibaly D, Kone A, Kayentao K, Djimde A, Plowe CV, Doumbo O, Wellems TE, Diallo D.** Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in the Dogon of Mali, a West African population with a low prevalence of hemoglobin S. *Blood* 2000;96:2358-63.

**Aghai E, Shabbab E, Quitt M, Froom P.** Discrimination between iron deficiency and heterozygous beta-thalassemia in children. *Am J Clin Pathol* 1986;85:710-2.

**Ahmed F, Khan MR, Jackson AA.** Concomitant supplemental vitamin A enhances the response to weekly supplemental iron and folic acid in anemic teenagers in urban Bangladesh. *Am J Clin Nutr* 2001;74:108-15.

**Ahn J, Johnstone RM.** Origin of a soluble truncated transferrin receptor. *Blood* 1993;81:2442-51.

**Aidoo M, Terlouw DJ, Kolczak MS, McElroy PD, ter Kuile FO, Kariuki S, Nahlen BL, Lal AA, Udhayakumar V.** Protective effects of the sickle cell gene against malaria morbidity and mortality. *Lancet* 2002;359:1311-2.

**Aikawa M.** Human cerebral malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1988;39:3-10.

**Aikawa M, Iseki M, Barnwell JW, Taylor D, Oo MM, Howard RJ.** The pathology of human cerebral malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1990;43:30-7.

**Aikins MK, Pickering H, Alonso PL, D'Alessandro U, Lindsay SW, Todd J, Greenwood BM.** A malaria control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993;87(Suppl 2):25-30.

**Aisen P.** Entry of iron into cells: a new role for the transferrin receptor in modulating iron release from transferrin. *Ann Neurol* 1992;32(Suppl):62-8.

**Akesson A, Bjellerup P, Berglund M, Bremme K, Vahter M.** Serum transferrin receptor: a specific marker of iron deficiency in pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1998;68:1241-6.

**Akesson A, Bjellerup P, Vahter M.** Evaluation of kits for measurement of the soluble transferrin receptor. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:77-81.

**Akobeng AK, Thomas AG.** Iron-fortified formula milk reduces psychomotor decline in high-risk infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999;29:610-1.

**Alfinito F, Calabro V, Cappellini MD, Fiorelli G, Filosa S, Iolascon A, Miraglia del Giudice E, Perrotta S, Migliorati R, Vallone D, Rotoli B, Luzzato L.** Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency and red cell membrane defects: additive or synergistic interaction in producing chronic haemolytic anaemia. *Br J Haematol* 1994;87:148-52.

**Alifrangis M, Lemnge MM, Moon R, Theisen M, Bygbjerg I, Ridley RG, Jakobsen PH.** IgG reactivities against recombinant Rhoptry-Associated Protein-1 (rRAP-1) are associated with mixed *Plasmodium* infections and protection against disease in

Tanzanian children. *Parasitology* 1999;119:337-42.

**Alonso PL, Linsay SW, Armstrong JRM, Conteh M, Hill AG, David PH, Fegan G, de Francisco A, Hall AJ, Shenton FC, Cham K, Greenwood BM.** The effect of insecticide-treated bed nets on mortality of Gambian children. *Lancet* 1991;333:1499.

**Alonso PL, Linsay SW, Armstrong Schellenberg JRM, Gómez P, Hill AG, David PH, Fegan G, Cham K, Greenwood BM.** A malarial control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa: mortality and morbidity from malaria in the study area. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993a;87:13-7.

**Alonso PL, Linsay SW, Armstrong Schellenberg JRM, Keita K, Gómez P, Shenton FC, Hill AG, David PH, Fegan G, Cham K, Greenwood BM.** A malarial control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa: The impact of the interventions on mortality and morbidity from malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993b;87:37-44.

**Alonso PL, Smith T, Schellenberg JR, Masanja H, Mwankusye S, Urassa H, Bastos de Azevedo I, Chongela J, Kobero S, Menendez C, Hurt N, Thomas MC, Lyimo E, Weiss NA, Hayes R, Kitua AY, López MC, Kilama NL, Teuscher T, Tanner M.** Randomised trial of efficacy of SPf66 vaccine against *Plasmodium falciparum* malaria in children in southern Tanzania. *Lancet* 1994;344:1175-81.

**Allan RJ, Beattie P, Bate C, Boele van Hensbroek M, Morris-Jones S, Greenwood BM, Kwiatkowski D.** Strain variation in tumor necrosis factor induction by parasites from children with acute falciparum malaria. *Infect Immun* 1995;63:1173-5.

**Allen SJ, Bennett S, Riley EM, Rowe PA, Jakobsen PH, O'Donnell A, Greenwood BM.** Morbidity from malaria and immune responses to defined *Plasmodium falciparum* antigens in children with sickle cell trait in The Gambia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1992;86:494-8.

**Allen SJ, Rowe P, Allsopp CE, Riley EM, Jakobsen PH, Hill AV, Greenwood BM.** A prospective study of the influence of alpha thalassaemia on morbidity from malaria and immune responses to defined *Plasmodium falciparum* antigens in Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993;87:282-5.

**Allen J, Backstrom KR, Cooper JA, Cooper MC, Detwiler TC, Essex DW, Fritz RP, Means RT, Meier PB, Pearlman SR, Roitman-Johnson, Seligman PA.** Measurement of soluble transferrin receptor in serum of healthy adults. *Clin Chem* 1998;44:35-9.

**Allen SJ, O'Donnell A, Alexander ND, Mgone CS, Peto TE, Clegg JB, Alpers MP, Weatherall DJ.** Prevention of cerebral malaria in children in Papua New Guinea by southeast Asian ovalocytosis band 3. *Am J Trop Med Hyg* 1999;60:1056-60.

**Allen LH, Rosado JL, Casterline JE, López P, Muñoz E, García OP, Martínez H.** Lack of hemoglobin response to iron supplementation in anemic Mexican preschoolers with multiple micronutrient deficiencies. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1485-94.

**Allison AC.** Parasitological reviews: malaria in carriers of the sickle-cell trait and in

newborn children. *Exp Parasitol* 1957;6:418-47.

**Alvarez L, Menéndez C, Quintó LI, Giménez N, Fernández R, Kahigwa E, Ballesta AM, Alonso PL.** La infección por malaria aumenta la concentración sérica del receptor soluble de transferrina en los niños menores de un año de una zona rural del sur de Tanzania. II Congreso de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional, enero 2000, Sitges; p. 22.

**American Academy of Pediatrics.** Committee on Nutrition. Iron fortification of infant formulas. *Pediatrics* 1999;104:119-23.

**Anderson BB, Scattoni M, Perry GM, Galvan P, Giuberti M, Buonocore G, Vullo C.** Is the flavin-deficient red blood cell common in Maremma, Italy, an important defense against malaria in this area? *Am J Hum Genet* 1994;55:975-80.

**Anderson BB, Corda L, Perry GM, Pilato D, Giuberti M, Vullo C.** Deficiency of two red-cell flavin enzymes in a population in Sardinia: was glutathione reductase deficiency specifically selected for by malaria? *Am J Hum Genet* 1995a;57:674-81.

**Anderson SL, Berman J, Kuschner R, Wesche D, Magill A, Wellde B, Schneider I, Dunne M, Schuster BG.** Prophylaxis of *Plasmodium falciparum* malaria with azithromycin administered to volunteers. *Ann Intern Med* 1995b;123:771-3.

**Andrews NC.** Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999;341:1986-95.

**Andrews NC.** Iron metabolism: iron deficiency and iron overload. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2000;1:75-98.

**Angeles IT, Schultink WJ, Matulessi P, Gross R, Sastroamidjojo S.** Decreased rate of stunting among anemic Indonesian preschool children through iron supplementation. *Am J Clin Nutr* 1993;58:339-42.

**Angeles-Agdeppa I, Schultink W, Sastroamidjojo S, Gross R, Karyadi D.** Weekly micronutrient supplementation to build iron stores in female Indonesian adolescents. *Am J Clin Nutr* 1997;66:177-83.

**Anstey NM, Granger DL, Hassanali MY, Mwaikambo ED, Duffy PE, Weinberg JB.** Nitric oxide, malaria, and anemia: inverse relationship between nitric oxide production and hemoglobin concentration in asymptomatic, malaria-exposed children. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:249-52.

**Anttila R, Cook JD, Siimes MA.** Body iron stores in relation to growth and pubertal maturation in healthy boys. *Br J Haematol* 1997;96:12-8.

**Aranceta Bartrina J, Perez Rodrigo C, Marzana Sanz I, Egileor Gurtubai I, Gondra Rezola J, Gonzalez de Galdeano L, Saenz de Buruaga Renobales J.** Prevalencia de anemia ferropénica en el País Vasco. *Aten Primaria* 1998;22:353-61.

**Aremu CY.** Changes in serum transferrin and iron concentrations in humans suffering from malaria with parasitaemia. *Ann Trop Med Parasitol* 1989;83:517-20.



**Arija Val V, Salas Salvado J, Fernandez Ballart J, Martí-Henneberg C.** Resolución espontánea de la carencia bioquímica en hierro, sin relación manifiesta con la alimentación y el crecimiento, en niños extraídos al azar de una población sana. *An Esp Pediatr* 1990;33:21-6.

**Arija Val V, Fernandez Ballart J, Salas Salvado J.** Carencia de hierro y anemia ferropénica en la población española. *Med Clin* 1997;109:425-30.

**Arvin B, Neville LF, Barone FC, Feuerstein GZ.** Brain injury and inflammation. A putative role of TNF alpha. *Ann N Y Acad Sci* 1995;765:62-71.

**Ashby D.** Can iron supplementation improve cognitive functioning?. *Lancet* 1996;348:973.

**Ashley-Koch A, Yang Q, Olney RS.** Sick cell hemoglobin (HbS) allele and sick cell disease: a HuGE review. *Am J Epidemiol* 2000;151:839-45.

**Asobayire FS, Adou P, Davidsson L, Cook JD, Hurrell RF.** Prevalence of iron deficiency with and without concurrent anemia in population groups with high prevalences of malaria and other infections: a study in Cote d'Ivoire. *Am J Clin Nutr* 2001;74:776-82.

**Aufricht C, Ties M, Wimmer M, Haschke F, Pietschnig B, Herkner K.** Iron supplementation in children after cardiopulmonary bypass for surgical repair of congenital heart disease. *Pediatr Cardiol* 1994;15:167-9.

**Aukett MA, Parks A, Scott PH, Wharton BA.** Treatment with iron increases weight gain and psychomotor development. *Arch Dis Child* 1986;61:849-57.

**Axemo P, Liljestrand J, Bergström S, Gebre-Medhin M.** Aetiology of late fetal death in Maputo. *Gynecol Obstet Invest* 1995;39:103-9.

**Ayatse JO, Ekanem EE.** *Plasmodium falciparum* malaria: its effects on some haematological parameters in normal and sick cell Nigerian children. *Trop Med Parasitol* 1994;45:219-22.

**Babiker HA, Satti G, Walliker D.** Genetic changes in the population of *Plasmodium falciparum* in a Sudanese village over a three-year period. *Am J Trop Med Hyg* 1995;53:7-15.

**Babiker HA, Ranford-Cartwright LC and Walliker D.** The epidemiology of multiple *Plasmodium falciparum* infections. Genetic structure and dynamics of *Plasmodium falciparum* infections in the Kilombero region of Tanzania. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999;93 (Suppl 1):11-4.

**Baird JK, Jones TR, Danudirgo EW, Annis BA, Bangs MJ, Basri H, Purnomo, Masbar S.** Age-dependent acquired protection against *Plasmodium falciparum* in people having two years exposure to hyperendemic malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1991;45:65-76.

- Bakker AJ.** Influence of monoclonal immunoglobulins in direct determinations of iron in serum. *Clin Chem* 1991;37:690-4.
- Bali PK, Aisen P.** Receptor-modulated iron release from transferrin: differential effects on N- and C-terminal sites. *Biochemistry* 1991;30:9947-52.
- Bali PK, Aisen P.** Receptor-induced switch in site-site cooperativity during iron release by transferrin. *Biochemistry* 1992;31:3963-7.
- Ballin A, Berar M, Rubinstein U, Kleter Y, Hershkovitz A, Meytes D.** Iron state in female adolescents. *Am J Dis Child* 1992;146:803-5.
- Ballou SP, Lozanski G.** Induction of inflammatory cytokine release from cultured human monocytes by C-reactive protein. *Cytokine* 1992;4:361-8.
- Bangchang KN, Songsaeng W, Thanavibul A, Choroenlarp P, Karbwang J.** Pharmacokinetics of primaquine in G6PD deficient and G6PD normal patients with vivax malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994;88:220-2.
- Basco LK, Thor R, Le Bras J.** Confused malaria chemoprophylaxis. *Lancet* 1994;343:550-1.
- Baumann Durer S, Seifert B, Michel B, Ruegg R, Fehr J.** Prediction of iron deficiency in chronic inflammatory rheumatic disease anaemia. *Br J Haematol* 1995;91:820-6.
- Baynes R, Bezwoda W, Bothwell T, Kahn Q, Mansoor N.** The non-immune inflammatory response: serial changes in plasma iron, iron-binding capacity, lactoferritin, ferritin and C-reactive protein. *Scand J Clin Lab Invest* 1986;46:695-704.
- Baynes RD, Bothwell TH.** Iron deficiency. *Ann Rev Nutr* 1990;10:133-48.
- Baynes RD, Shih YJ, Cook JD.** Production of soluble transferrin receptor by K562 erythroleukaemia cells. *Br J Haematol* 1991;78:450-55.
- Baynes RD, Shih YJ, Hudson BG, Cook JD.** Production of the serum form of the transferrin receptor by a cell membrane-associated serine protease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1993;204:65-9.
- Baynes RD, Skikne BS, Cook JD.** Circulating transferrin receptors and assessment of iron status. *J Nutr Biochem* 1994a;5:322-30.
- Baynes RD, Cook JD, Bothwell TH, Friedman BM, Meyer TE.** Serum transferrin receptor in hereditary hemochromatosis and African siderosis. *Am J Hematol* 1994b;45:288-92.
- Baynes RD, Shih YJ, Cook JD.** Mechanism of production of the serum transferrin receptor. *Adv Exp Med Biol* 1994c;356:61-8.
- Baynes RD.** Transferrin reduces the production of soluble transferrin receptor. *Proc Soc Exp Biol Med* 1995;209:286-94.

**Baynes RD.** Refining the assessment of body iron status. *Am J Clin Nutr* 1996a;64:793-4.

**Baynes RD.** Assessment of iron status. *Clin Biochem* 1996b;29:209-15.

**Bazzino O, Ferreiros ER, Pizarro R, Corrado G.** C-reactive protein and the stress tests for the risk stratification of patients recovering from unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2001;87:1235-9.

**Beadle C, Long GW, Weiss WR, McElroy PD, Maret SM, Oloo AJ, Hoffman SL.** Diagnosis of malaria by detection of *Plasmodium falciparum* HRP-2 antigen with a rapid dipstick antigen-capture assay. *Lancet* 1994;343:564-8.

**Beadle C, McElroy PD, Oster CN, Beier JC, Oloo AJ, Onyango FK, Chumo DK, Bales JD, Sherwood JA, Hoffman SL.** Impact of transmission intensity and age on *Plasmodium falciparum* density and associated fever: implications for malaria vaccine trial design. *J Infect Dis* 1995;172:1047-54.

**Beard J.** One person's view of iron deficiency, development and cognitive function. *Am J Clin Nutr* 1995;62:709-10.

**Beard J, Borel M, Peterson FJ.** Changes in iron status during weight loss with very-low-energy diets. *Am J Clin Nutr* 1997;66:104-10.

**Beard JL.** Weekly iron intervention: the case for intermittent iron supplementation. *Am J Clin Nutr* 1998;68:209-12.

**Beard JL.** Effectiveness and strategies of iron supplementation during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000;71(Suppl):1288-94.

**Beaton GH, Corey PN, Steel C.** Conceptual and methodological issues regarding the epidemiology of iron deficiency and their implications for studies of the functional consequences of iron deficiency. *Am J Clin Nutr* 1989;50 (Suppl 3):575-85.

**Beck HP, Felger I, Kabintik S, Tavul L, Genton B, Alexander N, Bhatia KK, al-Yaman F, Hii J, Alpers M.** Assessment of the humoral and cell-mediated immunity against the *Plasmodium falciparum* vaccine candidates circumsporozoite protein and SPf66 in adults living in highly endemic malarious areas of Papua New Guinea. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:356-64.

**Beck HP, Felger I, Vounatsou P, Hirt R, Tanner M, Alonso P, Menendez C.** Effect of iron supplementation and malaria prophylaxis in infants on *Plasmodium falciparum* genotypes and multiplicity of infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999;93 (Suppl 1):41-5.

**DeBeer FC, Kirsten GF, Gie RP, Beyers N, Strachan AF.** Value of C-reactive protein measurement in tuberculous, bacterial and viral meningitis. *Arch Dis Child* 1984;59:653-6.

**Beesley R, Filteau S, Tomkins A, Doherty T, Ayles H, Reid A, Ellmar.** Impact of acute malaria on plasma concentrations of transferrin receptor. *Trans R Soc Trop Med Hyg*

2000;94:295-8.

**Beguín Y.** The soluble transferrin receptor: biological aspects and clinical usefulness as quantitative measure of erythropoiesis. *Haematologica* 1992;77:1-10.

**Beguín Y, Clemons GK, Pootrakul P, Fillet G.** Quantitative Assessment of Erythropoiesis and Functional Classification of Anemia Based on Measurements of Serum Transferrin Receptor and Erythropoietin. *Blood* 1993a;81:1067-76.

**Beguín Y, Loo M, R'Zik S, Sautois B, Lejeune F, Rorive G, Fillet G.** Early prediction of response to recombinant human erythropoietin in patients with the anemia of renal failure by serum transferrin receptor and fibrinogen. *Blood* 1993b;82:2010-6.

**Beguín Y, Grek V, Weber G, Sautois B, Paquot N, Pereira M, Scheen A, Lefèbvre P, Fillet G.** Acute functional iron deficiency in obese subjects during a very-low-energy all-protein diet. *Am J Clin Nutr* 1997;66:75-9.

**Beldjord K, Benlatrache K, Colonna R.** Assessment of iron stores in inflammation by assay of serum ferritin concentrations. *BMJ* 1982;284:511.

**Bellamy MC, Gedney JA.** Unrecognised iron deficiency in critical illness. *Lancet* 1998;352:1903.

**Benjamin JT, Dickens MD, Ford RF, Hawkes DL, Machen CW, Perriello VA, Reynolds DN.** Normative data of hemoglobin concentration and free erythrocyte protoporphyrin in a private pediatric practice: a 1990 update. *Clin Pediatr* 1991;30:74-6.

**Bergamaschi G.** Molecular basis of new disorders of iron metabolism in man. *Haematologica* 1999;84:481-2.

**Berger J, Aguayo VM, San Miguel JL, Lujan C, Tellez W, Traissac P.** Definition and prevalence of anemia in bolivian women of childbearing age living at high altitudes: the effect of iron-folate supplementation. *Nutr Rev* 1997;55:247-56.

**Bergón Jiménez E, Bergón Sendín M.** Transferibilidad de los resultados entre diferentes procedimientos de medida de proteína C reactiva, factores reumatoideos y anticuerpos contra la estreptolisina O. *Quím Clín* 1999;18:253-9.

**Besa EC, Kim PW, Haurani FI.** Treatment of primary defective iron reutilization syndrome: revisited. *Ann Hematol* 2000;79:465-8.

**Best PJ, Gersh BJ.** Cell adhesion molecules and inflammation in acute coronary syndromes: markers and emerging risk factors. *Eur Heart J* 2001;22:1155-9.

**Beutler E.** Red cell enzyme defects as nondiseases and as diseases. *Blood*, 1979;54:1-7.

**Beutler E.** Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *N Engl J Med* 1991;324:169-74.

**Beutler E.** G6PD deficiency. *Blood* 1994; 84:3613-8.

**Bienze U, Sodeinde O, Effiong CE and Luzzatto L.** G6PD deficiency and sickle cell anemia: frequency and features of the association in an African community. *Blood* 1975; 46:591-7.

**Biesma DH, Van de Wiel A, Beguin Y, Kraaijenhagen RJ, Marx JJ.** Post-operative erythropoiesis is limited by the inflammatory effect of surgery on iron metabolism. *Eur J Clin Invest* 1995;25:383-9.

**Black J, Hommel M, Snounou G, Pinder M.** Mixed infections with *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium malariae* and fever in malaria. *Lancet* 1994;343:1095.

**Blake DR, Waterworth RF, Bacon PA.** Assessment of iron stores in inflammation by assay of serum ferritin concentrations. *BMJ* 1981;283:1147-8.

**Blázquez J.** Paludismo: receptividad y riesgo de reintroducción en España. *Medicine (Madrid)* 1986;72:3014-9.

**Blijenberg BG, van Eijk HG.** Standardization and iron assays. *Clin Chem* 1994;40:1988.

**Bloland PB, Ruebush TK, McCormick JB, Ayisi J, Boriga DA, Oloo AJ, Beach R, Hawley W, Lal A, Nahlen B, Udhayakumar V, Campbell CC.** Longitudinal cohort study of the epidemiology of malaria infections in an area of intense malaria transmission I. Description of study site, general methodology, and study population. *Am J Trop Med Hyg* 1999a;60:635-40.

**Bloland PB, Boriga DA, Ruebush TK, McCormick JB, Roberts JM, Oloo AJ, Hawley W, Lal A, Nahlen B, Campbell CC.** Longitudinal cohort study of the epidemiology of malaria infections in an area of intense malaria transmission II. Descriptive epidemiology of malaria infection and disease among children. *Am J Trop Med Hyg* 1999b;60:641-8.

**Blot I, Vovor A.** Les anémies chez l'enfant du tiers monde. *Rev Prat* 1989; 39:2125-7.

**Bogen DL, Duggan AK, Dover GJ, Wilson MH.** Screening for iron deficiency anemia by dietary history in a high-risk population. *Pediatrics* 2000;105:1254-9.

**Bonkovsky HL, Ponka P, Bacon BR, Drysdale J, Grace ND, Tavill AS.** An update on iron metabolism: summary of the fifth international conference on disorders on iron metabolism. *Hepatology* 1996;24:718-29.

**Booth IW, Aukett MA.** Iron deficiency anaemia in infancy and early childhood. *Arch Dis Child* 1997;76:549-53.

**Boreham PFL, Lenahan JK, Port GR, McGregor IA.** Haptoglobin polymorphism and its relationship to malaria infections in The Gambia. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1981;75:193-200.

**Borigato EV, Martinez FE.** Iron nutritional status is improved in Brazilian preterm

infants fed food cooked in iron pots. *J Nutr* 1998;128:855-9.

**Bothwell TH, Baynes RD, MacFarlane BJ, MacPhail AP.** Nutritional iron requirements and food iron absorption. *J Int Med* 1989;226:357-65.

**Bothwell TH.** Overview and mechanisms of iron regulation. *Nutr Rev* 1995;53:237-45.

**Bottius E, Guanziroli A, Trape JF, Rogier C, Konate L, Druilhe P.** Malaria: even more chronic in nature than previously thought; evidence for subpatent parasitaemia detectable by the polymerase chain reaction. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996;90:15-9.

**Boultry MN, Needlman R.** Use of diet history in the screening of iron deficiency. *Pediatrics* 1996;98:1138-42.

**Bouma MJ, Sondorp HE, van der Kaay HJ.** Climate change and periodic epidemic malaria. *Lancet* 1994;343:1440.

**Bouton C, Raveau M, Drapier JC.** Modulation of iron regulatory protein functions. *J Biol Chem* 1996;271:2300-6.

**Bouvier P, Rougemont A, Breslow N, Doumbo O, Delley V, Dicko A, Diakite M, Mauris A, Robert CF.** Seasonality and Malaria in a West African Village: Does high parasite density predict fever incidence? *Am J Epidemiol* 1997;145:850-7.

**Brabin B.** Iron pots for cooking: wishful thinking or traditional common sense? *Lancet* 1999;353:690-1.

**Bradstock K, Matthews J, Benson E, Page F, Bishop J and the Australian Leukaemia Study Group.** Prognostic value of immunophenotyping in acute myeloid leukemia. *Blood* 1994;84:1220-5.

**Braunwald E, Califf RM, Cannon CP, Fox KA, Fuster V, Gibler WB, Harrington RA, King SB 3rd, Kleiman NS, Theroux P, Topol EJ, Van de Werf F, White HD, Willerson JT.** Redefining medical treatment in the management of unstable angina. *Am J Med* 2000;108:41-53

**Breman JG, Steketee RW.** Malaria. En: Last JM, Wallace RB (eds). *Maxcy-Rosenau-Last Public Health and Preventive Medicine*. 13 th ed. Norwalk: Appleton and Lange, 1992: p. 240-53.

**Brittenham GM.** Disorders of iron metabolism: iron deficiency and iron overload. En: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ (eds). *Hematology. Basic Principles and Procedures*. New York: Churchill and Livingstone, 1991.

**Brooks DR, Wang P, Read M, Watkins WM, Sims PF, Hyde JE.** Sequence variation of the hydroxymethyl-dihydropterin pyrophosphokinase: dihydropteroate synthase gene in lines of the human malaria parasite, *Plasmodium falciparum*, with differing resistance to sulfadoxine. *Eur J Biochem* 1994;224:397-405.

**Browne EN, Maude GH, Binka FN.** The impact of insecticide-treated bednets on malaria and anaemia in pregnancy in Kassena-Nankana district, Ghana: a randomized controlled trial. *Trop Med Int Health* 2001;6:667-76.

**Brugnara C, Zurakowski D, DiCanzio J, Boyd T, Platt O.** Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *JAMA* 1999 ;281:2225-30.

**Bruner AB, Joffe A, Duggan AK, Casella JF, Brandt J.** Randomised study of cognitive effects of iron supplementation in non-anaemic iron-deficient adolescent girls. *Lancet* 1996;348:992-6.

**Brunser O, Espinoza J, Araya M, Pacheco I, Cruchet S.** Chronic iron intake and diarrhoeal disease in infants. A field study in a less-developed country. *Eur J Clin Nutr* 1993;47:317-26.

**Buchanan GR.** The tragedy of iron deficiency during infancy and early childhood. *J Pediatr* 1999 ;135:413-5.

**Bunyaratvej A, Butthep P, Kaewkettong P, Yuthavong Y.** Malaria protection in hereditary ovalocytosis: relation to red cell deformability, red cell parameters and degree of ovalocytosis. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997;28 (Suppl 3):38-42.

**Burchard GD, Radloff P, Philipps J, Nkeyi M, Knobloch J, Kremsner PG.** Increased erythropoietin production in children with severe malarial anemia. *Am J Trop Med Hyg* 1995;53:547-51.

**Burgmann H, Looareesuwan S, Kapiotis S, Viravan C, Vanijanonta S, Hollenstein U, Wiesinger E, Presterl E, Winkler S, Graninger W.** Serum levels of erythropoietin in acute *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1996;54:280-3.

**Bzik DJ, Li WB, Horii T, Inselburg J.** Molecular cloning and sequence analysis of the *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase-thymidylate synthase gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:8360-4.

**Caballo Roig N, García P, Valdemoro M, Del Castillo ML, Santos Tapia M, González Vargaz A, Arias Alvarez MA, Serna Saugan C, Merino JM, García Teresa MA, García Cuartero B, Sanchez Baile M.** Prevalencia de anemia en niños y adolescentes de Madrid. *An Esp Pediatr* 1993;39:219-22.

**Cairo G, Pietrangelo A.** Nitric-oxide-mediated activation of iron-regulatory protein controls hepatic iron metabolism during acute inflammation. *Eur J Biochem* 1995;232:358-63.

**Calvo EB, Gnazzo N.** Prevalence of iron deficiency in children aged 9-24 mo from a large urban area of Argentina. *Am J Clin Nutr* 1990;52:534-40.

**Camaschella C, Gonella S, Calabrese R, Vischia F, Roetto A, Graziadei G, Mazza U, Cappellini MD.** Serum erythropoietin and circulating transferrin receptor in thalassemia intermedia patients with heterogeneous genotypes. *Haematologica* 1996;81:397-403.

**Canonne-Hergaux F, Zhang AS, Ponka P, Gros P.** Characterization of the iron transporter DMT1 (NRAMP2/DCT1) in red blood cells of normal and anemic mk/mk mice. *Blood* 2001;98:3823-30.

**Cardoso MA, Ferreira MU, Camargo LM, Szarfarc SC.** Anaemia, iron deficiency and malaria in a rural community in Brazilian Amazon. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:326-32.

**Carlson J, Helmby H, Hill AV, Brewster D, Greenwood BM, Wahlgren M.** Human cerebral malaria: association with erythrocyte rosetting and lack of anti-rosetting antibodies. *Lancet* 1990;336:1457-60.

**Carmel R, Skikne BS.** Serum transferrin receptor in the megaloblastic anemia of cobalamin deficiency. *Eur J Haematol* 1992;49:246-50.

**Carpani G, Buscaglia M, Ghisoni L, Pizzotti D, Vozzo N, Bellotti M, Moroni G.** Soluble transferrin receptor in the study of fetal erythropoietic activity. *Am J Hematol* 1996;52:192-6.

**Cartwright GE, Lee GR.** The anaemia of chronic disorders. *Br J Haematol* 1971;21:147-52.

**Cavill I.** Iron status as measured by serum ferritin: the marker and its limitations. *Am J Kidney Dis* 1999;34(Suppl 2):12-7.

**Cavusoglu Y, Gorenek B, Alpsoy S, Unalir A, Ata N, Timuralp B.** Evaluation of C-reactive protein, fibrinogen and antithrombin-III as risk factors for coronary artery disease. *Isr Med Assoc J* 2001;3:13-6

**Cazzola M, Ponchio L, de Benedetti F, Ravelli A, Rosti V, Beguin Y, Invernizzi R, Barosi G, Martini A.** Defective iron supply for erythropoiesis and adequate endogenous erythropoietin production in the anemia associated with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Blood* 1996;87:4824-30.

**Centers for Disease Control and Prevention.** Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. *MMWR* 1998;47:1-29.

**Clark LA, Chaudhri G.** Tumour necrosis factor may contribute to the anaemia of malaria by causing dyserythropoiesis and erythrophagocytosis. *Br J Haematol* 1988;70: 99-103.

**Clarke SE, Bogh C, Brown RC, Pinder M, Walraven GE, Lindsay SW.** Do untreated bednets protect against malaria? *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001;95:457-62.

**Clyde DF.** Drug resistance of malaria parasites in Tanzania. *E Afr Med J*.1966;43:405-8.

**Coenen JL, van Dieijen-Visser MP, van Pelt J, van Deursen CT, Fickers MM, van Wersch JW, Brombacher PJ.** Measurements of serum ferritin used to predict concentrations of iron in bone marrow in anemia of chronic disease. *Clin Chem* 1991;37:560-3.



**Cohen JH, Haas JD.** The comparison of mixed distribution analysis with a three-criteria model as a method for estimating the prevalence of iron deficiency anaemia in Costa Rican children aged 12-23 months. *Int J Epidemiol* 1999a;28:82-9.

**Cohen AR.** Choosing the best strategy to prevent childhood iron deficiency. *JAMA* 1999b;281:2247-8.

**Cook JD, Lipschitz D, Miles L, Finch CA.** Serum ferritin as measure of iron stores in normal subjects. *Am J Clin Nutr* 1974;27:681-7.

Cook JD, Finch CA. Assessing iron status of a population. *Am J Clin Nutr* 1979;32:2115-9.

**Cook JD, Skikne BS, Lynch SR, Reusser ME.** Estimates of iron sufficiency of the US population. *Blood* 1986;68:726-31.

**Cook JD, Skikne BS.** Iron deficiency: definition and diagnosis. *J Intern Med* 1989;226:349-55.

**Cook JD, Dassenko SA, Whittaker P.** Calcium supplementation: effect on iron absorption. *Am J Clin Nutr* 1991;53:106-11.

**Cook JD, Skikne BS, Baynes RD.** Serum transferrin receptor. *Annu Rev Med* 1993;44:63-74.

**Cook JD.** Iron-deficiency anaemia. *Baillieres Clin Haematol* 1994a;7:787-804.

**Cook JD, Baynes RD, Skikne BS.** The physiological significance of circulating transferrin receptors. *Adv Exp Med Biol* 1994b;352:119-26.

**Cook JD.** Iron supplementation: is less better? *Lancet* 1995;346:587.

**Cooper MJ, Zlotkin SH.** Day-to-day variation of transferrin receptor and ferritin in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1996;64:738-42.

**Corachan M, Oomen HA Jr, Kigadye FC, Morris H.** Sicklers surviving childhood in Tanzania. *Trop Geogr Med* 1979;31:531-5.

**Cot M, le Hesran JY, Miaillhes P, Roisin A, Fievet N, Barro D, Etya'Ale D, Deloron P, Carnevale P, Breart G.** Effect of chloroquine prophylaxis during pregnancy on maternal haematocrit. *Ann Trop Med Parasitol* 1998;92:37-43.

**Cotton F, Thiry P, Boeynaems J.** Measurement of soluble transferrin receptor by immunoturbidimetry and immunonephelometry. *Clin Biochem* 2000;33:263-7.

**Cox LA, Adrian GS.** Posttranscriptional regulation of chimeric human transferrin genes by iron. *Biochemistry* 1993;32:4738-45.

**Creasey A, Fenton B, Walker A, Thaithong S, Oliveira S, Mutambu S, Walliker D.** Genetic diversity of *Plasmodium falciparum* shows geographical variation. *Am J Trop Med Hyg* 1990;42:403-13.

**Curtis C, Mnzava A.** Treated nets vs house spraying. *Bull World Health Organ* 2001;79:687.

Chagnon A, Yao N, Carli P, Paris JF, Marlier S, Pierre C, Bussiere H. La proteine C-reactive dans l'acces palustre. *Presse Med* 1992;21:217-8.

**Chalmers AH, Peake MJ.** Underestimation of serum iron with automated methods. *Clin Chem* 1995;41:1199-201.

**Chambers RE, Whicher JT, Dieppe PA.** Acute phase proteins in inflammatory diseases. *Clin Diagn Lab* 1989;1:29-37.

**Chambers RE, Hutton CW, Dieppe PA, Whicher JT.** Comparative study of C reactive protein and serum amyloid A protein in experimental inflammation. *Ann Rheum Dis* 1991;50:677-9.

**Chan RY, Ponka P, Schulman HM.** Transferrin-receptor-independent but iron-dependent proliferation of variant Chinese hamster ovary cell. *Expl Cell Res* 1992;202:326-36.

**Chan RY, Seiser C, Schulman HM, Kuhn L.C & Ponka P.** Regulation of transferrin receptor mRNA expression. Distinct regulatory features in erythroid cells. *European J Biochem* 1994;220:683-92.

**Chandramohan D, Jaffar S, Greenwood B.** Use of clinical algorithms for diagnosing malaria. *Trop Med Int Health* 2002;7:45-52.

**Chen Q, Connor JR, Beard JL.** Brain iron, transferrin and ferritin concentrations are altered in developing iron-deficient rats. *J Nutr* 1995;125:1529-35.

**Chew DP, Bhatt DL, Robbins MA, Penn MS, Schneider JP, Lauer MS, Topol EJ, Ellis SG.** Incremental prognostic value of elevated baseline C-reactive protein among established markers of risk in percutaneous coronary intervention. *Circulation* 2001;104:992-7.

**Childs F, Aukett A, Darbyshire P, Ilett S, Livera LN.** Dietary education and iron deficiency anaemia in the inner city. *Arch Dis Child* 1997;76:144-7.

**Chippaux JP, Massougbedji A, Boulard JC, Akogbeto M.** Etude de la morbidite palustre et de la gravite des acces pernecieux chez les porteurs du trait drepanocytaire. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1992;40:240-5.

**Chishti AH, Palek J, Fisher D, Maalouf GJ, Liu S.** Reduced invasion and growth of *Plasmodium falciparum* into elliptocytic red blood cells with a combined deficiency of protein 4.1, glycoprotein C, and p55. *Blood* 1996;87:3462-9.

**Choi JW, Pai SH, Im MW, Kim SK.** Change in transferrin receptor concentrations with age. *Clin Chem* 1999;45:1562-3.

**Christian P.** Antenatal iron supplementation as a child survival strategy. *Am J Clin Nutr* 1998;68:404-5.

**D'Alessandro U, Olaleye BO, McGuire W, Langerock P, Bennett S, Aikins MK, Thomson MC, Cham MK, Cham BA, Greenwood BM.** Mortality and morbidity from malaria in Gambian children after introduction of an impregnated bednet programme. *Lancet* 1995;345:479-83.

**Dalton MA, Sargent JD, O'Connor GT, Olmstead EM, Klein RZ.** Calcium and phosphorus supplementation of iron-fortified infant formula: no effect on iron status of healthy full-term infants. *Am J Clin Nutr* 1997;65:921-6.

**Daly A.** Prevention of anaemia in inner-city toddlers by the use of a follow-on formula. *Prof Care Mother Child* 1997;7:141-6.

**Daly A, MacDonald A, Aukett A, Williams J, Wolf A, Davidson J, Booth IW.** Prevention of anaemia in inner city toddlers by an iron supplemented cows' milk formula. *Arch Dis Child* 1996;75:9-16.

**Dallman PR, Simes MA.** Percentile curves for hemoglobin and red volume in infancy and childhood. *J Pediatr* 1979;94:26-31.

**Dallman PR, Siimes MA, Stekel A.** Iron deficiency in infancy and childhood. *Am J Clin Nutr* 1980;33:86-118.

**Dallman PR, Reeves JD, Driggers DA, Lo EYT.** Diagnosis of iron deficiency: the limitations of laboratory tests in predicting response to iron treatment in 1-year-old infants. *J Pediatr* 1981;98:376-81.

**Dallman PR, Yip R, Johanson C.** Prevalence and causes of anemia in the United States, 1976-1980. *Am J Clin Nutr* 1984;39:437-45.

**Dallman PR.** Changing characteristics of childhood anemia. *J Pediatr* 1989a;114:161-70.

**Dallman PR.** Iron deficiency: does it matter? *J Intern Med* 1989b;226:367-72.

**Dallman PR, Yip R, Oski FA.** Iron deficiency and related nutritional anemias. En: Nathan DG, Oski FA (eds). *Hematology of infancy and childhood*. Philadelphia: WB Sanders: 1993a:p. 413-50.

**Dallman PR.** Nutritional anemias in childhood. En: Suskind RM, Lewinter-Suskind L (eds). *Textbook of pediatric nutrition*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1993b:p. 91-105.

**Das BS, Thurnham DI, Das DB.** Influence of malaria on markers of iron status in children: Implications for interpreting iron status in malaria-endemic communities. *Br J Nutr* 1997;78:751-60.

**Das BS, Nanda NK, Rath PK, Satapathy RN, Das DB.** Anaemia in acute, *Plasmodium falciparum* malaria in children from Orissa state, India. *Ann Trop Med*

Parasitol 1999;93:109-18.

**Daubersies P, Sallenave-Sales S, Magne S, Trape JF, Contamin H, Fandeur T, Rogier C, Mercereau-Puijalon O, Druilhe P.** Rapid turnover of *Plasmodium falciparum* populations in asymptomatic individuals living in a high transmission area. *Am J Trop Med Hyg* 1996;54:18-26.

**De Andraca I, Castillo M, Walter T.** Psychomotor development and behavior in iron-deficient anemic infants. *Nutr Rev* 1997;55:125-32.

**De Paoli Vitali E, Ricci G, Perini L, Malacarne F, Vedovato M, Guerra G, Dapporto M, Gilli P.** The determination of plasma transferrin receptor as good index of erythropoietic activity in renal anemia and after renal transplantation. *Nephron* 1996;72:552-6.

**De Pee S, West CE, Muhilal, Karyadi D, Hautvast JG.** Lack of improvement in vitamin A status with increased consumption of dark-green leafy vegetables. *Lancet* 1995;346:75-81.

**De Sutter J, De Buyzere M, Gheeraert P, Van de Wiele C, Voet J, De Pauw M, Dierckx R, De Backer G, Taeymans Y.** Fibrinogen and C-reactive protein on admission as markers of final infarct size after primary angioplasty for acute myocardial infarction. *Atherosclerosis* 2001;157:189-96.

**De Vizia B, Poggi V, Conenna R, Fiorillo A, Scippa L.** Iron absorption and iron deficiency in infants and children with gastrointestinal diseases. *J Ped Gastroenterol Nutr* 1992;14:21-6.

**Deira J, Martín S, Sánchez B, Martín J, Taberbero M.** Receptores séricos de transferrina y ferrocínica con Fe59 como indicadores de la actividad eritropoyética en pacientes con IRC en HD tratados con EPOHu. *Nefrología* 1996; XVI (Supl 1): 86.

**Del Poeta G, Venditti A, Aronica G, Buccisano F, Tamburini A, Epiceno AM, Amadori S.** Quantitative analysis of P-glycoprotein, bcl-2 and transferrin receptor allows the stratification of acute myeloid leukemia patients within different prognostic risk classes. *Eur J Histochem* 1997;41 Suppl 2:11-2.

**Deloron P, Ringwald P, Luty AJ, Renaut A, Minh TN, Mbessy JR, Millet P.** Relationships between malaria prevalence and malaria-related morbidity in school children from two villages in central Africa. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:99-102.

**Delley V, Bouvier P, Breslow N, Doumbo O, Sagara I, Diakite M, Mauris A, Dolo A, Rougemont A.** What does a single determination of malaria parasite density mean? A longitudinal survey in Mali. *Trop Med Int Health* 2000;5:404-12.

**DeMaeyer E, Adiels-Tegman M.** The prevalence of anaemia in the world. *World Health Stat Q* 1985;38:302-16.

**DeMaeyer EM, Dallman P, Gurney JM.** Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care. A guide for health administrators and programme

managers. World Health Organisation, Geneva, 1989.

**Dewey KG, Romero-Abal ME, Quan de Serrano J, Bulux J, Peerson JM, Engle P, Solomons NW.** Effects of discontinuing coffee intake on iron status of iron-deficient Guatemalan toddlers: a randomized intervention study. *Am J Clin Nutr* 1997a;66:168-76.

**Dewey KG, Romero-Abal ME, Quan de Serrano J, Bulux J, Peerson JM, Engle P, Solomons NW.** A randomized intervention study of the effects of discontinuing coffee intake on growth and morbidity of iron-deficient Guatemalan toddlers. *J Nutr* 1997b;127:306-13.

**Di Gregorio F, Pizzarelli G, Passero E, Cannella A, Leonardi C.** Microcytosis. A hematological characteristic common to diverse diseases. *Minerva Pediatr* 1998;50:23-37.

**Dinarello CA.** Interleukin-1 and the pathogenesis of the acute-phase response. *N Engl J Med* 1984;311:1413-8.

**Dirren H, Logman MHGM, Barclay CV, Freire WB.** Altitude correction for hemoglobin. *Eur J Clin Nutr* 1994;48:625-32.

**Disler PB, Lynch SR, Charlton RW, Torrance JD, Bothwell TH.** The effect of tea on iron absorption. *Gut* 1975;16:193-200.

**Doo YC, Kim DM, Oh DJ, Ryu KH, Rhim CY, Lee Y.** Effect of beta blockers on expression of interleukin-6 and C-reactive protein in patients with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 2001;88:422-4.

**Dörmer P, Dietrich M, Kern P, Horstmann RD.** Ineffective erythropoiesis in acute human *Plasmodium falciparum* malaria. *Blut* 1983;46:279-88.

**Doumbo O, Toure A, Coulibaly B, Koita O, Traore B, Dolo A, Diallo M, Diallo AN, Quilici M.** Incidence du paludisme et hemoglobinose S en milieu hospitalier pediatrique bamakois au Mali. *Med Trop (Mars)* 1992;52:169-74.

**Duggan MB, Steel G, Elwys G, Harbottle L and Noble C.** Iron status, energy intake, and nutritional status of healthy young asian children. *Arch Dis Child* 1991;66:1386-9.

**Dutra-de-Oliveira JE, Ferreira JB, Vasconcellos VP, Marchini JS.** Drinking water as an iron carrier to control anemia in preschool children in a day-care center. *J Am Coll Nutr* 1994;13:198-202.

**Dutra-de-Oliveira JE, Marchini JS, Desai I.** Fortification of drinking water with iron: a new strategy for combating iron deficiency in Brazil. *Am J Clin Nutr* 1996;63:612-4.

**Dutta S, Ware LA, Barbosa A, Ockenhouse CF, Lanar DE.** Purification, characterization, and immunogenicity of a disulfide cross-linked *Plasmodium vivax* vaccine candidate antigen, merozoite surface protein 1, expressed in *Escherichia coli*. *Infect Immun* 2001;69:5464-70.

**Ece A, Uyanik BS, Iscan A, Ertan P, Yigitoglu MR.** Increased serum copper and decreased serum zinc levels in children with iron deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res* 1997;59:31-9.

**Eckfeldt JH, Witte DL.** Serum iron: would analytical improvement enhance patient outcome?. *Clin Chem* 1994;40:505-7.

**Eden AN, Mir MA.** Iron deficiency in 1- to 3-year-old children. A pediatric failure?. *Arch Pediatr Adolesc Med* 1997;151:986-8.

**Efferth T, Fabry U, Glatte P, Osieka R.** Increased induction of apoptosis in mononuclear cells of a glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patient. *J Mol Med* 1995;73:47-9.

**Egan TJ, Zak O, Aisen P.** The anion requirement for iron release from transferrin is preserved in the receptor-transferrin complex. *Biochemistry* 1993;32:8162-7.

**Eisenstein RS, Blemings KP.** Iron regulatory proteins, iron responsive elements and iron homeostasis. *J Nutr* 1998;128:2295-8.

**Ekström EM, Kavishe FP, Habicht JP, Frongillo EA, Rasmussen KM, Hemed L.** Adherence to iron supplementation during pregnancy in Tanzania: determinants and hematologic consequences. *Am J Clin Nutr* 1996;64:368-74.

**Ekvall H, Premji Z, Bjorkman A.** Micronutrient and iron supplementation and effective antimalarial treatment synergistically improve childhood anaemia. *Trop Med Int Health* 2000;5:696-705.

**Ekvall H, Arese P, Turrini F, Ayi K, Mannu F, Premji Z, Bjorkman A.** Acute haemolysis in childhood falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001;95:611-7.

**Elagib AA, Kider AO, Akerstrom B, Elbashir MI.** Association of the haptoglobin phenotype (1-1) with falciparum malaria in Sudan. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998;92:309-11.

**Elbourne D, Dezateux C.** Screening toddlers for iron deficiency anaemia in general practice. Effect of delaying timing of clamping of cord is being studied. *BMJ* 1998;316:145-6.

**Eldibany MM, Totonchi KF, Joseph NJ, Rhone D.** Usefulness of certain red blood cell indices in diagnosing and differentiating thalassemia trait from iron-deficiency anemia. *Am J Clin Pathol* 1999;111:676-82.

**Elhassan IM, Hviid L, Satti G, Akerstrom B, Jakobsen PH, Jensen JB, Theander TG.** Evidence of endothelial inflammation, T cell activation, and T cell reallocation in uncomplicated *Plasmodium falciparum* malaria. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:372-9.

**Emond AM, Hawkins N, Pennock C, Golding J.** Haemoglobin and ferritin concentrations in infants at 8 months of age. *Arch Dis Child* 1996;74:36-9.

**Engelhardt T, Cuthbertson BH.** Markers of myocardial damage and inflammation in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med* 2001;344:688-9.

**Enguix Armada A, Pinto Sierra I, Zanabili Boadugky Y.** Utilidad de las concentraciones séricas de hierro (II+III), transferrina y ferritina en el diagnóstico de la anemia ferropénica y de la anemia de las enfermedades crónicas. *Quim Clin* 1996;15:416-9.

**Enns Ca, Sussman HH.** Similarities between the transferrin receptor proteins on human reticulocytes and human placentae. *J Biol Chem* 1981;256:126-30.

**Eriksson B, Hellgren U, Rombo L.** Changes in erythrocyte sedimentation rate, C-Reactive protein and hematological parameters in patients with acute malaria. *J Infect Dis* 1989;21:435-41.

**Expert Scientific Working Group.** Summary of a report on assessment of the iron nutritional status of the United States population. *Am J Clin Nutr* 1985;42:1318-30.

**Faber M, Benade AJ.** Nutritional status and dietary practices of 4-24-month-old children from a rural South African community. *Public Health Nutr* 1999;2:179-85.

**Facer CA.** Erythrocytes carrying mutations in spectrin and protein 4.1 show differing sensitivities to invasion by *Plasmodium falciparum*. *Parasitol Res* 1995;81:52-7.

**Faich GA, Mason J.** Iron deficiency in malaria endemic area El Salvador. *Am J Trop Med Hyg* 1975;24:161-7.

**Fairchild MW, Haas JP, Habitch JP.** Iron deficiency and behavior: criteria for testing causality. *Am J Clin Nutr* 1989;50 (Suppl 3):566-74.

**Färnert A, Snounou G, Rooth I, Björkman A.** Daily dynamics of *Plasmodium falciparum* subpopulations in asymptomatic children in a holoendemic area. *Am J Trop Med Hyg* 1997;56:538-47.

**Farrell RJ, La Mont JT.** Rational approach to iron-deficiency anaemia in premenopausal women. *Lancet* 1998;352:1953-4.

**Farreras Valentí P, Rozman C.** *Medicina Interna*. 14<sup>a</sup> ed. Madrid: Harcourt, 2000.

**Fawzi WW, Herrera MG, Spiegelman DL, El Amin A, Nestel P, Mohamed KA.** A prospective study of malnutrition in relation to child mortality in the Sudan. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1062-9.

**Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F, Domingo R Jr, Ellis MC, Fullan A, Hinton LM, Jones NL, Kimmel BE, Kronmal GS, Lauer P, Lee VK, Loeb DB, Mapa FA, McClelland E, Meyer NC, Mintier GA, Moeller N, Moore T, Morikang E, Wolff RK.** A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399-408.

**Federici E, Palazzino G, Nicoletti M, Galeffi C.** Antiplasmodial activity of the alkaloids of *Peschiera fuchsiaefolia*. *Planta Med* 2000;66:93-5.

**Feelders RA, Vreugdenhil G, van Dijk JP, Swaak AJ, van Eijk HG.** Decreased affinity and number of transferrin receptors on erythroblasts in the anemia of rheumatoid arthritis. *Am J Hematol* 1993;43:200-4.

**Feelders RA, Vreugdenhil G, Eggermont AM, Kuiper-Kramer PA, van Eijk HG, Swaak AJ.** Regulation of iron metabolism in the acute-phase response: interferon gamma and tumour necrosis factor alpha induce hypoferraemia, ferritin production and a decrease in circulating transferrin receptors in cancer patients. *Eur J Clin Invest* 1998;28:520-7.

**Feelders RA, Kuiper-Kramer EP, van Eijk HG.** Structure, function and clinical significance of transferrin receptors. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:1-10.

**Feightner JW.** Prevention of iron deficiency anemia in infants. En: Canadian Task Force on the Periodic Health Examination (eds). *The Canadian guide to clinical preventive health care*. Ottawa: Health Canada, 1994;p. 244-55.

**Felger I, Smith T, Edoh D, Kitua A, Alonso P, Tanner M, Beck HP.** The epidemiology of multiple *Plasmodium falciparum* infections.6 Multiple *Plasmodium falciparum* infections in Tanzanian infants. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999;93 (Suppl 1):29-34.

**Ferguson BJ, Skikne BS, Simpson KM, Baynes RD, Cook JD.** Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med* 1992;119:385-90.

**Finch SC, Finch CA.** Idiopathic hemochromatosis, an iron storage disease. Iron metabolism in hemochromatosis. *Medicine (Baltimore)* 1955;34:381-430.

**Fishbane S.** Review of issues relating to iron and infection. *Am J Kidney Dis* 1999;34(Suppl 2):47-52.

**Fisher CL, Gill C, Forrester MG and Nakamura R.** Quantitation of "acute phase proteins" postoperatively. Value in detection and monitoring of complications. *Am J Clin Pathol* 1976;66:840.

**Fitzsimons E, Govostis M.** Changes in serum iron and ferritin concentrations associated with surgery. *Clin Chem* 1986;32:201.

**Fleck A.** Clinical and nutritional aspects of changes in acute-phase proteins during inflammation. *Proc Nutr Soc* 1989;48:347-54.

**Fleck A, Myers MA.** Diagnostic and prognostic significance of the acute-phase proteins. En: *The acute-phase response to injury and infection*. Gordon AH, Koj A (eds). Amsterdam: Elsevier, 1990;p. 249-71.

**Fleming D, Wood RJ.** Plasma transferrin receptor helps to predict iron deficiency in the anemia of chronic disease. *Nutr Rev* 1995;53:167-9.



- Fleming AF.** Iron deficiency in the tropics. *Clin Haematol* 1981;11:365-88.
- Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB.** The population genetics of the haemoglobinopathies. *Baillieres Clin Haematol* 1998;11:1-51.
- Florentino RF, Tanchoco CC, Rodriguez MP, Cruz AJ, Molano WL.** Interactions among micronutrient deficiencies and undernutrition in the Philippines. *Biomed Environ Sci* 1996;9:348-57.
- Flowers CH, Skikne BS, Covell AM, Cook JD.** The clinical measurement of serum transferrin receptor. *J Lab Clin Med* 1989; 114: 368-77.
- Flowers CH, Cook JD.** Dried plasma spot measurements of ferritin and transferrin receptor for assessing iron status. *Clin Chem* 1999;45:1826-32.
- Font Sierra F, Quinto L, Masanja H, Nathan R, Ascaso C, Menendez C, Tanner M, Armstrong Schellenberg J, Alonso P.** Paediatric referrals in rural Tanzania: the Kilombero District Study- a case series. *BMC Int Health Hum Rights* 2002 ;2:4.
- Fowler VG Jr, Lemnge M, Irare SG, Malecela E, Mhina J, Mtui S, Mashaka M, Mtoi R.** Efficacy of chloroquine on *Plasmodium falciparum* transmitted at Amani, eastern Usambara Mountains, north-east Tanzania: an area where malaria has recently become endemic. *J Trop Med Hyg* 1993;96:337-45.
- Franco RS, Thompson H, Palascak M, Joiner CH.** The formation of transferrin receptor-positive sickle reticulocytes with intermediate density is not determined by fetal hemoglobin content. *Blood* 1997;90:3195-203.
- Franks S, Koram KA, Wagner GE, Tetteh K, McGuinness D, Wheeler JG, Nkrumah F, Ranford-Cartwright L, Riley EM.** Frequent and persistent, asymptomatic *Plasmodium falciparum* infections in African infants, characterized by multilocus genotyping. *J Infect Dis* 2001;183:796-804.
- Fraser-Hurt N, Felger I, Edoh D, Steiger S, Mashaka M, Masanja H, Smith T, Mbeni F, Beck HP.** Effect of insecticide-treated bed nets on haemoglobin values, prevalence and multiplicity of infection with *Plasmodium falciparum* in a randomized controlled trial in Tanzania. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999;93(Suppl 1):47-51.
- Frazier JL, Caskey JH, Yoffe M, Seligman PA.** Studies of the transferrin receptor on both human reticulocytes and nucleated human cells in culture: comparison of factors regulating receptor density. *J Clin Investigation* 1982;69:853-65.
- Freire WB.** Strategies of the Pan American Health Organization/World Health Organization for the control of iron deficiency in Latin America. *Nutr Rev* 1997;55:183-8.
- Frith-Terhune AL, Cogswell ME, Khan LK, Will JC, Ramakrishnan U.** Iron deficiency anemia: higher prevalence in Mexican American than in non-Hispanic white

females in the third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr* 2000;72:963-8.

**Fuchs GJ, Farris RP, DeWier M, Hutchinson SW, Warriar R, Doucet H, Suskind RM.** Iron status and intake of older infants fed formula vs cow milk with cereal. *Am J Clin Nutr* 1993;58:343-8.

**Fuchs H, Lucken U, Tauber R, Engel A, Gessner R.** Structural model of phospholipid reconstituted human transferrin receptor derived by electron microscopy. *Structure* 1998;6:1235-43.

**Fujita T, Hamasaki H, Furukata C, Nonobe M.** New enzymatic assay of iron in serum. *Clin Chem* 1994;40:763-7.

**Gambino R.** Serum transferrin (total iron-binding capacity) in evaluation of iron status. *Clin Chem* 1996;42:2053.

**Gambino R, Desvarieux E, Orth M, Matan H, Ackattupathil T, Lijoi E, Wimmer C, Bower J, Gunter E.** The relation between chemically measured total iron-binding capacity concentrations and immunologically measured transferrin concentrations in human serum. *Clin Chem* 1997;43:2408-12.

**Gamboa de Domínguez ND, Rosenthal P.** Cysteine proteinase inhibitors block early steps in hemoglobin degradation by cultured malaria parasites. *Blood* 1996;87:4448-54.

**Ganczakowski M, Town M, Bowden DK, Vulliamy TJ, Kaneko A, Clegg JB, Weatherall DJ, Luzzatto L.** Multiple glucose 6-phosphate dehydrogenase-deficient variants correlate with malaria endemicity in the Vanuatu archipelago (southwestern Pacific). *Am J Hum Genet* 1995a;56:294-301.

**Ganczakowski M, Bowden DK, Maitland K, Williams TN, O'Shaughnessy D, Viji J, Lucassen A, Clegg JB, Weatherall DJ.** Thalassaemia in Vanuatu, south-west Pacific: frequency and haematological phenotypes of young children. *Br J Haematol* 1995b;89:485-95.

**Gandapur AS, Malik SA, Raziq F.** Bone marrow changes in human malaria: a retrospective study. *J Pak Med Assoc* 1997;47:137-9.

**Garn SM, Keating MT, Falkner F.** Hematological status and pregnancy outcomes. *Am J Clin Nutr* 1981;34:115-7.

**Garry PJ, Koehler KM, Simon TL.** Iron stores and iron absorption: effects of repeated blood donations. *Am J Clin Nutr* 1995;62:611-20.

**Gascon J, Bada JL.** Resistencias del paludismo a los antipalúdicos. Problemas que plantea. *Medecine (Madrid)* 1986;72:251-5.

**Gascon J, Valls ME, Quintó LI, Corachán M.** Evaluación de dos pruebas serológicas (inmunofluorescencia indirecta y ELISA) para la detección de anticuerpos antipalúdicos. *Med Clin* 1999;113:754.

Gauldie J, Richards C, Harnish D, Lansdorp P, Baumann H. Interferon B2/B cell growth factor type 2 shares identity with monocyte derived hepatocyte stimulating factor and regulates the major acute phase response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:7251-6.

Gavin MW, McCarthy DM, Garry PhJ. Evidence that iron stores regulate iron absorption- a setpoint theory. *Am J Clin Nutr* 1994;59:1376-80.

Gendrel D, Kombila M, Nardou M, Gendrel C, Djouba F, Richard-Lenoble D. Protection against *Plasmodium falciparum* infection in children with hemoglobin S. *Pediatr Infect Dis J* 1991;10:620-1.

Genton B, Smith T, Baea K, Narara A, Al-Yaman F, Beck HP, Hii J, Alpers M. Malaria: how useful are clinical criteria for improving the diagnosis in a highly endemic area? *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994;88:537-41.

Ghosh SK, Yadav RS, Das BS, Sharma VP. Influence of nutritional and haemoglobin status on malaria infection in children. *Indian J Pediatr* 1995;62:321-6.

Giebel HN, Suleymanova D, Evans GW. Anemia in young children of the Muynak District of Karakalpakstan, Uzbekistan: prevalence, type, and correlates. *Am J Public Health* 1998;88:805-7.

Gill DG, Vincent S, Segal DS. Follow-on formula in the prevention of iron deficiency: a multicentre study. *Acta Paediatr* 1997;86:683-9.

Gillespie SH, Dow C, Raynes JG, Behrens RH, Chiodini PL, McAdam KP. Measurement of acute phase proteins for assessing severity of *Plasmodium falciparum* malaria. *J Clin Pathol* 1991;44:228-31.

Gillooly M, Bothwell TH, Torrance JD, MacPhail AP, Derman DP, Bezwoda WR, Mills W, Charlton RW, Mayet F. The effects of organic acids, phytates and polyphenols on the absorption of iron from vegetables. *Br J Nutr* 1983;49:331-42.

Giménez N, Menendez C, Quinto LI, Alvarez L, Fernández R, Kahigwa E, Ballesta AM, Alonso PL. Efecto de la malaria y la inflamación en el metabolismo del hierro en niños menores de un año expuestos a la malaria. *II Congreso de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional*, enero 2000, Sitges; p. 113.

Gimferrer E. El perfil férrico hemático. *Fichas de ferropatología clínica. Bio-ferrum, butlletí de ferrobiología i ferropatología*, 1995;1:6-16.

Gimferrer E, Ubeda J, Royo MT, Marigó GJ, Marco N, Fernández N, Oliver A, Padrós R, Gich I. Serum transferrin receptor levels in different stages of iron deficiency. *Blood* 1997a;90:1332-4.

Gimferrer F, Ubeda J, Remacha AF. Serum transferrin receptor levels are "physiologically" high in heterozygous  $\beta$ -thalassemia. *Haematologica* 1997b; 82: 728-9.

Gleerup A, Rossander-Hulthén L, Gramatlovski, Hallberg L. Iron absorption from the

whole diet: comparison of the effect of two different distributions of daily calcium intake. *Am J Clin Nutr* 1995;61:97-104.

**Glynn JR, Collins WE, Jeffery GM, Bradley DJ.** Infecting dose and severity of falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995;89:281-3.

**Godber M, Kopec AC, Mourant AE, Teesdale P, Tills D, Weiner JS, El-Niel H, Wood CH, Barley S.** The blood groups, serum groups, red-cell isoenzymes and haemoglobins of the Sandawe and Nyaturu of Tanzania. *Ann Hum Biol* 1976;3:463-73.

**Goldring JD, Molyneux ME, Taylor T, Wirima J, Hommel M.** *Plasmodium falciparum*: diversity of isolates from Malawi in their cytoadherence to melanoma cells and monocytes in vitro. *Br J Haematol* 1992;81:413-8.

**Goodhart C, Logan S.** Acceptability of screening young children for anaemia. *Br J Gen Pract* 1999;49:907-8.

**Goodman CA, Coleman PG, Mills AJ.** Cost-effectiveness of malaria control in sub-Saharan Africa. *Lancet* 1999;354:378-85.

**Gosling P, Dickson GR.** Serum c-reactive protein in patients with serious trauma. *Injury* 1992;23:483-6.

**Goya N, Miyazaki S, Kodate S, Ushio B.** A family of congenital atransferrinemia. *Blood* 1972;40:239-45.

**Grajeda R, Perez-Escamilla R, Dewey KG.** Delayed clamping of the umbilical cord improves hematologic status of Guatemalan infants at 2 mo of age. *Am J Clin Nutr* 1997;65:425-31.

**Greenwood BM, Bradley AK, Greenwood AM, Byass P, Jammeh K, Marsh K, Tulloch S, Oldfield FSJ, Hayes R.** Mortality and morbidity from malaria among children in a rural area of The Gambia, West Africa. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1987a;81:478-86.

**Greenwood BM.** Asymptomatic malaria infections –do they matter? *Parasitol Today* 1987b;3:206-14.

**Greenwood BM, Marsh K, Snow R.** Why do some African children develop severe malaria? *Parasitol Today* 1991;7:1586-91.

**Greenwood BM, Pickering H.** A malarial control trial using insecticide-treated bed nets and targeted chemoprophylaxis in a rural area of The Gambia, West Africa: A review of the epidemiology and control of malaria in The Gambia, West Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1993;87(Suppl 2):3-11.

**Guggenmoos-Holzmann I, Bienzle U, Luzzatto L.** *Plasmodium falciparum* malaria and human red cells. II. Red cell genetic traits and resistance against malaria. *Int J Epidemiology* 1981;10:16-22.

**Gupta S, Venkateswaran R, Gorenflo DW, Eyler AE.** Childhood iron deficiency

anemia, maternal nutritional knowledge, and maternal feeding practices in a high-risk population. *Prev Med* 1999;29:152-6.

**Hallberg L, Brune M, Erlandsson M et al.** Calcium: effect of different amounts on nonheme-and heme-iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1991;53:112-9.

**Hallberg L, Bengtsson C, Lapidus L, Lindstedt G, Lundberg PA and Hulten L.** Screening for iron deficiency: an analysis based on bone-marrow examinations and serum ferritin determinations in a population sample of women. *Br J Haematol* 1993;85:787-98.

**Hallberg L.** Prevention of iron deficiency. *Baillière's Clin Haematol* 1994;7:805-13.

**Hallberg L, Hultén L, Gramatkovski E.** Iron absorption from the whole diet in men: how effective is the regulation of iron absorption? *Am J Clin Nutr* 1997;66:347-56.

**Halliwell B, Gutteridge J.** Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J* 1984;219:1-14.

**Hamill RL, Woods JC, Cook BA.** Congenital atransferrinemia. A case report and review of the literature. *Am J Clin Pathol* 1991;96:215-8.

**Harju E, Pakermen A, Larmen T.** A comparison between serum ferritin concentration and the amount of bone marrow iron as indices to iron stores. *Scand J Clin Lab Invest* 1984;44:555-6.

**Hartfield DS, Lowry NJ, Keene DL, Yager JY.** Iron deficiency: a cause of stroke in infants and children. *Pediatr Neurol* 1997;16:50-3.

**Hartman KR, Barker JA.** Microcytic anemia with iron malabsorption: an inherited disorder of iron metabolism. *Am J Hematol* 1996;51:269-75.

**Hautvast JL, Tolboom JJ, Kafwembe EM, Musonda RM, Mwanakasale V, van Staveren WA, van 't Hof MA, Sauerwein RW, Willems JL, Monnens LA.** Severe linear growth retardation in rural Zambian children: the influence of biological variables. *Am J Clin Nutr* 2000;71:550-9.

**Haywood M, Conway DJ, Weiss H, Metzger W, D'Alessandro U, Snounou G, Targett G, Greenwood B.** Reduction in the mean number of *Plasmodium falciparum* genotypes in Gambian children immunized with the malaria vaccine SPf66. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999;93(Suppl 1):65-8.

**Heaton JM, Blair RL, Shadbolt C, Christmas H.** An assessment of the incidence of iron deficiency in paediatric otolaryngology inpatients. *J Laryngol Otol* 1991;105:1021-4.

**Henry JB.** Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. Barcelona: Masson-Salvat. 11<sup>a</sup> ed, 1998.

**Hercberg S, Galan P, Prual A, Preziosi P.** Epidemiology of iron deficiency and iron deficiency anemia in the French population. *Ann Biol Clin* 1998;56:49-52.

**Hercberg S, Preziosi P, Galan P.** Iron deficiency in Europe. *Public Health Nutr* 2001;4:537-45.

**Hetzel TM, Losek JD.** Unrecognised severe anemia in children presenting with respiratory distress. *Am J Emergency Med* 1998;16:386-9.

**Hikawa A, Nomata Y, Suzuki T, Ozasa H, Yamada O.** Soluble transferrin receptor-transferrin complex in serum: measurement by latex agglutination nephelometric immunoassay. *Clin Chim Acta* 1996;254:159-72.

**Hill RS, Pettit JE, Tattersall MHN, Kiley N, Lewis SM.** Iron deficiency and dyserythropoiesis. *Br J Haematol* 1972;23:507.

**Hill AVS, Allsopp CEM, Kwiatowski D, Anstey NM, Twumasi P, Rowe PA, Bennett S, Brewster D, McMichael AJ, Greenwood BM.** Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature* 1991;352:595-600.

**Hill AVS.** Molecular epidemiology of the thalassaemias (including haemoglobin E). *Baillière's Clin Haematol* 1992;5:209-38.

**Ho PJ, Wickramasinghe SN, Rees DC, Lee MJ, Eden A, Thein SL.** Erythroblastic inclusions in dominantly inherited beta thalassaemias. *Blood* 1997;89:322-8.

**Hollan S.** Iron supplementation and cognitive function. *Lancet* 1996;348:1669-70.

**Hood AT, Fabry ME, Costantini F, Nagel RL, Shear HL.** Protection from lethal malaria in transgenic mice expressing sickle hemoglobin. *Blood* 1996;87:1600-3.

**Hu WJ, Eaton JW, Tang L.** Molecular basis of biomaterial-mediated foreign body reactions. *Blood* 2001;98:1231-8.

**Huebers HA, Beguin Y, Pootrakul P, Einspahar D, Finch CA.** Intact transferrin receptors in human plasma and their relation to erythropoiesis. *Blood* 1990;75:102-7.

**Hunt JR, Gallagher SK, Johnson LK.** Effect of ascorbic acid on apparent iron absorption by women with low iron stores. *Am J Clin Nutr* 1994;59:1381-5. .

**Hurrell RF, Juillerat MA, Reddy MB Lynch SR, Dassenko SA, Cook JD.** Soy protein, phytate, and iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1992;56:573-8.

**Hurt N, Smith T, Tanner M, Mwankusye S, Bordmann G, Weiss NA, Teuscher T.** Evaluation of C-reactive protein and haptoglobin as malaria episode markers in an area of high transmission in Africa. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994a;88:182-6.

**Hurt N, Smith T, Teuscher T, Tanner M.** Do high levels of C-reactive protein in Tanzanian children indicate malaria morbidity. *Clin Diagn Lab Immunol* 1994b;1:437-44.

**Hutagalung R, Wilairatana P, Loareesuwan S, Brittenham GM, Aikawa M, Gordeuk VR.** Influence of hemoglobin E trait on the severity of *Falciparum* malaria. *J Infect Dis* 1999;179:283-6.

**Idjradinata P, Pollitt E.** Reversal of developmental delays in iron-deficient anaemic infants treated with iron. *Lancet* 1993;341:1-4.

**Innis SM, Nelson CM, Wadsworth LD, MacLaren IA, Lwanga D.** Incidence of iron-deficiency anaemia and depleted iron stores among nine-month-old infants in Vancouver, Canada. *Can J Public Health* 1997;88:80-4.

**Inoue T, Cavanaugh PG, Steck PA, Brunner Nand Nicolson GL.** Differences in transferrin response and numbers of transferrin receptors in rat and human mammary carcinoma lines of different metastatic potential. *J Cell Physiol* 1993;156:212-7.

**International Committee for Standardization in Haematology.(ICSH).** Recommendations and requirements for hemoglobinometry in human blood. *J Clin Pathol* 1965;18:353-5.

**International Committee for Standardization in Haematology (ICSH):** Recommendations for reference method for hemoglobinometry in human blood. (ICSH Standard EP 6/2: 1977) and specifications for international hemoglobin cyanide reference preparation (ICSH Standard EP 6/3: 1977). *J Clin Path* 1978; 31:139.

**International Committee for Standardization in Haematology (ICSH):** Expert Panel on Blood Cell Sizing: Recommendation for reference method for determination of packed cell volume of blood. *J Clin Path* 1980;33:1.

**International Committee for Standardization in Haematology.(ICSH) Iron Panel** of the International Committee for Standardization in Haematology. Revised recommendations for the measurements of the serum iron in human blood. *Br J Haematol* 1990;75:615-6.

**Ito J, Ghosh A, Moreira LA, Wimmer EA, Jacobs-Lorena M.** Transgenic anopheline mosquitoes impaired in transmission of a malaria parasite. *Nature* 2002;417:452-5.

**James J, Underwood A.** Ethnic influences on weaning diet in the UK. *Proc Nutr Soc* 1997;56:121-30.

**James JA, Laing GJ, Logan S, Rossdale M.** Feasibility of screening toddlers for iron deficiency anaemia in general practice. *BMJ* 1997;315:102-3.

**Jason J, Archibald LK, Nwanyanwu OC, Bell M, Jensen RJ, Gunter E, Buchanan I, Larned J, Kazembe PN, Dobbie H, Jarvis WR.** The effects of iron deficiency on lymphocyte cytokine production and activation: preservation of hepatic iron but not at all cost. *Clin Exp Immunol* 2001;126:466-73.

**Jaye DL, Waites KB.** Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:735-47.

**Johnson MA, Yip R.** Hemoglobin difference between black and white women with

comparable iron status: justification for race-specific anemia criteria. *Am J Clin Nutr* 1994; 60:117-21.

**Jones RW.** Inflammation and Alzheimer's disease. *Lancet* 2001;358:436-7.

**Jongen-Lavrencic M, Peeters HR, Wognum A, Vreugdenhil G, Breedveld FC, Swaak AJ.** Elevated levels of inflammatory cytokines in bone marrow of patients with rheumatoid arthritis and anemia of chronic disease. *J Rheumatol* 1997;24:1504-9.

**Jukes MC, Nokes CA, Alcock KJ, Lambo JK, Kihamia C, Ngorosho N, Mbise A, Lorri W, Yona E, Mwanri L, Baddeley AD, Hall A, Bundy DA;** Partnership for Child Development. Heavy schistosomiasis associated with poor short-term memory and slower reaction times in Tanzanian schoolchildren. *Trop Med Int Health* 2002;7:104-17.

**Junca J, Fernández-Aviles F, Oriol A, Navarro JT, Milla F, Sancho JM, Feliu E.** The usefulness of the serum transferrin receptor in detecting iron deficiency in the anemia of chronic disorders. *Haematologica* 1998;83:676-80.

**Jurczyk K, Wawrzynowicz-Syczewska M, Boron-Kaczmarek A, Sych Z.** Serum iron parameters in patients with alcoholic and chronic cirrhosis and hepatitis. *Med Sci Monit* 2001;7:962-5.

**Kalantar-Zadeh K, Kopple JD, Block G, Humphreys MH.** A malnutrition-inflammation score is correlated with morbidity and mortality in maintenance hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001;38:1251-63.

**Kalokola FM, Kumar A, Lema RA, Kimati VP, Makoye CG.** Sick cell-thalassemia associated with G6PD deficiency in an African girl in Tanzania. *East Afr Med J* 1983;60:512-4.

**Kaneko A, Taleo G, Kalkoa M, Yaviong J, Reeve PA, Ganczakowski M, Shirakawa Ch, Palmer K, Kobayakawa T, Björkman A.** Malaria epidemiology, glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency and human settlement in the Vanuatu Archipelago. *Acta Tropica* 1998;70:285-302.

**Kar S, Seth S, Seth PK.** Prevalence of malaria in Ao Nagas and its association with G6PD and HbE. *Hum Biol* 1992;64:187-97.

**Kato J, Kohgo Y, Kondo H, Nishisato T, Sasaki K, Tsushima N, Hirayama M, Fujikawa K, Sintani N, Miyazaki E, et al.** Circulating transferrin receptor in acute leukemias. *Int J Hematol* 1992;56:161-5.

**Kato J, Kobune M, Kohgo Y, Fujikawa K, Takimoto R, Torimoto Y, Ito Y, Bessho M, Hotta T, Hikawa A, Fujii T, Punnonen K, Niitsu Y.** Ratio of transferrin (Tf) to Tf-receptor complex in circulation differs depending on Tf iron saturation. *Clin Chem* 2002;48:181-3.

**Kavishe FP, Mushi SS.** Nutrition relevant actions in Tanzania, ACC/SCN case study. Dar es Salaam, Tanzania: Tanzania Food and Nutrition Center, 1993. (TFNC Monograph Series n<sup>o</sup>.1.)



**Kawabata H, Yang R, Hirama T, Vuong PT, Kawano S, Gombart AF, Koeffler HP.** Molecular cloning of transferrin receptor 2. *J Biol Chem* 1999;274:20826-32.

**Kawabata H, Germain RS, Vuong PT, Nakamaki T, Said JW and Koeffler HP.** Transferrin receptor 2-alpha supports cell growth both in iron-chelated cultured cells and in vivo. *J Biol Chem* 2000;275:16618-25.

**Kawabata H, Nakamaki T, Ikonomi P, Smith RD, Germain RS, Koeffler HP.** Expression of transferrin receptor 2 in normal and neoplastic hematopoietic cells. *Blood* 2001;98:2714-9.

**Kazal LA Jr.** Failure of hematocrit to detect iron deficiency in infants. *J Fam Pract* 1996;42:237-40.

**Kazal LA Jr.** Breast feeding and other aspects of infant nutrition. *Am Fam Physician* 1997;55:785-6.

**Kent S, Dunn D.** Etiology of hypoferrremia in a recently sedentary Kalahari village. *Am J Trop Med Hyg* 1993;48:554-67.

**Kervinen H, Palosuo T, Manninen V, Tenkanen L, Vaarala O, Manttari M.** Joint effects of C-reactive protein and other risk factors on acute coronary events. *Am Heart J* 2001;141:580-5.

**Khumalo H, Gomo ZA, Moyo VM, Gordeuk VR, Saungweme T, Rouault TA, Gangaidzo IT.** Serum transferrin receptors are decreased in the presence of iron overload. *Clin Chem* 1998;44:40-4.

**Khumalo H, Gomo ZA, Gangaidzo IT, Moyo VM, Mandishona E, Saungweme T, Rouault TA, Gordeuk VR, MacPhail AP.** Effect of ascorbic acid administration on serum concentration of transferrin receptors. *Clin Chem* 1998;44:1573-5.

**Kilbride J, Baker TG, Parapia LA, Khoury SA.** Incidence of iron-deficiency anaemia in infants in a prospective study in Jordan. *Eur J Haematol* 2000;64:231-6.

**Kildahl-Andersen O.** Iron deficiency anemia in a patient with excessive urinary iron loss. *Eur J Haematol* 2000;64:204-5.

**Kilpatrick JM, Volanakis JE.** Molecular genetics, structure, and function of C-reactive protein. *Immunol Res* 1991;10:43-53.

**Kim I, Yetley EA, Calvo MS.** Variations in iron-status measures during the menstrual cycle. *Am J Clin Nutr* 1993;58:705-9.

**Kim SK, Cheong WS, Jun YH, Choi JW, Son BK.** Red blood cell indices and iron status according to feeding practices in infants and young children. *Acta Paediatr* 1996;85:139-44.

**Kimati VP, Massawe AW, Lema RA, Magesa PM, Arunkumar BK.** Sick cell thalassaemia disease in Tanzania. *East Afr Med J* 1980;57:861-6.

**Kimati VP, Lema RA, Magesa PM, Arun Kumar K.** Childhood anaemia in Dar es Salaam. *J Trop Med* 1986;32:263-7.

**Kitua AY, Smith T, Alonso PL, Masanja H, Urassa H, Menendez C, Kimario J, Tanner M.** *Plasmodium falciparum* malaria in the first year of life in an area of intense and perennial transmission. *Trop Med Int Health* 1996;1:475-84.

**Kitua AY, Smith TA, Alonso PL, Urassa H, Masanja H, Kimario J, Tanner M.** The role of low level *Plasmodium falciparum* parasitaemia in anaemia among infants living in an area of intense perennial transmission. *Trop Med Int Health* 1997;2:325-33.

**Kitua AY, Urassa H, Wechsler M, Smith T, Vounatsou P, Weiss NA, Alonso PL, Tanner M.** Antibodies against *Plasmodium falciparum* vaccine candidates in infants in an area of intense and perennial transmission: relationships with clinical malaria and with entomological inoculation rates. *Parasite Immunol* 1999;21:307-17.

**Kitundu MN, Kidyalla RN.** Malaria and the sickle cell gene in the Tramba district of Tanzania. *Hemoglobin* 1991;15:341-3.

**Kivibidila S, Warriar RP, Ode D, Yu L, Tshetu KA.** Lack of difference in iron status assessed by soluble transferrin receptor between children with cerebral malaria and those with non-cerebral malaria. *J Trop Pediatr* 1999;45:166-7.

**Kling PJ, Roberts RA, Widness JA.** Plasma transferrin receptor levels and indices of erythropoiesis and iron status in healthy term infants. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 1998;20:309-14.

**Koerper MA, Mentzer WC, Brecher G, Dallman PR.** Developmental change in red blood cell volume: implication in screening infants and children for iron deficiency and thalassaemia trait. *J Pediatr* 1976;89:580-3.

**Koerper MA, Dallman PR.** Serum iron concentration and transferrin saturation in the diagnosis of iron deficiency in children. Normal developmental changes. *J Pediatr* 1977;91:870-3.

**Kohgo Y, Niitsu Y, Kondo H, Kato J, Tsushima N, Sasaki K, Hirayama M, Numata T, Nishisato T, Urushizaki I.** Serum transferrin receptor as a new index of erythropoiesis. *Blood* 1987;70:1955-8.

**Kollia P, Stavroyianni N, Stamatopoulos K, Zoi K, Viniou N, Mantzourani M, Noguchi CT, Paterakis G, Abazis D, Pangalos C, Loukopoulos D, Yataganas X.** Molecular analysis of transferrin receptor mRNA expression in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol* 2001;115:19-24.

**Konijn AM.** Iron metabolism in inflammation. *Baillieres Clin Haematol* 1994;7:829-49.

**Kuhn LC.** Molecular regulation of iron proteins. *Baillieres Clin Haematol* 1994;7:763-85.

**Kuiper-Kramer EP, Huisman CM, van Raan J, van Eijk HG.** Analytical and clinical implications of soluble transferrin receptors in serum. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:645-9.

**Kuiper-Kramer EP, Baerts W, Bakker R, van Eyck J, van Raan J, van Eijk HG.** Evaluation of the iron status of the newborn by soluble transferrin receptors in serum. *Clin Chem Lab Med* 1998a;36:17-21.

**Kuiper-Kramer EP, Coenen JL, Huisman CM, Abbes A, van Raan J, van Eijk HG.** Relationship between soluble transferrin receptors in serum and membrane-bound transferrin receptors. *Acta Haematol* 1998b;99:8-11.

**Kuizon MD, Madriaga JR, Desnacido JA, Cheong RL, Perlas LA.** Iron status of Filipino infants and preschoolers using plasma ferritin and transferrin receptor levels. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1996;27:343-9.

**Kurtzhals JA, Rodrigues O, Addae M, Commey JO, Nkrumah FK, Hviid L.** Reversible suppression of bone marrow response to erythropoietin in *Plasmodium falciparum* malaria. *Br J Haematol* 1997;97:169-74.

**Kushner I.** The phenomenon of the acute phase response. C-reactive protein and the plasma protein response to tissue injury. *Ann NY Acad Sci* 1982;389:39-48.

**Kuvibidila S, Yu L, Ode D, Warriar RP.** Effects of coffee intake on iron status and anthropometry in Zairean young children. *Am J Clin Nutr* 1992;56:766.

**Kuvibidila S, Yu LC, Ode DL, Warriar RP, Mbele V.** Assessment of iron status of Zairean women of childbearing age by serum transferrin receptor. *Am J Clin Nutr* 1994;60:603-9.

**Kuvibidila S, Yu L, Warriar RP, Ode D, Mbele V.** Usefulness of serum ferritin levels in the assessment of iron status in non-pregnant Zairean women of childbearing age. *J Trop Med Hyg* 1994;97:171-9.

**Kuvibidila S, Mark JA, Warriar RP, Yu L, Ode D, Tshetu KA.** Soluble transferrin receptor as an index of iron status in Zairean children with malaria. *J Trop Med Hyg* 1995;98:373-8.

**Kuznetsov G, Nigam SK.** Folding of secretory and membrane proteins. *N Engl J Med* 1998;339:1688-95.

**Kwiatkowski JL, West TB, Heidary N, Smith-Whitley K, Cohen AR.** Severe iron deficiency anemia in young children. *J Pediatr* 1999;135:514-6.

**Kytzia HJ, Eberle J.** Underestimation of serum iron with automated methods. *Clin Chem* 1995;41:1200-1.

**Lackritz EM, Campbell CC, Ruebush TK, Hightower AW, Wakube W, Steketee RW, Were JB.** Effect of blood transfusion on survival among children in a Kenyan

hospital. Lancet 1992;340:524-8.

**Lafuente Mesanza P, Ojembarrena Martinez E, Sasieta Altuna M, Pinan Frances MA, Urreta Dolora MJ, Lombardero Jimenez JL.** Anemia y deplección de depósitos de hierro en lactantes sanos de 12 meses de edad. An Esp Pediatr 1992;37:24-8.

**Lammi-Keefe CJ, Lickteig ES, Ahluwalia N, Haley NR.** Day-to-day variation in iron status indexes is similar for most measures in elderly women with and without rheumatoid arthritis. J Am Diet Assoc 1996;96:247-51.

**Lartey A, Manu A, Brown KH, Dewey KG.** Predictors of micronutrient status among six-to-twelve-month-old breast-fed Ghanaian infants. J Nutr 2000;130:199-207.

**Lash A, Saleem A.** Iron metabolism and its regulation. A Review. Ann Clin Lab Sci 1995;25:20-30.

**Lawless JW, Latham MC, Stephenson LS, Kinoti SN, Pertet AM.** Iron supplementation improves appetite and growth in anaemic Kenyan primary school children. J Nutr 1994;124:645-54.

**Lawson MS, Thomas M, Hardiman A.** Iron status of Asian children aged 2 years living in England. Arch Dis Child 1998;78:420-6.

**Layrisse M, Chaves JF, Mendez-Castellano, Bosch V, Tropper E, Bastardo B, Gonzalez E.** Early response to the effect of iron fortification in the Venezuelan population. Am J Clin Nutr 1996;64:903-7.

**Layrisse M, García-Casal MN.** Strategies for the prevention of iron deficiency through foods in the household. Nutr Rev 1997;55:233-9.

**Le Hesran JY, Personne I, Personne P, Fievet N, Dubois B, Beyeme M, Boudin C, Cot M, Deloron P.** Longitudinal study of *Plasmodium falciparum* infection and immune responses in infants with or without the sickle cell trait. Int J Epidemiol 1999;28:793-8.

**Lee PL, Gelbart T, West C, Halloran C, Beutler E.** The human Nramp2 gene: characterization of the gene structure, alternative splicing, promoter region and polymorphisms. Blood Cells Mol Dis 1998; 24:199-215.

**Lee PL, Halloran C, Trevino R, Felitti V, Beutler E.** Human transferrin G277S mutation: a risk factor for iron deficiency anaemia. Br J Haematol 2001;115:329-33.

**Leggett BA, Brown NN, Bryant SJ, Duplock L, Powell LW, Halliday JW.** Factors affecting the concentrations of ferritin in serum in a healthy Australian population. Clin Chem 1990;36:1350-5.

**Lema OE, Carter JY, Nagelkerke N, Wangai MW, Kitenge P, Gikunda SM, Arube PA, Munafu CG, Materu SF, Adhiambo CA, Mukunza HK.** Comparison of five methods of malaria detection in the outpatient setting. Am J Trop Med Hyg 1999;60:177-82.

- Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y.** The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med* 2001;22:1-87.
- Lin X, Long Z, Shen X.** Changes of serum transferrin receptor in children with iron deficiency and its response to iron supplementation. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi* 2001;35:325-8.
- Linpisarn S, Tienboon P, Promtet N, Putsyainunt P, Santawanpat S, Fuchs GJ.** Iron deficiency and anaemia in children with a high prevalence of haemoglobinopathies: implications for screening. *Int J Epidemiol* 1996;25:1262-6.
- Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA.** A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. *N Engl J Med* 1974;290:1213-6.
- Little DR.** Ambulatory management of common forms of anemia. *Am Fam Physician* 1999;59:1598-604.
- Looaresuwan S, Merry AH, Phillips RE, Pleehachinda R, Wattanagoon Y, Ho M, Charoenlarp P, Warrell DA, Weatherall DJ.** Reduced erythrocyte survival following clearance of malarial parasitaemia in Thai patients. *Br J Haematol* 1987;67:473-8.
- Looker AC, Johnson CL, McDowell MA, Yetley EA.** Iron status: prevalence of impairment in three Hispanic groups in the United States. *Am J Clin Nutr* 1989;49:553-8.
- Looker AC, Dallman PR, Carroll MD, Gunter EW, Johnson CL.** Prevalence of iron deficiency in the United States. *JAMA* 1997;277:973-6.
- Lozoff B, Brittenham G, Wolf A, McClish DK, Kuhnert PM, Jimenez E, Jimenez R, Mopra LA, Gomez I, Krauskoph D.** Iron deficiency anemia and iron therapy effects on infant developmental test performance. *Pediatrics* 1987;79:981-95.
- Lozoff B, Jiménez E, Wolf AW.** Long-Term developmental outcome of infants with iron deficiency. *N Engl J Med* 1991;325:687-94.
- Lozoff B, Wolf AW, Jimenez E.** Iron-deficiency anemia and infant development: effects of extended oral iron therapy. *J Pediatr* 1996;129:382-9.
- Lozoff B, Jimenez E, Hagen J, Mollen E, Wolf AW.** Poorer behavioral and developmental outcome more than 10 years after treatment for iron deficiency in infancy. *Pediatrics* 2000;105:E51.
- Lucas A, Singhal A.** Iron status and development. *Arch Dis Child* 2000;83:456.
- Luzzi GA, Torii M, Aikawa M, Pasvol G.** Unrestricted growth of *Plasmodium falciparum* in microcytic erythrocytes in iron deficiency and thalassaemia. *Br J Haematol* 1990;74:519-24.
- Lynch SR, Dassenko SA, Cook JD, Juillerat MA, Hurrell RF.** Inhibitory effect of a soybean-protein -related moiety on iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr*

1994;60:567-72.

**Lynch SR.** Interaction of iron with other nutrients. *Nutr Rev* 1997;55:102-10.

**MacGillivray RTA, Mendez E, Sinha S, Sutton MR, Lineback-Zins J, Brew K.** The complete amino acid sequence of human serum transferrin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1982;79:2504-8.

**Macy EM, Hayes TE, Tracy RP.** Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem* 1997;43:52-8.

**Madhavan Nair K.** Alternate strategies for improving iron nutrition: lessons from recent research. *Br J Nutr* 2001;85(Suppl 2):187-91.

**Maes M, Meltzer HY, Buckley P, Bosmans E.** Plasma-soluble interleukin-2 and transferrin receptor in schizophrenia and major depression. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 1995;244:325-9.

**Maes M, Bosmans E, Scharpe S, Hendriks D, Cooremans W, Neels H, De Meyer F, D'Hondt P, Peeters D.** Components of biological variation in serum soluble transferrin receptor: relationships to serum iron, transferrin and ferritin concentrations, and immune and haematological variables. *Scand J Clin Lab Invest* 1997;57:31-41.

**Maitland K, Williams TN, Bennett S, Newbold CI, Peto TE, Viji J, Timothy R, Clegg JB, Weatherall DJ, Bowden DK.** The interaction between *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* in children on Espiritu Santo Island, Vanuatu. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996;90:614-20.

**Makrides M, Leeson R, Gibson RA, Simmer K.** A randomized controlled clinical trial of increased dietary iron in breastfed infants. *J Pediatr* 1998;133:559-62.

**Malope BI, MacPhail AP, Alberts M, Hiss DC.** The ratio of serum transferrin receptor and serum ferritin in the diagnosis of iron status. *Br J Haematol* 2001;115:84-9.

**Marsh K, Otoo L, Hayes RJ, Carson DC, Greenwood BM.** Antibodies to blood stages antigens of *Plasmodium falciparum* in rural Gambians and their relation to protection against infection. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1989;83:293-303.

**Marsh K, Forster D, Waruiru C, Mwangi I, Winstanley M, Marsh V, Newton C, Winstanley P, Warn P, Peshu N, Pasvol G, Snow R.** Life-threatening malaria in african children: clinical spectrum and simplified prognostic criteria. *N Engl J Med* 1995;332:1399-404.

**Mast AE, Blinder MA, Gronowski AM, Chumley C, Scott MG.** Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clin Chem* 1998;44:45-51.

**Mathews ST, Kumaresan PR, Selvam R.** Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria--a study on north Madras population. *J Commun Dis*

1991;23:178-81.

**May J, Mockenhaupt FP, Ademowo OG, Falusi AG, Olumese PE, Bienzle U, Meyer CG.** High rate of mixed and subpatent malarial infections in southwest Nigeria. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:339-43.

**May MJ, D'Acquisto F, Madge LA, Glockner J, Pober JS, Ghosh S.** Selective inhibition of NF-kappaB activation by a peptide that blocks the interaction of NEMO with the IkappaB kinase complex. *Science* 2000;289:1550-4.

**McElroy PD, ter Kuile FO, Hightower AW, Hawley WA, Phillips-Howard PA, Oloo AJ, Lal AA, Nahlen BL.** All-cause mortality among young children in western Kenya. VI: the Asembo Bay Cohort Project. *Am J Trop Med Hyg* 2001;64(Suppl 1-2):18-27.

**McElroy PD, ter Kuile FO, Lal AA, Bloland PB, Hawley WA, Oloo AJ, Monto AS, Meshnick SR, Nahlen BL.** Effect of *Plasmodium falciparum* parasitemia density on hemoglobin concentrations among full-term, normal birth weight children in western Kenya, IV. The Asembo Bay Cohort Project. *Am J Trop Med Hyg* 2000;62:504-12.

**McGuire W, D'Alessandro U, Olaleye BO, Thomson MC, Langerock P, Greenwood BM, Kwiatkowski D.** C-reactive protein and haptoglobin in the evaluation of a community-based malaria control programme. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1996;90:10-4.

**McGuinness D, Koram K, Bennett S, Wagner G, Nkrumah F, Riley E.** Clinical case definitions for malaria: clinical malaria associated with very low parasite densities in African infants. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1998;92:527-31.

**Means RT, Krantz SB.** Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease. *Blood* 1992; 80:1639-47.

**Means RT.** Advances in the anemia of chronic disease. *Int J Hematol* 1999;70:7-12.

**Meites S.** En: *Pediatric Clinical Chemistry. Reference (Normal) values* (ed. By S Meites). 3<sup>a</sup> ed. AACC Press. 2029 K Street, N.W. Washington, DC 20006, 1989.

**Mejia LA, Chew F.** Hematological effect of supplementing anemic children with vitamin A alone and in combination with iron. *Am J Clin Nutr* 1988;48:595-600.

**Mekki N, Galán P, Rossignol C, Farnier MA, Hercberg S.** Le statut en fer chez l'enfant de 10 mois, 2 ans et 4 ans présumé bien-portant. *Arch Fr Pediatr* 1989;46:481-5.

**Mendenhall HW.** Serum protein concentrations in pregnancy. Concentrations in maternal serum. *Am J Obstet Gynecol* 1970;106:388.

**Menendez C, Alonso PL, Kinteh A, M'Boge B, Francis N, Greenwood BM.** The contribution of Gambian traditional birth attendants to field research. *J Trop Med Hyg* 1993;96:175-8.

**Menendez C.** Vitamin A and iron supplementation in pregnancy. *Lancet* 1994;343:490-1.

**Menendez C.** Malaria during pregnancy: a priority area of malaria research and control. *Parasitol Today* 1995;11:178-83.

**Menendez C, Kahigwa E, Hirt R, Vounatsou P, Aponte JJ, Font F, Acosta CJ, Schellenberg DM, Galindo CM, Kimario J, Urassa H, Brabin B, Smith T, Kitua A, Tanner M, Alonso PL.** Randomised placebo-controlled trial of iron supplementation and malaria chemoprophylaxis for prevention of severe anaemia and malaria in Tanzanian infants. *Lancet* 1997;350:844-50.

**Menendez C, Quinto LI, Kahigwa E, Hirt R, Alvarez L, Aponte JJ, Fernández R, Alonso PL.** El efecto de la suplementación con hierro y profilaxis antimalárica en la deficiencia de hierro y anemia ferropénica en lactantes de una zona del sur de Tanzania. II Congreso de la Sociedad Española de Medicina Tropical y Salud Internacional, enero 2000, Sitges; p. 22.

**Menendez C, Quinto LL, Kahigwa E, Alvarez L, Fernandez R, Gimenez N, Schellenberg D, Aponte JJ, Tanner M, Alonso PL.** Effect of malaria on soluble transferrin receptor levels in Tanzanian infants. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:138-42.

**Miller LH, Good MF, Milon G.** Malaria pathogenesis. *Science* 1994;264:1878-83.

**Milman N, Agger AO, Nielsen OJ.** Iron supplementation during pregnancy. Effect on iron status markers, serum erythropoietin and human placental lactogen. A placebo controlled study in 207 Danish women. *Dan Med Bull* 1991;38:471-6.

**Milman N, Agger AO, Nielsen OJ.** Iron status markers and serum erythropoietin in 120 mothers and newborn infants. Effect of iron supplementation in normal pregnancy. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1994;73:200-4.

**Mira M, Alperstein G, Karr M, Ranmuthugala G, Causer J, Niec A, Lilburne AM.** Haem iron intake in 12-36 month old children depleted in iron: case-control study. *BMJ* 1996;312:881-3.

**Mitchell R, Fupi F.** Sickling in Tanzania. *East Afr Med J* 1972;49:638-42.

**Mizushima Y, Kato H, Ohmae H, Tanaka T, Bobogare A, Ishii A.** Relationship of haptoglobin polymorphism to malaria in the Solomon Islands. *Intern Med* 1995;34:342-6.

**Mnzava AEP, Rwegoshora RT, Tanner M, Msuya FH, Curtins CF, Irare SG.** The effects of house spraying with DDT or lambda-cyhalothrin against *Anopheles arabiensis* on measures of malarial morbidity in children in Tanzania. *Acta Tropica* 1993;54:141-51.

**Mockenhaupt FP, May J, Stark K, Falusi AG, Meyer CG, Bienzle U.** Serum transferrin receptor levels are increased in asymptomatic and mild *Plasmodium falciparum* infection. *Haematologica* 1999a;84:869-73.



**Mockenhaupt FP, Falusi AG, May J, Ademowo OG, Olumese PE, Meyer CG, Bienzle U.** The contribution of alta+-thalassaemia to anaemia in a Nigerian population exposed to intense malaria transmission. *Trop Med Int Health* 1999b;4:302-7.

**Mockenhaupt FP, Bienzle U, May J, Falusi AG, Ademowo OG, Olumese PE, Meyer CG.** *Plasmodium falciparum* infection: influence on hemoglobin levels in alpha-thalassaemia and microcytosis. *J Infect Dis* 1999c;180:925-8.

**Mockenhaupt FP, Rong B, Till H, Eggelte TA, Beck S, Gyasi-Sarpong C, Thompson WN, Bienzle U.** Submicroscopic *Plasmodium falciparum* infections in pregnancy in Ghana. *Trop Med Int Health* 2000;5:167-73.

**Mockenhaupt FP, Eggelte TA, Bohme T, Thompson WN, Bienzle U.** *Plasmodium falciparum* dihydrofolate reductase alleles and pyrimethamine use in pregnant Ghanaian women. *Am J Trop Med Hyg* 2001;65:21-6.

**Modiano D, Sirima BS, Sawadogo A, Sanou I, Pare J, Konate A, Pagnoni F.** Severe malaria in Burkina Faso: influence of age and transmission level on clinical presentation. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:539-42.

**Moffatt ME, Longstaffe S, Besant J, Dureski C.** Prevention of iron deficiency and psychomotor decline in high-risk infants through use of iron-fortified infant formula: a randomized clinical trial. *J Pediatr* 1994;125:527-34.

**Molineaux L.** Nature's experiment: what implications for malaria prevention? *Lancet* 1997;349:1636-7.

**Montanari RM, Bangali AM, Talukder KR, Baqui A, Maheswary NP, Gosh A, Rahman M, Mahmood AH.** Three case definitions of malaria and their effect on diagnosis, treatment and surveillance in Cox's Bazar district, Bangladesh. *Bull World Health Organ* 2001;79:648-56.

**Morck TA, Lynch SR, Cook JD.** Inhibition of food iron absorption by coffee. *Am J Clin Nutr* 1983;37:416-20.

**Morey SS.** CDC issues guidelines for prevention, detection and treatment of iron deficiency. *Am Fam Physician* 1998;58:1475-7.

**Morley JJ, Kushner I.** Serum C-reactive protein levels in disease. *Ann N Y Acad Sci* 1982;158:541-4.

**Morley R, Abbott R, Fairweather-Tait S, MacFadyen U, Stephenson T, Lucas A.** Iron fortified follow on formula from 9 to 18 months improves iron status but not development or growth: a randomised trial. *Arch Dis Child* 1999;81:247-52.

**Morse AC, Beard JL, Jones BC.** A genetic developmental model of iron deficiency: biological aspects. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;220:147-52.

**Morton RE, Nysenbaum A, Price K.** Iron status in the first year of life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1988;7:707-12.

- Moy RJ, Aukett A.** Screening toddlers for iron deficiency anaemia in general practice. Screening is possible in populations similar to one studied by authors. *BMJ* 1998;316:145.
- Moy RJ.** New approaches to the detection and prevention of iron-deficiency anaemia. *J Trop Pediatr* 1999;45:320-1.
- Mshinda H, Font F, Hirt R, Mashaka M, Ascaso C, Menendez C.** A comparative study of the efficacies of chloroquine and a pyrimethamine-dapsone combination in clearing *Plasmodium falciparum* parasitaemia in school children in Tanzania. *Trop Med Int Health* 1996;1:797-801.
- Mu J, Duan J, Makova KD, Joy DA, Huynh CQ, Branch OH, Li WH, Su XZ.** Chromosome-wide SNPs reveal an ancient origin for *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2002;418:323-4.
- Muklwala EC, Banda J, Siziya S, Atenyi J, Fleming AF, Higgs DR.** Alpha thalassaemia in Zambian newborn. *Clin Lab Haematol* 1989;11:1-6.
- Muhilal, Permaesih D, Idjrandinata YR, Muherdiyantiningsih, Karyadi D.** Vitamin A-fortified monosodium glutamate and health, growth and survival of children: a controlled field trial. *Am J Clin Nutr* 1988;48:1271-6.
- Muñoz Perez MA, Garcia Vera C, Galve Royo F, Fortea Gimeno E, Olmedillas Alvaro MJ, Muñoz Izquierdo MP, Adivinacion Herrero A, Montaner Cosa C.** ¿Está justificado el cribado generalizado de anemia y ferropenia en los lactantes? *Aten Primaria* 1995;15:446-8.
- Murray MJ, Murray AB, Murray CJ.** The adverse effect of iron repletion on the course of certain infections. *Br Med J* 1978;2:1113-5.
- Mwaluko GMP, Kilama WL, Mandara PM, Muffu M, Macpherson CNL (eds).** Health and Disease in Tanzania. London: Harper Collins Academic, 1991.
- Nagral A, Mehta AB, Gomes AT, Ellis G, Jackson BF, Sabin CA, McIntyre N.** Serum soluble transferrin receptor in the diagnosis of iron deficiency in chronic liver disease. *Clin Lab Haematol* 1999;21:93-7.
- Naik P, Voller A.** Serum C-reactive protein levels and falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1984;78:812-3.
- National Malaria Control Programme.** Plan of action for accelerated implementation of malaria control in Tanzania. Dar es Salaam, Ministry of Health and World Health Organization. 1997.
- Nelson.** Tratado de pediatría, 14ª ed. Behrman RE (Ed). New York: Interamericana, 1997.
- Nelson DA, Davey FR.** Trastornos eritrocitarios. En: John Bernard Henry (Coord).

Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio. Barcelona: Salvat,1993;p.647-97.

**Newton W.** Laboratory diagnosis of iron deficiency anemia. *J Fam Pract* 1995;41:404-5.

**Newton CR, Warn PA, Winstanley PA, Peshu N, Snow RW, Pasvol G, Marsh K.** Severe anaemia in children living in a malaria endemic area of Kenya. *Trop Med Int Health* 1997;2:165-78.

**Newton CR, Taylor TE, Whitten RO.** Pathophysiology of fatal falciparum malaria in African children. *Am J Trop Med Hyg* 1998;58:673-83.

**Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Sirito M, Sawadogo M, Kahn A, Vulont S.** Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:4596-601.

**Northrop-Clewes CA, Paracha PI, McLoone UJ, Thurnham DI.** Effect of improved vitamin A status on response to iron supplementation in Pakistani infants. *Am J Clin Nutr* 1996;64:694-9.

**Nsimba SE, Massele AY, Eriksen J, Gustafsson LL, Tomson G, Warsame M.** Case management of malaria in under-fives at primary health care facilities in a Tanzanian district. *Trop Med Int Health* 2002;7:201-9.

**Ntoumi F, Contamin H, Rogier C, Bonnefoy S, Trape JF, Mercereau-Puijalon O.** Age-dependent carriage of multiple *Plasmodium falciparum* merozoite surface antigen-2 alleles in asymptomatic malaria infections. *Am J Trop Med Hyg* 1995;52:81-8.

**Nussler A, Pied S, Pontet M, Miltgen F, Renia L, Gentilini M, Mazier D.** Inflammatory status and preerythrocytic stages of malaria: role of the C-reactive protein. *Exp Parasitol* 1991;72:1-7.

**O'Donnell AM, Carmuega ES, Duran P.** Preventing iron deficiency in infants and preschool children in Argentina. *Nutr Rev* 1997;55:189-94.

**O'Donnell A, Allen SJ, Mgone CS, Martinson JJ, Clegg JB, Weatherall DJ.** Red cell morphology and malaria anaemia in children with Southeast-Asian ovalocytosis band 3 in Papua New Guinea. *Br J Haematol* 1998;101:407-12.

**Ohzato H, Yoshizaki K, Nishimoto N, Ogata A, Tagoh H, Monden M, Gotoh M, Kishimoto T, Mori T.** Interleukin-6 as a new indicator of inflammatory status: detection of serum levels of interleukin-6 and C-reactive protein after surgery. *Surgery* 1992;111:201-9.

**Okuonghae HO, Nwankwo MU, Offor E.** Malarial parasitaemia in febrile children with sickle cell anaemia. *J Trop Pediatr* 1992;38:83-5.

**Olazábal Malo de Molina JI, Alvarez Pérez R, Ariza Hevia F, Ramos Pérez A, Loza Cortina C, Urrechaga E.** Prevalencia de ferropenia en una zona de salud rural. Relación con el consumo de leche de vaca a los seis, doce y veinticuatro meses de edad. *An Esp Pediatr* 1994;40:99-102.

**Olcay L, Ozer S, Gurgey A, Saraclar M, Ozme S, Bilgic A, Ozcutlu S, Celiker A.** Parameters of iron deficiency in children with cyanotic congenital heart disease. *Pediatr Cardiol* 1996;17:150-4.

**Olivares M, Walter T, Cook JD, Llaguno S.** Effect of acute infection on measurement of iron status: usefulness of the serum transferrin receptor. *Int J Pediatr Hematol Oncol* 1995;2:31-3.

**Olivares M, Walter T, Hertrampf E, Pizarro F.** Anaemia and iron deficiency disease in children. *Br Med Bull* 1999;55:534-43.

**Olivares M, Walter T, Cook JD, Hertrampf E, Pizarro F.** Usefulness of serum transferrin receptor and serum ferritin in diagnosis of iron deficiency in infancy. *Am J Clin Nutr* 2000;72:1191-5.

**Onwujekwe O, Chima R, Shu E, Nwagbo D, Okonkwo P.** Hypothetical and actual willingness to pay for insecticide-treated nets in five Nigerian communities. *Trop Med Int Health* 2001;6:545-53.

**Oppenheimer SJ, Gibson FD, MacFarlane SB, Moody JB, Harrison C, Spencer A, Bunari O.** Iron supplementation increases the prevalence and effects of malaria: report on clinical studies in Papua New Guinea. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986;80:603-12.

**Oski FA, Honig AS.** The effects on the developmental scores of iron-deficient infants. *J Pediatr* 1978;92:21-5.

**Oski FA.** The nonhematologic manifestations of iron deficiency. *Am J Dis Child* 1979;133:315-22.

**Oski FA, Honig A, Helu B, Howanitz P.** Effect of iron therapy on behavior performance in nonanemic, iron-deficient infants. *Pediatrics* 1983;71:877-80.

**Oski FA.** Iron deficiency in infancy and childhood. *N Engl J Med* 1993;329:190-3.

**Oti-Boateng P, Seshadri R, Petrick S, Gibson RA, Simmer K.** Iron status and dietary iron intake of 6-24-month-old children in Adelaide. *J Paediatr Child Health* 1998;34:250-3.

**Palupi L, Schultink W, Achadi E, Gross R.** Effective community intervention to improve hemoglobin status in preschoolers receiving once-weekly iron supplementation. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1057-61.

**Parkkila S, Niemela O, Britton RS, Fleming RE, Waheed A, Bacon BR, Sly WS.** Molecular aspects of iron absorption and HFE expression. *Gastroenterology* 2001;121:1489-96.

**Pepys MB.** CRP fifty years on. *Lancet* 1981;i:653-6.

**Pepys MB, Berger A.** The renaissance of C reactive protein. *BMJ* 2001;322:4-5.

**Perez Mato S.** Anemia and malaria in a Yanomami Ameridian population from the southern Venezuelan Amazon. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:998-1001.

**Petersen E, Marbiah NT, New L, Gottschau A.** Comparison of two methods for enumerating malaria parasites in thick blood films. *Am J Trop Med Hyg* 1996a;55:485-9.

**Petersen KM, Parkinson AJ, Nobmann ED, Bulkow L, Yip R, Mokdad A.** Iron deficiency anemia among Alaska Natives may be due to fecal loss rather than inadequate intake. *J Nutr* 1996b;126:2774-83.

**Pettersson T, Kivivuori SM, Shimes MA.** Is serum transferrin receptor useful for detecting iron-deficiency in anaemic patients with chronic inflammatory diseases?. *Br J Rheumatol* 1994;33:740-4.

**Phillips RE, Looreesuwan S, Warrell A, Lee SH, Karbwang J, Warell MJ, White NJ, Swasdichai C, Weatherall DJ.** The importance of anaemia in cerebral and uncomplicated malaria: role of complications, dyserythropoiesis and iron sequestration. *QJM* 1986;227:305-23.

**Phillips RE, Pasvol G.** Anaemia of *Plasmodium falciparum* malaria. *Baillière's Clin Haematol* 1992;5:315-30.

**Pietila K, Harmoinen A, Hermens W, Simoons ML, Van der Werf F, Verstraete M.** Serum C-reactive protein and infarct size in myocardial infarct patients with a closed versus an open infarct-related coronary artery after thrombolytic therapy. *Eur Heart J* 1993;14:915-9.

**Pietrangelo A, Camaschella C.** Molecular genetics and control of iron metabolism in hemochromatosis. *Haematologica* 1998;83:456-61.

**Pintado Cros T, Pérez Sánchez I, Escudero Soto A, Mayayo Crespo.** Fisiopatología del metabolismo del hierro. *Medicine (Madrid)* 2001;8:2669-75.

**Pisacane A, De Vizia B, Valiante A, Vaccaro F, Russo M, Grillo G, Giustardi A.** Iron status in breast-fed infants. *J Pediatr* 1995;127:429-31.

**Pisacane A.** Neonatal prevention of iron deficiency. *BMJ* 1996;312:136-7.

**Pizarro F, Yip R, Dallman PR, Olivares M, Hertrampf F, Walter T.** Iron status with different infant feeding regimens: relevance to screening and prevention of iron deficiency. *J Pediatr* 1991;118:687-92.

**Podzamczar Palter D, Corachán Cuyás M.** Infecciones causadas por protozoos apicomplexa hemotisulares. En: Farreras Valentí P, Rozman C (eds). *Medicina Interna*. 14ª ed. Madrid: Harcourt, 2000.

**Pollit E.** Iron deficiency and educational deficiency. *Nutr Rev* 1997;55:133-41.

- Pollitt E.** Early iron deficiency anemia and later mental retardation. *Am J Clin Nutr* 1999;69:4-5.
- Pollitt E.** Developmental sequel from early nutritional deficiencies: conclusive and probability judgements. *J Nutr* 2000;130(Suppl):350-3.
- Ponka P.** Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanisms in erythroid cells. *Blood* 1997;89:1-25.
- Pope KO, Rejmankova E, Savage HM, Arredondo-Jimenez JI, Rodriguez MH, Roberts DR.** Remote sensing of tropical wetlands for malaria control in Chiapas, Mexico. *Ecol Appl* 1994;4:81-90.
- Premji Z, Hamisi Y, Shiff C, Minjas J, Lubega P, Makwaya C.** Anemia and *Plasmodium falciparum* infections among young children in an holoendemic area, Bagamoyo, Tanzania. *Acta Trop* 1995;59:55-64.
- Provan D.** Mechanisms and management of iron deficiency anaemia. *Br J Haematol* 1999;105:19-26.
- Punnonen K, Irjala K, Rajamaki A.** Iron-deficiency anemia is associated with high concentrations of transferrin receptor in serum. *Clin Chem* 1994;40:774-6.
- Punnonen K, Irjala K, Rajamaki A.** Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 1997;89:1052-7.
- Punnonen K, Kaipainen-Seppanen O, Riittinen L, Tuomisto T, Hongisto T, Penttila.** Evaluation of iron status in anemic patients with rheumatoid arthritis using an automated immunoturbidimetric assay for transferrin receptor. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:1297-300.
- Qian ZM, Tang PL.** Mechanisms of iron uptake by mammalian cells. *Biochim Biophys Acta* 1995;1269:205-14.
- Quaye IK, Ekuban FA, Goka BQ, Adabayeri V, Kurtzhals JA, Gyan B, Ankrah NA, Hviid L, Akanmori BD.** Haptoglobin 1-1 is associated with susceptibility to severe *Plasmodium falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2000;94:216-9.
- Ragusa R, di Cataldo A, Gangarossa S, lo Nigro L, Schiliro G.** Low-grade haemolysis and assessment of iron status during the steady state in G6PD-deficient subjects. *Acta Haematol* 1993;90:25-8.
- Ramón F, Alsina MJ, Alvarez V, Cortés M, Cava F, Hernández A, Jiménez CV, Larios JV, Minchinela J, Navarro JM, Perich C, Ricós C, Salas A y Simón M.** XIX Programa de evaluación externa de la Calidad de Bioquímica (suero) de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (1998). *Quim Clin* 1999;18:177-230.
- Ramón F, Alsina MJ, Alvarez V, Cava F, Cortés M, Hernández A, Jiménez CV, Larios JV, Minchinela J, Navarro JM, Perich C, Ricós C, Salas A y Simón M.** XX Programa de evaluación externa de la Calidad de Bioquímica (suero) de la Sociedad Española de

Bioquímica Clínica y Patología Molecular (1999). *Quim Clin* 2000;19:239-95.

**Ramón F, Alsina MJ, Alvarez V, Cortés M, Cava F, Hernández A, Jiménez CV, Larios JV, Minchinela J, Navarro JM, Perich C, Ricós C, Salas A y Simón M.** XXII Programa de evaluación externa de la Calidad de Bioquímica (suero) de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular (200). *Quim Clin* 2002;21:93-151.

**Rasheed FN, Bulmer JM, De Francisco A, Jawala MF, Jakobsen PH, Jepson A, Greenwood BM.** Relationship between maternal malaria and malarial immune responses in mothers and neonates. *Parasite Immunology* 1995;17:1-10.

**Redding-Lallinger R, Kalokola FM, Tingy DY.** The incidence of anaemia during the first year of life in infants in Tanzania. *Tanz Med J* 1994;9:22-6.

**Reed SC, Wirima JJ, Steketee RW.** Risk factors for anemia in young children in rural Malawi. *Am J Trop Med Hyg* 1994;51:170-4.

**Redondo Granado MJ, Alvarez Guisasola FJ, Blanco Quiros A.** Estudio de la plumbemia en la población infantil con ferropenia. *Med Clin (Barc)* 1994;102:201-4.

**Ree GH.** Serum C-reactive protein in Gambian Africans with special reference to *P. Falciparum* malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1971;65:574-80.

**Rees DC, Williams TN, Maitland K, Clegg JB, Weatherall DJ.** Alpha thalassaemia is associated with increased soluble transferrin receptor levels. *Br J Haematol* 1998;103:365-9.

**Remacha AF, Sarda MP, Parellada M, Ubeda J, Manteiga R.** The role of serum transferrin receptor in the diagnosis of iron deficiency. *Haematologica* 1998;83:963-6.

**Renaudin P, Lombart JP.** L'anémie de l'enfant de moins de un an a Moundou, Tchad: prevalence et etiologies. *Med Trops (Mars)* 1994;54:337-42.

**Ribaya-Mercado JD.** Importance of adequate vitamin A status during iron supplementation. *Nutr Rev* 1997;55:306-7.

**Ricard Andrés MP.** Anemia de enfermedad crónica y anemias secundarias. *Medicine (Madrid)* 2001;8:2638-45.

**Ricci G, Martinelli L, Resca D, Perzoli C, Masotti M, Candi L, Viganò M.** The determination of plasma transferrin receptor (TfR) in patients with heart valve prosthesis: a useful evaluation of bone-marrow response to traumatic haemolysis. *Eur J Haematol* 1995;54:200-1.

**Richardson CH, Emery P.** Laboratory markers of disease activity. *J Rheumatol* 1996;44(Suppl):23-30.

**Richardson DR, Ponka P.** The molecular mechanisms of the metabolism and transport of iron in normal and neoplastic cells. *Biochim Biophys Acta* 1997;1331:1-40.

**Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH.** Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 1997;336:973-9.

**Ridker PM.** High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation* 2001;103:1813-8.

**Riley EM, Wagner GE, Ofori MF, Wheeler JG, Akanmori BD, Tetteh K, McGuinness D, Bennett S, Nkrumah FK, Anders RF, Koram KA.** Lack of association between maternal antibody and protection of African infants from malaria infection. *Infect Immun* 2000;68:5856-63.

**Riley EM, Wagner GE, Akanmori BD, Koram KA.** Do maternally acquired antibodies protect infants from malaria infection? *Parasite Immunol* 2001;23:51-9.

**Ringelmann B, Hathorn MKS, Jilly P, Grant F, Parniczky G.** A new look at the protection of haemoglobin AS and AC genotypes against *Plasmodium falciparum* infection: a census tract approach. *Am J Human Genet* 1976;28:270-9.

**Rogers WO, Baird JK, Kumar A, Tine JA, Weiss W, Aguiar JC, Gowda K, Gwadz R, Kumar S, Gold M, Hoffman SL.** Multistage multiantigen heterologous prime boost vaccine for *Plasmodium knowlesi* malaria provides partial protection in rhesus macaques. *Infect Immun* 2001;69:5565-72.

**Roncagliolo M, Garrido M, Walter T, Peirano P, Lozoff B.** Evidence of altered central nervous system development in infants with iron deficiency anemia at 6 mo: delayed maturation of auditory brainstem responses. *Am J Clin Nutr* 1998;68:683-90.

**Rosales FJ, Topping JD, Smith JE, Shankar AH, Ross AC.** Relation of serum retinol to acute phase proteins and malarial morbidity in Papua New Guinea children. *Am J Clin Nutr* 2000;71:1582-8.

**Rosalki SB.** C- reactive protein. *Int J Clin Pract* 2001;55:269-70.

**Rosas JE, Pedraz JL, Hernandez RM, Gascon AR, Igartua M, Guzman F, Rodriguez R, Cortes J, Patarroyo ME.** Remarkably high antibody levels and protection against *P. falciparum* malaria in Aotus monkeys after a single immunisation of SPf66 encapsulated in PLGA microspheres. *Vaccine* 2002;20:1707-10.

**Rouman RMH, van Meurs PA, Kuypers HHC, Kraak WAG, Sauerwein RW.** Serum interleukin-6 and C-reactive protein responses in patients after laparoscopic or conventional cholecystectomy. *Eur J Surg* 1992;158:541-4.

**Ruiz-Larrea MB, Lacort M.** Papel del hierro en la peroxidación de lípidos. Sistemas de protección: antioxidantes naturales y sintéticos. *Rev Toxicol* 1995;12:92-7.

**Rushton DH, Dover R, Sainsbury AW, Norris MJ, Gilkes JJ, Ramsay ID.** Why should women have lower reference limits for haemoglobin and ferritin concentrations than men? *BMJ* 2001;322:1355-7.



**Rusia U, Flowers C, Madan N, Agarwal N, Sood SK, Sikka M.** Serum transferrin receptor levels in the evaluation of iron deficiency in the neonate. *Acta Paediatr Jpn* 1996;38:455-9.

**Ruwende C, Khoo SC, Snow RW, Yates SN, Kwiatkowski D, Gupta S, Warn P, Allsopp CE, Gilbert SC, Peschu N, Newbold CI, Greenwood BM, Marsh K, Hill AVS.** Natural selection of hemi- and heterozygotes for G6PD deficiency in Africa by resistance to severe malaria. *Nature* 1995;376:246-9.

**R'zik S, Beguin Y.** Serum soluble transferrin receptor concentration is an accurate estimate of the mass of tissue receptors. *Exp Hematol* 2001;29:677-85.

**Sadler S.** Iron deficiency in eight-month-old babies. *Prof Care Mother Child* 1996;6:65-9.

**Sakai Y, Kobayashi S, Shibata H, Furuumi H, Endo T, Fucharoen S, Hamano S, Acharya GP, Kawasaki T, Fukumaki Y.** Molecular analysis of alpha-thalassemia in Nepal: correlation with malaria endemicity. *J Hum Genet* 2000;45:127-32.

**Salako LA, Brieger WR, Afolabi BM, Umeh RE, Agomo PU, Asa S, Adeneye AK, Nwankwo BO, Akinlade CO.** Treatment of childhood fevers and other illnesses in three rural Nigerian communities. *J Trop Pediatr* 2001;47:230-8.

**Salas J, Galan P, Arija V, Martí-Henneberg C, Hercberg S.** Iron status and food intake in a representative sample of children and adolescents living in a Mediterranean city of Spain. *Nutr Res* 1990;10:379-90.

**Sans-Sabrafen J.** *Hematología Clínica*. 4ª ed. Madrid: Harcourt, 2001.

**Sargent JD, Stukel TA, Dalton MA, Freeman JL, Brown MJ.** Iron deficiency in Massachusetts communities: socioeconomic and demographic risk factors among children. *Am J Public Health* 1996;86:544-50.

**Sarkar S, Prakash D, Marwaha RK, Garewal G, Kumar L, Singhi S, Walia BN.** Acute intravascular haemolysis in glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Ann Trop Paediatr* 1993;13:391-4.

**Sauerwein RW, Mulder JA, Mulder L, Lowe B, Peshu N, Demacker PNM, van der Meer JWM, Marsh K.** Inflammatory mediators in children with protein-energy malnutrition. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1534-9.

**Saute F, Menendez C, Mayor A, Aponte J, Gomez-Olive X, Dgedge M, Alonso P.** Malaria in pregnancy in rural Mozambique: the role of parity, submicroscopic and multiple *Plasmodium falciparum* infections. *Trop Med Int Health* 2002;7:19-28.

**Scott D, Pritchard JA.** Iron deficiency in healthy young college women. *JAMA* 1967;199:897-900.

**Scrimshaw N, SanGiovanni JP.** Synergism of nutrition, infection, and immunity: an

overview. *Am J Clin Nutr*, 1997;66(Suppl):464-77.

**Scrimshaw NS.** Comments on the management of iron deficiency and iron deficiency anemia. *Public Health Rev* 2000;28:101-4.

**Schellenberg D, Menendez C, Kahigwa E, Font F, Galindo C, Acosta C, Armstrong-Schellenberg J, Aponte JJ, Kimario J, Urassa H, Mshinda H, Tanner M, Alonso P.** African children with malaria in an area of intense *Plasmodium falciparum* transmission: features on admission to the hospital and risk factors for death. *Am J Trop Med Hyg* 1999;61:431-8.

**Schellenberg D, Menendez C, Kahigwa E, Aponte J, Vidal J, Tanner M, Mshinda H, Alonso P.** Intermittent treatment for malaria and anaemia control at time of routine vaccinations in Tanzanian infants: a randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357:1471-7.

**Scholl TO, Heidiger ML, Fisher RL, Shearer JW.** Anemia versus iron deficiency: increased risk of preterm delivery in a prospective study. *Am J Clin Nutr* 1992;55:985-8.

**Schrezenmeier H, Noe G, Raghavachar A, Rich IN, Heimpel H, Kubanek B.** Serum erythropoietin and serum transferrin receptor levels in aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1994;88:286-94.

**Schultink W, Gross R, Gliwitzki M, Karyadi D, Matulessi P.** Effect of daily vs twice weekly iron supplementation in Indonesian preschool children with low iron status. *Am J Clin Nutr* 1995;61:111-5.

**Schumann K.** Safety aspects of iron in food. *Ann Nutr Metab* 2001;45:91-101.

**Sears DA, Andersen PR, Foy AL, Williams HL, Crosby WH.** Urinary iron excretion and renal metabolism of hemoglobin in hemolytic disease. *Blood* 1966;28:708-25.

**Seligman PA, Kovar J, Schleicher RB, Gelfand EW.** Transferrin-independent iron uptake supports B lymphocyte growth. *Blood* 1991;78:1526-31.

**Sellen DW.** Weaning, complementary feeding, and maternal decision making in a rural east African pastoral population. *J Hum Lact* 2001;17:233-44.

**Sen R, Bhatnagar BM, Singh U, Yadav MS, Sehgal PK.** Patterns of erythropoiesis and anaemia in malaria. *J Commun Dis* 1990;22:247-53.

**Shaffer N, Grau GE, Hedberg K, Davachi F, Lyamba B, Hightower AW, Breman JG, Nguyen-Dinh P.** Tumor necrosis factor and severe malaria. *J Infect Dis* 1991;163:96-101.

**Shankar AH, Genton B, Semba RD, Baisor M, Paino J, Tamja S, Adiguma T, Wu L, Rare L, Tielsch JM, Alpers MP, West KP.** Effect of vitamin A supplementation on morbidity due to *Plasmodium falciparum* in young children in Papua New Guinea: a randomised trial. *Lancet* 1999;354:203-9.

**Sherriff A, Emond A, Hawkins N, Golding J.** Haemoglobin and ferritin concentrations in children aged 12 and 18 months. *Arch Dis Child* 1999;80:153-7.

**Shih YJ, Baynes RD, Hudson BG, Flowers CH, Skikne BS, Cook JD.** Serum transferrin receptor is a truncated form of the tissue receptor. *J Biol Chem* 1990;265:19077-81.

**Singhal A, Cook JD, Skikne BS, Thomas P, Serjeant B, Serjeant G.** The clinical significance of serum transferrin receptor levels in sickle cell disease. *Br J Haematol* 1993;84:301-4.

**Siegenberg D, Baynes RD, Bothwell TH, Macfarlane BJ, Lamparelli RD, Car NG, MacPhail P, Schmidt U, Tal A, Mayet F.** Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and the phytates on non-heme-iron absorption. *Am J Clin Nutr* 1991;53:537-41.

**Siimes MS, Addiego JE, Dallman PR.** Ferritin in serum: diagnosis of iron deficiency and iron overload in infants and children. *Blood* 1974;43:581-90.

**Silverman PH, Schooley JC, Mahlmann LJ.** Murine malaria decreases hemopoietic stem cells. *Blood* 1987;69:408-13.

**Skikne BS, Lynch SR, Cook JD.** Role of gastric acid in food iron absorption. *Gastroenterology* 1981;81:1068-71.

**Skikne BS, Flowers CH, Cook JD.** Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood* 1990;75:1870-76.

**Skikne BS.** Circulating transferrin receptor assay - coming of age. *Clin Chem* 1998;44:7-9.

**Sloan NL, Jordan E, Winikoff B.** Effects of iron supplementation on maternal hematologic status in pregnancy. *Am J Public Health* 2002;92:288-93.

**Slutsker L, Khoromana CO, Hightower AW, Macheso A, Wirima JJ, Breman JG, Heymann DL, Steketee RW.** Malaria infection in infancy in rural Malawi. *Am J Trop Med Hyg* 1996;55(Suppl):71-6.

**Smith AW, Hendrickse RG, Harrison C, Hayes RJ, Greenwood BM.** Iron deficiency and its response to oral iron: report of a study in rural Gambian children treated at home by their mothers. *Ann Trop Paediatr* 1989a;9:6-16.

**Smith AW, Hendrickse RG, Harrison C, Hayes RJ, Greenwood BM.** The effects on malaria of treatment of iron-deficiency anaemia with oral iron in Gambian children. *Ann Trop Paediatr* 1989b;9:17-23.

**Smith T, Charlwood JD, Kihonda J, Mwankusye S, Billingsley P, Meuwissen J, Lyimo E, Takken W, Teuscher T, Tanner M.** Absence of seasonal variation in malaria parasitaemia in an area of intense seasonal transmission. *Acta Trop* 1993;54:55-72.

**Smith T, Armstrong Schellenberg JRM, Hayes R.** Attributable fraction estimates and case definitions for malaria in endemic areas. *Stat Med* 1994;13:2345-58.

**Smith T, Charlwood JD, Kitua AY, Masanja H, Mwankusye S, Alonso PL, Tanner M.** Relationships of malaria morbidity with exposure to *Plasmodium falciparum* in young children in a highly endemic area. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:252-7.

**Smith T, Beck HP, Kitua A, Mwankusye S, Felger I, Fraser-Hurt N, Irion A, Alonso P, Teuscher T, Tanner M.** The epidemiology of multiple *Plasmodium falciparum* infections 3. Age dependence of the multiplicity of *Plasmodium falciparum* infections and other malariological indice in an area of high endemicity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999a;93(Suppl 1):11-4.

**Smith T, Beck HP, Kitua A, Mwankusye S, Felger I, Fraser-Hurt N, Irion A, Alonso P, Teuscher T, Tanner M.** The epidemiology of multiple *Plasmodium falciparum* infections 4. Age dependence of the multiplicity of *Plasmodium falciparum* infections and other malariological indice in an area of high endemicity. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999b;93(Suppl 1):15-20.

**Smith T, Felger I, Kitua A, Tanner M, Beck HP.** The epidemiology of multiple *Plasmodium falciparum* infections 7. Dynamics of multiple *Plasmodium falciparum* infections in infants in a highly endemic area of Tanzania. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999c;93(Suppl 1):35-9.

**Smith T, Felger I, Fraser-Hurt N, Beck HP.** The epidemiology of multiple *Plasmodium falciparum* infections 10. Effect of insecticide-treated bed nets on the dynamics of multiple *Plasmodium falciparum* infections. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1999d;93(Suppl 1):53-7.

**Snounou G, Viriyakosol S, Zhu XP, Jarra W, Pinheiro L, do Rosario VE, Thaithong S, Brown KN.** High sensitivity of detection of human malaria parasites by use of nested polymerase chain reaction. *Mol Biochem Parasitol* 1993;61:315-20.

**Snow RW, Byass P, Shenton FC, Greenwood BM.** The relationship between anthropometric measurements and measurements of iron status and susceptibility to malaria in Gambian children. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1991;85:584-9.

**Snow RW, Armstrong JRM, Forster D, Winstanley MT, Marsh VM, Newton CR, Waruiru C, Mwangi I, Winstanley PA, Marsh K.** Childhood deaths in Africa: uses and limitations of verbal autopsies. *Lancet* 1992;340:351-5.

**Snow RW, Omumbo JA, Lowe B, Molyneux CS, Obiero JO, Palmer A, Weber MW, Pinder M, Nahlen B, Obonyo Ch, Newbold Ch, Gupta S, Marsh K.** Relation between severe malaria morbidity in children and level of *Plasmodium falciparum* transmission in Africa. *Lancet* 1997;349:1650-4.

**Soewondo S, Husaini M, Pollitt E.** Effects of iron deficiency on attention and learning processes in preschool children: Bandung, Indonesia. *Am J Clin Nutr* 1989;50:667-74.

**Srichaikul T, Panikbutr N, Jeumtrakul P.** Bone marrow changes in human malaria. *Ann Trop Med Parasitol* 1967;61:40-51.

**Stevens D.** Screening toddlers for iron deficiency anaemia in general practice. No investigation can accurately separate normal from pathological. *BMJ* 1998;316:145.

**Stevens D.** Iron fortified follow on formula from 9 to 18 months improves iron status but not development or growth. *Arch Dis Child* 2000;82:269-70.

**Stevens D, Nelson A.** The effect of iron in formula milk after 6 months of age. *Arch Dis Child* 1995;73:216-20.

**Stirnadel HA, Stockle M, Felger I, Smith T, Tanner M, Beck HP.** Malaria infection and morbidity in infants in relation to genetic polymorphisms in Tanzania. *Trop Med Int Health* 1999;4:187-93.

**Stoltzfus RJ, Chwaya HM, Tielsch JM, Schulze KJ, Albonico M, Savioli L.** Epidemiology of iron deficiency anemia in Zanzibari schoolchildren: the importance of hookworms. *Am J Clin Nutr* 1997a;65:153-9.

**Stoltzfus RJ, Chwaya HM, Albonico M, Schulze KJ, Savioli L, Tielsch JM.** Serum ferritin, erythrocyte protoporphyrin and hemoglobin are valid indicators of iron status of schoolchildren in a malaria holoendemic population. *J Nutr* 1997b;127:293-8.

**Stoltzfus RJ, Albonico M, Chwaya HM, Tielsch JM, Schulze KJ, Savioli L.** Effects of the Zanzibar school-based deworming program on iron status of children. *Am J Clin Nutr* 1998;68:179-86.

**Stoltzfus RJ, Chwaya HM, Montresor A, Albonico M, Savioli L, Tielsch JM.** Malaria, hookworms and recent fever are related to anemia and iron status indicators in 0 to 5 years old Zanzibari children and these relationships change with age. *J Nutr* 2000;130:1724-33.

**Stoltzfus RJ, Kvalsvig JD, Chwaya HM, Montresor A, Albonico M, Tielsch JM, Savioli L, Pollitt E.** Effects of iron supplementation and anthelmintic treatment on motor and language development of preschool children in Zanzibar: double blind, placebo controlled study. *BMJ* 2001;323:1389-93.

**Stowers AW, Chen Lh LH, Zhang Y, Kennedy MC, Zou L, Lambert L, Rice TJ, Kaslow DC, Saul A, Long CA, Meade H, Miller LH.** A recombinant vaccine expressed in the milk of transgenic mice protects Aotus monkeys from a lethal challenge with *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:339-44.

**Suharno D, West CE, Muhilal, Karyadi D, Hautvast JGAJ.** Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet* 1993;342:1325-8.

**Sunder-Plassmann G, Horl WH.** Iron metabolism and iron substitution during erythropoietin therapy. *Clin Investig* 1994;72(Suppl):11-5.

**Sunder-Plassmann G, Patruta SI, Horl WH.** Pathobiology of the role of iron in infection. *Am J Kidney Dis* 1999;34(Suppl 2):25-9.

**Suominen P, Punnonen K, Rajamaki A, Irjala K.** Evaluation of new immunoenzymometric assay for measuring soluble transferrin receptor to detect iron deficiency in anemic patients. *Clin Chem* 1997;43:1641-6.

**Suominen P, Punnonen K, Rajamaki A, Irjala K.** Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron deficits. *Blood* 1998;92:2934-9.

**Suominen P, Punnonen K, Rajamaki A, Majuri R, Hänninen V, Irjala K.** Automated immunoturbidimetric method for measuring soluble transferrin receptor. *Clin Chem* 1999;45:1302-5.

**Suominen P, Mottonen T, Rajamaki A, Irjala K.** Single values of serum transferrin receptor and transferrin receptor ferritin index can be used to detect true and functional iron deficiency in rheumatoid arthritis patients with anemia. *Arthritis Rheum* 2000;43:1016-20.

**Suominen P, Virtanen A, Lehtonen-Veromaa M, Heinonen OJ, Salmi TT, Alanen M, Mottonen T, Rajamaki A, Irjala K.** Regression-based reference limits for serum transferrin receptor in children 6 months to 16 years of age. *Clin Chem* 2001;47:935-7.

**Svanberg U, Lorri W, Sandberg AS.** Lactic fermentation of non tannin and high tannin cereals: effect on in vitro iron availability and phytate hydrolysis. *J Food Sci* 1993;58:408-12.

**Takubo T, Kumura T, Nakao T, Nakamae H, Aoyama Y, Nishiki S, Kinoshita Y, Koh KR, Ohta K, Yamane T, Hino M, Kamitani T, Tatsumi N.** Clinical usefulness of combined measurements of serum soluble transferrin receptor levels and serum interleukin-18 levels at determination of serum KL-6 levels in haematologic malignancies. *Acta Haematol* 2000;104:141-3.

**Tamhne RC.** Screening toddlers for iron deficiency anaemia in general practice. Study to determine prevalence of iron deficiency was suspended. *BMJ* 1998;316:146.

**Tanner M, Burnier E, Stahel E, Mayombana C, deSavigny D, Degremont A.** In vitro monitoring of chloroquine sensitivity of *Plasmodium falciparum* in Ifakara, Kilombero District, south-east Tanzania. *East Afr Med J* 1987;64:464-70.

**Tanner M, De Savigny D, Mayombana C.** Morbidity and mortality at Kilombero, Tanzania, 1982-1988. En: Feachem RG, Jamison DT (eds). *Disease and mortality in sub-Saharan Africa*. Oxford: Oxford University Press, 1991: p. 286-305.

**Targett GAT.** En: Isliker H, Schurch B (eds). *Nestle Foundation Publication, Series 2*, Hans Huber, 1981:p.158-79.

**Tarimo DS, Minjas JN, Bygbjerg IC.** Malaria diagnosis and treatment under the strategy of the integrated management of childhood illness (IMCI): relevance of laboratory support from the rapid immunochromatographic tests of ICT Malaria P.f/P.v and OptiMal. *Ann Trop Med Parasitol* 2001;95:437-44.

**Tatala S, Svanberg U, Mduma B.** Low dietary iron availability is a major cause of anemia: a nutrition survey in the Lindi District of Tanzania. *Am J Clin Nutr* 1998;68:171-8.

**Taylor DJ, Mallen C, McDougall N, Lind T.** Effect of iron supplementation on serum ferritin levels during and after pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1982;89:1011-7.

**Taylor PG, Martinez-Torres C, Mendez-Castellano H, Bosch.** The relationship between iron deficiency and anemia in Venezuelan children. *Am J Clin Nutr* 1993;58:215-8.

**Testa U.** Transferrin receptors: structure and function. *Curr Top Hematol* 1985;5:127.

**Thakur A, Verma IC.** Interaction of malarial infection and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Muria gonds of district Bastar, central India. *Trop Geogr Med* 1992;44:201-5.

**Theil EC.** Regulation of ferritin and transferrin receptor mRNAs. *J Biol Chem* 1990;265:4771-4.

**Theisen M, Dodoo D, Toure-Balde A, Soe S, Corradin G, Koram KK, Kurtzhals JA, Hviid L, Theander T, Akanmori B, Ndiaye M, Druilhe P.** Selection of glutamate-rich protein long synthetic peptides for vaccine development: antigenicity and relationship with clinical protection and immunogenicity. *Infect Immun* 2001;69:5223-9.

**Thomas BE, Manocha M, Haq W, Adak T, Pillai CR, Rao DN.** Modulation of the humoral response to repeat and non-repeat sequences of the circumsporozoite protein of *Plasmodium vivax* using novel adjuvant and delivery systems. *Ann Trop Med Parasitol* 2001;95:451-72.

**Thompson WG, Mcola T, Lipkin M, Freedman MI.** Cell red distribution width, mean corpuscular volume and transferrin saturation in the diagnosis of iron deficiency. *Arch Intern Med* 1988;148:2128-30.

**Thorne PS.** Inhalation toxicology models of endotoxin- and bioaerosol-induced inflammation. *Toxicology* 2000;152:13-23.

**Thorstensen K, Romslo I.** The transferrin receptor: its diagnostic value and its potential as therapeutic target. *Scand J Clin Lab Invest* 1993;215(Suppl):113-20.

**Thu BD, Schultink W, Dillon D, Gross R, Leswara ND, Khoi HH.** Effect of daily and weekly micronutrient supplementation on micronutrient deficiencies and growth in young Vietnamese children. *Am J Clin Nutr* 1999;69:80-6.

**Thurnham DI.** Vitamin A, iron and haemopoiesis. *Lancet* 1993;342:1312-3.

**Tietz NW.** Clinical guide to laboratory tests, 2nd ed. Philadelphia: Saunders WB (Ed). 1990.

**Tietz NW, Rinker AD.** Should accuracy of iron measurements be improved?. *Clin Chem* 1994;40:1347-8.

**Tietz NW, Rinker AD, Morrison SR.** When is a serum iron really a serum iron?. The status of serum iron measurements. *Clin Chem* 1994;40:546-51.

**Tietz NW, Rinker AD, Morrison SR.** When is a serum iron really a serum iron?. A follow-up study on the status of iron measurements in serum. *Clin Chem* 1996;42:109-11.

**Toth I, Bridges KR.** Ascorbic acid modulates ferritin translation by an aconitase/IRP switch. *Blood* 1995;86 (Suppl 1):127.

**Trape JF.** Rapid evaluation of malaria parasite density and standardization of thick smear examination for epidemiological investigations. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1985;79:181-4.

**Trape JF, Zoulani A, Quinet MC.** Assessment of the incidence and prevalence of clinical malaria in semi-immune children exposed to intense and perennial transmission. *Am J Epidemiol* 1987;126:193-201.

**Triglia T, Cowman AF.** Primary structure and expression of the dihydropteroate synthetase gene of *Plasmodium falciparum*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994;91:7149-53.

**Trinder D, Morgan E.** Inhibition of uptake of transferrin-bound iron by human hepatoma cells by nontransferrin-bound iron. *Hepatology* 1997;26:691-8.

**Trowbridge IS.** Immunoassay of serum transferrin receptors: clinical implications. *J Lab Clin Med* 1989;114:336-7.

**Trowbridge IS, Collawn JF.** Structural requirements for high efficiency endocytosis of the human transferrin receptor. *J Inorg Biochem* 1992;47:209-17.

**Tunnessen W, Oski F.** Consequences of starting whole cow milk at 6 months of age. *J Pediatr* 1987;111:813-6.

**Turkay S, Tanzer F, Gultekin A, Bakici MZ.** The influence of maternal iron deficiency anaemia on the haemoglobin concentration of the infant. *J Trop Pediatr* 1995;41:369-71.

**Turkewitz AP, Amatruda JF, Borhani D, Harrison SC, Schwartz AL.** A high yield purification of the human transferrin receptor and properties of its major extracellular fragment. *J Biol Chem* 1988;263:8318.

**Underwood BA, Arthur P.** The contribution of vitamin A to public health. *FASEB J* 1996;10:1040-8.

**UNICEF/United Republic of Tanzania.** Women and children in Tanzania. A situational analysis. Dar es Salaam, United Republic of Tanzania: UNICEF, 1990.

**Urdal P, Borch SM, Landaas S, Krutnes MB, Gogstad GO, Hjortdahl P.** Rapid immunometric measurement of c-reactive protein in whole blood. *Clin Chem* 1992;38:580-



4.

**Van den Broeck J, Eeckels R, Vuylsteke J.** Influence of nutritional status on child mortality in rural Zaire. *Lancet* 1993;341:1491-5.

**Van Eijk HG, de Jong G.** The physiology of iron, transferrin, and ferritin. *Biol Trace Elem Res* 1992;35:13-24.

**Vázquez López MA, Carracedo Morales A, Muñoz Vico J, Morcillo Llorens R, Calvo Bonachera MD, López Muñoz J, Muñoz Hoyos A.** Receptor sérico de la transferrina en niños sanos. *An Esp Pediatr* 2001;55:113-20.

**Vazquez-Seoane P, Windom R, Pearson HA.** Disappearance of iron-deficiency anemia in a high-risk infant population given supplemental iron. *N Engl J Med* 1985;313:1239-40.

**Verhoef H, West CE, Ndeto P, Burema J, Beguin Y, Kok FJ.** Serum transferrin receptor concentration indicates increased erythropoiesis in Kenyan children with asymptomatic malaria. *Am J Clin Nutr* 2001;74:767-75.

**Vernet M.** The transferrin receptor: its role in iron metabolism and its diagnosis utility. *Ann Biol Clin* 1999;57:9-18.

**Vernet M, Doyen C.** Assessment of iron status with a new fully automated assay for transferrin receptor in human serum. *Clin Chem Lab Med* 2000;38:437-42.

**Virella D, Pina MJ.** Prevalencia da ferropenia na primeira infancia. *Acta Med Port* 1998;11:607-13.

**Viriyakosol S, Siripoon N, Petcharapirat C, Jarra W, Thaithong S, Brown KN, Snounou S.** Genotyping of *Plasmodium falciparum* isolates by the polymerase chain reaction and potential uses in epidemiological studies. *Bull World Health Organ* 1993;73:85-95.

**Virk A.** Medical advice for international travelers. *Mayo Clin Proc* 2001;76:831-40

**Virtanen M, Siimes MA, Krusius T, Petterson T, Teppo AM, Viinikka LU.** Evaluation of an ELISA test for determination of the serum transferrin receptor. Demonstration of discordance between results obtained with two methods. *Scand J Clin Lab Invest* 1998;58:561-7.

**Virtanen MA, Viinikka LU, Virtanen MK, Svahn JC, Anttila R, Krusius T, Cook JD, Axelsson IE, Raiha NC, Siimes MA.** Higher concentrations of serum transferrin receptor in children than in adults. *Am J Clin Nutr* 1999;69:256-60.

**Viteri FE, Alvarez E, Batres R, Torún B, Pineda O, Mejía LA.** Fortification of sugar with iron sodium ethylenediaminetetraacetate (FeNaEDTA) improves iron status in semirural Guatemalan populations. *Am J Clin Nutr* 1995;61:1153-63.

**Viteri FE.** Iron supplementation for the control of iron deficiency in populations at risk. *Nutr Rev* 1997;55:195-209.

**Vives JL, Aguilar JL.** Manual de Técnicas de laboratorio en hematología. Barcelona: Masson-Salvat;1987.

**Vives Corrons JL.** Anemia ferropénica y otros trastornos del metabolismo del hierro. En: Hematología clínica. Sans-Sabrafen J (Coord). 3ª edición. Barcelona: Mosby-Doyma;1994.p.111-30.

**Vives Corrons JL.** Anemias por defectos congénitos de la hemoglobina. Hemoglobinopatías estructurales y talasemias. *Medecine (Madrid)* 2001;8:2684-93.

**Von Seidlein L, Jaffar S, Pinder M, Haywood M, Snounou G, Gemperli B, Gathmannl, Royce C, Greenwood B.** Treatment of African children with uncomplicated falciparum malaria with a new antimalarial drug, CGP 56697. *J Infect Dis* 1997;176:1113-6.

**Vounatsou P, Smith T, Kitua AY, Alonso PL, Tanner M.** Apparent tolerance of *Plasmodium falciparum* in infants in a highly endemic area. *Parasitology* 2000;120:1-9.

**Waalén J, Felitti V, Beutler E.** Haemoglobin and ferritin concentrations in men and women: cross sectional study. *BMJ* 2002;325:137.

**Wagner G, Koram K, McGuinness D, Bennett S, Nkrumah F, Riley E.** High incidence of asymptomatic malaria infections in a birth cohort of children less than one year of age in Ghana, detected by multicopy gene polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:115-23.

**Walker AR, Walker BF.** Iron supplementation and cognitive function. *Lancet* 1996;348:1669.

**Walker AR.** The remedying of iron deficiency: what priority should it have? *Br J Nutr* 1998;79:227-35.

**Walter T, De Andraca I, Chadud P, Perales CG.** Iron deficiency anemia: adverse effects on infant psychomotor development. *Pediatrics* 1989;84:7-17.

**Walter T.** Impact of iron deficiency on cognition in infancy and childhood. *Eur J Clin Nutr* 1993a;47:307-16.

**Walter T, Dallman PR, Pizarro F, Velozo L, Pena G, Bartholmey SJ, Hertrampf E, Olivares M, Letelier A, Arredondo M.** Effectiveness of iron fortified cereal in prevention of iron deficiency anemia. *Pediatrics* 1993b;91:976-82.

**Walter T.** Effect of iron-deficiency anaemia on cognitive skills in infancy and childhood. *Baillière's Clinical Haematology* 1994;7:815-27.

**Walter T, Olivares M, Pizarro F, Muñoz C.** Iron, anemia and infection. *Nutr Rev* 1997;55:111-24.

**Walter T, Pino P, Pizarro F, Lozoff B.** Prevention of iron-deficiency anemia:

comparison of high- and low-iron formulas in term healthy infants after six months of life. *J Pediatr* 1998;132:635-40.

**Walters MC, Abelson HT.** Interpretation of the complete blood count. *Pediatr Clin North Am* 1996;43:599-622.

**Weatherall DJ, Abdalla S.** The anaemia of *Plasmodium falciparum* malaria. *Br Med Bull* 1982;38:147-52.

**Webb TE, Oski FA.** Iron deficiency anemia and scholastic achievement in young adolescents. *J Pediatr* 1973;82:827-30.

**Weber RE, Boning D, Fago A, Schmidt W, Correa R.** Hemoglobins from *Plasmodium*-infected rat erythrocytes: functional and molecular characteristics. *Blood* 1994;84:638-42.

**Weiss G.** Iron and anemia of chronic disease. *Kidney Int* 1999;69:12-7.

**Wengelnik K, Vidal V, Ancelin ML, Cathiard AM, Morgat JL, Kocken CH, Calas M, Herrera S, Thomas AW, Vial HJ.** A class of potent antimalarials and their specific accumulation in infected erythrocytes. *Science* 2002;295:1311-4.

**West CE.** Strategies to control nutritional anemia. *Am J Clin Nutr* 1996;64:789-90.

**West CE, Hautvast JG.** Nutrition. From 'whither' to 'wither' micronutrient malnutrition?. *Lancet* 1997;350(Suppl 3):15.

**West AP Jr, Giannetti AM, Herr AB, Bennett MJ, Nangiana JS, Pierce JR, Weiner LP, Snow PM, Bjorkman PJ.** Mutational analysis of the transferrin receptor reveals overlapping HFE and transferrin binding sites. *J Mol Biol* 2001;313:385-97.

**Whalen EA, Caulfield LE, Harris SB.** Prevalence of anemia in First Nations children of northwestern Ontario. *Can Fam Physician* 1997;43:659-64.

**Wharton BA.** Iron deficiency in children: detection and prevention. *Br J Haematol* 1999a;106:270-80.

**Wharton BA.** Low plasma vitamin D in Asian toddlers in Britain. *BMJ* 1999b;318:2-3.

**Whitehead AS, Bruns GAP, Markham AF, Colten HR, Woods DE.** Isolation of human C-reactive protein complementary DNA and localization of the gene to chromosome 1. *Science* 1983;221:69.

**Whicher JT.** Acute phase proteins, physiology and clinical uses. *Clin Biochem Rev* 1990;11:4-9.

**Wolff CG, Schroeder DG, Young MW.** Effect of improved housing on illness in children under 5 years old in northern Malawi: cross sectional study. *BMJ* 2001;322:1209-12.

**WHO. Group of experts.** Nutritional anaemias. WHO Technical Report Series N°. 405 Geneva: WHO,1968.

**WHO. Group of experts.** Nutritional anaemias. WHO Technical Report Series No. 503 Geneva: WHO,1972.

**WHO.** Severe and complicated malaria. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1986;80(Suppl):1-50.

**WHO.** Severe and complicated malaria. *Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1990;84(Suppl 2):1-65.

**WHO.** World malaria situation in 1989: Part 1. *Weekly Epidemiol Rec* 1991;67:157-63.

**WHO. Group of experts.** Nutritional anaemias. Diet, nutrition and chronic diseases prevention. WHO Technical Report Series N°. 790 Geneva: WHO,1990;23-7.

**WHO.** Report of WHO/UNICEF/UNU consultation on indicators and strategies for iron deficiency and anemia programmes. Draft IDAREP.01. Geneva: WHO;1994a.

**WHO.** Report of WHO/UNICEF/UNU Joint Committee on Health Policy, 30<sup>th</sup> Session. Strategic approach to operationalizing selected end-decade goals: reduction of iron deficiency anaemia by one-third of the 1990 levels. *JCHP30/95/4.5*. Geneva:WHO, 1994b.

**WHO, CDC.** Severe falciparum malaria. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 2000;94(suppl 1):1-90.

**Wians FH Jr, Urban JE, Keffer JH, Kroft SH.** Discriminating between iron deficiency anemia and anemia of chronic disease using traditional indices of iron status vs transferrin receptor concentration. *Am J Clin Pathol* 2001;115:112-8.

**Wiltink WF, van Eijk HG, Bobeck-Rutsaert MM, Gerbrandy J, Leijnse B.** Urinary iron excretion in nephrotic syndrome. *Acta Haematol* 1972;47:269-76.

**Williams TN, Maitland K, Ganczakowski M, Peto TEA, Clegg JB, Weatherall DJ, Bowden DK.** Red blood cell phenotypes in the alphas (+) thalassaemias from early childhood to maturity. *Br J Haematol* 1996;95:266-72.

**Williams TN, Maitland K, Rees DC, Peto TEA, Bowden DK, Weatherall DJ, Clegg JB.** Reduced soluble transferrin receptor concentrations in acute malaria in Vanuatu. *Am J Trop Med Hyg* 1999a;60:875-8.

**Williams J, Wolff A, Daly A, MacDonald A, Aukett A, Booth IW.** Iron supplemented formula milk related to reduction in psychomotor decline in infants from inner city areas: randomised study. *BMJ* 1999b;318:693-7.

**Willows ND, Morel J, Gray-Donald K.** Prevalence of anemia among James Bay Cree infants of northern Quebec. *CMAJ* 2000;162:323-6.

**Wolde-Gebriel Z, West CE, Gebru H, Tadesse AS, Fisseha T, Gabre P, Aboye C,**

**Ayana G, Hauvast JG.** Interrelationship between vitamina A, iodine and iron status in schoolchildren in Shoa Region, Central Ethiopia. *Br J Nutr* 1993;70:593-607.

**Wolff CG, Schroeder DG, Young MW.** Effect of improved housing on illness in children under 5 years old in northern Malawi: cross sectional study. *BMJ* 2001;322:1209-12.

**Wong WY.** Prevention and management of infection in children with sickle cell anaemia. *Paediatr Drugs* 2001;3:793-801.

**Woo J, Cannon DC.** Intermediarios metabólicos e iones inorgánicos. En: John Bernard Henry (Coord). *Diagnóstico y tratamiento clínicos por el laboratorio*. Barcelona: Salvat,1993:p.171-5 y 647-9.

**Woodruff AW, Ansdell VE, Pettitt LE.** Cause of anaemia in malaria. *Lancet* 1979;i:1055-7.

**Wootton JC, Feng X, Ferdig MT, Cooper RA, Mu J, Baruch DI, Magill AJ, Su XZ.** Genetic diversity and chloroquine selective sweeps in *Plasmodium falciparum*. *Nature* 2002;418:320-3.

**Worwood M.** Influence of disease on iron status. *Proc Nutr Soc* 1997;56:409-19.

**Yamanishi H, Iyama S, Amino N.** Ferritin iron interferes with recommended method for measuring serum iron. *Clin Chem* 1996a;42:2042-3.

**Yamanishi H, Iyama S, Fushimi R, Amino N.** Interference of ferritin in measurement of serum iron concentrations: comparison by five methods. *Clin Chem* 1996b;42:331-2.

**Yardick MK, Kenney MA, Winterfeldt EA.** Iron, copper and zinc status: response to supplementation with zinc or zinc and iron in adults females. *Am J Clin Nutr* 1989;49:145-90.

**Yentis SM, Soni N, Sheldon J.** C-reactive protein as an indicator of resolution of sepsis in the intensive care unit. *Intensive Care Med* 1995;21:602-5.

**Yeung GS, Zlotkin SH.** Percentile estimates for transferrin receptor in normal infants 9-15 mo of age. *Am J Clin Nutr* 1997;66:342-7.

**Yeung GS, Kjarsgaard JC, Zlotkin Sh.** Disparity of serum transferrin receptor measurements among different assay methods. *Eur J Clin Nutr* 1998;52:801-4.

**Yip R, Reeves JD, Lonnerdal B, Keen CL, Dallman PR.** Does iron supplementation compromise zinc nutrition in healthy infants?. *Am J Clin Nutr* 1985;42:683-7.

**Yip R, Walsh KM, Goldfarb MG, Binkin NJ.** Declining prevalence of anemia in childhood. A pediatric success story?. *Pediatrics* 1987a;80:330-4.

**Yip R, Binkin NJ.** Declining prevalence of anemia among low-income children in the United States. *JAMA* 1987b;258:1619-23.

- Yip R, Dallman PR.** The roles of inflammation and iron deficiency as causes of anemia. *Am J Clin Nutr* 1988;48:1295-300.
- Yip R.** Final report of the 1995 Viet Nam National Nutrition Anemia and Intestinal Helminth Survey. Hanoi, Vietnam: UNICEF, 1996.
- Young B, Gleeson M, Cripps AW.** C-reactive protein: a critical review. *Pathology* 1991;23:118-24.
- Zhang P, Nicholson DE, Bujnicki JM, Su X, Brendle JJ, Ferdig M, Kyle DE, Milhous WK, Chiang PK.** Angiogenesis inhibitors specific for methionine aminopeptidase 2 as drugs for malaria and leishmaniasis. *J Biomed Sci* 2002;9:34-40.
- Zawadzki Z, Edwards G.** Pseudoparaproteinemia due to hypertransferrinemia. *Am J Clin Pathol* 1970;54:802.
- Zhu J, Nieto FJ, Horne BD, Anderson JL, Muhlestein JB, Epstein SE.** Prospective study of pathogen burden and risk of myocardial infarction or death. *Circulation* 2001;103:45-51.
- Ziegler EE, Fomon SH, Nelson SE, Rebouche J, Edwards BB, Rogers RR, Lehman LJ.** Cow milk feeding in infancy: further observations on blood loss from the gastrointestinal tract. *J Pediatr* 1990;116:11-8.
- Ziegler EE, Fomon SJ.** Strategies for the prevention of iron deficiency: iron in infant formulas and baby foods. *Nutr Rev* 1996;54:348-54.
- Ziegler EE, Jiang T, Romero E, Vinco A, Frantz JA, Nelson SE.** Cow's milk and intestinal blood loss in late infancy. *J Pediatr* 1999;135:720-6.
- Zilva JF, Patston VJ.** Variations in serum-iron in healthy women. *Lancet* 1966;1:459-62.
- Zlotkin SH, Ste-Marie M, Kopelman H, Jones H, Adam J.** The prevalence of iron depletion and iron-deficiency anaemia in a randomly selected group of infants from four Canadian cities. *Nutr Res* 1996;16:729-33.
- Zoli A, Altomonte L, Mirone L, Magaro M, Ricerca BM, Storti S, Candido A, Bizzi M.** Serum transferrin receptors in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1994;53:699-701.