

Serie di Ematologia di Laboratorio - a cura del GdS-E SIMeL

Anemia Perniciosa: problematiche cliniche e diagnostiche*

P. Cappelletti

Laboratorio di Patologia Clinica, Dipartimento di Medicina di Laboratorio
Azienda Ospedaliera S. Maria degli Angeli di Pordenone

Riassunto

Secondo ricerche epidemiologiche in circa il 15% degli anziani ultrasessantenni vi è una carenza di vitamina B 12, potenzialmente pericolosa sotto il profilo neurologico ed ematologico. Le cause principali sono la Food-cobalamin Malabsorption e la carenza alimentare, mentre la classica anemia perniciosa rappresenta una causa minore. Tuttavia essa resta spesso indagnosticata sia per la clinica insidiosa che per le difficoltà del procedimento diagnostico. I dati ematologici sono poco sensibili e specifici e i dosaggi biochimici di cobalamina, acido metilmalonico ed olotranscobalamina conoscono numerosi problemi analitici ed interpretativi. Il test di Schilling, ancora oggi considerato il gold standard per provare la patogenesi dell'anemia perniciosa, è indaginoso, di incerto risultato e sempre meno disponibile. Di conseguenza, il trattamento empirico appare giustificato sia per diagnosticare ex juvantibus la malattia che per prevenire le complicanze neurologiche, non facilmente e totalmente recuperabili.

Summary

Pernicious Anemia: clinical and diagnostic issues

According to epidemiological data, 15% of people aged more than 60 years had undiagnosed vitamin B12 (cobalamin) deficiency. Although only a minority of such persons display clinically symptoms or signs, the disease is potentially serious particularly from a neuropsychiatric and hematological perspective. Classic pernicious anemia is the cause of this deficiency in only a limited proportion of the elderly. Nevertheless is often unrecognized because of its subtle clinical manifestations and the difficulties in the diagnostic process. Some Authors emphasize the importance of analytic data such as MCV (Mean Corpuscular Volume), peripheral blood smear examination, and patients' medical history. But the limited sensitivity and specificity of morphological results justified the research of biochemical tests as plasma cobalamin, methylmalonic acid and holo-transcobalamin measurements. The Schilling's test is still considered the gold standard to prove the pathogenesis of pernicious anemia, but it is complex and no longer readily available. There are pros and cons about the different tests mainly aiming at the evaluation of the function of the gastric mucosa. Thus, empirical treatment, to assess any clinical response and to prevent neurological damage, may be pragmatically justifiable. *Key-words:* pernicious anemia, vitamin B12 (cobalamin) deficiency, macrocytosis, Anti-Parietal Cell Autoantibody, anti-FI autoantibody, Schilling's test.

* Parzialmente tratto da Tozzoli R, Bizzaro N, Villalta D, Tonutti E, Pinchera A, eds. *Il laboratorio nelle malattie autoimmuni d'organo*. Bologna: Esculapio Editore; 2009.

Introduzione

L'anemia perniciosa (AP), detta anche Anemia di Addison-Biermer, è una anemia cronica per ridotta produzione eritrocitaria da deficit di vitamina B12 (B12) causato da meccanismi autoimmunitari ed è il prototipo delle anemie megaloblastiche (Tab. I). La malattia, descritta per la prima volta da Thomas Addison nel 1849 e denominata nel 1872 da Anton Biermer, fu definita nei suoi rapporti patogenetici tra un fattore intrinseco gastrico (FI) ed un fattore estrinseco, presente nel fegato (la vitamina B12 o cobalamina), da George H Whipple e George R Minot, che per queste ricerche ottennero il Nobel nel 1934. Questa scoperta è considerata da Maxwell Wintrobe l'inizio dell'era fisiologica dell'ematologia. Successivamente fu acclamata la sua patogenesi autoimmune¹.

Epidemiologia

Tradizionalmente si sostiene che AP sia una malattia a prevalenza maggiore (0.2%) nelle popolazioni del Nord Europa anglosassoni o scandinave, rispetto alle popolazioni del Sud Europa e dell'Asia. La prevalenza è, tuttavia, più elevata di quanto si supponesse: in generale 80 casi per 100.000 soggetti, con picchi negli anziani oltre i 60 anni (1.9% di AP non diagnosticate) e nelle donne (2.7%), in particolare in quelle afro-americane (4.3%). Anche se una diagnosi di AP sotto i 35 anni è del tutto inusuale, vi è una forma che colpisce sotto i 10 anni di età (anemia perniciosa giovanile)². Attualmente la difficoltà principale è la individuazione della AP all'interno dei pazienti che presentano una anemia macrocitica. I pazienti con anemia macrocitica (MCV > 100 fL) rappresentano una piccola percentuale dei soggetti afferenti ad un laboratorio clinico, intorno all'1.5% dei pazienti ambulatoriali e di poco sopra il 3% dei pazienti ospedalizzati^{3,4}. In una ricerca italiana³ del 1998 i dati erano dell'1.65% e del 3.2% rispettivamente (mediamente il 2.1%), simili a quelli della Mayo Clinic Jacksonville⁴ del 1992. Nei pazienti anziani, sopra i 60 anni, la macrocitosi appare essere più frequente, fino al 10%. Tuttavia la ragione predominante delle macrocitosi e delle anemie macrocitarie sono le epatopatie e l'abuso alcolico (~30%), le malattie cancerose e le chemio- e radio-terapie (~20%), le sindrome proliferative midollari in particolare le mielodisplasie (6-11%), i farmaci (AZT, amiodarone, ecc. 6-8%) ed in particolare l'eritropoietina (10%). La carenza di vitamina B12 e folati motiva in queste ricerche il 6-10% delle anemie microcitarie. D'altra parte nella popolazione anziana⁵ la carenza di vitamina B12 è apparsa essere intorno al 15%, dovuta all'insufficiente apporto alimentare, soprattutto nei soggetti istituzionalizzati, alla sindrome di non dissociazione tra vitamina e proteine di trasporto (*Food Cobalamin Malabsorption*, FCM)⁶, che rappresenta la causa della carenza di cobalamina in più della metà dei pazienti; e alla anemia perniciosa che motiva non più di un terzo dei pazienti con carenza

vitaminica. Sulla base di questi dati gli stessi Autori giungono a conclusioni diametralmente opposte: l'anemia perniciosa nell'anziano è problema serio⁷ oppure al contrario è di limitata importanza⁸.

Etiologia e patogenesi

L'AP è determinata dalla carente disponibilità di vitamina B12 a livello cellulare, dove B12 è cofattore indispensabile nel metabolismo dei folati, specificamente nella sintesi della metionina necessaria per la sintesi del DNA, e nella conversione di metilmalonilCoA a succinilCoA. Il disturbo nella sintesi di metionina e di DNA causa un rallentamento della divisione cellulare con formazione di cellule megaloblastiche, soprattutto a carico delle cellule a più rapido turn-over come quelle emopoietiche e dell'epitelio gastrointestinale, mentre l'alterazione della seconda reazione metabolica produce mancata metilazione della proteina basica della mielina e i conseguenti sintomi neurologici. La disponibilità di B12 a livello cellulare dipende dal suo assorbimento ileale, tramite recettori posti sull'orletto a spazzola delle cellule della mucosa (che coinvolgono diverse proteine come la cubilina, l'amnionless, LRP-2 e megalina), e dal trasporto ematico verso il fegato ed il midollo osseo, tramite una proteina di trasporto (transcobalamina II). Il recettore sulle cellule della mucosa ileale riconosce il complesso B12-FI, formato a livello duodenale, dove FI (fattore intrinseco) prodotto dalle cellule parietali gastriche in risposta all'istamina e alla gastrina è un *carrier* glicoproteico che rende B12 resistente alla lisi da parte dei batteri intestinali. Per legarsi a FI la B12 deve essere staccata per azione del pH gastrico e di enzimi proteolitici come la pepsina dalle proteine a cui è legata dal momento dell'assunzione alimentare, i cosiddetti R-binders salivari come l'aptocorrina. Ogni causa interferente con qualunque tappa di questa complessa via di assunzione determina un mancato o insufficiente assorbimento di B12 (Tab. I).

L'anemia perniciosa rappresenta la complicità dello stadio terminale della Gastrite Autoimmune (GAI)⁹, malattia infiammatoria cronica del corpo e del fondo dello stomaco definita gastrite atrofica di tipo A dalla classificazione del Sydney-System che distingue la gastrite cronica in 2 tipi a seconda che sia o meno coinvolto l'antro dello stomaco. La gastrite tipo B, che coinvolge anche l'antro, è tipica dell'infezione da *Helicobacter pylori*. La gastrite tipo A, autoimmune, si associa ad acloridria, ad una iniziale depressione dei valori sierici di gastrina con una successiva iperplasia delle cellule secernenti gastrina e ad una diminuzione dei livelli ematici di pepsinogeno. La GAI predispone al carcinoma e/o all'adenocarcinoma gastrici.

Sinteticamente, gli argomenti a favore della patogenesi autoimmune¹⁰ della AP sono:

- a) presenza di un infiltrato infiammatorio della mucosa gastrica costituito da cellule mononucleate (linfociti e plasmacellule) che accompagna la progressiva

Tabella I. Classificazione delle Anemie Macrocitiche (MCV>100fL).

Non Megaloblastiche	Megaloblastiche*
Accelerata eritropoiesi <ul style="list-style-type: none"> • Anemia emolitica • Anemia post-emorragica 	Deficit di vitamina B12 <ul style="list-style-type: none"> • Insufficiente apporto (<i>vegans</i> nei paesi industrializzati; nei paesi in via di sviluppo) • Malassorbimento <ul style="list-style-type: none"> ➢ Food-cobalamin malabsorption (FCM)** ➢ Cause gastriche (chirurgiche, GAI→AP) ➢ Cause intestinali (chirurgiche, ileiti, m. di Chron, celiachia, s. di Imerslund, ecc.)
Epatopatia <ul style="list-style-type: none"> • Ittero ostruttivo • Post-splenectomia 	
Mielodisplasia	
Alcolismo	
Ipotiroidismo	<ul style="list-style-type: none"> • Anomalie metaboliche (FI anomalo, malassorbimento selettivo B12, deficit transcobalamina II, ecc.)
Gravidanza	<ul style="list-style-type: none"> • Farmaci (inibitori di pompa protonica, antagonisti recettore H2, biguanidi)
	Deficit di folati <ul style="list-style-type: none"> • Insufficiente apporto alimentare (anziani, neonati, etilisti) • Malassorbimento per cause gastriche o intestinali • Aumento fabbisogno o perdita (cause fisiologiche, malattie ematologiche, neoplasie, insufficienza cardiaca e renale) • Antifolici (inibitori della diidrofolato reductasi, antiepilettici, sulfamidici)
	Farmaci che interferiscono con la sintesi di DNA (antiblastici, azatioprina, tioguanina)

* Le Anemie Megaloblastiche sono caratterizzate dalla presenza di megaloblasti nel midollo osseo, precursori eritroidi di grandi dimensioni con asincronia maturativa nucleo-citoplasmatica per ritardo di sintesi del DNA.

** FCM è una sindrome che dipende dall'incapacità di far rilasciare B12 dalle proteine alimentari che la legano. Si distingue da GAI/PA perché il test di Schilling è negativo.

- distruzione delle cellule parietali gastriche che caratterizza la GAI;
- b) autoanticorpi anti cellule parietali (APCA) presenti in più dell'80% dei pazienti con AP, prodotti da linfociti B e plasmacellule infiltranti la lamina propria della mucosa gastrica e rivolti verso le sub unità α (catalitica 100 kd) e β (glicoproteina 60-90 kd citoplasmatica) della H^+/K^+ ATPasi, che non paiono avere un ruolo patogenetico;
- c) autoanticorpi anti-FI presenti nel siero (IgG) del 50% e nel succo gastrico (IgG e IgA) del 75% dei pazienti, esclusivamente in PA e con significato patogenetico in quanto bloccano l'assorbimento delle vitamina B12, distinguibili in 2 tipi: 1) bloccanti che reagiscono con il sito combinatorio del FI per la B12 e 2) leganti, di solito associati ai precedenti, che possono o legare il complesso FI-B12 o legare FI in un sito distante da quello combinatorio;
- d) linfociti T CD4+ reattivi per l'autoantigene H^+/K^+ ATPasi, patogenetici (via $INF-\gamma$ e $TNF-\alpha$, per citolisi diretta (perforina e Fas-Fas ligando), per l'induzione dell'apoptosi delle APC e per stimolo ai linfociti B a produrre APCA e anti-FI), controllati da linfociti T CD4+ CD25+ con immunosoppressione citochine-indipendente;
- e) rigenerazione delle cellule parietali dopo terapia con

- corticosteroidi o terapia immunosoppressiva;
- f) predisposizione genetica familiare, per cui i parenti di pazienti con AP hanno anticorpi anti cellule parietali (23%) o una AP clinica (~20%) e i pazienti sono prevalentemente HLA A2, A3 e A7;
- g) associazione di AP con altre malattie autoimmuni, in particolare endocrinopatie: tiroiditi, malattia di Grave, ipoparatiroidismo, diabete, morbo di Addison, insufficienza ovarica primitiva, miastenia, vitiligo e sindrome di Lambert-Eaton.

Clinica

Le manifestazioni cliniche sono complesse ed insidiose¹¹. La triade sintomatologica classica è astenia, glosite, parestesie, ma tuttavia i diversi sintomi possono essere sfumati e, d'altra parte, circa il 10% dei pazienti presenta quadri critici (pancitopenia, Moschowitz, anemia con $Hb < 6g/dL$, anemia emolitica)

L'anemia, presente nel 30-60% dei casi, è cronica e dunque ben sopportata, anche quando molto severa; talora è un reperto casuale nella routine ematologica. Nelle forme più gravi il paziente presenta un caratteristico colore a cera vecchia o giallo limone, combinazione di pallore ed ittero, legato all'eritropoiesi inefficace, e febbre non infettiva. I sintomi gastrointestinali, presenti nel 15% dei casi, sono rappresentati, oltre che

dalla glossite di Hunter (arrossata, liscia per atrofia delle papille, talora con afte, dolente), da stomatite, diarrea, anoressia. Le manifestazioni neurologiche, presenti nel 10-28% dei casi e che talora rappresentano la sintomatologia di esordio, legate alla demielinizzazione che progredisce alla degenerazione assonica e infine a morte neuronale, dipendono da una neuropatia periferica (parestesie simmetriche, specie agli arti inferiori, e disturbi sensoriali superficiali) e da lesioni dei cordoni posteriori (alterazioni della sensibilità vibratoria e propriocettiva, atassia con segno di Romberg positivo) e laterali del midollo spinale (astenia degli arti e spasticità), a determinare nei casi più gravi la cosiddetta "sclerosi combinata subacuta". Vi possono essere anche sintomi psichici: depressione, allucinazioni, turbe della memoria, stigmati schizofreniche paranoide (*megaloblastic madness*).

Possono essere presenti segni e sintomi cardiaci legati al basso ematocrito (tipicamente tachicardia, astenia, dispnea, cardiopalmo ed acufeni) e il peggioramento del quadro clinico nei pazienti con malattie cardiache preesistenti, con scompenso cardiaco. Si associa una immunodeficienza, con bassi valori di immunoglobuline sieriche. È presente una modesta epato-splenomegalia.

Diagnosi

Il laboratorio mette in evidenza una anemia di solito normocromica e macrocitica (MCV > 100 fL), spesso con evidenti ovalociti e spiccata anisopoichilocitosi delle emazie. La macrocitosi da farmaci antiblastici sarebbe caratterizzata da macrocitosi di media entità (MCV < 110 fL) e macroovalocitosi; quella da abuso alcolico e da malattie epatiche croniche, in cui MCV è solitamente < 110 fL, da macrociti rotondi, sottili (leptociti) e da stomatociti ed emazie a bersaglio. Nelle malattie primitive midollari, con MCV di solito < 110 fL, i macrociti sono rotondeggianti, mentre nella carenza di vitamina B12 o folati la macrocitosi è solitamente marcata (> 110 fL) e vi sono macroovalociti. Tuttavia queste caratteristiche morfologiche sono poco specifiche e sensibili. Non va dimenticato che talora la macrocitosi non è evidente (20% dei casi) oppure vi è una popolazione eritrocitaria dimorfica; una microcitosi è presente in almeno il 5% dei casi per la concomitanza di altre patologie della serie rossa, ma secondo alcuni Autori¹², sarebbe la presentazione più frequente, perché la gastrite atrofica determina anche un insufficiente assorbimento di ferro.

Vi è una caratteristica reticolocitopenia. Il volume reticolocitario medio (MCV_r) è caratteristicamente aumentato, raggiungendo anche valori superiori a 150 fL, a fronte di valori normali inferiori a 115 fL¹³.

L'altra alterazione tipica è l'ipersegmentazione dei granulociti neutrofili (1 neutrofilo con più di 6 lobi nucleari o > 5% di neutrofili con 5 lobi)¹⁴, che però è presente solo nel 32-68% dei casi di anemia perniciososa

Tabella II. Prevalenza di autoanticorpi anti cellule parietali gastriche.

Situazioni cliniche	Prevalenza (%)
Pazienti di anemia perniciososa	90
Pazienti con atrofia gastrica	60
Parenti di primo grado non anemici di pazienti con PA	30
Soggetti normali (3° decade)	2.5
Soggetti normali (8° decade)	9.6

ma anche nel 12-18% delle anemie macrociti che non megaloblastiche. Quando presenti, l'ipersegmentazione neutrofila, l'ovalocitosi e l'anisopoichilocitosi eritrocitaria (alterazioni che si presentano in questa sequenza) suggeriscono la diagnosi di anemia megaloblastica (non necessariamente AP). Di solito vi è moderata leucopenia (15-40%) e/o piastrinopenia (10-20%).

Nell'aspirato di midollo osseo, vi è tipicamente una iperplasia eritroide con megaovaloblasti dal nucleo immaturo e citoplasma intensamente basofilo ("midollo blu"), precursori mieloidi molto grandi (metamielociti giganti), per salto proliferativo, e granulociti maturi ipersegmentati. Il quadro midollare da carenza di B12 e di folati è sovrapponibile, ma quello da carenza di B12 è reversibile con supplementazione di folati mentre non avviene il contrario. Vi è contrasto sull'obbligatorietà odierna dell'esame del midollo osseo nell'iter diagnostico di AP.

La ricerca degli autoanticorpi non è praticata routinariamente nei pazienti con sospetta AP⁹. La determinazione degli APCA, che si effettua con metodica di immunofluorescenza su sezioni di stomaco di topo, è un importante elemento diagnostico, utilizzato prevalentemente fuori dal quadro clinico di PA, dato che predice la gastrite autoimmune. Va ricordato, però, che questi autoanticorpi sono rilevabili in diverse altre malattie autoimmuni ed anche nei soggetti normali (Tab. II).

Gli autoanticorpi anti-FI (bloccanti o tipo I) o anti-complesso FI/B12 (leganti o tipo II), che si ricercano sia nel siero che nel succo gastrico (dove sono di solito più frequentemente presenti) con metodica ELISA, sono fortemente specifici di PA e la loro presenza in un quadro di anemia megaloblastica rende praticamente certa la diagnosi. I primi si ritrovano nel 70% circa dei pazienti con PA e i secondi nel 35-40% di questi. Infatti, raramente gli anticorpi tipo II si rinvenivano in soggetti senza anticorpi di tipo I. I problemi analitici sono notevoli: una recente ricerca su 4 metodi commerciali ha mostrato che nel 35% dei sieri testati i risultati erano discordi per almeno un sistema diagnostico¹⁵.

Nel siero sono presenti caratteristicamente un imponente aumento della lattico deidrogenasi (isoenzima 1) e moderati aumenti della bilirubina indiretta, per l'eritropoiesi inefficace, e della sideremia, per mancato utilizzo del ferro da parte dell'eritrone. Nelle urine è pre-

Tabella III. Vantaggi e svantaggi dei test per la diagnosi di deficit di vitamina B12.

Test	Vantaggi	Svantaggi
Cobalamina	↓ nel deficit di B12; facilmente disponibile e non costoso	IR metodo-dipendenti; sensibilità e specificità discusse; interferito dalla disponibilità di aptocorrina
Acido metilmalonico (MMA)	↑ nel deficit di B12; molto sensibile	Metodo non sempre disponibile e costoso; specificità non ottimale (FP in insufficienza renale)
Omocisteina (Hcy)	↑ nel deficit di B12; molto sensibile	Fase preanalitica delicata; bassa specificità (FP in deficit di folato e B6 e in insufficienza renale; dipende da stili di vita)
Olotranscobalamina (HoloTC)	↓ nel deficit di B12; molto sensibile	Non ancora sufficienti dati, soprattutto per quanto riguarda specificità

sente urobilinuria. Il dosaggio della B12 nel siero è fortemente diminuito, generalmente <100 pg/mL nei pazienti sintomatici (contro concentrazioni normali di 200-1500 pg/mL), mentre quello dei folati è nella norma. Va tenuto presente che gli intervalli di riferimento di B12 sono metodo-dipendenti e che, data la variabilità analitica e biologica, valori di $\pm 20\%$ intorno al limite inferiore dei valori di riferimento è da considerarsi una zona grigia, dove è raccomandata la ripetizione del dosaggio¹⁴. Inoltre vi possono essere livelli falsamente normali di B12 nelle malattie epatiche e mieloproliferative, mentre livelli falsamente bassi possono essere rilevati nel mieloma multiplo, nella deficienza di transcobalamina, nell'assunzione di contraccettivi orali e durante la gravidanza.

Quindi per la definizione della diagnosi è necessario confermare lo stato del metabolismo della B12 e del suo assorbimento ileale. Per il primo aspetto si possono determinare nel siero l'acido metilmalonico (MMA) e l'omocisteina¹⁶. Valori nella norma dei due marcatori metabolici escludono una deficienza di cobalamina; valori nella norma di omocisteina (Hcy) escludono una anemia megaloblastica da carenza di folati; valori di MMA elevati (>1000 nmol/L) confermano la carenza di vitamina B12. Si può studiare anche l'escrezione urinaria di MMA mediante spettrometria di massa dopo somministrazione di 10 g di valina: nei pazienti con deficit l'escrezione è fortemente aumentata (fino a 300 mg/24h; normalmente <9 mg/24h) perché un coenzima - B12 dipendente è necessario per la conversione di metilmalonil-CoA in succinilCoA. Poiché la specificità di questi test è piuttosto bassa e la loro praticabilità è limitata¹⁷ è stato recentemente proposto di dosare la cobalamina legata alla transcobalamina (Olotranscobalamina, HoloTC), che rappresenterebbe da un punto di vista teorico la quantità di B12 disponibile per il metabolismo cellulare. Tuttavia l'effettivo valore di HoloTC è ancora ampiamente dibattuto¹⁷. I pro e i contro l'utilizzo dei diversi test per la conferma di deficit di B12 (Tab. III) e una *flowchart* per la diagnosi di

carenza di B12 (Fig. 1) sono stati recentemente sintetizzati¹⁵.

Per una definitiva conferma di anemia perniciosa, cioè per l'identificazione della causa nel malassorbimento intestinale di B12 per carenza di fattore intrinseco, è,

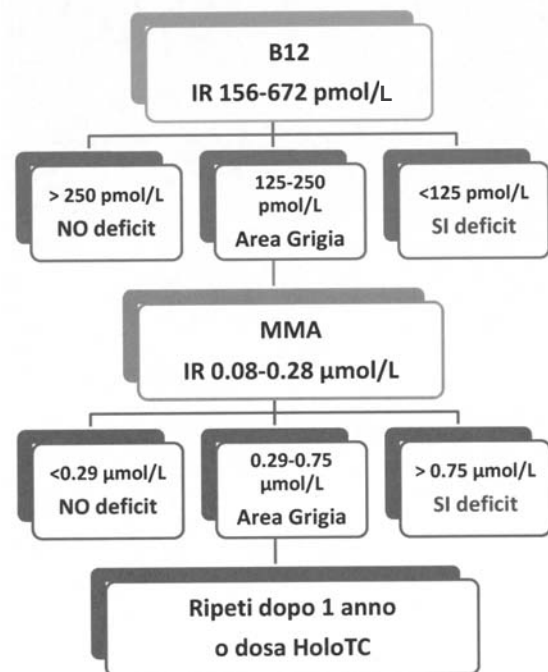


Figura 1. Strategia diagnostica per la diagnosi di carenza di vitamina B12. Se il livello plasmatico di B12 è più basso del 25% rispetto al valore inferiore dell'Intervallo di Riferimento (IR) del metodo, la carenza è confermata. Nell'area grigia è opportuno un dosaggio del MMA che però, a sua volta, ha un'area grigia piuttosto ampia dato che solo valori superiori a 0.75 µmol/L sono diagnostici di carenza di B12. In questo caso il suggerimento è di ripetere dopo 1 anno, dato che nelle situazioni di moderato aumento di MMA si è visto che il deficit di B12 si rende manifesto in 1-4 anni. In questa flowchart non trova rilievo la Omocisteina (Hcy) per la sua specificità. Secondo più recenti studi il dosaggio di HoloTC potrebbe essere utile almeno nell'area grigia di MMA.

Tabella IV. Esami per definire la causa di deficit di vitamina B12.

Esame	Pro	Contro
Anticorpi anti-FI	Patognomonici per PA; specificità ~100%	Sensibilità relativamente bassa (~70%); forti differenze metodologiche
ACPA	Presenti 35-40% dei casi	Specificità molto bassa
Pepsinogeno	Riflette l'atrofia gastrica; molto sensibile	Specificità bassa
Gastrina	Riflette l'atrofia gastrica; relativamente sensibile	Fase preanalitica (digiuno); specificità bassa
Schilling	Altamente specifico	Indaginoso (somministrazione B12 marcata e IF; raccolta urine); difficoltà a reperire B12 marcata e IF; FP in insufficienza renale
CobaSorb	Altamente specifico (da confermare)	Richiede il test per HoloTC

però, necessario il test di Schilling, considerato per molto tempo il *gold standard* per la valutazione dell'assorbimento di B12¹⁴. Il test di Schilling si basa sulla somministrazione orale di 0.5-2 µg di B12 marcata, sia in forma libera (Schilling I) che legata con FI (Schilling II), dopo aver saturato proteine di trasporto e valenze tissutali mediante somministrazione per via parenterale di alte dosi di B12 non marcata (1000 µg), rilevando poi l'escrezione urinaria di radioattivo. Nel soggetto normale il 5-40% della dose somministrata in forma libera è escreto, mentre nei soggetti con AP è ridotto. Le modalità di assorbimento consentono di discriminare tra AP e ipovitaminosi da malassorbimento (FCM). FCM¹⁶ dipende, infatti, dall'incapacità di far rilasciare B12 dalle proteine alimentari che la legano, principalmente a causa di una gastrite atrofica, causata o meno da *Helicobacter pylori*, si distingue da GAI/PA perché il test di Schilling è negativo e rende ragione della gran parte di quel 15% della popolazione oltre i 60 anni che presenta un deficit di B12, dato che AP motiva non più del 2% dei casi. Tuttavia¹⁶ il test di Schilling, oltre a difficoltà intrinseche di esecuzione perché indaginoso, è divenuto difficilmente praticabile per la difficoltà di reperimento della vitamina B12 marcata e del fattore intrinseco nativo. Sono state perciò proposte delle alternative che misurano l'assorbimento e la cinetica di B12 marcata con C¹⁴ oppure la misura dell'incremento o meno di HoloTC dopo bolo di B12 non radioattiva (test CobaSorb). Il CobaSorb è apparso promettente ma necessita di studi più approfonditi.

Il valore relativo dei test per definire la causa del deficit di B12 è sintetizzato in Tabella IV.

A fronte delle difficoltà ed incertezze degli esami diagnostici, il comportamento clinico nella pratica utilizza ampiamente come criterio definitivo quello *ex juvantibus*. Analogo ragionamento, con particolare enfasi sul numero dei falsi positivi, ha condotto a pensare che piuttosto che uno screening dei soggetti carenti di B12 sia più opportuna una supplementazione preventiva dei soggetti a rischio¹⁶.

Terapia

Il trattamento¹⁸ della PA riconosce due schemi tera-

peutici fondamentali, basati su regolari iniezioni intramuscolo di B12: 1) in Europa iniezioni intramuscolo di 1 mg di cianocobalamina ogni giorno per 1 settimana; quindi 1 mg intramuscolo ogni settimana per 1 mese; poi 1 mg al mese per tutta la vita; 2) in USA e UK 1 mg di idrossicobalamina intramuscolo 2-3 volte a settimana per 2-3 settimane e poi una volta al trimestre per sempre; se vi è compromissione neurologica si inizia con dosi giornaliere. Vi sono prove^{19,20} che una somministrazione orale (e nasale¹⁸) di alte dosi di B12 (1000-2000 mg/die) è altrettanto efficace della somministrazione parenterale. Nel trattamento di PA si deve ricordare che la somministrazione di acido folico può peggiorare la sintomatologia neurologica del paziente e che i pazienti di PA vanno supplementati di ferro.

Prognosi

La prognosi¹⁰ di AP dipende dallo stadio in cui viene diagnosticata. Mentre il recupero midollare è pressoché costante, le complicanze neurologiche possono essere irreversibili. L'acloridia moltiplica per 3 il rischio di carcinoma gastrico ed è quindi consigliata una gastroscopia ogni 5 anni. La prevalenza di adenocarcinoma gastrico nei pazienti con AP è 1-3% e il 2% dei pazienti con adenocarcinoma ha una AP. I carcinoidi si sviluppano in pazienti AP/GAI nel 4-9% dei casi, probabilmente come conseguenza dell'iperghastrinemia, e più dell'85% dei carcinoidi si associa a AP/GAI. Se si sviluppa cancro o carcinoma gastrico, la prognosi è legata alla diagnosi precoce dello stesso.

Bibliografia

1. Sinclair L. Recognizing, treating and understanding pernicious anemia. *J R Soc Med* 2008; 101:162-4.
2. Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med* 1996; 156:1097.
3. Ferrai G, De Rosa R, Rubin D, Cappelletti P. Anemia macrocitica nella popolazione adulta. *Med Lab* 1999; 7:390.
4. Colon-Otero G, Mrnke D, Hook CC. A practical approach to the differential diagnosis and evaluation of the adult patient with macrocytic anemia. *Med Clin N Am* 1992; 76:581-97.

5. Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, Kurtz JE, Noel E, Kaltenbach G, et al. Food-cobalamin malabsorption in elderly patients: clinical manifestations and treatment. *Am J Med* 2005; 118:1154-9.
6. Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PWF, Stabler SP, Allen RH. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *Am J Clin Nutr.* 1994; 60:2-11.
7. Andrès E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheini MB, Perrin AE, et al. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ* 2004; 171:251-9.
8. Dali-Youcef N, Andrès E. An update on cobalamin deficiency in adults. *QJM* 2009; 102:17-28.
9. Antico A. La Gastrite Autoimmune. *RIMeL/IJLaM* 2008; 4:125-33.
10. García-Carrasco M, Jimenez-Hernández M, Mendoza-Pinto C, et al. Pernicious Anemia. In: Shoenfeld Y, et al. (eds). *Diagnostic Criteria in Autoimmune Diseases*. DOI: 10.1007/978-1-60327-285-8_94. Totowa NJ: Humana Press; 2008.
11. Toh BH, Van Dreijl IR, Gleeson PA. Pernicious anemia. *N Engl J Med* 1997; 337:1441-8.
12. Jolobe OMP. Current haematological findings in cobalamin deficiency. *Int J Lab Hematol* 2007; 29:73-4.
13. Cappelletti P, Biasioli B, Buttarello M, et al. Mean reticulocyte volume (MCVr): reference intervals and the need for standardization. Proceeding of the XIXth International Symposium on Technological Innovation in Laboratory Hematology, ISLH. Amsterdam, NL, 2006; 66.
14. British Committee for Standard in Haematology General Haematology Task Force. Guidelines on the investigation and diagnosis of cobalamin and folate deficiencies. *Clin Lab Haemat* 1994; 16:101-5.
15. Corcuff JB, Morel S, Georges A, de Bosredon K, Borde-Navé L. Do intrinsic factor antibodies assays provide univocal answers in Biermer's disease? *J Clin Lab Anal* 2008; 22:337-9.
16. Hvas AM, Nexø E. Diagnosis and treatment of vitamin B12 deficiency. An update. *Haematologica* 2006; 91: 1506-12.
17. Goringe A, Ellis R, McDowell I, Vidal-Alaball J, Jenkins C, Butler C, et al. The limited value of methylmalonic acid, homocysteine and holotranscobalamin in the diagnosis of early B12 deficiency. *Haematologica* 2006; 91:231-4.
18. Devalia V. Diagnosing vitamin B-12 deficiency on the basis of serum B-12 assay. *BMJ* 2006; 333:385-6.
19. Andrès E, Dali-Youcef N, Vogel T, Serraj K, Zimmer J. Oral cobalamin (vitamin B(12)) treatment. An update. *Int J Lab Hematol* 2009; 31:1-8.
20. Oh R, Brown DL. Vitamin B12 deficiency. *Am Fam Physician* 2003; 67:979-86.