



Papel de la hepcidina y la ferroportina en la regulación hormonal de la homeostasis del hierro. (Revisión)

María Concepción Páez ¹ .

Anna M. Cioccia ² .

Patricio Hevia ³ .

¹Doctora en Nutrición. Prof. Asociado Escuela de Bioanálisis. Investigadora y Directora Instituto de Investigaciones en Nutrición (INVESNUT-UC) Universidad de Carabobo.

²Magister en Nutrición. Prof. Titular Jubilada del Postgrado en Nutrición de la Universidad Simón Bolívar.

³Ph.D. en Nutrición. Prof. Titular Jubilado del Postgrado en Nutrición de la Universidad Simón Bolívar. phevias@usb.ve

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 23 de Julio del 2014 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

El hierro es un nutriente esencial y a la vez un elemento potencialmente tóxico. Una particularidad del hierro es que a diferencia de los demás nutrientes la capacidad del organismo para excretarlo es muy limitada y no está sujeta a ninguna regulación, por lo que el exceso del hierro no puede eliminarse. Por esta razón, la homeostasis del hierro depende

exclusivamente del hierro absorbido que aumenta o disminuye dependiendo de las necesidades de este metal. Durante el siglo XX se propuso que la mucosa intestinal era capaz de detectar las necesidades de hierro y regular su absorción, sin embargo, los mecanismos celulares que sustentaban esta capacidad de la mucosa se desconocían. En este aspecto, el descubrimiento del sistema hepcidina-ferroportina, en los primeros años del siglo XXI y los avances en el conocimiento de su importancia en la regulación de la homeostasis del hierro, han sido determinantes. La hepcidina es una hormona polipeptídica de 25 aminoácidos que se sintetiza en el hígado y cuyo blanco es la ferroportina, que es un transportador cuya función es extraer al hierro fuera de la célula. Este exportador de hierro, es una proteína transmembrana que se expresa en las células de todos los tejidos que movilizan hierro. En estas células, la exportación de hierro es proporcional a la concentración de ferroportina. La ferroportina es el receptor de la hormona hepcidina y cuando esta se une al receptor, provoca su internalización y degradación intracelular con lo que se reduce su expresión en la membrana y en consecuencia la capacidad de las células de exportar hierro. Un exceso de hepcidina produce un secuestro de hierro en las células absorbivas de la mucosa intestinal, así como en los macrófagos, reduciendo la absorción de hierro y la capacidad de los macrófagos de liberar el hierro producto de la eritrofagocitosis. El resultado es una disminución del hierro sérico y de la generación de glóbulos rojos en el tejido eritropoyético. En contraste, cuando los niveles de la hormona hepcidina disminuyen, la absorción de hierro, así como sus niveles séricos y la capacidad de reciclaje de hierro aumentan. Hay dos condiciones que aumentan la producción hepática de hepcidina. La primera es un aumento sistémico del hierro y la segunda es la inflamación secundaria a la infección o trauma. Esto se debe a que una elevación del hierro sérico y en las células hepáticas, activa la vía de señalización BMP-SMAD, que en el núcleo estimula la transcripción del gen de la hepcidina (HAMP), mientras que la inflamación produce citoquinas inflamatorias que en el hígado activan tanto la vía BMP-SMAD, así como la vía de señalización JAK-STAT que tienen el mismo efecto sobre HAMP. Por lo tanto, en ambos casos los hepatocitos producen más hepcidina, con el consecuente efecto negativo sobre la expresión de la ferroportina, disminuyendo la absorción del hierro dietario, así como la liberación del hierro celular. Esto previene una sobrecarga de hierro o reduce la disponibilidad del hierro a microorganismos invasores. En contraste, la anoxia, en conjunto con la eritropoyetina y factores producidos por el propio tejido eritropoyético, en condiciones en que aumenta la producción de glóbulos rojos, inhiben la transcripción de HAMP y la producción de hepcidina, con lo que la ferroportina exporta libremente el hierro celular. Sin embargo, cuando la estimulación de la transcripción del gen HAMP (alto hierro o productos de la inflamación) o su inhibición (anoxia, factores eritropoyéticos) cesa, la producción de hepcidina vuelve a su condición basal permitiendo mantener una apropiada homeostasis del hierro. No obstante, si la producción de hepcidina permanece anormalmente elevada o disminuida se producen alteraciones en el metabolismo del hierro como son anemias refractarias y acumulaciones patológicas de hierro, respectivamente. En esta revisión se describen los aspectos más importantes de la relación de la hormona hepcidina-ferroportina en la homeostasis del hierro, enfatizando los aspectos moleculares que intervienen en su síntesis y producción hepática de la hepcidina. Así como las patologías relacionadas con la sobreproducción o deficiencias en la generación de esta hormona.

PALABRAS CLAVE: Hepcidina, ferroportina, regulación hormonal, metabolismo del hierro,

exceso de hierro, inflamación, anoxia, anemia crónica, hemocromatosis

HEPCIDINE AND FERROPORTINE IN THE HORMONAL REGULATION OF IRON HOMEOSTASIS. (REVIEW)

SUMMARY

Iron is both an essential nutrient and a potential toxicant and it is unique among the nutrients because its excretion is minimal, not regulated and incapable of removing excessive iron. Therefore, iron homeostasis depends exclusively on absorption. During the 20th century the capacity of the organism to increase or decrease iron absorption according to needs was associated with the ability of the intestinal mucosa of sensing systemic iron and regulating absorption. However the cell mechanism behind this mechanism was unresolved. The system hepcidin-ferroportin discovered at the beginning of the 21th century has contributed in explaining this mechanism. Hepcidine is a 25 aminoacids polypeptide hormone synthesized in liver cells whose target is the ferroportin receptor. Ferroportin is a transmembrane protein, which is the only iron exporting transporter in iron mobilizing cells. In these cells the iron extruded is proportional to the expression of ferroportin on their surface membrane. When hepatocyte produced serum hepcidine, reaches its target, the hepcidine-ferroportin complex is interiorized and degraded in the cell lysosomal system, reducing ferroportin and the cell capacity of exporting iron. As a result, iron absorption as well as iron recycling and serum iron are reduced. In contrast, when the level of the hepcidine hormone decreases, iron absorption, recycling and serum iron increase. Two conditions stimulate hepatic hepcide synthesis and secretion. The first is an elevation of systemic iron and the second is inflammation. High iron is sensed in hepatocytes and it stimulates the BMP6-SMAD cell signaling system, which in the nucleus activates the transcription of the hepcidine gene (HAMP). Inflamed tissues produce inflammatory cytokine production which in liver, stimulate HAMP transcription by activating both BMP6-SMAD and the JAK-STAT signaling systems. This, in both cases result in higher hepcidine which acting on ferroportine, causes lower iron absorption as well as cell sequestration, preventing iron overload or iron availability to invading microorganisms respectively. In contrast, anoxia and stimulated erythropoiesis, down regulate liver hepcidine production by a negative effect of erithropoietin as well as other erythron produced signaling products, on the HAMP gene. When HAMP regulatory factors (high iron, inflammatory products, erythropoietin) dissipate, liver hepcidine production comes back to normal, allowing for proper iron homeostasis. However, if liver hepcidine production remains elevated or abnormally low, alterations in iron metabolism such as refractory anemias or iron overload are produced, respectively. This revision emphasizes the molecular events involved in hepcidin synthesis and the main health problems associated with hyper and hypo hepcidinemia.

KEY WORDS: Hepcidine, ferroportine, hormonal regulation, iron metabolism, iron excess, inflammation, anoxia, chronic anemia, hemochromatosis

PAPEL DE LA HEPCLIDINA Y LA FERROPORTINA EN LA REGULACIÓN HORMONAL DE LA HOMEOSTASIS DEL HIERRO. (REVISIÓN)

INTRODUCCIÓN

La hepcidina (Hpc) es un péptido que fue aislado de orina humana por Park y colaboradores en el 2001⁽¹⁾ y que recibió su nombre con base a su lugar de síntesis (hepatocitos) y a su comprobada propiedad antibacterial *in vitro* (-cidina). En el curso de estos estudios, uno de los donantes de sangre desarrolló una infección sistémica y la concentración de hepcidina se incrementó 100 veces durante el proceso agudo. Esto, indicó que la hepcidina se comportaba también como un reactante positivo de fase aguda⁽¹⁾. Gracias a la Espectrometría de Masa, este péptido pudo ser caracterizado como un polipéptido de 25 aminoácidos (Hpc-25) cuya estructura espacial, lo define como una lámina plegada β , con 8 residuos de cisteína cuyos brazos están unidos por 4 puentes disulfuro⁽²⁾. La Figura 1 muestra una representación de la molécula de hepcidina activa.

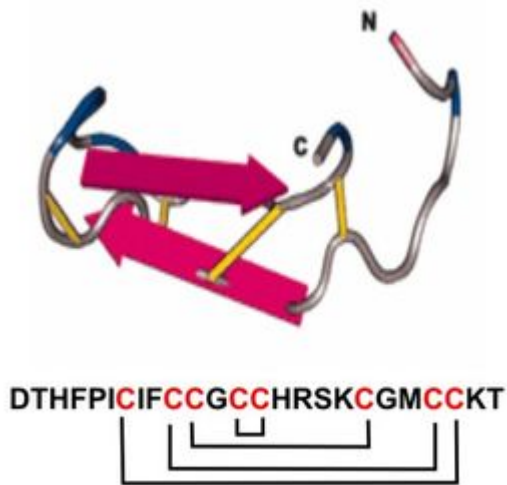


Figura 1. Secuencia aminoacídica y modelo tridimensional de la hepcidina humana. Notas: Los terminales carboxilo y amino están indicados por C y N, respectivamente. Los puentes de disulfuro se muestran en amarillo. En la secuencia primaria mostrada debajo de la figura, se señalan estos puentes, que unen sus 8 residuos de cisteína⁽³⁾.

La Hepcidina es una hormona peptídica producida principalmente en el hepatocito y que al igual que otras hormonas peptídicas, es sintetizada inicialmente como un péptido de mayor peso molecular, la pre-prohepcidina de 84 aminoácidos que luego es transformada en prohepcidina de 60 aminoácidos y finalmente en su forma activa hormonal de 25 aminoácidos. La región N-terminal de la prohormona es la que está involucrada en su función reguladora, por lo que la pérdida de aminoácidos asociada con su transformación de pre-prohepcidina a prohepcidina y finalmente a hepcidina, proviene del extremo carboxilo terminal. Estas transformaciones se producen en los organelos de los hepatocitos (retículo endoplasmático y trans-golgi) durante la síntesis y distribución de la hepcidina. La enzima que se encarga de estas transformaciones es una pre-proteína convertasa especial conocida como furina y que se sintetiza al mismo tiempo que se sintetiza la hepcidina. Inhibidores de esta enzima como la α -1 antitripsina afectan la conversión intracelular de pre-prohepcidina a prohepcidina, así como la transformación de la prohepcidina a su forma activa en el plasma. La eliminación de los 5 últimos aminoácidos de la región N terminal resulta en la pérdida de

su función (4,5,6).

Inicialmente se pensaba que la hepcidina era sintetizada exclusivamente en el hígado, sin embargo investigaciones posteriores han demostrado que el gen de la Hpc (HAMP) también se expresa en tejidos extrahepáticos. Kulaksiz y colaboradores (2005) ⁽⁷⁾ demostraron que la Hpc también está presente en las células apicales de los túbulos del riñón de humanos, ratas y ratones, y postularon que esta hormona puede tener una función a nivel del riñón y del tracto urinario. Luego, Schwarz y colaboradores (2012) ⁽⁸⁾ evaluaron la expresión y localización de la hepcidina gástrica en ratones y reportaron que la hepcidina se encuentra de manera abundante en el fondo y en el cuerpo del estómago y que tanto la Interleukina 6 como la infección por *H. pylori* sobreestimulan su expresión. Estos mismos autores observaron que en humanos la expresión de la hepcidina gástrica aumentó durante la infección por *H. pylori* y se normalizó después de una exitosa erradicación y concluyeron que la hepcidina es un producto de las células parietales, que son las mismas que regulan la acidez gástrica y que se han asociado con el desarrollo de la úlcera gástrica bajo condiciones de estrés. Más recientemente, se ha reportado que la hepcidina se produce en astrocitos y microglías en el cerebro ⁽⁹⁾, posiblemente en la glándula mamaria ⁽¹⁰⁾, así como en macrófagos y adipocitos ⁽¹¹⁾. Sin embargo, la producción hepática es la más importante y sirve para satisfacer las necesidades de esta hormona tanto en el hígado como para enviarla a otras células blanco ⁽¹²⁾, como son los enterocitos duodenales, el propio hígado y los macrófagos del tejido retículo endotelial, encargados de la eritrofagocitosis y reutilización del hierro de los eritrocitos senescentes ⁽¹¹⁾.

A continuación se discuten los aspectos más importantes de la síntesis de la hepcidina, su efecto sobre su receptor natural, la ferroportina y la función de la hepcidina-ferroportina sobre el metabolismo y homeostasis del hierro.

Hepcidina y su papel regulador en el metabolismo del hierro

Los primeros indicios sobre el papel regulador de la hepcidina en el metabolismo del hierro aparecieron en los estudios de Pigeon y colaboradores (2001) ⁽¹³⁾, quienes señalaron, que en ratones, la síntesis de la hepcidina era inducida por el consumo de hierro y que este péptido se sobreexpresaba ante una sobrecarga de hierro ⁽¹³⁾. Sin embargo, fueron los trabajos de Nicolas y colaboradores (2001, 2002) con ratones transgénicos los que mostraron el papel específico de la hepcidina sobre el metabolismo del hierro ^(14,15). Estos investigadores observaron que en aquellos ratones donde se bloqueaba el gen de la hepcidina, se desarrollaba una hemocromatosis con deposición de hierro en hígado, páncreas y bazo ⁽¹⁴⁾, en contraste, en los ratones donde se inducía una sobreexpresión del gen de la hepcidina, se desarrollaba una anemia severa y la mayoría de las crías morían pocas horas después de nacer, sugiriendo que la hepcidina inhibía la transferencia placentaria de hierro ⁽¹⁵⁾. Estos estudios mostraron que la hepcidina es un péptido responsable de regular tanto la captación de hierro a través del intestino como la liberación del mismo por los macrófagos y los hepatocitos, el exceso de este péptido impide el transporte de hierro a través del intestino y de la placenta y ocasiona una carencia de hierro. En contraste, su deficiencia produce un aumento en la

absorción del hierro dietario, así como una sobrecarga del mismo en los tejidos. Estos resultados llevaron a definir a la hepcidina como una hormona que participa en la regulación del metabolismo del hierro. Esto se comprobó en pacientes con hemocromatosis hereditaria (16).

MECANISMOS DE ACCIÓN DE LA HEPCIDINA COMO REGULADORA DE LA HOMEOSTASIS DE HIERRO

La identificación del mecanismo mediante el cual la hepcidina regula el metabolismo del hierro se atribuye a los trabajos de Nemeth y colaboradores (2004)⁽¹⁷⁾ realizados en tejidos celulares. Estos trabajos señalaron que la hepcidina impedía la salida de hierro de la célula, debido a que esta hormona se unía al único exportador del hierro celular, la ferroportina (FPN-1). La ferroportina es un péptido complejo, que se une fuertemente a la membrana celular por medio de unos 9-12 dominios transmembrana y que funciona como un monómero o un dímero. Este péptido es esencial en eucariotes, para lograr el transporte de hierro entre células y tejidos. Se han aislado tres tipos diferentes de ferroportina, pero en mamíferos el único presente es el tipo FPN-1⁽¹⁸⁾. Este transportador se localiza en la superficie basolateral de los enterocitos del duodeno, las células de Kupffer del hígado, y los macrófagos del bazo y la médula ósea, así como en el tejido placentario⁽¹²⁾, y su función es exportar el hierro del interior de las células hacia la circulación. Con esto, la ferroportina permite que tanto el hierro proveniente de la dieta (enterocito) como el almacenado o reciclado dentro del organismo (hígado y macrófagos) esté disponible para las distintas funciones corporales que lo requieran. La inactivación del gen de la ferroportina impide la salida del hierro del interior de las células y conduce a una acumulación del hierro dentro de las células de Kupffer y de los macrófagos del bazo y a una deficiencia sistémica del mismo⁽¹⁹⁾.

Hasta la fecha, no se conoce en detalle la forma en que FPN-1 transporta el hierro, pero se piensa que el sustrato es Fe^{+2} , ya que funciona en conjunto con una ferroxidasa multicobre como la hefastina o la ceruloplasmina, que son enzimas capaces de reducir el ion férrico. La presencia de estas ferroxidasas es esencial en el funcionamiento de la FPN-1, ya que la carencia de esta actividad resulta en un acopio de hierro en el transportador, su acumulación en la membrana o su internalización y destrucción intracelular. La ferroportina, tal como ocurrió con la hepcidina se descubrió en el año 2000⁽¹⁸⁾ y desde entonces se reconoce como el único receptor conocido para esta hormona reguladora del metabolismo del hierro^(11,18).

La hepcidina se une a la ferroportina en uno de sus residuos de cisteína, que está ubicado en la posición C326 de su estructura primaria. Esta unión entre FPN-1 y la hepcidina, estimula la unión de la quinasa citoplasmática Janus-2 al complejo y la fosforilación de dos tirosinas adyacentes, presentes en el lazo intracelular de la molécula de FPN-1. El complejo [FPN-1-Hepcidina] ya fosforilado, estimula la formación de una vesícula por invaginación de la membrana celular que lo encapsula y que ingresa (internaliza) en la célula. En esta forma, llega al lumen de los cuerpos multivesiculares y eventualmente el complejo se ubiquitina y

se degrada por la acción de enzimas lisosomales⁽¹⁸⁾. Con esto, la hepcidina reduce la concentración de FPN-1 en la membrana celular y en consecuencia, la capacidad de la célula para exportar hierro. Por lo tanto, cambios en los niveles de hepcidina circulantes, contribuyen a mantener los niveles séricos de hierro dentro de los valores normales. Sin embargo, si la hepcidina aumenta o disminuye fuera de lo normal, se producen cambios patológicos en la homeostasis del hierro. Así, una hiperhepcidinemia, al ocasionar una excesiva degradación de FPN-1, disminuye la absorción de hierro en el duodeno, restringe su salida de los macrófagos, y reduce el hierro sérico. Con esto, baja la disponibilidad del hierro para la síntesis de hemoglobina, produciéndose deficiencia de hierro y anemias. En contraste, una deficiencia de hepcidina aumenta la expresión de FPN-1 sobre la membrana celular, con lo que se produce un aumento en la absorción, así como en la salida del hierro de los macrófagos. De esta manera se excede la capacidad de la transferrina para transportar hierro, con aparición de hierro no unido a la transferrina que es captado por el hígado y otros tejidos, produciendo morbilidades por exceso de hierro, como las observadas en los pacientes con hemocromatosis⁽¹¹⁾. Actualmente, se investiga activamente la acción de agonistas y antagonistas de la hepcidina que potencialmente pudieran ayudar en el manejo de las anemias refractarias o en los diversos tipos de hemocromatosis^(12,20,21).

El efecto de la hepcidina en la reducción de la expresión de FPN-1 en las células de Kupffer del hígado, y los macrófagos del bazo, es más notable que en la células de los enterocitos duodenales encargados de la absorción del hierro. Sin embargo, un incremento en los niveles circulantes de hepcidina, resulta en una disminución importante en la absorción del hierro⁽²²⁾. Esto se ha asociado con la observación que en los enterocitos, la hepcidina no sólo produce la degradación de FPN-1 sino que, además reduce la síntesis del principal importador del hierro dietario DMT1 (Transportador de metales divalentes) a través de un efecto del complejo Hpc-FPN-1 en la transcripción del gen de DMT1⁽¹⁸⁾.

En conclusión, más allá de los mecanismos celulares que lo producen, un incremento de la hepcidina circulante por encima de lo normal, al aumentar exageradamente la degradación de la ferroportina y reducir su expresión en la membrana celular, disminuye la capacidad de movilización del hierro de sus depósitos hepáticos, así como la recirculación del hierro presente en los glóbulos rojos senescentes, incorporados en los macrófagos principalmente del bazo. Asimismo, por sus efectos sobre el epitelio intestinal, reduce la capacidad absorbente del hierro dietario. La consecuencia de esto es una acumulación del hierro celular que conlleva a una reducción del hierro circulante y de la capacidad eritropoyética, que eventualmente produciría anemia. En contraste, una reducción exagerada en la hepcidina circulante, causa una sobreexpresión de la ferroportina con lo que aumenta la absorción y recirculación del hierro, así como sus niveles circulantes y de depósito. Además se sobrepasa la capacidad de la transferrina con aparición de hierro no unido a la transferrina en la circulación y su acumulación en el hígado y otros tejidos. Todo esto eventualmente produce hemocromatosis y sus comorbilidades asociadas⁽¹²⁾.

Por estas razones, la función de la hepcidina en el metabolismo del hierro se ha comparado con la función de la insulina en el metabolismo de la glucosa, que en exceso puede producir episodios de hipoglicemia y en déficit resulta en hiperglicemia y diabetes. En consecuencia, la

producción de hepcidina debe ser cuidadosamente regulada de manera que permita mantener niveles adecuados de hierro para satisfacer las necesidades metabólicas de este metal y al mismo tiempo evite el exceso y sus efectos negativos ⁽²³⁾.

CONDICIONES QUE AFECTAN LA SÍNTESIS DE LA HEPCIDINA

Entre los factores que regulan la síntesis de hepcidina se encuentran la ingesta de hierro, la anemia, la hipoxia y la inflamación. El hierro y la inflamación estimulan la síntesis hepática de hepcidina, mientras que la anemia y la hipoxia la inhiben ^(24,25,26,27). A continuación se discuten los mecanismos que regulan la síntesis de hepcidina en cada una de estas condiciones.

Producción de hepcidina en condiciones de alto hierro La síntesis de la hepcidina está regulada de manera transcripcional y hasta la fecha no hay evidencias de otro tipo de control. Los modelos con ratones transgénicos han aportado una valiosa información sobre los mecanismo moleculares que participan en la regulación de la transcripción del gen de la hepcidina, conocido como gen del péptido antimicrobiano hepcidina (*HAMP*) y que es inducida por el hierro, a través de la vía de señalización celular conocida como vía SMAD. En esta vía están involucradas una serie de proteínas, siendo el centro de esta cascada de señalización la Proteína Morfogenética del Hueso (BMP6) y su receptor celular rBMP ⁽²⁷⁾.

Es importante señalar que las proteínas BMP son al menos 8 péptidos diferentes y constituyen una subfamilia dentro de la superfamilia de proteínas multifuncionales conocidas como, Factores de Crecimiento Transformantes tipo β (TGF- β). Esta superfamilia incluye más de 60 proteínas, que participan en una gran gama de funciones como son diferenciación y proliferación celular, inhibidores del crecimiento, modulación del sistema inmune e inflamación, cicatrización de tejidos, reproducción, producción de matriz extracelular y formación de hueso, desarrollo embrionario, neurogénesis, etc. ⁽²⁸⁾. De los diferentes tipos de proteínas morfogenéticas del hueso, sólo la BMP6 se reconoce como la que realmente tiene una función regulatoria en el metabolismo del hierro y en la transcripción del gen de la hepcidina ⁽¹¹⁾. Algo que es común a todas las proteínas multifuncionales que pertenecen a la superfamilia (TGF- β) es que, cuando alguno de sus miembros, presentes en el torrente sanguíneo, se une a sus receptores específicos en la membrana celular, usan una vía de señalización celular única, que es la vía conocida como vía SMAD.

La vía SMAD está formada por una serie de proteínas SMAD que están presentes en el citoplasma celular en forma de monómeros inactivos. Sin embargo, cuando alguno de los miembros de la familia (TGF- β) se une a su receptor celular, las proteínas SMAD se fosforilan en sus residuos serina o treonina y con esto, cambian su conformación y se ensamblan entre sí para formar complejos (homodímeros o trímeros o heterodímeros o heterotrímeros) que pueden atravesar la membrana nuclear y unirse a elementos de unión SMAD presentes en la molécula de DNA, con lo que se estimula o desestimula la transcripción de un gen específico. Este es un proceso complejo, en el que no sólo participan las proteínas SMAD sino también otras proteínas y factores de transcripción. Así, la gran variedad de ligandos (componentes de la superfamilia TGF- β), de proteínas SMAD y sus complejos, y las demás proteínas y factores de

transcripción participantes, hacen que la vía de señalización SMAD pueda actuar en un gran número de procesos celulares, entre ellos, la síntesis de hepcidina, dependiente de una alta concentración de hierro.

En el caso de la síntesis de la hepcidina, participan el BMP6 que se considera el ligando específico para la síntesis de esta hormona y las proteínas SMAD 1,5 y 8. Además, en la activación de esta vía de señalización, participa el SMAD 4 que también se conoce como co-SMAD o SMAD constitutivo, ya que es común a todas las vías de señalización SMAD (6,27,28).

Con base a estudios realizados por muchos grupos de trabajo, se ha construido un modelo para explicar el mecanismo molecular que regula la expresión de la hepcidina por el hierro. En este modelo, el mecanismo de regulación y control recae sobre el receptor del BMP6 y otros componentes que participan en la activación de la vía de señalización SMAD. Esto se muestra en la Figura 2, que resume lo reportado por varios autores (6, 11,12, 21,27).

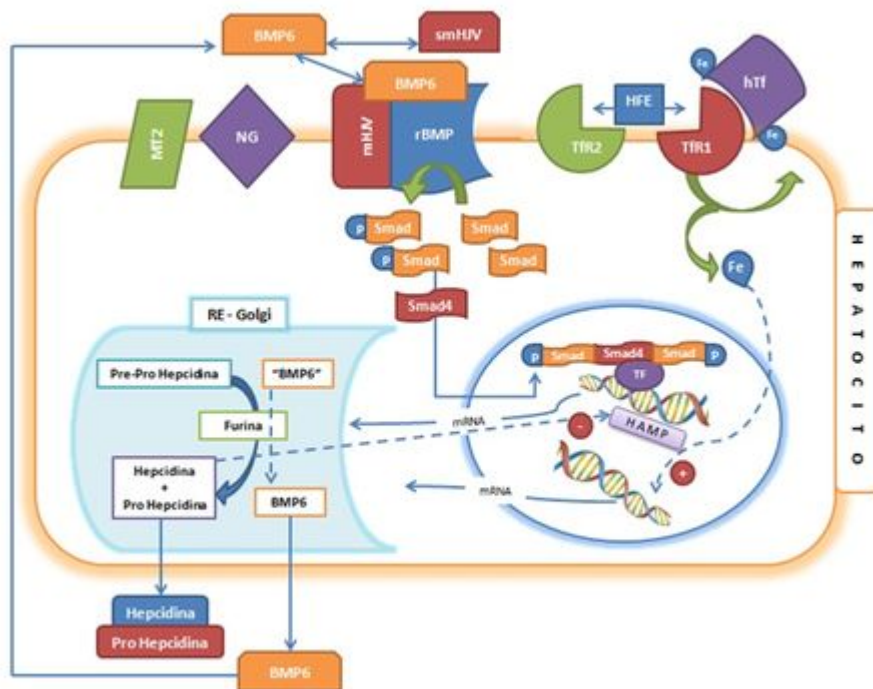


Figura 2. Modelo de los mecanismo moleculares que participan en la regulación de la expresión de la hepcidina por el hierro. Abreviaturas: BMP6: Proteína Morfogenética del Hueso, tipo6 y miembro del grupo de Factores de Crecimiento Transformantes de la familia TGF- β . "BMP6": Precursor de BMP6 de más alto peso molecular. MT2: Serino proteasa tipo 2 o Matriptasa 2. NG: Neogenina. mHJV: Hemojuvelina de membrana, coreceptor de BMP6. smHJV: Hemojuvelina soluble. hTf: Holo transferrina o transferrina diférrica. TfR1: Receptor de transferrina tipo1. TfR2: Receptor de transferrina tipo 2. HFE: Proteína de susceptibilidad a la hemocromatosis tipo I. rBMP: Receptor de BMP6. SMAD: Proteínas transductoras de las vías de señalización del BMP. SMAD4: SMAD constitutivo, común a todas las vías de señalización SMAD. TF: factores de transcripción que participan en la unión del complejo Smad con las regiones de respuesta del gen de la hepcidina (HAMP). mRNA: RNA mensajero. RE-Golgi: Reticulo endoplasmático-Aparato

de Golgi. Furina: proproteína convertasa (endopeptidasa) involucrada en la conversión de los precursores de la hepcidina y Factores de Crecimiento Transformantes de la familia TGF- β en sus formas activas.

La Figura 2 muestra una célula hepática que expresa un receptor para BMP6 (rBMP) sobre la membrana celular. Este receptor está unido a una molécula de hemojuvelina de membrana (mHJV), que es una proteína que actúa como un co-receptor y que se une al ligando (BMP6). Sólo en esta forma (BMP6-mHJV) el BMP6 puede interactuar con su receptor. La unión del BMP6 con su receptor, permite la fosforilación de los factores de señalización SMAD que cambia su conformación y les permite interactuar con el SMAD constitutivo (SMAD4) y formar complejos que migran hacia el núcleo. En el núcleo este complejo (heterotrímero), en conjunto con otras proteínas y factores de transcripción⁽²⁸⁾ interactúa con el DNA, en sitios de respuesta específicos, ubicados en el gen promotor de la hepcidina (HAMP), estimulando su transcripción. Con esto, se inicia la transcripción de HAMP con la generación de un mRNA que codifica para la molécula de Pre-prohepcidina (Fig. 2).

Otros sensores que participan en esta vía de señalización (Fig. 2) son las concentraciones de transferrina diférrica u holotransferrina (hTf), las concentraciones de los receptores de transferrina TfR1 y TfR2 y su contraparte transmembrana, la proteína de sensibilidad a la hemocromatosis hereditaria tipo 1 (HFE).

El incremento de las concentraciones de transferrina diférrica (hTf), cambia la afinidad de HFE por el receptor de transferrina 1 (TfR1) hacia el receptor de transferrina 2 (TfR2). Con esto, la transferrina diférrica (hTf) unida a TfR1, se internaliza en el citoplasma celular por endocitosis, libera el hierro dentro de la célula para su metabolismo o para incrementar los depósitos de hierro en las moléculas de ferritina, mientras el complejo TfR1 - Tf libre de hierro, se recicla a la membrana y la apotransferrina (Tf) vuelve al suero para captar más hierro⁽²³⁾. Al mismo tiempo, el complejo HFE-TfR2, estimula la interacción de BMP6 con la hemojuvelina de membrana (mHJV) activando la vía de señalización BMP-SMAD favoreciendo así, la transcripción del gen de la hepcidina (HAMP)^(6,11,29) (Fig 2). Con esto, un incremento en la concentración sérica de hierro resulta en la producción de un mRNA que codifica para la hepcidina y además, en un aumento en la concentración de hierro celular que resulta en la generación de un mRNA que codifica para BMP6. Una vez completado el proceso de transcripción de estas moléculas de mRNA, ellas migran al citoplasma celular para su traducción, modificación postransduccional y extrusión al espacio extracelular en el sistema retículo endotelial y el aparato de Golgi (RE-Golgi)^(11,30,31).

Algunos autores han señalado que el hierro también puede inducir la síntesis de BMP6 en el intestino y que en este caso, el BMP6 sintetizado, migra al hígado donde también participa en la regulación de la producción de hepcidina⁽³²⁾.

MODIFICACIONES POSTRADUCCIONALES DE LA MOLÉCULA DE HEPCIDINA

De la discusión anterior (Fig. 2), se desprende que una sobrecarga de hierro estimula la transcripción del gen HAMP de la hepcidina y del gen de la proteína multifuncional BMP6, que es el ligando que activa la vía de señalización BMP6-SMAD. Esto significa que en estas circunstancias, la secuencia de bases de estos genes se transcribe en moléculas de RNA mensajero, que migran del núcleo al sistema ribosomal. Allí, sirve de guía para sintetizar la secuencia primaria de la hepcidina y BMP6.

En el caso de la hepcidina, la cadena polipeptídica sintetizada durante este proceso tiene 84 aminoácidos y contiene dos péptidos adicionales a los presentes en la hepcidina activa, que tiene sólo 25 aminoácidos (hepcidina-25). A la cadena de 84 aminoácidos se le conoce como pre-prohepcidina y contiene un péptido señal de 24 aminoácidos que se pierde durante la migración del polipéptido desde el retículo endoplasmático al trans-golgi para generar prohepcidina. Luego pierde un segundo péptido de 35 aminoácidos con lo que produce la hepcidina madura o activa. La conversión de pre-prohepcidina a prohepcidina y finalmente a la hepcidina activa, la cataliza una proproteína convertasa conocida como furina que es una endopeptidasa que corta secuencialmente estos péptidos posteriormente a la síntesis de la estructura primaria^(4,5,6). La furina es una enzima presente en la membrana del sistema trans-Golgi (Fig. 2) en los endosomas y la membrana plasmática y que está presente en todos los tejidos y contribuye en el proceso de secreción y maduración de muchas proteínas fisiológicamente activas⁽³³⁾. Este elaborado proceso de síntesis es frecuente en proteínas funcionales que requieren de un plegamiento determinado que les permite lograr la estructura tridimensional apropiada a su función, así como facilitar el proceso de secreción desde las células que las producen. Otros péptidos fisiológicamente activos también se sintetizan de esta forma, esto ocurre en el caso de la insulina en las células β del páncreas⁽³⁴⁾, la paratohormona en la paratiroides⁽³⁵⁾ y en el caso que nos ocupa, tanto los Factores de Crecimiento Transformantes de la familia de los Tgf- β a los que pertenece el BMP6⁽²⁸⁾ y la hepcidina en las células hepáticas⁽⁶⁾. En estos tres últimos casos, la proproteína convertasa que participa en los procesos post-transduccionales que ocurren durante su formación y activación es la furina. La discusión anterior señala que la furina juega un papel muy importante en la síntesis de la hepcidina, ya que modifica y activa al péptido precursor de la hepcidina madura. Sin embargo, además de esta función post-traduccional, la furina también afecta la transcripción del gen de la hepcidin (HAMP). Esto ocurre ya que esta enzima, a través de un proceso de proteólisis limitada, elimina el péptido de unión de la Hemojuvelina (mHJV) con la membrana celular, de manera que esta se desprende de la célula y se libera en forma soluble (sHJV) en el medio extracelular (Fig. 2). Esto es esencial, ya que sólo la Hemojuvelina de membrana (mHJV) es la que puede presentar a la molécula de BMP6 a su receptor. Además, la Hemojuvelina soluble, en el suero, mantiene su afinidad por BMP6, limitando así, su interacción con la mHJV. Con esto, se reduce su capacidad de presentación del BMP6 a su receptor celular que es el iniciador de la transcripción del gen de la hepcidina⁽⁶⁾. En esta acción, otro componente del sistema de señalización de la transcripción del gen de la hepcidina (HAMP), la Neogenina (NG) (Fig. 2) participaría en el traslado de la mHJV al trans-golgi para que la furina pueda ejercer su función y generar sHJV⁽⁶⁾.

La conversión de pre-prohepcidina a prohepcidina y finalmente a hepcidina madura, no es completa. Esto, se atribuye a la presencia de inhibidores de esta enzima como es el α -1 antitripsina ⁽⁵⁾. La consecuencia de esta inhibición es que a nivel celular se mantiene una concentración de prohepcidina que puede unirse al gen promotor de la hepcina y reducir su transcripción. De esta manera, la prohepcidina actuaría como un regulador de la expresión de la hepcidina, dependiente de la actividad de la furina y sus inhibidores. Otra consecuencia de esta inhibición es que en el suero circulan tanto la hepcidina como la prohepcidina (Fig. 2) en concentraciones más o menos equivalentes ⁽³⁶⁾. En el suero, la hepcidina circula preferentemente unida a la α -2-macroglobulina pero también circula libre o ligada a la albúmina ⁽³⁷⁾, mientras que la prohepcidina circula unida a la molécula de α -1 antitripsina ⁽⁵⁾.

Otra observación importante en relación con la furina es que su producción es dependiente de los niveles de hierro y utiliza para activar su síntesis, rutas similares a las que activan la producción de hepcidina, en condiciones de alto hierro. El mecanismo no está aun resuelto, pero se sabe, que un actor importante a nivel de membrana es el complejo TfR2-HFE, que se forma por desplazamiento de HFE del TfR1 cuando este interactúa con la holotransferrina proveniente del suero (Fig. 2). Así, en condiciones de alto hierro sérico, la transferrina le entrega el Fe a TfR1, que se internaliza y recicla después de entregar su hierro y con esto, se desplaza HFE desde TfR1 a TfR2 y este complejo (TfR2-HFE) por una parte activa al receptor de BMP y también estimula la transcripción de la furina ⁽⁶⁾.

En este complejo sistema de señalización, también actúan otras proteasas. Una de estas es la Matriptasa-2 (MT2) (Fig. 2) que como la furina, es una endoproteasa. La MT2, también actúa sobre la mHJV, pero el producto es una HJV inerte que no tiene afinidad por BMP6, por lo que en condiciones en que esta enzima esté activada, se reduce la producción de hepcidina ⁽²¹⁾. Se ha sugerido que la Matriptasa-2 es importante en la regulación de la producción de hepcidina en condiciones de bajo hierro ⁽¹¹⁾, ya que su actividad se induce al disminuir el hierro celular, probablemente por sobreexpresión del gen TMPRSS6 que es el que la codifica. Con esto, disminuye la mHJV y en consecuencia su capacidad para presentar el BMP6 a su receptor y así también se reduce la producción de hepcidina.

Es importante señalar que la identificación de los componentes que participan en la transcripción del gen HAMP y su respuesta al estado del hierro, se ha logrado gracias al estudio de sus efectos en enfermedades hereditarias en humanos que afectan al propio gen HAMP, a mutaciones en el gen de la HJV, en el de la Matriptasa-2, en el de la proteína de la hemocromatosis hereditaria, HFE, en el de receptores de transferrina tipo 2 (TRF2) etc. Adicionalmente, la utilización de ratones o células de ratones con genes noqueados o silenciados por medio de la ingeniería genética sometidos a dietas ricas y deficientes en hierro, también han sido muy útiles en la identificación y funcionamiento del sistema de transcripción del gen HAMP y la producción de hepcidina. En todos estos casos, se reduce la transcripción y síntesis de hepcidina, con lo que se pierde la capacidad de control sobre la ferroportina. En consecuencia, aumenta indiscriminadamente la absorción de hierro y con esto, el riesgo de producir una acumulación de hierro y hemocromatosis, tal como ocurre en las enfermedades hereditarias ya mencionadas.

Desde un punto de vista conceptual, el descubrimiento de la hepcidina y su función regulatoria de la extrusión del hierro celular, por su acción sobre la ferroportina en todas las células y además sobre la expresión de DMT1 y sus efectos sobre la incorporación del hierro dietario desde el lumen del intestino a las células de la mucosa, han representado un avance notable en el conocimiento de la función de la mucosa intestinal en el mantenimiento de la homeostasis del hierro. Al respecto, es importante recordar que hasta finales del siglo XX y comienzos del XXI, el concepto predominante era que la mucosa intestinal era capaz de detectar el estado nutricional del hierro y regulaba la absorción de este metal de acuerdo con las necesidades del organismo. Así, el hierro presente en las células epiteliales, podía ingresar al organismo, de acuerdo con sus necesidades o permanecer en estas células, asociadas con las moléculas de ferritina para perderse en las heces en el proceso de exfoliación de las células en la cumbre de las vellosidades. De acuerdo con esto, los individuos deficientes en hierro, incorporarían menos hierro en la ferritina y en consecuencia absorberían más ⁽³⁸⁾. Sin embargo, el mecanismo por el cual las células de la mucosa percibían el estado del hierro no se conocía. En la actualidad con el descubrimiento de la hepcidina este concepto ha cambiado ⁽²³⁾. Ahora sabemos que el hígado es el órgano sensor tanto de los niveles circulantes como de los depósitos de hierro ⁽¹¹⁾ y que produce la hormona hepcidina en mayor o menor cantidad cuando estos niveles aumentan o disminuyen, respectivamente. Luego es la hepcidina la que actúa sobre la mucosa para que aumente o disminuya la absorción del hierro, manteniendo una homeostasis apropiada, a pesar de las variaciones en el consumo o en las pérdidas de hierro.

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE HEPCIDINA POR LA INFLAMACIÓN

La inflamación tiene un efecto muy potente sobre la homeostasis del hierro. En presencia de inflamación, disminuye la absorción intestinal de hierro, hay un secuestro del mismo por el hígado y los macrófagos, y como consecuencia de esto, se produce una disminución del hierro circulante que cursa con depósitos de hierro normales o elevados y que eventualmente termina en la anemia de las enfermedades crónicas, tales como enfermedades crónicas del riñón, infecciones prolongadas, diabetes, trauma severo, artritis reumatoidea, enfermedad de Chron y otras enfermedades inflamatorias del aparato gastrointestinal, cáncer, etc. En general, patologías asociadas con un estímulo crónico del sistema inmune. Actualmente, es ampliamente aceptado que la anemia asociada con las enfermedades crónicas es el resultado de una estimulación de la producción de hepcidina^(6,12,21,27). Esto se debe a que el promotor del gen de la hepcidina (HAMP) no sólo posee elementos de respuesta a oligómeros SMAD (sensibles al hierro) como ya se discutió, sino también a dímeros STAT (sensibles a la inflamación) ^(6,11,12,21).

Experimentos en cultivos de células hepáticas humanas han mostrado que la IL-6, así como otras interleucinas inflamatorias y los lipopolisacáridos presentes en las membranas bacterianas, inducen la expresión de hepcidina. Por otra parte, en voluntarios humanos los niveles de hepcidina urinaria se incrementaron hasta 7 veces pocas horas después de una infusión de lipopolisacáridos o de IL-6 ⁽²⁷⁾, señalando que la hepcidina funciona como un reactante de fase aguda. Esto, está de acuerdo con las primeras observaciones relacionadas

con este péptido al que se le asignó una función antimicrobiana. Así, antes de conocer su función reguladora del metabolismo del hierro, a la hepcidina se le conocía como LEAP-1 (Liver expressed antimicrobial peptide1) ⁽³⁹⁾. En relación con esto, la visión actual es que la hepcidina funciona como una defensina que ejerce su actividad antimicrobiana mediante privación de hierro, que es un elemento crítico para la proliferación bacteriana ⁽⁶⁾. Esto se sustenta en hallazgos que datan de los años 70 y que indican que las infecciones se vuelven más severas en condiciones de hiperferremia, la suplementación con hierro en condiciones de infección aumenta la severidad de la infección y comprometen la vida del paciente ^(40,41). Durante la infección y trauma el organismo tiene mecanismos para secuestrar el hierro en los depósitos y reducir el hierro sérico ⁽⁴²⁾, disminuyendo así su disponibilidad para los microorganismos invasores ⁽⁴³⁾. Este efecto es mediado por un aumento en la síntesis de hepcidina y sus niveles circulantes.

El efecto estimulante de la IL-6, así como el de otras citoquinas como IL-1, IL-2, IL-7, IL-12, IL-17, IL-23 o mediadores de inflamación como lipopolisacáridos (LPS), oncostatina, turpentina, etc. sobre la hepcidina es transcripcional y dependiente de la vía de señalización STAT3 (Fig. 3).

Estos agentes inflamatorios se unen a sus receptores de membrana y producen la fosforilación de los activadores de transcripción STAT3. Esta fosforilación está mediada por la kinasa Janus, JAK2. La actividad JAK2/STAT3 promueve la dimerización de los activadores STAT3 y su migración al núcleo celular, donde actúan como factores de transcripción nucleares, que tienen afinidad por la sección del DNA donde se ubica el gen promotor de la transcripción de la hepcidina (HAMP) para producir hepcidina ^(6,11,12,21,27). Es importante indicar que aunque el efecto de la IL-6 ha sido el más estudiado, el efecto estimulante de los LPS en la producción de hepcidina se ha detectado incluso en animales genéticamente modificados para anular la producción de esta interleuquina. También hay que señalar que la estimulación de la producción de hepcidina por la vía inflamatoria recién descrita requiere de un sistema BMP/SMAD intacto, ya que en animales en que este sistema está alterado, no se produce el aumento en la producción de hepcidina asociado con la inflamación ^(11,21,45).

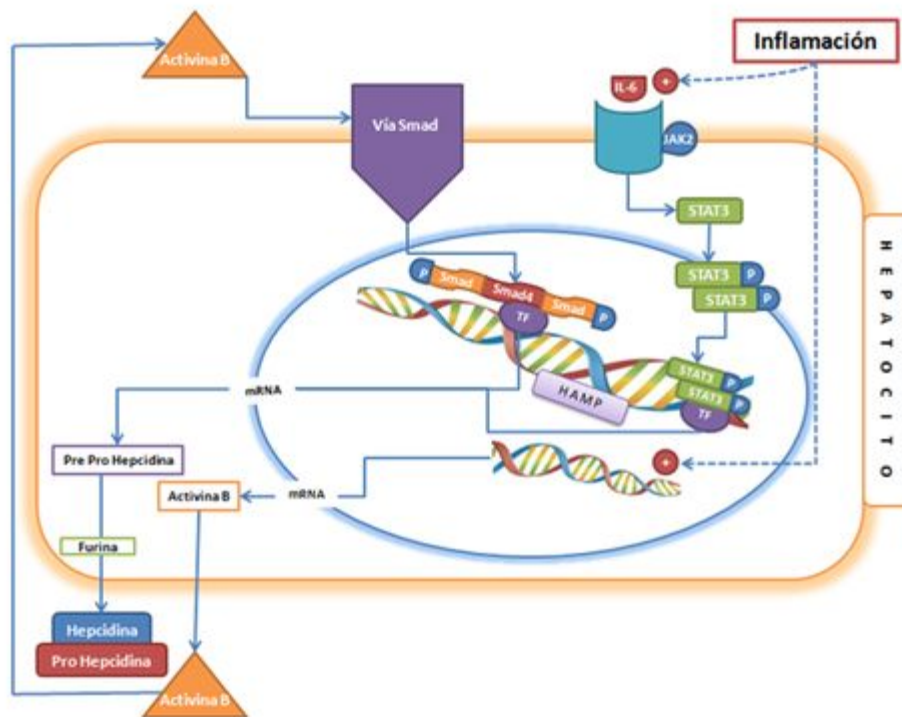


Figura 3. Modelo de los mecanismos moleculares que participan en la regulación de la expresión de la hepcidina por la inflamación (6,11,12,21,27,44). Notas: IL-6: Citocina proinflamatoria. JAK2: Tirosina quinasa 2. STAT3: polipéptido involucrado en la vía de señalización celular STAT capaz de activar el gen HAMP en respuesta a la inflamación. Activina B: Proteína multifuncional de la misma familia que BMP6 que se produce en respuesta a la inflamación. Para más detalles ver Figura 2.

Adicionalmente, se ha demostrado que otros Factores de Crecimiento Transformantes de la familia TGF- β , específicamente las Activina A y B, que usualmente se han asociado con la regulación de los procesos reproductivos, aumentan su expresión en respuesta a enfermedades inflamatorias tales como septicemia, enfermedades inflamatorias del tracto gastrointestinal y artritis reumatoidea ⁽⁴⁴⁾ y que estimulan la vía SMAD, aumentando la expresión de la hepcidina. Esto se detectó en el hígado de ratones tratados con LPS, en los que se observó un incremento en la fosforilación de los SMAD 1/5/8 y producción de precursores de la hepcidina que fue independiente de BMP6 y Fe. Estas observaciones evidencian un papel no sólo para la vía STAT-3, sino también de la vía SMAD en la inducción de la producción de hepcidina en respuesta a la inflamación ⁽⁴⁴⁾ y explican por qué en condiciones inflamatorias en que no aumenta la IL-6, puede incrementarse la producción de hepcidina. Estos conceptos se integran en la Figura 3 que muestra como en un hepatocito, la inflamación por acción de la IL-6 y su receptor de membrana, activa la vía de señalización JAK-STAT y al mismo tiempo estimulan la producción de Activinas, que estimulan la vía de señalización SMAD. Estos estímulos, actuando por vías de señalización diferentes pueden incrementar la producción de hepcidina, afectando negativamente la absorción del hierro dietario, así como la salida del hierro celular (hígado, macrófagos) por la acción de la hepcidina sobre la ferroportina y DMT1. Con esto se produce un secuestro del hierro con disminución del hierro sérico y eventualmente la anemia secundaria a la inflamación que

caracteriza al enfermo crónico ⁽⁴⁶⁾.

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE HEPCIDINA POR HIPOXIA Y SU RELACIÓN CON LA ERITROPOYESIS

La hipoxia aumenta la formación de radicales libres de oxígeno (ROS) y estos reducen la activación transcripcional de HAMP. Este efecto de los ROS, puede prevenirse con el uso de antioxidantes. Se postula que los ROS bloquean el acceso de los factores de transcripción (STAT ó SMAD) al gen promotor de HAMP, con lo que desactivan la expresión de la hepcidina ⁽⁶⁾. Este tipo de hipoxia se asocia con condiciones agudas que afectan a un tejido o tejidos particulares, como ocurre en casos de la isquemia-reperfusión que resulta de las cirugías cardíacas o de otros tejidos, del ejercicio intenso que provoca hipoxias musculares, de las hipoxias neonatales o traumas que afectan al pulmón y las vías aéreas. Sin embargo, hay hipoxias de tipo crónico como las asociadas con problemas bronco pulmonares, insuficiencias cardíacas o anemias en las que el organismo intenta compensar la falta de oxígeno, con un aumento de la eritropoyesis. Una situación similar se ve en casos de hemorragias o hemólisis, así como en anemias como la falciforme y la talasemia en las que se producen glóbulos rojos provistos con una hemoglobina limitada en su función de transportar oxígeno ⁽⁴⁷⁾. En todos estos casos en que aumenta la eritropoyesis, independientemente de la causa y tal como ocurre en las anoxias agudas, la producción de hepcidina disminuye, aunque los depósitos de hierro sean normales o elevados ^(6,12,21).

Los factores específicos responsables de la reducción en la producción de hepcidina, tanto en casos de hipoxias agudas o en situaciones en las que una elevada eritropoyesis intenta compensar la hipoxia, aun no se conocen. Uno de los posibles, es el factor inducible por la hipoxia (HIF) que es un factor de transcripción presente en todas las células y que actúa sobre la expresión de cientos de genes en casos de hipoxia y que afecta al metabolismo del hierro estimulando la producción de eritropoyetina en el riñón, así como la producción de transferrina y sus receptores ⁽⁴⁸⁾. Este factor también estimula la producción de la enzima xantina oxidoreductasa que funciona en la degradación de las purinas, pero que en condiciones de hipoxia actúa como una oxidasa (xantina oxidasa), produce superóxido o peróxido de hidrógeno y puede además liberar el hierro de la ferritina y generar ROS utilizando las reacciones de Fenton ⁽⁴⁹⁾. En estos casos, tanto la generación de radicales libres como la hipoxia, inhiben la producción de hepcidina.

Una observación importante es que, para que se reduzca la producción de hepcidina en los casos de anemias con eritropoyesis aumentada es imprescindible tener una médula ósea intacta. Por esta razón, se piensa que la médula secreta un “factor eritroide” que reduce la producción de hepcidina en proporción a la actividad eritropoyética y su producción podría depender de la eritropoyetina ^(11,12,21).

El hecho que la anoxia con eritropoyesis aumentada, reduzca la síntesis y niveles séricos de la

hepcidina, puede complicar la interpretación de los niveles séricos de hepcidina en los casos de las anemias de los enfermos crónicos, ya que en ellos la inflamación estimula, mientras que la anemia inhibe la producción de hepcidina ⁽¹²⁾.

La reducción de la hepcidina en condiciones de anoxia y eritropoyesis aumentada, produce los efectos contrarios a los que ocasiona un aumento de la hepcidina. Así, una disminución de la hepcidina deja sin control los niveles de ferroportina en las células del intestino, macrófagos del bazo y células parenquimatosas del hígado. Con esto aumenta la absorción del hierro, y su liberación de los depósitos hepáticos y de los macrófagos del bazo. En consecuencia, aumentan los niveles de hierro circulante, así como el porcentaje de saturación de la transferrina. Estos efectos de la hepcidina sobre el metabolismo del hierro, son convenientes, ya que en conjunción con un aumento en los receptores de transferrina en las células eritropoyéticas, aumenta la producción de glóbulos rojos y con ello la capacidad de transportar oxígeno y compensar la anemia ferropénica y la consecuente anoxia ⁽²³⁾. Sin embargo, una situación diferente se plantea en el caso de anemias no dependientes del hierro sino en defectos genéticos de la hemoglobina, como son la anemia falciforme o la talasemia o de enzimas específicas esenciales en el metabolismo y protección de los eritrocitos, tal como ocurre en los pacientes con defectos genéticos de la enzima glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. En estos casos la anemia (hemolítica) y la anoxia asociada persisten a pesar del aumento en la disponibilidad del hierro producido por la baja hepcidina. La consecuencia de esto es un aumento en el hierro sérico y de hierro no ligado a la transferrina, con acumulación de hierro en el bazo y el hígado que eventualmente produce complicaciones que pueden ser letales ^(47,50).

Funciones de la prohepcidina

Así como la hepcidina tiene un papel muy bien definido en la homeostasis del hierro, la situación no es la misma para la prohepcidina. Este péptido, sin duda tiene un papel como precursor de la hepcidina ya que intracelularmente, por acción de la furina genera hepcidina ^(6,11,51,52). Además, la prohepcidina en el núcleo, se puede unir al gen de la hepcidina inhibiendo su expresión ⁽³⁶⁾. Sin embargo, estas funciones las cumple a nivel celular, pero no está clara su función en el fluido extracelular. Es interesante que en el suero las concentraciones de hepcidina y prohepcidina sean similares, lo que sugiere que debería tener una función. Es posible, que tal como ocurre en el caso de otras hormonas como las tiroideas o el calcitriol, e incluso en el de los Factores de Crecimiento Transformante (TGF- β), la prohormona sérica sirva como una fuente de la hormona activa que se transforma a esta cuando sea necesario. Sin embargo, esto no se ha establecido en el caso de la prohepcidina. Sólo se conoce que la prohepcidina no tiene efecto sobre la ferroportina a menos que se transforme en hepcidina activa (Hpc-25) por acción de la furina ⁽⁵¹⁾.

Se dispone de una abundante literatura que relaciona los niveles de prohepcidina con la incidencia de anemias en varios tipos de pacientes. Por ejemplo, en problemas asociados con el sistema gastrointestinal ^(53,54), con obesidad ⁽⁵⁵⁾, con mieloma múltiple ⁽⁵⁶⁾, con anemias de enfermos crónicos ⁽⁵⁷⁾, con enfermedades renales ^(58,59), etc. En estos estudios, se hacen comparaciones de los niveles promedio de prohepcidina entre tratamientos y además se

estudia la correlación de los niveles de esta prohormona con los indicadores del estado nutricional del hierro y de los indicadores de inflamación típicos de cada patología. En general, estos trabajos muestran que los valores de prohepcidina resultan similares entre tratamientos, pero correlacionan significativamente ya sea con algunos de los indicadores de hierro o de la inflamación o ambos y la mayoría de los autores señalan que la prohormona cumple una función, aun no definida, en el metabolismo del hierro.

La hepcidina se determina en su forma más rigurosa usando un sistema acoplado de cromatografía y espectrometría de masa. Este método logra discriminar bien a la hepcidina de 25 aminoácidos de la prohepcidina de 60 aminoácidos⁽⁶⁰⁾. Sin embargo, para aplicar esta metodología se requiere de equipos sofisticados que habitualmente no están disponibles en laboratorios comunes. Por esta razón, se utilizan métodos basados en anticuerpos contra estos péptidos. Estos métodos en general correlacionan bien con la espectrometría de masa y su utilización ha incrementado notablemente la investigación en esta área ⁽²¹⁾. El primero de estos métodos que se desarrolló fue el de la prohepcidina, ya que es más fácil producir anticuerpos contra un péptido de 60 aminoácidos que contra uno de sólo 25. Luego, aproximadamente en el año 2010 se comenzó a comercializar un kit para la determinación de la hepcidina-25 y este es el que se utiliza con mayor frecuencia en la actualidad. Además, la facilidad de contar con métodos apropiados para determinar tanto la hormona como la prohormona ha permitido establecer comparaciones entre ellas. Analizando esta información ^(61,62,63), se observa que los niveles séricos de la prohepcidina y la hepcidina son similares, que los coeficientes de correlación entre ellas no son muy altos y tienen signo negativo, indicando que cuando una de ellas aumenta, la otra disminuye. Ambos péptidos correlacionan significativamente con las medidas del estado nutricional del hierro o la inflamación. Los autores de estos trabajos Oustmanolakis P y colaboradores (2010 y 2013)^(62,63), señalan que tanto la prohepcidina como la hepcidina juegan un papel importante en la etiología de las anemias asociadas con las enfermedades inflamatorias del aparato gastrointestinal (IBID) y sugieren que debe existir una vía común entre estos péptidos que determine el balance entre ellos. Todos los autores recomiendan continuar estudiando ambos péptidos en el caso de IBID.

INTEGRACIÓN DE LA REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL HIERRO

En los escasos 12 años que han pasado desde las primeras publicaciones sobre la hepcidina, se ha destacado la importancia central de esta hormona en el metabolismo del hierro y en la patogénesis de los diferentes desordenes asociados con el hierro, como son los casos de la hemocromatosis o las anemias refractarias al tratamiento con hierro⁽¹²⁾. Sin embargo, no se pueden ignorar los demás mecanismos implicados en esta regulación. Entre ellos, la función de la eritropoyetina que es fundamental en la actividad del tejido eritropoyético, tanto en la síntesis de nuevos glóbulos rojos y hemoglobina en condiciones de anoxia y que se estableció entre los años 40 y 50 ⁽⁶⁴⁾, así como la función de las proteínas sensibles al hierro (IRP1 y IRP2), que descubiertas en base a los trabajos pioneros de Hamish Munro en el MIT ⁽⁶⁵⁾ y muchos otros ⁽⁶⁶⁾, mostraron que en condiciones de bajo hierro, IRP1 o IRP2 tienen la capacidad de unirse con alta afinidad a sitios de respuesta de los RNA mensajeros (IRE) de la ferritina (IRE-IRP en la región 5'), o de los receptores de transferrina (IRE-IRP en la región 3'). El

efecto de esta unión, en el caso de la ferritina, es inhibir la síntesis de sus cadenas H y L, mientras que en el caso de los receptores, inhibir la degradación del mRNA que codifica su estructura, estabilizándolo y así aumentando la capacidad de síntesis de las proteínas que los conforman. Estos hallazgos del siglo XX se utilizaron para explicar los cambios en el metabolismo y homeostasis del hierro hasta finales de los años 90 e inicios de los años 2000. Actualmente se sabe que una de estas proteínas (IRP1) es la aconitasa citosólica⁽⁶⁷⁾, que en condiciones de bajo hierro pierde uno de sus centros de hierro-azufre, deja de funcionar en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos y así, en el metabolismo de los carbohidratos, para transformarse en un sensor de los niveles de hierro. IRP2 cumple las mismas funciones que IRP1, también pertenece a la familia de las aconitasas, pero por tener sólo 3 centros hierro-azufre no participa en el ciclo de Krebs. Sin embargo, su síntesis aumenta en condiciones de bajo hierro, mientras que cuando el hierro aumenta, se degrada perdiéndose así su efecto regulatorio sobre la síntesis de ferritina o de los receptores de transferrina⁽⁶⁷⁾.

Es importante señalar, que no sólo la síntesis de la ferritina y los receptores de transferrina están sujetos a la regulación por proteínas sensibles al hierro (IRP), sino que este mecanismo de regulación dependiente de hierro también afecta a otras proteínas^(23, 66). Así, la síntesis del transportador de metales divalentes (DMT1) aumenta en casos de bajo hierro por tener zonas IRE-IRP en la región 3' de su mRNA, mientras que en la misma situación, la síntesis de la ferroportina y la de la enzima reguladora de la síntesis de hemoglobina presente en los reticulocitos y tejido hematopoyético (δ -Amino Levulinato Sintasa-2) disminuyen por tener zonas IRE-IRP en la región 5' de sus mRNA. Sin embargo, en estos casos, por razones aún en estudio, el efecto del hierro es menor⁽⁶⁶⁾.

Este tipo de regulación, se utilizó para explicar algunas características muy importantes de la homeostasis del hierro como es el caso de las variaciones en la absorción de hierro en respuesta al estado nutricional del hierro.

Una característica del hierro, que lo diferencia de los demás nutrientes es que el contenido corporal del hierro es altamente conservado y en ausencia de sangramientos o aumento en los requerimientos como ocurre durante el embarazo, crecimiento o la lactancia, las pérdidas de hierro son muy pequeñas, prácticamente constantes (0.98 a 2.4 mg/día) ⁽⁶⁸⁾ y no están sujetas a ningún tipo de regulación ⁽⁶⁹⁾. Debido a esta falta de regulación en las pérdidas, el hierro que debe reponerse para compensarlas depende exclusivamente de variaciones en la cantidad neta de hierro absorbida y que de acuerdo con el viejo paradigma, se atribuía a las células de la mucosa intestinal ⁽⁷⁰⁾. Un componente fundamental en esta modulación se atribuía a la molécula de ferritina, conocida desde 1937 ⁽⁷¹⁾ como una proteína capaz de acumular hasta un 20% de su peso como hierro y que presente en el citoplasma de estas células, retenía más o menos del hierro dietario, dependiendo de las necesidades de hierro del individuo. A este concepto se agregó a finales del siglo XX, el descubrimiento del transportador de metales divalentes (DMT1) ⁽⁷²⁾. Este transportador, presente en la membrana apical de las células de la mucosa intestinal, es el encargado de canalizar el hierro desde el lumen del intestino al interior de las células de mucosa y cuya expresión en la membrana, aumenta o disminuye de acuerdo con las necesidades de hierro. Desde un punto de vista

celular, estos conceptos, encontraron un apoyo muy importante en la función de las proteínas dependientes de hierro (IRP1 y IRP2), ya que tal como se señaló anteriormente, estas proteínas cuando hay hierro suficiente estimulan la síntesis de ferritina y reducen la síntesis de DMT1, mientras que en deficiencia de hierro reducen la síntesis de ferritina y estimulan la síntesis de DMT1 ^(23,66). Así, por esta vía, las células de la mucosa podrían detectar el estado de hierro del individuo y aumentarían la absorción de hierro en casos de deficiencia y la disminuirían en casos de suficiencia.

El descubrimiento de la ferroportina y su regulador negativo, la hormona hepcidina, durante el siglo XXI, enriquecen y modifican notablemente estos conceptos y ofrecen un cuadro mucho más convincente de cómo la mucosa intestinal regula la absorción del hierro. En este nuevo esquema, el sensor del estado nutricional del hierro ya no es la mucosa intestinal sino el hígado ⁽¹¹⁾, que cuando detecta altos niveles de hierro circulante y celular produce y secreta la hormona hepcidina ^(6,11,12,21). Esta hepcidina viaja a través del suero y se une a su receptor celular la ferroportina ⁽¹⁸⁾, estimulando su internalización y degradación. Como la ferroportina es el único exportador celular del hierro ⁽¹⁸⁾, al disminuir su expresión en la membrana celular, el hierro que ingresa a la célula no puede salir y se queda atrapado en la célula depositándose en la ferritina que se sintetiza libremente, ya que en condiciones de alto hierro disminuye la acción inhibitoria ejercida por IRP1 o IRP2. Adicionalmente, en las células de la mucosa intestinal el complejo hepcidina-ferroportina tiene un efecto negativo en la expresión de DMT1 ^(18,22), con lo cual la captación del hierro dietario también disminuye. El resultado neto de este proceso son células epiteliales ricas en hierro que en lugar de ser liberado al suero, se pierden en las heces, cuando las células del epitelio se descaman durante el proceso de recambio celular, evitando una sobrecarga sistémica de hierro. En contraste, en condiciones de bajo hierro el hígado no produce hepcidina por lo que la captación del hierro dietario por DMT1 y la exportación del hierro captado por la ferroportina aumentan para suplir las necesidades incrementadas de hierro o compensar los efectos del consumo de una dieta baja en hierro absorbible. En este caso, tal como se señaló anteriormente, la presencia de proteínas sensibles al hierro (IRP1, IRP2) al estimular la síntesis de DMT1 y reducir la síntesis de ferritina, contribuyen a amplificar el efecto de la baja hepcidina.

Otra observación con respecto al metabolismo del hierro que no tenía una explicación convincente antes del descubrimiento de la hormona hepcidina, era la disminución del hierro circulante y la consecuente anemia del paciente infectado o con trauma e inflamación. Esta condición es una ocurrencia permanente, de difícil tratamiento y una señal de mal pronóstico en pacientes críticos (anemia del paciente críticamente enfermo), que también se observa en pacientes con enfermedades crónicas (anemia de la inflamación) y que es refractaria a los tratamientos con hierro ⁽⁴⁶⁾.

Los primeros reportes de esta situación datan de finales de los años 20, pero el grupo de Cartwright y colaboradores en el año 1946, fue uno de los primeros en describirla con rigurosidad y detalle ⁽⁷³⁾. Estos autores reportaron que en pacientes con endocarditis, pielonefritis, tuberculosis, celulitis, septicemia, empiema, abscesos, osteomielitis y neumonía, se producía una profunda hipoferremia y una anemia predominantemente normocítica y normocrómica que no respondía al hierro ni al cobre, vitamina C, cisteína, metionina o al

consumo de hígado crudo. Al mismo tiempo reportaron que después de inyecciones de ascorbato ferroso, en todos los pacientes estudiados se detectaba un aumento en el hierro sérico que rápidamente disminuía sin lograr corregir la anemia. Ya en esa época, estos investigadores postularon que la anemia de la infección, resultaba de una incapacidad para sintetizar el grupo hemo, debido a que no había hierro suficiente para incorporarlo en la molécula de protoporfirina. Estos autores, atribuyeron la falta de hierro a una alteración en el metabolismo intermediario del hierro que lo desviaba hacia los depósitos, donde quedaba secuestrado e inaccesible al tejido eritropoyético. También observaron que esta alteración era una característica de la infección, ya que una vez corregida, los pacientes se recuperaban de la anemia. Estos mismos autores, reprodujeron esta condición experimentalmente en perros utilizando el producto de los drenajes de pacientes con osteomielitis crónica, infectados con *staphilococos aureus* y pudieron reproducir en estos animales la hipoferremia y anemia observada en los mismos pacientes. Además utilizaron muestras de turpentina estéril, que produjo una respuesta inflamatoria que tuvo los mismos efectos que ocasionó la infección sobre el metabolismo del hierro, lo que les permitió concluir que era el tejido inflamado y no las bacterias, las responsables de estos cambios ⁽⁷⁴⁾. La etiología de esta condición se desconocía, pero los autores ya en esa época proponían que el origen podía generarse de algún producto derivado directamente del tejido inflamado, que era también el sitio de una notable acumulación de hierro. Hoy se sabe que el hierro se retiene principalmente en los macrófagos y en contraste con lo que ocurre en organismos normales, no está disponible para la función eritropoyética ⁽⁴⁶⁾. También se acepta que esta condición puede favorecer al paciente, ya que reduce el acceso al hierro a los microorganismos invasores que lo necesitan para su sobrevivencia y reproducción ⁽⁴¹⁾.

Durante los últimos años del siglo XX, hubo dos descubrimientos que aclararon en parte la hipoferremia de la inflamación. El primero fue que la ferritina era una proteína de fase aguda que secretan las células hepáticas en respuesta a citoquinas inflamatorias (IL-1, IL-6, FNT- α) ⁽⁷⁵⁾ y un marcador de inflamación aguda y crónica que aumenta en respuesta no específica en una serie de condiciones inflamatorias como enfermedades crónicas del riñón, artritis reumatoidea y otras enfermedades autoinmunes, infecciones agudas y neoplasias, con aumentos particularmente notables en el caso de la enfermedad de Still y el síndrome hemofagocítico ⁽⁷⁶⁾. Con esto, los tejidos en respuesta a la inflamación, crean un espacio donde depositar el hierro e incluso, la ferritina circulante, que aunque pobre en hierro con respecto a la de depósito, puede contribuir a canalizar al hierro a los depósitos, ya que los linfocitos, células hepáticas y otros tipos de células tienen receptores para la ferritina ⁽⁷⁶⁾, pudiendo así contribuir a la hipoferremia de la inflamación.

La segunda revelación importante en relación con la anemia de la inflamación fue el descubrimiento de la proteína de resistencia natural asociada a los macrófagos o Nramp1 ⁽⁷⁷⁾, que es un transportador de hierro de la misma familia del Nramp2, conocido también como DMT1 o DCT1 que es el transportador de hierro y otros cationes divalentes desde el lumen del intestino a las células de la mucosa y un componente fundamental en la captación del hierro en el ciclo de la transferrina en todas las células ^(23,66). Nramp1 también está presente en todas las células, pero actúa sobre bacterias invasoras intracelulares. Su función es extraer el

hierro de estas células, depletándolas de este metal esencial e impidiendo así su sobrevivencia y multiplicación, confiriéndoles una capacidad de resistencia natural a las infecciones ^(41,77). Además, en los macrófagos, se ha propuesto que la actividad antimicrobiana de Nramp1 podría sustentarse en la capacidad del Fe(II) extraído de los patógenos invasores para participar en las reacciones de Haber-Weiss o Fenton y la inhibición del crecimiento de las bacterias por los radicales hidroxilo generados en estas reacciones ⁽⁷⁸⁾.

De la discusión anterior, no cabe duda que tanto la ferritina como proteína de fase aguda, así como la capacidad de Nramp1 de captar hierro, pueden contribuir a crear una situación de privación de hierro para las bacterias infecciosas, generando una resistencia a la propagación de la infección. Sin embargo, resulta más convincente que la hipoferremia típica de la infección y de la anemia de la inflamación, la produzca la hormona hepcidina, cuya síntesis es estimulada por citoquinas inflamatorias, derivadas del proceso infeccioso e inflamatorio (Fig. 3). El exceso de hepcidina al causar la endocitosis y degradación del único exportador conocido del hierro celular, la ferroportina, atrapa al hierro en los macrófagos, encargados de captar el hierro proveniente de los eritrocitos senescentes y que movilizan unos 25 mg de hierro/día y en los enterocitos que absorben entre 1-2 mg de hierro/día ⁽²³⁾. Así, el atrapamiento celular de este hierro ⁽⁴⁶⁾, causa una disminución severa del hierro circulante que produce anemia e impide que las bacterias invasoras dispongan del hierro suficiente para su sobrevivencia y multiplicación y sirviendo además, como un componente fundamental para la generación de radicales hidroxilos y la destrucción de las bacterias en los macrófagos.

Conclusiones

Dentro del grupo de los micronutrientes esenciales, el hierro tiene algunas particularidades que lo hacen único. La más característica es que a pesar de ser uno de los metales más abundantes en la corteza terrestre, es también el que causa las mayores deficiencias nutricionales. Así, la incidencia de deficiencia de hierro y anemia, supera a las deficiencias de todos los demás micronutrientes ^(79,80,81). Esto se debe a que el hierro en la naturaleza se encuentra principalmente en la forma ferrica (Fe⁺⁺⁺) como es el caso de los óxidos de hierro y el hierro metálico, que son insolubles, mientras que el biológicamente activo, es el hierro ferroso (Fe⁺⁺), que es particularmente escaso y que el organismo protege como un elemento traza, evitando su excreción. Adicionalmente, el hierro en exceso es potencialmente tóxico y el umbral de toxicidad (~45mg/día) está cercano a los requerimientos diarios de hierro en adultos (♀~18mg/día; ♂~8mg/día) ⁽⁸²⁾, por lo que el organismo también limita su ingreso. En relación con sus funciones, el hierro participa en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas, lípidos, así como en la síntesis y degradación de los ácidos nucleicos, en la detoxificación de sustancias tóxicas, en las funciones del sistema nervioso y del sistema inmune. Además, la deficiencia de hierro al desactivar a la aconitasa provoca una acumulación de citrato que inhibe a la fosfofructoquinasa-1 y a la vía glicolítica, direccionando así al metabolismo a la utilización de grasa. Todo esto destaca su enorme importancia metabólica. Sin embargo, la función más urgente del hierro está en la generación y utilización de la energía necesaria para sobrevivir. En esto, la participación del hierro se relaciona, tanto con el transporte del oxígeno asociado con la hemoglobina presente en los glóbulos rojos, así como con la transferencia de los electrones provenientes de la oxidación de los

macronutrientes dietarios, a la molécula de oxígeno en la vía de su reducción a agua, por medio del sistema de citocromos presentes en la cadena respiratoria para producir ATP. Esta función del oxígeno y en consecuencia del hierro que lo transporta y convierte en un generador de energía, es tan decisiva que el ser humano puede sobrevivir semanas sin ingerir alimentos, horas sin agua, pero sólo minutos sin oxígeno.

Esta dicotomía del hierro, entre su toxicidad y esencialidad ineludible, requiere de un sistema homeostático riguroso y exacto que logre mantener estas dos condiciones equilibradas. En este aspecto, los descubrimientos de proteínas encargadas del transporte, y depósitos, así como de las proteínas sensibles al hierro y sus efectos sobre transportadores y receptores celulares del hierro durante el siglo XX, cimentaron las bases para entender los aspectos regulatorios más importantes de la homeostasis de este metal. Sin embargo, el descubrimiento de la hormona hepcidina y de su receptor la ferroportina en los inicios del siglo XXI y sus efectos sobre la absorción y redistribución del hierro, en condiciones de alto hierro, inflamación y anoxia han representado un avance trascendental en el entendimiento de estos fenómenos.

REFERENCIAS

- 1.- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7806-7810.
- 2.- Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002; 277: 37597-37603.
- 3.- Ganz T. Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102: 783-788.
- 4.- Valore EV, Ganz T. Posttranslational processing of hepcidin in human hepatocytes is mediated by the prohormone convertase furin. *Blood Cells Mol Dis* 2008; 40 (1): 132-138.
- 5.- Pandur E, Nagy J, Pócs VS, Sarnyai A, Huszár A, Miseta A, Sipos K. "Alpha-1 antitrypsin binds preprohepcidin intracellularly and prohepcidin in the serum". *FEBS J* 2009; 276(7): 2012-2021.
- 6.- Giuliani RA. Heparin, hierro, hipoxia e inflamación. *Hematología* 2012; 16 (2): 100-105.
- 7.- Kulaksiz H, Theiligl F, Bachmann S, Gehrke S, Rost D, Janetzko A, Cetin Y, Stremme W. The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *Journal of Endocrinology* 2005; 184: 361-370.
- 8.- Schwarz PK, Bler JA, Strnad P, Méller K, Barth TF, Gerloff A, Feick P, Peyssonnaud C, Vaulont S, Adler C, Kulaksiz H. Heparin is localised in gastric parietal cells, regulates acid secretion and is induced by *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 2012; 61(2): 193-201.
- 9.- Urrutia P, Aguirre P, Sparza A, Tapia U, Mena NP. Inflammation alters expression of DMT1, FPN1 and hepcidin, and it causes iron accumulation in central nervous system cells. *J Neurochem* 2013; 126: 541-549.

- 10.- Audin S, Celik O, Gurates B, Ulas M, Yilmaz M, Kalayci M, Kuloglut T, Cataz Z, Ozercau JH, Kumru S. Concentrations of preptin, salusin and hepcidin in plasma and milk of lactating women with and without gestational diabetes mellitus. *Peptides* 2013; 49: 123-130.
- 11.- Meynard D, Babbitt JL, Lin HY. The liver: conductor of systemic iron balance. *Blood* 2014; 123:168-176.
- 12.- Fung E, Nemeth E. Manipulation of the hepcidin pathway for therapeutic purposes. *Haematologica* 2013; 98: 1667-1676.
- 13.- Pigeon C, Ilyng G, Courselanud B. A new mouse liver-specific gene encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001; 276: 7811-8919.
- 14.- Nicolas G, Bennoun M, Devaux I , Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, Vaulont S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98 (15): 8780-8785.
- 15.- Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Sirito M, Sawadogo M, Kahn A, Vaulont S. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99 (7): 4596-4601.
- 16.- Nemeth E, Ganz T. Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Ann Rev Nutr* 2006; 26: 323-342.
- 17.- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn M, Donovan A, McVey Ward D. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin (Fpn) and inducing its internalization. *Science* 2004; 306: 2090-2093.
- 18.- Ward D, Kaplan J. Ferroportin-mediated iron transport expression and regulation. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1823(9): 1426-1433.
- 19.- Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, Andrews NC: The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab* 2005; 1: 191-200.
- 20.- Fung E, Sugianto P, Hsu J, Damoiseaux R, Ganz T, Nemeth E. High-throughput screening of small molecules identifies hepcidin antagonists. *Mol Pharmacol* 2013; 83: 681-890.
- 21.- Zhao N, Zhang A, Enns C. Iron regulation by hepcidina. *J Clin Invest* 2013; 123(6): 2337-2343.
- 22.- Chung B, Chaston T, Marks J, Kaila S, Sharp PA. Hepcidin decreases iron transport expression in vivo in duodenum and spleen and in vitro in THP-1 macrophages and in intestinal Caco 2 cells. *J Nutr* 2009; 139: 1457-1462.
- 23.- Wessling-Resnick M. Iron. En: *Modern Nutrition in Health and Disease*. Edición 11. Editores: Ross C, Caballero B, Cousins RJ, Tucker KL, Ziegler TR. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore MD USA 2012, pp 176-188.
- 24.- Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont

S. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002; 110(7): 1037-1044.

25.- Delaby C, Pilard N, Goncalves AS, Beaumont C, Canonne-Hergaux F. Presence of the iron exporter ferroportin at the plasma membrane of macrophages is enhanced by iron loading and down-regulated by hepcidin. *Blood* 2005; 106: 3979-3984.

26.- Ganz T. Hepcidin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology* 2006; 29-35.

27.- Ganz T. Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011; 117: 4425-4433.

28.- Sosa-Garrocho M, Macías Silva M. El factor de crecimiento transformante Beta (TGF- β): Funciones y vías de transducción. *REB* 2004; 23(I): 3-11.

29.- Goswami T, Andrews NC. Hereditary hemochromatosis protein, HFE, interaction with transferrin receptor 2 suggests a molecular mechanism for mammalian iron sensing. *J Biol Chem* 2006; 281(39): 28494-28498.

30.- Meynard D, Kautz L, Darnaud V, Canonne-Hergaux F, Coppin H, Roth MP. Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces iron overload. *Nat Genet* 2009; 41(4): 478-481.

31.- Andriopoulos B Jr, Corradini E, Xia Y, Faasse SA, Chen S, Grgurevic L, y col. BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nat Genet* 2009; 41(4): 482-487.

32.- Arndt S, Maegdefrau U, Dorn C, Schardt K, Hellerbrand C, Bosserhoff K. Intestinal BMP6, a master gene for the regulation of iron homeostasis. Meeting Report. *Z Gastroenterol* 2011; 49: A1.

33.- Seidah NG, Prat A. The biology and therapeutic targeting of the proprotein convertases. *Nature Drug Discovery* 2012; 11: 367-383.

34.- Rhodes CJ. Processing of the insulin molecule. En: *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text*. Third Edition. Lippincot Williams & Wilkins. 2004, pp 29-51.

35.- Geoffrey N, Hendy H, Benett PJ, Gibbs BF, Lazure C. Proparathyroid hormone is preferentially cleaved by the prohormone convertase furin. *Jour Biol Chem* 1955; 270: 9517-9525.

36.- Pandur E, Sipos K, Grama L, Nagy J, Poor VS, Setalo G, Miseta A, Fekete Z. Prohepcidine binds to the HAMP promoter and autoregulates its own expression. *Biochem J* 2013; 451: 301-311.

37.- Peslova G, Petriak J, Kuzelova K, Hrdy I, Halada P, Kuchel PW, Soe-Lin Sh, Ponka P, Sutack R, Becker E, Li-Hsuen H, Suryo Rahmanto Y, Richardson DR, Vyoral D. Hepcidin the hormone of iron metabolism is bound specifically to α -2- macroglobulin in blood. *Blood* 2009; 113: 6225-6236.

38.- Fairbanks VF. Iron in medicine and nutrition. En: *Modern Nutrition in Health and Disease*.

Ninth Edition. Editores: Shils ME, Olson JA, Shike M, Ross AC. Williams&Wilkins. Philadelphia USA. 1999, pp 193-221.

39.- Wolf C. Hiperpigmentación cutánea y homeostasis del hierro: Rol de la hepcidina. Rev Argent Dermatol 2007; 88: 96-104.

40.- McFarlane H, Reddy S, Adcock KJ, Adeshima A, Cooke R, Akene J. Immunity, transferrin and survival in Kwasiorkor. Brit Med J 1970; 4: 268-273.

41.- Oppenheimer SJ. Iron and its relation to immunity and infectious diseases. J Nutr 2001; 131: 616S-635S.

42.- Wang BH, Yu XJ, Wang D, Qi XM, Wang HP, Yang TT, Xu XH. Alterations of trace elements (Zn,Se,Cu,Fe) and related metalloenzymes in rabbit blood after severe trauma. J Trace Elem Med Biol 2007; 21 (2): 102-107.

43.- Weinberg ED. Infection and iron metabolism. Amer J Clin Nutr 1977; 9: 1485-1490.

44.- Besson-Fournier C, Latour Ch, Kautz L, Bertrand J, Ganz T, Roth M-P, Coppin H. Induction of activin B inflammatory stimuli up-regulates expression of the iron-regulatory peptide hepcidine through Smad 1/5/8 signaling. Blood 2012; 120: 431-439.

45.- Wrighting D, Andrewa N. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. Blood 2006; 108:3204-3209.

46.- Ganz T, Nemeth E. Iron sequestration and anemia of inflammation. Semin Hematol 2009; 46(4): 387-393.

47.- Ruiz A, Briceño O, Arteaga-Vizcaino M, Plumacher Z, González M, Quintero M. Anemia hemolítica hereditaria y sobrecarga de hierro. VITAE. Academia Biomédica digital 53: Enero Marzo 2013.

48.- Ke Q, Costa M. Hypoxia- induced factor (HIF). Mol Pharmacol 2006; 70: 1469-1480.

49.- Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: Where are we now? Free Radical Biol Med 2002; 33: 774-797.

50.- Ramirez-Cheyne J, Zarante I. Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa. Situación actual, su relación con malaria y estrategias para calcular su prevalencia. Univ Med Bogotá 2009; 50(1): 58-76.

51.- Gagliardo B, Kubat N, Faye A, Jaouen M, Deschemin JC, Canonne-Hergaux F, Sari MA, Vaultont S. Pro-hepcidin is unable to degrade the iron exporter ferroportin unless matured by a furin-dependent process. J Hepatol 2009; 50(2): 394-401.

52.- Guillemot J, Canuel M, Essalmani R, Prat A, Seidah NG. Implication of the proprotein convertases in iron homeostasis proprotein convertase 7 sheds human transferrin receptor 1 and furin activates hepcidin. Hepatology. 2013; 57(6): 2514-2524.

53.- Hyuang-Keun K, Eun-Chul J, Ju-Ok Y, Sun-Young K, Hyunjuns- Ch, Sung-Soo K, Hiun-Suk

Ch, Young-Seok Ch. Serum prohepcidin levels are lower in patients with atrophic gastritis. *Gastroenterol Res and Pract* 2013; 201810-201816.

54.- Ozcasap S, Yarali N, Isik P, Kava A, Tune B. The role of prohepcidin in anemia due to *Helicobacter pylori* infection. *Pediatr Hematol Oncol* 2013; 30: 425- 431.

55.- Przbyszewska J, Zekanowska E, Kedziora J, Kornatowka K, Boinska J, Pozynch K, Przybyszewski M, Cichon R. Comparison of serum prohepcidin and iron metabolism parameters in obese and non obese elderly individuals. *Endokrynol Pol* 2013; 64: 272-277.

56.- Kouiche H, Hirofumi U, Nobuchito O, Tokinaga M, Utsonomiya A, Handa Sh, Hiroito T. Serum prohepcidin levels are potential prognostic markers in patients with multiple mieloma. *Experimental Therapeutic Medicine* 2012; 4: 581-588.

57.- Przbyszewska J, Zekanowska E, Kedziora-Kornatowska K, Boinska J, Cichon R, Porzych K. Serum prohepcidin and other iron metabolism parameters in anemia of chronic disease and with iron deficiency anemia. *Polskie Archivum Medycyny Wewnetrznej* 2013; 123:105- 110.

58.- Caliskan Y, Yelken B, Ozkok A, Gorgulu N, Yazici H, Telci A, Yildiz Z. Lower serum prohepcidin levels associated with lower iron and erythropoietic requirements in hemodialysis patients with chronic hepatitis C. *BMC Nephrol* 2012; 13: 56-63.

59.- Barrios Y, Espinoza M, Baron MA. Prohepcidina, su relación con indicadores del metabolismo del hierro y de inflamación en pacientes hemodializados tratados o no con eritropoyetina recombinante. *Nutr Hospit* 2010; 25: 555-560.

60.- Murphy AT, Witcher DR, Luan P, Wroblewski VS. Quantitation of hepcidin from human and mouse serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Blood* 2007; 110: 1048-1054.

61.- Dudkowiak R, Neubauer K, Poniewierka E. Hepcidin and its role in inflammatory bowel diseases. *Adv Clin Exp Med* 2013; 22: 585-591.

62.- Oustamanolakis P, Koutrabakis IE, Kouroumalis EA. Diagnosing anemia in inflammatory bowel disease: beyond the established markers. *J Crohns Colitis* 2010; 5: 381-391.

63.- Oustamanolakis P, Koutroubakis IE, Messaritakis N, Malliaraki N, Sfiridakis A, Kouroumalis EA. Serum hepcidin and prohepcidin concentration in inflammatory bowel disease. (80 Congress of European Crohn's and Colitis Organization Poster P085. Viena Austria Feb 14-16, 2013.

64.- Bunn HF. Eritropoietin. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013; 3: a011619.

65.- Drysdale JW, Munro HN. Regulation of synthesis and turnover of ferritin in rat liver. *Journ Biol Chem* 1966; 241: 3630-3637.

66.- Wallander ML, Leibold EA, Eisenstein RS. Molecular control of vertebrate iron homeostasis by iron regulatory proteins *Biochem Biophys Acta* 2006; 1763: 668-689.

67.- Beinert H, Kennedy MC. Aconitase, a two faced protein: enzyme and iron regulatory factor.

FASEB J 1993; 7: 1442-1449.

68.- Iron en Dietary Reference Intakes. Institute of Medicine. Panel on Micronutrients. National Academy Press. Washington DC 2001.

69.- Frazer DM, Anderson CJ. I. Intestinal iron absorption and its regulation. Am J Physiol, Gastrointestinal Liver Physiol 2005; 289: G631-G635.

70.- Wood RJ, Ronnenberg AG. Iron. En: Modern Nutrition in Health and Disease. Tenth Edition. Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousin RJ (Editores). Lippincott Williams y Wilkins. Baltimore MD. 2006, pp 248-270.

71.- Laufberger V. Sur la cristallisation de la ferritine. Bulletin de la Societe de chimie biologique 1937; 19: 1575-1582.

72.- Cannone-Hergaux F, Gruenheid S, Ponka P, Gros P. Cellular and subcellular localization of Nramp2 iron transporter in the intestinal brush border and regulation by dietary iron. Blood 1999; 93: 4406-4417.

73.- Cartwright GE, Lauritsen MA, Jones PJ, Merrill IM, Wintrobe MM. The anemia of infection. I Hypoferremia, hypercupremia and alterations in porphyrin metabolism in patients. JCI 1946; 25: 65-68.

74.- Cartwright GE, Lauritsen MA, Humphrey S, Jones PJ, Merrill IM, Wintrobe MM. The anemia of infection. II The experimental production of the hipoferremia and anemia in dogs. JCI 1946; 25: 81-86.

75.- Tran TN, Eubanks SK, Schaffer KJ, Zhou CY, Linder MC. Secretion of ferritin by rat hepatoma cells and its regulation by inflammatory cytokines. Blood 1997; 90: 4979-4986.

76.- Wang W, Knovich MA, Coffman LG, Torti FM, Torti SV. Serum Ferritin: Past present and future. Biochem Biophys Acta 2010; 1800: 760-769.

77.- Barton CH, Biggs TE, Baker ST, Bowen H, Atkinson PG. Nramp1: a link between intracellular iron transport and innate resistance to intracellular pathogens. Journal of Leucocytes Biology 1999; 66: 757-762.

78.- Zwilling BS, Kuhn DE, Wikoff L, Brown D, Lafuse W. Role of iron in Nramp1-mediated inhibition of mycobacterial growth. Infect Immun 1999; 67: 1386-1382.

79.- WHO. Worldwide prevalence of Vitamin A deficiencies in populations at risk 1995-2005. WHO global database on vitamin A deficiency. Geneva World Health Organization 2006.

80.- WHO, CDC. Worldwide prevalence of anemia 1993-2005. WHO Global database on anemia. Geneva. World Health Organization 2006.

81.- WHO Global database on Iodine deficiency. World Health Organization 2007.

82.- Iron. En: Dietary Reference Intakes for: Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Food and

Nutrition Board. Institute of Medicine. National Academy Press. Washington DC 2002.

Vitae Academia Biomédica Digital | Facultad de Medicina-Universidad Central de Venezuela
Julio-Septiembre 2014 N° 59 DOI:10.70024 / ISSN 1317-987X