

# Proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro

D. Pérez Surribas\*

## Resumen

*El hierro es un elemento esencial para los seres vivos. Recientemente se han descubierto proteínas implicadas en el metabolismo del hierro, y nuevas funciones de proteínas conocidas. Ello permite avanzar hacia una mayor comprensión de la fisiología y fisiopatología del hierro. La exploración de este metabolismo obliga al uso de varias magnitudes biológicas a la vez; es necesario un conocimiento profundo de éstas, dada la gran prevalencia de las enfermedades relacionadas.*

*El objeto de este documento es realizar una revisión narrativa sobre las proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro: incluye la prevalencia de deficiencia y sobrecarga, la estructura y función de estas proteínas, los mecanismos de regulación, y el metabolismo de este metal; la fisiopatología de la deficiencia y sobrecarga férricas, y las aplicaciones clínicas de las magnitudes biológicas estudiadas. Para concluir se revisan brevemente los principios de medida de cada magnitud y la existencia de materiales de referencia.*

*Palabras clave: hierro, eritropoyesis, metabolismo del hierro, anemia ferropénica, ferropenia, anemia de enfermedades crónicas, hemocromatosis, receptor soluble de transferrina, transferrina, ferritina, DCT1, HFE, prevalencia, sensibilidad y especificidad.*

## Summary. Proteins related to iron metabolism

*Iron is an essential element to all forms of living organisms. Recently, many new proteins connected with iron metabolism, as well as new functions of already known proteins, have been identified. These facts allow us to reach a greater knowledge of the physiology and physiopathology of iron. Assessment of iron status requires the combined use of several laboratory tests; it becomes necessary to have a deep knowledge about them provided the high prevalence of related diseases.*

*The aim of the present study is to make a review on proteins related to iron metabolism: it includes the prevalence of iron deficiency and overload, the structure and function of these proteins, the mechanisms of regulation, and iron metabolism; the physiology and physiopathology of iron deficiency and overload, and the clinical applications of these tests. At last, the assay techniques of each laboratory test and the reference materials are concisely reviewed.*

*Keywords: iron, erythropoiesis, iron metabolism, iron deficiency anaemia, iron deficiency, anaemia of chronic disease, hemochromatosis, soluble transferrin receptor, transferrin, ferritin, DCT1, HFE, prevalence, sensitivity and specificity.*

## INTRODUCCIÓN

El hierro es un elemento esencial para los seres vivos ya que interviene en el transporte del oxígeno, de los electrones, y en la catálisis de las reacciones necesarias para el desarrollo, la diferenciación y la proliferación celulares (1). A pesar de que es el metal de transición más abundante en la corteza terrestre, sus propiedades físico-químicas dificultan su disponibilidad para los seres vivos ya que es prácticamente insoluble a pH 7. Por ello, la evolución ha desarrollado mecanismos para solubilizarlo, captarlo del entorno, almacenarlo y usarlo en caso de necesidad (2).

La absorción del hierro está regulada por las células del epitelio intestinal, y en su gestión interviene un mecanismo complejo en el que tres proteínas tienen un papel relevante: la transferrina, en relación al transporte, la ferritina, en relación a la reserva, y el receptor de transferrina, en relación a la entrada y uso celular. La disminución de la síntesis de la hemoglobina constituye un trastorno mucho más habitual que la sobrecarga (1). Se ha descrito que la cuarta parte de la población mundial tiene una anemia, y la causa de la mitad de estos casos es la ferropenia; por ello, esta es la deficiencia nutricional más común (3). La prevalencia de la anemia ferropénica presenta una enorme variación geográfica, de menos del 10 % en el

norte de América y Europa, a más del 50 % en África y el sur de Asia (4). En los países subdesarrollados los niños son especialmente susceptibles a padecerla por la cantidad del hierro que necesitan para su crecimiento y por la dieta pobre en el hierro biodisponible que reciben (5). En los países desarrollados la prevalencia de la anemia ferropénica ha decrecido rápidamente en las últimas décadas, pero la de la ferropenia sigue siendo substancial (6). El diagnóstico correcto de la anemia es de una gran importancia: las anemias que cursan con unas cifras bajas de la hemoglobina se asocian con un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiopulmonares (7). La ferropenia en los adultos se ha relacionado con baja productividad laboral, resistencia y capacidad para el ejercicio, y en los niños, con un comportamiento anormal, y un crecimiento y desarrollo deficientes (7). También el diagnóstico de la ferropenia es esencial porque puede ser el signo de enfermedades graves como algunas neoplasias (8). En relación a la sobrecarga férrica, la hemocromatosis hereditaria es una de las anomalías hereditarias más frecuentes, y su diagnóstico es también de gran importancia ya que sin tratamiento se puede complicar con una cirrosis, un hepatocarcinoma, una cardiomiopatía, una diabetes mellitus y una reducción de la expectativa de vida (9).

Recientemente se han descubierto unas nuevas proteínas implicadas en el metabolismo del hierro (10, 11), y unas nuevas funciones de proteínas ya conocidas, como el papel en la absorción intestinal del receptor de transferrina. Todo ello permite avanzar hacia una mayor comprensión de la fisiología y la fisiopatología del hierro.

\* Laboratori Pasteur. Andorra la Vella. Miembro de la Comisión de Proteínas del Comité Científico de la Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología Molecular

El metabolismo férrico puede explorarse a través de varias magnitudes. No obstante, cada una de ellas informa sobre aspectos diferentes, por lo que el resultado de una no tiene por qué concordar con el resto. Además, cada una de ellas tiene unas sensibilidades y especificidades limitadas, ya que a veces se modifican por unas causas diferentes a las inherentes al metabolismo del hierro. Por ello, la exploración de este metabolismo obliga al uso de varias a la vez, tal como recomiendan algunos autores (12, 13). A pesar de la gran prevalencia de la ferropenia y el uso frecuente de las correspondientes magnitudes biológicas, se ha descrito que en los hospitales la anemia ferropénica es ignorada o investigada de una forma deficiente en un importante porcentaje de casos (14); esta circunstancia plantea la necesidad de un mayor conocimiento de las magnitudes relacionadas con el metabolismo del hierro.

El objeto de este documento es realizar una revisión narrativa sobre las proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro. Para ello, en un primer apartado se describe la prevalencia de las enfermedades asociadas a las reservas del hierro (deficiencia y sobrecarga); se estudia la estructura y la función de las proteínas relacionadas, y los mecanismos de su regulación, para poder revisar posteriormente con una mayor profundidad el metabolismo de este metal, y la fisiopatología de la deficiencia y la sobrecarga férricas. Por fin se describen las aplicaciones clínicas de las magnitudes biológicas proteicas; para lograr este objetivo se ha priorizado el uso de los trabajos en que se emplea un diagnóstico definitivo del metabolismo de este metal, y en conjunto se trata un espectro amplio de los pacientes. Para concluir se revisan brevemente los principios de medida de cada magnitud y la existencia de materiales de referencia.

Existen otras magnitudes empleadas frecuentemente en el laboratorio clínico para la exploración del metabolismo del hierro que son citadas ocasionalmente, pero no se tratan en profundidad por no ser objeto de esta revisión: no ser de naturaleza proteica o no medirse tradicionalmente en un laboratorio de Bioquímica Clínica.

## PREVALENCIA DE LOS TRASTORNOS DE LAS RESERVAS DEL HIERRO

### Prevalencia de la ferropenia y de la anemia ferropénica

La ferropenia se define como aquella condición clínica en la que no hay reservas férricas movilizables, y en la que se dan los signos clínicos de un suministro del hierro deficiente a los tejidos, incluidos los precursores eritroides (15); la anemia ferropénica se define como el descenso de la concentración de la hemoglobina en la sangre secundario a una disminución de la concentración del hierro del organismo (1). La ferropenia es la deficiencia nutricional más prevalente en el mundo, y es la única deficiencia nutricional con una prevalencia significativa en todos los países industrializados. No existen unas cifras de prevalencia de la ferropenia en el mundo, pero podemos formarnos una idea si observamos las estimaciones de la prevalencia de anemia en el mundo de la Organización Mundial de la Salud (tabla I): entre una tercera parte y la mitad de la población de los países no industrializados sufren una anemia. Por otra parte, en los países industrializados las cifras son menores, aunque los niños en la edad preescolar y las mujeres embarazadas alcanzan cifras moderadas (15).

La anemia es especialmente prevalente en Asia. En Africa el 50 % de las mujeres embarazadas y el 40 % de no embara-

**Tabla I.** Prevalencia de la anemia en el mundo en 1990-1995, según la Organización Mundial de la Salud (15)

Sexo y edad	Países industrializados	Países no industrializados
Niños (0-4 años)	20,1	39,0
Niños (5-14 años)	5,9	48,1
Mujeres embarazadas	22,7	52,0
Mujeres (15-59 años)	10,3	42,3
Hombres	4,3	30,0
ancianos (> 60 años)	12,0	45,2

La prevalencia se expresa en %.

**Tabla II.** Prevalencia de la ferropenia y anemia ferropénica de los Estados Unidos de América, para todas las razas. NHANES III 1988-1994 (18).

Sexo y edad	Número	Ferropenia %	Anemia ferropénica %
<b>Ambos sexos</b>			
1-2	1.339	9	3
3-5	2.334	3	<1
6-11	2.813	2	<1
<b>Mujeres</b>			
12-15	786	9	2
16-19	700	11	3
20-49	4.495	11	5
50-69	2.034	5	2
>70	1.630	7	2
<b>Hombres</b>			
12-15	691	1	<1
16-19	658	<1	<1
20-49	4.048	<1	<1
50-69	1.929	2	1
>70	1.437	4	2

La prevalencia se expresa en %, la edad en años.

das son anémicas. En Latinoamérica estas cifras disminuyen hasta un 40 y 30 % respectivamente. Aunque no se dispone en la actualidad de cifras para los niños, cabe pensar que la prevalencia de los niños en la edad preescolar es igual o mayor que la de las mujeres embarazadas (15).

Los estudios NHANES (del inglés, National Health and Nutrition Examination Survey) realizados por el Centro Nacional para Estadísticas de la salud del Centro para el control y la prevención de enfermedades de los Estados Unidos de América ofrecen las prevalencias de la ferropenia y la anemia ferropénica en esta población (16, 17, 18). El último de los tres estudios fue llevado a cabo entre 1988 y 1995 (18); destaca la prevalencia de la ferropenia hallada para los niños en la edad preescolar (9 %), disminuyendo la cifra en la edad escolar. Los hombres de edad adulta presentan porcentajes muy inferiores; por el contrario, las mujeres adolescentes sufren la ferropenia y la anemia ferropénica con unas prevalencias destacables, disminuyendo en las mujeres de unas edades superiores (aunque continúan siendo mayores que para los hombres). Hay que señalar también la prevalencia de la ferropenia y la anemia ferropénica hallada en los ancianos (tabla II).

En los últimos 20 a 30 años ha disminuido la anemia ferropénica en los Estados Unidos de América en las edades prees-

**Tabla III.** Evolución de la prevalencia de la anemia en los Estados Unidos de América (16, 17, 18)

Edad	Prevalencia década 1970	Prevalencia década 1980	Prevalencia lustro 1990-1995
Preescolar	6	<1	<1
Escolar	8	<1	<1

La prevalencia se expresa en %.

colar y escolar (tabla III). Probablemente el uso de los alimentos enriquecidos en hierro, y una mejora en la biodisponibilidad del hierro en éstos ha sido el gran responsable de la disminución, aunque también han influido otros factores como una mejora del bienestar económico, en la información de la población, y en la atención sanitaria (4).

Desgraciadamente en España no existen unos estudios de ámbito nacional como los NHANES. Se han realizado unos trabajos en zonas concretas, en distintos años, con los valores discriminantes diferentes para cada magnitud, y las definiciones diferentes de la ferropenia y la anemia ferropénica, por lo que se hace difícil establecer comparaciones.

En los niños de 11 a 15 meses se realizó un estudio en Cantabria en el año 1990 hallándose una prevalencia de 37,7 % para la ferropenia y de 8,7 % para la anemia ferropénica (19), cifras claramente superiores a las halladas en el estudio NHANES III realizado en la misma época, aunque el valor discriminante usado para la ferritina en este último estudio es más bajo que en el de Cantabria antes citado. En Vizcaya, en 1992 se encontraron valores más parecidos para niños de 1 año: ferropenia 12,4 % y anemia ferropénica 6,9 % (20). En Madrid en 1999 se describieron unas cifras mucho mayores a las del estudio NHANES III para niños de 2-6 años: 13,8 % de la ferropenia y 5,3 % de anemia ferropénica (21).

Para los niños de 6 a 8 años, en Cantabria y el año 1987, se encontró una prevalencia de 18,8 % de la ferropenia y para niños de 9 a 11 años 12,9 %; en los niños de 12 a 14 años 21,8 % y en niñas de la misma edad 14,8 % (22). Estas cifras son también superiores a las del NHANES III, aunque el valor discriminante usado para la ferritina en este último estudio es más bajo. En el País Vasco, se realizó en 1998 un estudio sobre unas muestras representativas de la población incluyendo un amplio rango de las edades, y se halló una prevalencia de 0,6 a 0,7 % para la ferropenia y de 0,5 a 0,7 % para la anemia ferropénica

en los niños de 8-11 años, y de 2 a 2,3 % para la ferropenia y 1,8 a 2,3 % para la anemia ferropénica en los niños de 12 a 14 años (23), valores iguales o inferiores a los americanos.

Para las mujeres de edad fértil, se encontró en Barcelona (1996), una prevalencia de 47,5 %, dato muy elevado debido al alto valor discriminante utilizado para la ferritina (24). En Cataluña, en 1994 se halló 12,9 % de la ferropenia y 1,4 % de la anemia ferropénica en mujeres de 18 a 34 años (25), valores parecidos a las del último NHANES; lo mismo sucede en un estudio realizado en Madrid en 1997, en que se halló 10,7 % para la ferropenia y 3,9 % para la anemia ferropénica (26). En el País Vasco se describieron prevalencias de 2,9 a 3,5 % para la ferropenia y 2,8 a 2,9 % para la anemia ferropénica, claramente más bajas que las de los NHANES III (23).

En los mayores de 60 años no institucionalizados, el estudio del País Vasco halló una prevalencia de 0,6 a 1,6 % para la ferropenia y de 0,4 a 0,6 % para la anemia ferropénica, y 0,9 a 2,3 % para la ferropenia y 0,9 a 1,4 % para la anemia ferropénica en los institucionalizados (23).

En 1997 Arija et al revisaron los estudios realizados en la población española sobre la ferropenia y la anemia ferropénica, y calcularon las prevalencias por edades a partir de éstos (27) (tabla IV).

En definitiva podemos concluir que en los niños de 1 a 3 años, los adolescentes, las mujeres fértiles y los ancianos (especialmente los institucionalizados), la ferropenia y la anemia ferropénica continúan siendo trastornos nutricionales muy prevalentes a pesar de las mejoras que han experimentado en los últimos años. Asimismo, la población con escasos recursos económicos y los enfermos hospitalizados tienen un mayor riesgo de padecer alguno de estos procesos. En nuestro país existen importantes diferencias geográficas.

Variables como la edad, el sexo, la raza, algunas condiciones socioeconómicas (estado de pobreza, educación), la dieta (que debe presentar hierro biodisponible, y otros nutrientes necesarios para la eritropoyesis como el folato, el retinol, la cobalamina, el ascorbato, el cobre...), algunas condiciones fisiológicas (el embarazo actual, o el hecho de haber tenido varios hijos) y patológicas (la presencia de enfermedades inflamatorias) se asocian a la ferropenia.

#### Prevalencia de la hemocromatosis hereditaria

La hemocromatosis hereditaria es la principal causa de una sobrecarga férrica del organismo. Es un enfermedad de base

**Tabla IV.** Prevalencia de la ferropenia y la anemia ferropénica en la población española, según Arija et al (27)

Edad; sexo	Ferritina alterada		Anemia ferropénica	
	Prevalencia	Prevalencia p	Prevalencia	Prevalencia p
0,5-3; V/M	22,2	18,7	6,9	5,7
4-8; V/M	9,1	14,0	0,3	0,2
8-12; V/M	7,4	9,7	0,2	0,1
12-16; V	9,4	12,1	0,8	0,9
12-16; M	8,6	10,0	1,5	1,6
18-65; V	0,6	0,8	0,2	0,4
18-52/54; M	15,4	14,4	2,3	1,6
52/54-65; M	3,7	1,0	0,5	0,3
>60 no i V/M	5,0	3,0	1,8	0,6
i V/M	3,0	—	2,9	—

La tabla muestra el resultado de la prevalencia media y la prevalencia media ponderada por el número de población de referencia, ambas expresadas en %.

La edad se expresa en años. V = varón, M = mujer, i = institucionalizado, no i = no institucionalizado.

hereditaria, y tal como se verá en el apartado 6.2.1 son tres las principales mutaciones del gen que codifica para la proteína HFE implicadas con la hemocromatosis hereditaria: la Cys282Tyr (también llamada C282Y), que es la más determinante, la His63Asp (H63D), y la Ser65Cys (S65C). Los pacientes afectados por la mutación C282Y en el estado homocigótico, los afectados a la vez por el genotipo heterocigoto C282Y y el genotipo heterocigoto H63D (C282Y/H63D), o los afectados a la vez por el genotipo heterocigoto C282Y y heterocigoto S65C (C282Y/S65C) tienen más riesgo de padecer una hemocromatosis hereditaria. La mutación C282Y en el estado heterocigoto se asocia a unas concentraciones de la ferritina y a un índice de la saturación de la transferrina elevados, pero sin sintomatología de una hemocromatosis hereditaria. Las mutaciones H63D homocigotas y S65C homocigotas no suponen más riesgo de la hemocromatosis.

Se ha estimado que la prevalencia de la hemocromatosis hereditaria en Italia es del 0,2 % (28), en Dinamarca de 0,37-0,46 % (29), y en el Norte de Alemania de 0,2-0,6% (30); en esta misma zona, el 94,6% de los enfermos de hemocromatosis presentaban la mutación C282Y en estado homocigótico, y el 4,3 % eran heterocigotos para la mutación C282Y/H63D (31).

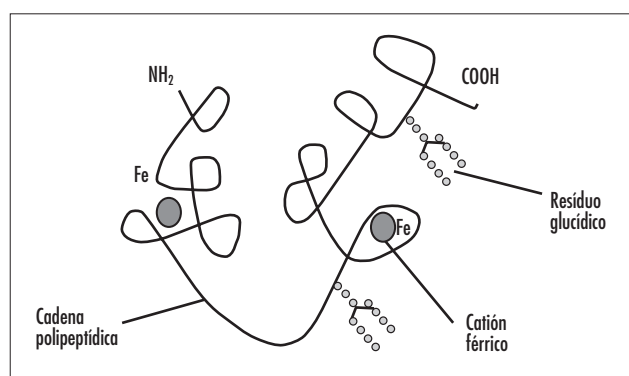
En Maine, Estados Unidos de América, se halló que el 0,69 % de la población general era homocigota para la mutación C282Y, el 2,19 % tenía la mutación C282Y/H63D, el 9,69 % heterocigota para C282Y, el 1,69 % homocigota para la mutación H63D, y el 24,57 % heterocigota para la mutación H63D. Las frecuencias alélicas para las mutaciones C282Y y H63D fueron 0,066 y 0,151, respectivamente. El genotipo encontrado en el 85% de los pacientes con una hemocromatosis hereditaria fue C282Y en el estado homocigótico; su prevalencia ocurre en el 0,51 % de los individuos blancos descendientes de los sujetos del Norte Europa; la prevalencia total para la hemocromatosis hereditaria se sitúa en 0,6 % (32).

Respecto a la prevalencia de esta enfermedad en España, un estudio realizado en Vigo halló una cifra de 0,26 % (33). Varios estudios han puesto de manifiesto que también la mutación C282Y del gen HFE es la principal causa de la hemocromatosis hereditaria en nuestro país, aunque la frecuencia puede variar dependiendo de la zona; en un estudio realizado en Barcelona el 87,1% de los pacientes con esta enfermedad eran homocigotos para la mutación C282Y, ninguno era homocigoto para la mutación H63D, y 6,5% eran heterocigotos para la mutación C282Y/H63D (34). En un trabajo realizado en Madrid, el 81,8% de los pacientes con una hemocromatosis fueron homocigotos para la mutación C282Y (35); en las islas Baleares esta cifra se eleva hasta un 90% (36). En Cantabria existe menos frecuencia de esta mutación, ya que un estudio halló una prevalencia del 67 % (37); lo mismo sucede en el País Vasco, en que fue de tan sólo 57%; además, un 11% presentó la mutación C282Y/H63D, y 2,85% H63D/S65C, y las mutaciones en una forma heterocigota H63D/S65C tuvieron una frecuencia del 11 y 2,85 %; estos datos indican que esta población presenta una alta frecuencia de la mutación H63D (38).

## ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL METABOLISMO FÉRRICO

### Transferrina

La transferrina plasmática, también llamada siderofilina, es una glucoproteína de cadena única de 679 aminoácidos con una masa molecular de 79,6 KDa y una forma elipsoidal. Se



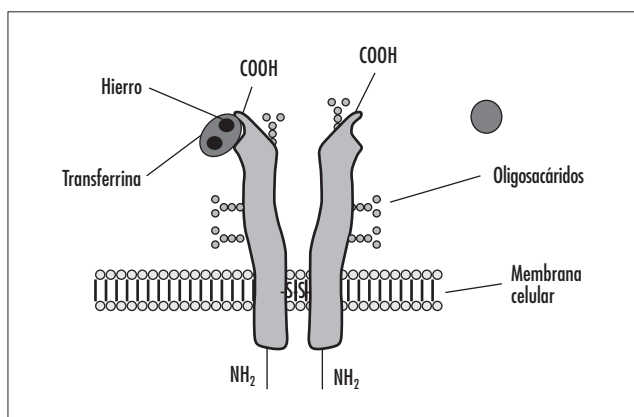
**Figura 1** Estructura de la transferrina (adaptado de Huebers y Finch, 1987 (39))

han descrito tres variantes debidas a los cambios en la secuencia de aminoácidos, denominadas D1, DCH1 y D2, aunque sin diferencias en la afinidad por el hierro (39).

Tiene dos residuos glucídicos de una composición variable en el extremo carboxi-terminal constituidos esencialmente por el ácido siálico, que no son expresión directa del gen sino de la actividad de unas glucotransferasas (figura 1) (40). Ambos residuos terminan en una molécula de ácido siálico (la transferrina plasmática deficiente en carbohidratos ha encontrado en los últimos años una aplicación como marcador para el diagnóstico y la monitorización del consumo excesivo de alcohol (41)). Por lo que se refiere a la cadena polipeptídica, existe una alta coincidencia en la secuencia de los aminoácidos de ambos extremos. La molécula dispone de dos puntos de unión reversible para dos iones hierro(III), uno en el extremo carboxi-terminal y otro en el amino-terminal (42). Un anión hidrógenocarbonato sirve de puente de unión entre la proteína y el catión hierro(III), desplazando esta unión la de una molécula del agua. Al producirse estos movimientos de los iones, la transferrina disminuye su eje mayor aproximándose más a la forma de una esfera (39). Su migración electroforética corresponde a la zona  $\beta$ 1-globulina siendo prácticamente la única responsable de esta banda.

Su síntesis es fundamentalmente hepática, y la cuantía de ésta es inversamente proporcional a la concentración de la ferritina intracelular de los hepatocitos; por tanto, cuando ésta se halla disminuida se produce un aumento de su síntesis (43). El gen que la codifica se sitúa en el cromosoma 3, cerca del correspondiente al receptor de la transferrina. La molécula sintetizada originalmente tiene de 19 a 20 aminoácidos más; antes de pasar a la circulación sufre una proteólisis, y posteriormente la glicosilación. Existen unas transferrinas específicas en las glóndas, el sistema nervioso central, y el lumen intestinal que transportan el hierro en estos compartimientos. Existe una forma de reserva de la transferrina en el retículo endoplasmático y el aparato de Golgi de los hepatocitos. Este *pool* libera la proteína cuando se estimula su síntesis mediante un sangrado (39). Tiene una semivida de 8 días (43).

La transferrina transporta el hierro procedente bien de la absorción intestinal, del catabolismo de la hemoglobina (por parte del Sistema Mononuclear Fagocítico), o de los depósitos tisulares, hacia su posterior cesión a los reticulocitos y los eritroblastos para la síntesis de la hemoglobina (o a otras células para la síntesis de otras moléculas que contienen este catión), o bien para su cesión a depósitos (mayormente hepáticos). La transferrina tiene también un papel protector ya que su unión



**Figura 2** Estructura del receptor de transferrina (adaptado de Feelders, Kuiper-Kramer, y van Eijk, 1999 (45))

con el hierro evita los efectos adversos que éste podría causar si circulara libremente. La transferrina también está relacionada con el transporte del Zn(II), Mn(II), Cr(III), Cu(III), y quizás posea un papel detoxificante de estos metales. Asimismo tiene una acción bacteriostática al limitar el hierro necesario para el crecimiento bacteriano (44).

### Receptor de la transferrina

El hierro penetra en el espacio intracelular gracias a un receptor específico para la transferrina; se trata de una proteína transmembrana de dos dímeros iguales de 760 aminoácidos con una masa molecular de 95 KDa, que se unen entre ellos a través de un puente disulfuro situado dentro de la membrana celular (figura 2) (45). Cada uno de los dímeros posee una región N-terminal intracitoplasmática y una C-terminal extracitoplasmática mucho más larga que lleva unidos tres oligosacáridos, que no son la expresión directa del gen como ya sucedía para la transferrina (39). Cada cadena puede unirse únicamente a una transferrina (46), y a pH fisiológico existe una mayor afinidad por la transferrina unida a dos cationes ferrosos (47). El acortamiento de la molécula de la transferrina al unirse los dos hierros la hace más afín al receptor (39).

El gen que codifica para esta proteína se halla en el cromosoma 3, cerca del de la transferrina. El receptor de la transferrina está presente en la superficie de la mayoría de las células del organismo, aunque en un mayor número en las células de los tejidos con un mayor requerimiento del hierro. En la serie roja de la médula ósea, las células madre más maduras (las unidades formadoras de colonias de la línea eritroide o CFU-E) tienen una mayor concentración de esta proteína en su membrana, y a los eritroblastos más maduros les sucede lo mismo (39); tal como se verá en los siguientes párrafos, en el plasma aparece una forma en suspensión del receptor, y el 80 % de esta forma procede de los eritroblastos (48). Una vez en la sangre, los reticulocitos tienen ya una menor concentración del receptor. En definitiva, para un tipo de célula determinado, su concentración viene regulada por el grado de la proliferación celular y por el hierro que contiene; el mecanismo de esta última regulación es de tipo postranscripcional y se describirá en los apartados 3.9 y 4.1. La proliferación eritroide también estimula la síntesis y la expresión de los receptores a través de la eritropoyetina, proceso mediado por las proteínas reguladoras IRP (11).

En la anemia de las enfermedades crónicas diversas citocinas, como el factor de necrosis tumoral, la interleucina-1 y el interferón  $\gamma$ , inhiben el efecto que la baja disponibilidad del hierro tendría sobre el mecanismo postranscripcional del receptor de la transferrina (49), de manera que no aumenta su síntesis.

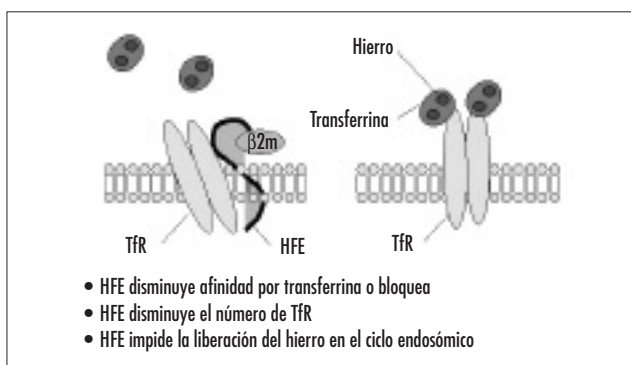
Una vez sintetizado, el receptor sufre un proceso proteolítico intracelular, probablemente en el endosoma. Cuando se fusiona con la membrana citoplasmática, mediante una exocitosis aparece en el plasma una forma de este receptor con 330 KDa, de función desconocida. Dicha forma corresponde al dominio extracelular del dímero que compone el receptor. Se desconoce cómo se mantienen unidos los dos monómeros, dado que el puente disulfuro que los unía era de dominio intracitoplasmático (50). La concentración plasmática de la forma en suspensión (llamada receptor *soluble* de la transferrina, para contraponerla a la forma fijada a la membrana) está en equilibrio con el receptor unido a la membrana (47). La composición del receptor soluble de transferrina puede variar según la homeostasis del hierro del paciente en que se aísla; en ausencia de una anemia ferropénica, la forma predominante es la de dos moléculas del receptor unidas a dos de transferrina, mientras que cuando hay la anemia ferropénica la predominante es de dos receptores unidos a una transferrina (50). Este hecho es previsible si consideramos que la proporción entre transferrina no unida al hierro (apotransferrina), unida a un ión hierro(III) (monotransferrina) o a dos iones hierro(III) (ditransferrina) depende de las reservas del hierro del individuo (ver apartado 5.2), y la afinidad del receptor de la transferrina por cada una de estas formas varía.

Recientemente se ha descubierto el receptor de la transferrina tipo 2, que se encuentra exclusivamente en el hígado y presenta una gran homología con el receptor de transferrina. La captación de la transferrina por parte de este receptor no tiene la regulación post-transcripcional ya que su ARNm no tiene las secuencias *Iron Responsive Element* - IREs (ver los apartados 3.9 y 4.1); por tanto, en la ferropenia no se aumenta su expresión ni en la sobrecarga disminuye ésta (51).

### HFE

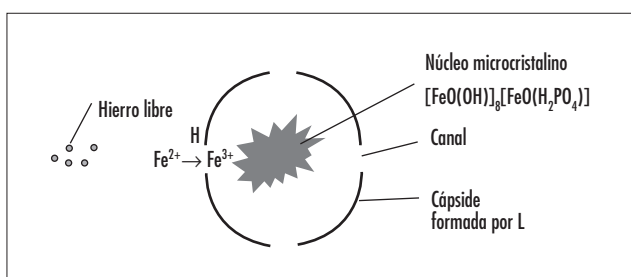
El receptor de la transferrina fijado en la membrana se une a una molécula de la proteína HFE, que es una proteína de 348 aminoácidos con una estructura muy parecida a las moléculas de la clase I del complejo mayor de histocompatibilidad: es una molécula transmembrana con dos cadenas polipeptídicas: una «pesada», unida a la membrana citoplasmática, con tres dominios extracelulares, y otra «ligera», que es una molécula de  $\beta$ 2-microglobulina. La cadena pesada tiene un dominio llamado  $\alpha$ 3, parecido a los dominios constantes de las cadenas de las inmunoglobulinas, por el que se une, mediante un enlace no covalente, a la cadena ligera (figura 3). A diferencia de las moléculas de la clase I de este complejo, HFE no presenta antígenos a los linfocitos T, ni realiza ninguna función en el Sistema Inmune. Las células que expresan más HFE son las de las criptas del intestino (52, 53).

HFE se une al receptor de transferrina en los enterocitos de las criptas y en la placenta. Esta unión produce pocos cambios conformacionales en HFE pero sí en el receptor, que sufre unas modificaciones en toda la interfase del dímero hasta el extremo citoplasmático; de esta manera se comunica al citoplasma la unión de HFE con el receptor. El efecto final logrado es el de disminuir el paso del hierro a través de la membrana que lleva a cabo el receptor de la transferrina. Aunque se



- HFE disminuye afinidad por transferrina o bloquea
- HFE disminuye el número de TfR
- HFE impide la liberación del hierro en el ciclo endosómico

**Figura 3** Unión del receptor de transferrina (TfR), HFE, y β2-microglobulina (β2m), e hipótesis que existen del efecto que ejerce HFE sobre el receptor de transferrina



**Figura 4** Estructura de la ferritina y relación con el hierro (adaptado del Departamento de Química de la Universidad de Washington, 1998 (2))

desconoce el mecanismo de este movimiento, existen diversas hipótesis que tratan de explicarlo: una de ellas postula que HFE disminuye la afinidad que tiene el receptor por la transferrina unida a hierro; otra, que HFE disminuye el número de moléculas funcionales del receptor que se hallan en la membrana celular y dificultan su internalización en el ciclo endosómico; otra, que los cambios conformacionales que ejerce HFE sobre el receptor dificultan la liberación del hierro en el ciclo endosómico (ver apartado 5.3.11 para la explicación del ciclo endosómico) (53).

### Ferritina

La ferritina plasmática es una glucoproteína de una forma esférica formada por 24 subunidades. Existen al menos dos tipos de estas subunidades polipeptídicas: H o pesadas, de 21 KDa, y L o ligeras, de 19,7 KDa, codificadas respectivamente en los cromosomas 11 y 19; las combinaciones de ambas dan lugar a diversas isoformas distinguibles por su punto isoeléctrico. Las subunidades unidas entre sí por enlaces no covalentes, dan lugar a la forma esférica de la ferritina, en cuyo interior se genera un espacio en el que caben hasta 4500 átomos del hierro depositados como hidróxido-fosfato férrico. El hierro catiónico entra o sale de la proteína gracias a unos canales que se hallan entre las 24 subunidades; en el interior, la subunidad H lo oxida a hierro(III) en presencia del oxígeno, y reacciona con agua y fosfato para formar  $[\text{FeO}(\text{OH})]_8[\text{FeO}(\text{H}_2\text{PO}_4)]_x$ , que adquiere una estructura microcristalina. La ferritina tiene una semivida de 60 horas (54) (figura 4).

Tal como se verá más adelante, la traducción del ARNm de la subunidad H o L de la ferritina está regulada por el hierro libre en el citosol celular; esto sucede a través de un mecanis-

mo postranscripcional. La síntesis de la ferritina también está regulada a través de las citocinas: la interleucina-1 aumenta su síntesis (55); por lo que su concentración plasmática se encuentra elevada en la inflamación (11).

Aunque prácticamente todas las células del organismo la contienen en su citosol, se halla especialmente en las células relacionadas con la síntesis de la hemoglobina (eritroblastos y reticulocitos), su degradación (macrófagos), o su reserva (hepatocitos) (1).

El catión hierro (II) tiene un potencial tóxico ya que puede reaccionar con las distintas especies reactivas de oxígeno formando radicales que, a su vez, pueden afectar las membranas, las proteínas y los ácidos nucleicos. Probablemente con el fin de evitar estos efectos la evolución ha desarrollado una proteína como la ferritina que, con la excepción de las levaduras, se halla en la mayoría de organismos. La ferritina capta el hierro(II) del citosol plasmático, la subunidad H lo oxida, y queda depositado en el interior de la estructura en forma de reserva para ser usado cuando convenga. Así, la ferritina tiene un papel citoprotector y de reserva del hierro (56).

Recientemente se ha descrito la existencia de una ferritina mitocondrial. La mayor diferencia entre la ferritina citosólica (que es la plasmática) y la mitocondrial es su estructura cuaternaria: la primera es un heterodímero mientras que la mitocondrial es un homodímero constituido únicamente por subunidades H. Esta subunidad es expresada como un precursor y transportada hacia la mitocondria, donde es procesada y polimerizada hasta dar lugar a una estructura esférica similar a la ferritina plasmática. La ferritina mitocondrial parece jugar un papel de reserva férrica en la síntesis del grupo hemo: cuando la ferroquelatasa que incorpora el hierro al hemo ve interrumpida su función, este metal se acumula en la ferritina mitocondrial hasta que la función vuelve a restaurarse. La incorporación del hierro a la ferritina requiere oxígeno, y su salida necesita de la presencia de agentes reductores, por lo que el estado redox de la mitocondria podría decidir el destino del hierro hacia el grupo hemo o hacia la reserva en la ferritina mitocondrial (56).

### DMT1 (Nramp2)

Las iniciales DMT1 provienen del inglés, *divalent metal ion transporter 1*. También recibe el nombre DCT1 (del inglés, *divalent cation transporter 1*), y Nramp2 (*natural resistance-associated macrophage protein 2*). Esta es una proteína con un dominio transmembrana que transporta metales divalentes como el hierro, cobalto, manganeso y zinc (57, 58). Mobiliza el hierro unido a la transferrina presente en los endosomas en el ciclo endosómico (apartado 5.3.11) y transfiere el hierro en la membrana basolateral del enterocito a través de un transporte activo acoplado a un transporte de hidrogeniones (52).

### Ferroportina 1

La ferroportina 1 o IREG1 (del inglés, *iron-regulated transporter 1*) es una proteína que posee al menos diez dominios transmembrana y se expresa principalmente en el duodeno (especialmente en la membrana basolateral del enterocito), la placenta, el hígado, el riñón, y los macrófagos. Se cree que, en caso de bajas reservas férricas, transporta el hierro del enterocito a la sangre. Asimismo juega un papel en el transporte del hierro a través del saco de Yolk hacia la circulación del embrión, y en el transporte de este metal del plasma materno al del embrión (59,60).

### Hephaestina

Es otra proteína transmembrana, con un único dominio dentro de la membrana, que se cree interactúa con la ferroportina 1 permitiendo el paso del hierro a través de la membrana basolateral del enterocito. Tiene una gran homología con la ferroxidasa plasmática, y posee su misma actividad enzimática teniendo como co-factor varios iones cobre. Se expresa mucho en el intestino delgado (aunque prácticamente nada en las criptas) y en el colon. Esta proteína relaciona de una manera interesante el metabolismo del hierro y el del cobre. Permite explicar que la deficiencia del cobre acarree ferropenia (la hephaestina necesita cobre para ser funcional en la absorción del hierro), mientras que la ferropenia no conduce a una deficiencia del cobre (61).

### SFT

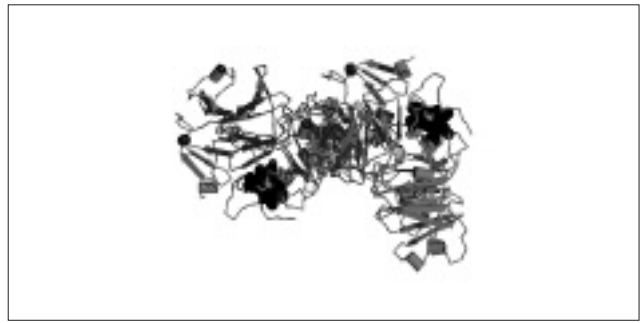
La denominación SFT procede del inglés *stimulator of Fe transport*. Es una proteína que facilita la captación transferrina-dependiente y la transferrina-independiente del hierro, procesos que se verán más adelante. A diferencia de DMT1 (Nramp2), que transportaba los metales divalentes, SFT es muy específica para el hierro, y es capaz de transportar tanto el hierro(II) como el hierro(III). Tiene seis dominios transmembrana y dos dominios extramembrana en una forma de lazo; uno de ellos dentro del citosol y otro fuera de la célula. Existe un punto de unión con el hierro que posee una alta homología con el punto de unión de la cadena ligera de la ferritina para este metal; esta secuencia se halla en la parte citoplasmática del segundo dominio transmembrana. La unión del hierro citosólico con estos residuos inhibe su transporte (62).

### IRP-1 e IRP-2

Su denominación viene del inglés, *iron regulatory protein*. Son proteínas citoplasmáticas con una masa molecular que se sitúa entre 97 y 103 KDa. Ambas poseen unas características bioquímicas muy parecidas y pueden distinguirse sólo mediante los procedimientos químicos. Tienen la propiedad de unirse al ARNm, y esta unión tiene lugar de forma muy específica con unas estructura en forma de lazo denominadas *iron responsive element* (IRE); la estequiometría de esta unión es 1:1. Estos IRE se hallan en número de cuatro a cinco en los ARNm del receptor de la transferrina y las cadenas H y L de la ferritina; también se hallan en los ARNm de otras proteínas como la 5-aminolevulinato sintasa eritrocitaria (EC 2.3.1.37), y la aconitasa mitocondrial (EC 4.2.1.3). La afinidad para los IRE de los ARNm de todas estas moléculas es parecida (63).

La propiedad de unirse a los IRE de estas proteínas está regulada por la concentración del hierro del citosol a través de un mecanismo postranscripcional. Las IRP poseen dos conformaciones según contengan hierro o no: la apo-IRP tiene una conformación abierta en la que expone su punto de unión al IRE del ARNm, por lo que esta unión es posible; la presencia del hierro origina la holo-IRP, que tiene una conformación cerrada con un clúster [4Fe-4S] en la que no se expone el anterior punto de unión.

Las IRP tienen un 30% de homología con la aconitasa mitocondrial del ciclo de Krebs, pero igual que este enzima necesitan la presencia del clúster para ser funcionales, por lo que sólo la holo-IRP actúa como una aconitasa citoplasmática. El papel de estas proteínas se verá con mayor detalle en el apartado 4.



**Figura 5** Estructura de la hemopexina. Posee una cadena única, con un pliegue que separa dos dominios homólogos unidos por un residuo de 20 aminoácidos; cada uno de los dominios tiene, a su vez, un pliegue. La forma estérica de la hemopexina se asemeja a un disco plano con un orificio en el centro (tomado de la base de datos Pfam de la Universidad de Washington, 2003 (177))

### Ferroxidasa

La ferroxidasa (EC 1.16.3.1), antes llamada ceruloplasmina, es un polipéptido con varios residuos glucídicos que contiene seis iones cobre que son esenciales para la estabilidad de la molécula; su peso molecular es de 132 KDa y su síntesis es hepática.

Entre sus funciones está la de circunscribir al foco inflamatorio la acción de los agentes como el anión superóxido y sus derivados gracias a la actividad oxidasa de esta proteína. Su función oxidante es ejercida también sobre el hierro (II) absorbido por las criptas de las microvellosidades intestinales; recientemente se ha establecido otro papel en la captación celular del hierro por parte de esta proteína, tal como se verá en el apartado 5.3.2. En definitiva, parece que la ferroxidasa se encarga de mantener la homeostasis del hierro en el hígado (y posiblemente otros tejidos) durante los períodos de la deficiencia del hierro. La ferroxidasa posiblemente transfiere cobre a las enzimas que lo requieren (64).

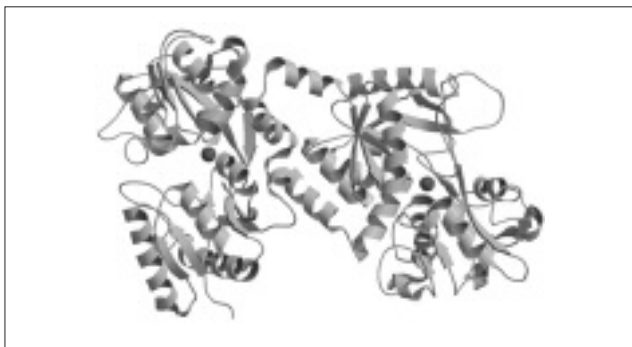
### Haptoglobina

La haptoglobina es una glucoproteína con una masa molecular de 85 KDa; el 19% de este peso corresponde a glúcidos. Su punto isoeléctrico es 4,2. Posee una estructura tetramérica formada por dos cadenas  $\beta$  fijas y otras dos cadenas  $\alpha$  de estructura variable. Su migración electroforética corresponde a la zona  $\alpha$ -2-globulina. Pueden distinguirse tres fenotipos con una movilidad electroforética diferente, como reflejo de su polimorfismo genético. Su síntesis tiene lugar en el hígado (44).

La haptoglobina tiene una elevada afinidad por la hemoglobina libre, uniéndose en una relación molar 1:1. El complejo resultante de la unión es destruido por el Sistema Mononuclear Fagocítico del organismo. La hemoglobina así unida no se filtra por el glomérulo, dado el gran tamaño del complejo. El organismo impide, de esta forma, una pérdida del hierro y un daño renal. La hemoglobina restante se une a la hemopexina, albúmina y otras proteínas. La hemoglobina libre que no ha sido captada por ninguna de las proteínas citadas se filtra por el riñón rápidamente (43, 44).

### Hemopexina

La hemopexina (EC: 3.2.1.35) es una glucoproteína de 57 Kda de masa molecular de cadena única; el 20 % del peso corresponde a glúcidos (figura 5). La molécula presenta un pliegue que separa dos dominios homólogos de 200 aminoácidos uni-



**Figura 6** Estructura de la lactoferrina, con una cadena única, y un pliegue que separa dos dominios con una alta coincidencia en la secuencia de aminoácidos. La molécula dispone de dos puntos de unión reversible para dos iones hierro(III), uno por dominio (tomado del Laboratorio de Biología Estructural de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad de Auckland, 2003 (178))

dos por un residuo de 20 aminoácidos; los dominios tienen un 25 % de homología y cada uno de ellos tiene, a su vez, un pliegue. La forma estérica de la hemopexina se asemeja a un disco plano con un orificio en el centro (65). Presenta una afinidad muy elevada por el grupo hemo: es la proteína plasmática con una mayor afinidad por éste. Una vez unido a la hemopexina, el hemo queda alojado entre los dos dominios (un hemo por cada molécula de hemopexina). La migración electroforética de la hemopexina corresponde a la zona de las  $\beta$ -globulinas, y su síntesis es principalmente hepática (66).

El grupo hemo no unido a las proteínas es potencialmente tóxico por su facultad de dañar las membranas lipídicas y catalizar la formación de los radicales hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ). Dada su afinidad por este grupo, la hemopexina se une al hemo liberado tras la degradación de la hemoglobina evitando los efectos tóxicos del hemo y la pérdida del hierro. En definitiva, la hemopexina constituye el principal mecanismo del organismo para transportar y eliminar el hemo del plasma (66). El complejo hemopexina-hemo es retirado de la circulación por los hepatocitos (ver apartado 5.5) (67) gracias a una endocitosis mediada por receptores específicos; el pH bajo del endosoma facilita la liberación del hemo, y posteriormente la hemopexina se recicla devolviéndose a la circulación sistémica (68).

### Lactoferrina

La lactoferrina es una glucoproteína de 703 aminoácidos que se halla presente en varios sistemas biológicos humanos (leche, secreción lagrimal, saliva, líquido pancreático), y se almacena en los gránulos secundarios de los leucocitos polimorfonucleares. Actualmente se agrupa a la lactoferrina en la familia de las transferrinas (familia compuesta, además, por la transferrina plasmática, la ovotransferrina, y la melanotransferrina). Estas proteínas comparten la misión de regular la concentración del hierro libre presente en el sistema donde se hallan, y además tienen unos elementos estructurales comunes: tal como sucedía para la transferrina, la lactoferrina tiene una cadena única con una masa molecular cercana a los 80 kDa, y presenta un pliegue que separa dos dominios con una alta coincidencia en la secuencia de los aminoácidos. La molécula dispone de dos puntos de unión reversible para dos iones hierro(III), uno por dominio; un anión hidrógenocarbonato sirve de puente de unión entre la proteína y el catión hierro(III) (65) (figura 6). Puede hallarse en la forma no unida al hierro,

monoférrica, y diférrica. Existen tres isoformas, dos de ellas con una actividad ARNasa. Se han aislado receptores para la lactoferrina en el intestino, los monocitos, los neutrófilos, los linfocitos, las plaquetas, y algunas bacterias (69).

La fagocitosis de los leucocitos polimorfonucleares va acompañada por una serie de sucesos, entre ellos la degranulación (70). En los gránulos específicos se halla la lactoferrina, con una importante acción antibacteriana gracias al secuestro que ejerce sobre el hierro (II): la lactoferrina posee una constante de asociación al hierro (II) mayor que la transferrina; en el foco inflamatorio, el pH ácido favorece que los iones ferrosos pasen de la transferrina a la lactoferrina. La lactoferrina unida a hierro es captada por el Sistema Mononuclear Fagocítico (71). Esta proteína tiene también un efecto bactericida sobre las bacterias gram negativas al dañar su membrana externa (72).

La lactoferrina tiene unas funciones inmunoregulatoras, ya que disminuye la liberación de las interleucinas 1 y 2, y del factor de necrosis tumoral- $\alpha$  por parte de los monocitos, además de aumentar la actividad citotóxica de estas células y la de los linfocitos *natural killer* (72).

Tiene una alta afinidad por el lípido A, una fracción del lipopolisacárido que constituye la endotoxina de las bacterias gram negativas. La unión con el lípido A inhibe la interacción de éste con el antígeno CD14 de los monocitos; de esta manera la lactoferrina neutraliza el efecto tóxico de la endotoxina (72).

La fagocitosis de los macrófagos y los leucocitos polimorfonucleares va acompañada por el estallido del metabolismo oxidativo, formándose sustancias oxidantes como el radical hidroxilo con actividad bactericida y citotóxica (73). La formación del radical hidroxilo en el macrófago está catalizada por el hierro. Se ha sugerido que, en el foco inflamatorio, la lactoferrina liberada por los leucocitos polimorfonucleares toma el hierro unido a la transferrina, y posteriormente el complejo es captado por los macrófagos lográndose la llegada del hierro en su interior (74).

### Hepcidina

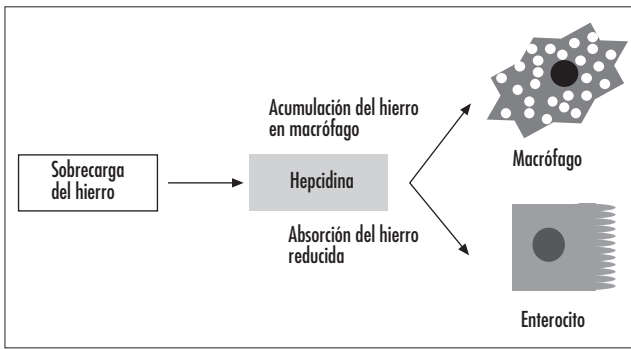
La hepcidina o LEAP 1 (del inglés, *liver-expressed antimicrobial peptide*) es un péptido de 25 aminoácidos que tiene un puente disulfuro en su estructura y posee actividad antibacteriana. Se sintetiza en el hígado en forma de un propéptido de 83 aminoácidos, que posteriormente se escinde en tres péptidos de 20, 22, y 25 aminoácidos (75).

Durante muchos años diversos investigadores han sospechado la existencia de un factor plasmático que actuaría como una señal entre diferentes tejidos como el hígado, el intestino, la médula ósea, y los macrófagos, y la hepcidina parece cumplir esta expectativa (75, 76, 77).

Un aumento de la expresión de la hepcidina tiene un doble efecto: inhibe la absorción intestinal del hierro y bloquea la reserva del hierro de los macrófagos (77); con ambas acciones la hepcidina parece estar dedicada a prevenir la sobrecarga férrica del organismo (figura 7). El efecto en la absorción intestinal del hierro es parecido al de la proteína HFE; en este sentido, existe la sospecha que la hepcidina interacciona con el complejo receptor de transferrina/HFE/ $\beta$ -2-microglobulina inhibiendo el transporte del hierro (75).

La síntesis de la hepcidina está regulada a través de tres estímulos; los dos primeros tienen que ver con las reservas férricas: un incremento de las reservas férricas del hígado aumenta la expresión de hepcidina; un aumento del hierro en forma





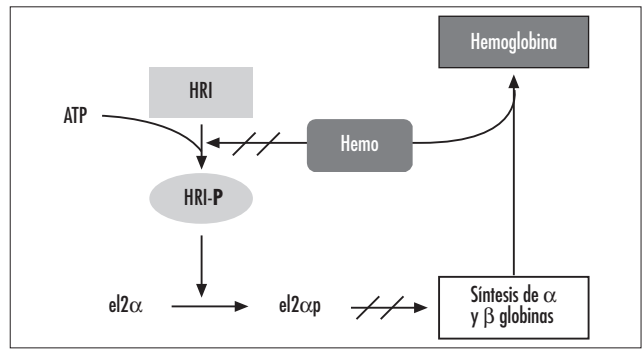
**Figura 7** Papel de la hepcidina en el metabolismo del hierro. La hepcidina evita la sobrecarga del hierro disminuyendo su transporte en el enterocito, y promoviendo su acumulación en el macrófago (adaptado de Nicolas, Bennoun, Devaux, Beaumont, Grandchamp, Kahn, y Vaulont, 2001 (75))

de complejos de un bajo peso molecular disminuye la expresión de la hepcidina, mientras que el hierro unido a la transferrina no la afecta; por otra parte, la inflamación aumenta la expresión de la hepcidina (se comporta como un reactante de fase aguda de tipo II: la interleucina-1 aumenta su expresión, mientras que la interleucina-6 y el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  no) (77). Este último hecho apunta una posible relación de la hepcidina con la patogénesis de la anemia de las enfermedades crónicas, tal como se verá en el apartado 6.3.

### HRI

La concentración de una proteína puede regularse mediante la traducción del ARN gracias a la intervención de los factores de traducción generales; entre ellos está el factor de la iniciación traduccional 2 (eIF2 $\alpha$ ). La fosforilación del eIF2 $\alpha$  es una de las mecanismos más importantes para la inhibición global de la iniciación de la traducción (78); esta función es realizada por las enzimas que componen la familia de las eIF2 $\alpha$  cinasas, entre las que se halla la enzima HRI (del inglés *heme-regulated eIF2 $\alpha$  kinase*). Las proteínas reguladas gracias a HRI son las  $\alpha$  y  $\beta$  globinas (ver apartado 3.17).

HRI se expresa en las células eritroides; tiene dos puntos de unión con el grupo hemo, uno en el extremo amino-terminal y otro en el centro catalítico enzimático. La primera de las uniones es estable; la segunda es reversible, y cuando tiene lugar HRI disminuye su actividad cinasa con lo que no fosforila el eIF2 $\alpha$  y la síntesis de las globinas se lleva a cabo. Al disminuir la disponibilidad del hemo, HRI se fosforila con la mediación de una molécula de adenosina trifosfato, y también fosforila el eIF2 $\alpha$ . La forma fosforilada de este factor impide la traducción del ARN que codifica para las  $\alpha$  y  $\beta$  globinas, y por tanto no se sintetizan estas proteínas (figura 8). La importancia del papel de HRI se pone en evidencia con el hecho que las  $\alpha$  y  $\beta$  globinas no unidas al grupo hemo forman agregados en el citosol del eritrocito y de sus precursores; como consecuencia se produce una apoptosis de estas células, una anemia, y una hiperplasia eritroide compensatoria. En definitiva, sin el papel de HRI una eritropoyesis ferropénica, proceso muy prevalente en todo el mundo, conduciría a la muerte celular de los precursores eritroides. Además, el control es traduccional, y no transcripcional, porque los reticulocitos no tienen núcleo: el control transcripcional no tendría efecto; sólo un control traduccional podría impedir el efecto nefasto



**Figura 8** Papel de HRI. Si el centro catalítico de la enzima HRI (*heme-regulated eIF2 $\alpha$  kinase*) se une a un grupo hemo se inhibe la actividad cinasa de HRI. Cuando se forma poco hemo en el eritrocito, HRI se fosforila con la acción de una molécula de adenosina trifosfato (ATP), y fosforila el factor de iniciación traduccional 2 (eIF2 $\alpha$ ); se impide así la traducción del RNA que codifica para las  $\alpha$  y  $\beta$  globinas y por tanto no se sintetizan estas proteínas (adaptado de Han, Yu, Fujiwara, Browne, Chin, Fleming et al. 2001 (79))

de la síntesis de las globinas en caso de la ferropenia. Cuando hay ferropenia, debido a la baja cantidad de las globinas formadas dentro del eritrocito esta célula tiene un tamaño disminuido; ésta es la explicación para la microcitosis eritrocítica característica de la anemia ferropénica que se observa en el laboratorio clínico. La baja cantidad de las globinas y la hemoglobina conllevan una tinción disminuida frente a los colorantes panópticos; se observa así la hipocromía eritrocítica característica (79).

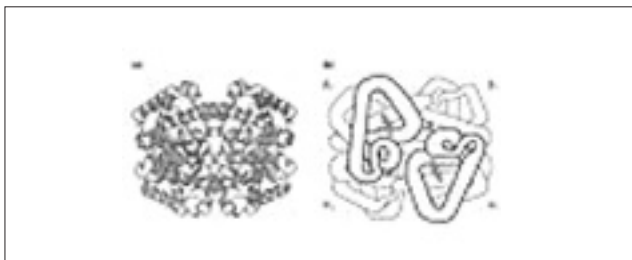
### Hemosiderina

La hemosiderina es una forma de ferritina agregada y parcialmente desproteinizada. A diferencia de la ferritina, es insoluble en soluciones acuosas. El hierro de la hemosiderina es liberado mucho más lentamente que el de la ferritina porque los agregados de este metal que se hallan en el interior de la proteína son grandes, y tienen una relación superficie/volumen baja (80). La presencia de la hemosiderina puede ponerse de manifiesto mediante la tinción de Perls; cuando se produce una sobrecarga férrica, la mayor parte del hierro se almacena como la hemosiderina (81).

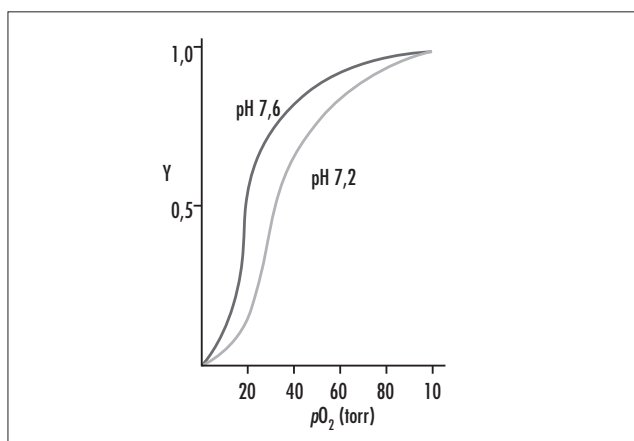
Constituye la forma preferente de reserva del hierro en los macrófagos de la médula ósea y el bazo, y las células de Kupper; por el contrario, en las células del parénquima hepático la reserva del hierro como hemosiderina es menor (1).

### Hemoglobina

La hemoglobina está formada por cuatro cadenas polipeptídicas, denominadas globinas, unidas por interacciones no covalentes; éstas, a su vez, están unidas de modo no covalente a un grupo hemo. El grupo hemo da a la hemoglobina su color rojo característico, y consta de la protoporfirina IX, formada a su vez por cuatro grupos pirrólicos, y un átomo del hierro; sólo si se halla en forma del hierro (II) puede unirse al oxígeno (figura 9) (82). Existen seis tipos de hemoglobinas ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ , y  $\zeta$ ), y en una molécula de la hemoglobina se dan sólo dos tipos, de manera que hay dos moléculas de cada tipo. La hemoglobina A, la más frecuente en el adulto, está constituida por la combinación de dos globinas  $\alpha$  y dos  $\beta$  ( $\alpha_2, \beta_2$ ). Las hemoglobinas A<sub>2</sub> ( $\alpha_2, \delta_2$ ) y F ( $\alpha_2, \gamma_2$ ) se hallan también en el adulto, aunque de una forma minoritaria. A lo largo de la vida embri-



**Figura 9** Estructura de la hemoglobina. Está formada por cuatro cadenas polipeptídicas (globinas), unidas por interacciones no covalentes; cada globina está unida de modo no covalente a un grupo hemo (tomado de Horton, Moran, Ochs, Rawn, y Scrimgeour, 2001 (84))



**Figura 10** Efecto Bohr de la hemoglobina. La forma sigmoidea de la curva de disociación del oxígeno muestra la unión cooperativa del oxígeno. Un descenso del pH, lleva a una disminución de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Este efecto también se produce para una mayor concentración de dióxido de carbono, y constituye el efecto Bohr (tomado de Horton, Moran, Ochs, Rawn, y Scrimgeour, 2001 (84))

naria las hemoglobinas predominantes son la Gower I ( $\xi_2, \epsilon_2$ ), Gower II ( $\alpha_2, \epsilon_2$ ), y Portland ( $\xi_2, \gamma_2$ ) (83).

La hemoglobina tiene como función fijar reversiblemente el oxígeno para transportarlo de los pulmones a los tejidos, y hacer lo propio, aunque en sentido inverso, con el dióxido de carbono. Posee también una capacidad amortiguadora y participa de la regulación del pH sanguíneo (1, 43).

Las globinas  $\alpha$  y  $\beta$  tienen respectivamente 141 y 146 aminoácidos y poseen una estructura tridimensional muy parecida, que coincide también con la de la mioglobina. La molécula de la hemoglobina es prácticamente esférica, con los grupos hemo en la parte exterior de la molécula. En la hemoglobina A, cada cadena  $\alpha$  se halla en contacto con las dos cadenas  $\beta$ . Las interacciones que se dan entre puntos diferentes, se denominan interacciones alostéricas; éstas condicionan que la unión de una molécula de oxígeno favorezca nuevas uniones del oxígeno, y que la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno sea función de la concentración del dióxido de carbono, el hidrógeno(I) ( $H^+$ ), y el bisfosfoglicerato (82).

Gracias a la unión cooperativa del oxígeno, la saturación del oxígeno de la hemoglobina cambia muy rápidamente con los cambios en la presión parcial del oxígeno; este hecho convierte a la hemoglobina en un transportador del oxígeno muy eficiente. La forma sigmoidea de la curva de disociación del oxígeno muestra estos hechos (figura 10); el mecanismo que permite esta interacción alostérica es el siguiente: la forma no

oxigenada de la hemoglobina (desoxihemoglobina) presenta una poca afinidad por el oxígeno y tiene una molécula más contraída que la hemoglobina unida al oxígeno (oxihemoglobina). En la desoxihemoglobina, el hierro(II) se halla fuera del plano del hemo por la repulsión que le produce una histidina proximal. La unión con el oxígeno provoca un movimiento de este ión hacia el plano del hemo arrastrando la histidina; este movimiento deshace varios puentes salinos que mantenían una tensión en la estructura de la hemoglobina, y la relajan, en consecuencia. Se deben romper muchos puentes salinos para la unión de la primera molécula del oxígeno, pero las siguientes son más fáciles al ser menos los puentes salinos que las dificultan (82).

Un aumento de la concentración del dióxido de carbono y del hidrógeno (I) (un descenso del pH), llevan a una disminución de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno; por ello, en el músculo, en donde se dan estas condiciones, la hemoglobina libera el oxígeno. En los alveolos pulmonares sucede lo contrario: la concentración elevada del oxígeno lleva a la liberación del dióxido de carbono e hidrógeno(I) por parte de la hemoglobina. Los efectos entre la hemoglobina, el dióxido de carbono, e hidrógeno(I) se conocen como el efecto Bohr (figura 10). Cuando se libera el oxígeno, un grupo aminoterminal y dos histidinas ganan más carga negativa, y captan con facilidad hidrógeno (I). Estabilizan entonces la forma tensa de la desoxihemoglobina (82, 84).

La mayoría del dióxido de carbono generado en los tejidos se transporta en el plasma como hidrógenocarbonato. Una parte es transportado por los grupos amino libres de la hemoglobina en forma de carbamato; los grupos carbamato forman puentes salinos que estabilizan la forma tensa de la desoxihemoglobina; este es el mecanismo que logra que una concentración alta de dióxido de carbono disminuya la afinidad por el oxígeno (82, 84).

El bisfosfoglicerato es un metabolito derivado de la glucólisis que está presente en los eritrocitos en la misma concentración molar que la hemoglobina. La unión de la hemoglobina con el bisfosfoglicerato y el oxígeno son excluyentes: si se une el bisfosfoglicerato no puede unirse oxígeno y viceversa; el resultado global de su presencia en el eritrocito es una disminución de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno. Este hecho tiene mucha importancia, porque en ausencia del bisfosfoglicerato la hemoglobina tendría tanta afección por el oxígeno que, a su paso por los tejidos, no lo cedería. Una sola molécula de bisfosfoglicerato se une al tetrámero de globinas que constituye la hemoglobina, y lo hace en la cavidad central que se encuentra en su interior. Su presencia estabiliza la molécula de desoxihemoglobina al establecer enlaces con las dos globinas  $\beta$ ; con ello disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (figura 11). En la oxigenación la estructura compacta de la hemoglobina hace demasiado pequeña la cavidad, y el bisfosfoglicerato es expulsado de su interior (82, 84).

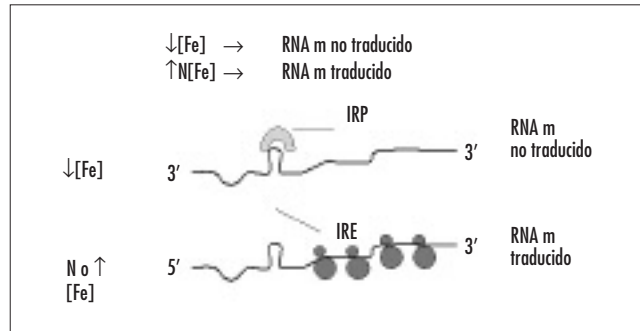
## MECANISMOS DE REGULACIÓN EN EL METABOLISMO DEL HIERRO

### Regulación hierro-dependiente

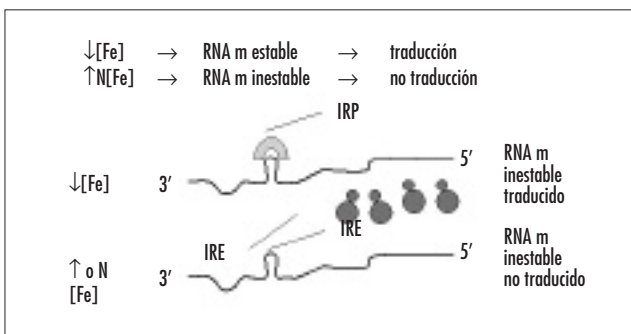
Para un tipo de célula determinado, la traducción de los ARNm del receptor de la transferrina y de la ferritina viene regulada por el hierro que contiene el citosol. Esta regulación se produce coordinadamente, de forma que cuando hay una ferropenia aumenta la expresión del receptor de la transferrina



**Figura 11** Unión del bisfosfoglicerato con la hemoglobina. El bisfosfoglicerato se une a la cavidad central de la hemoglobina no oxigenada estabilizando su molécula, al establecer enlaces con las dos globinas  $\beta$ ; de esta manera disminuye la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (tomado de Horton, Moran, Ochs, Rawl, y Scrimgeour, 2001 (84))



**Figura 13** Efectos de la presencia de IREs en el ARNm en la región no traducida 5' frente a bajas, altas, o adecuadas reservas férricas ([Fe]). En situación de reservas adecuadas o sobrecarga férrica las IRP no impiden la traducción del ARNm, éste se traduce, y se sintetiza proteína (adaptado de Melcher, 1997 (179))



**Figura 12** Efectos de la presencia de IREs en el ARNm en la región no traducida 3' frente a bajas, altas, o adecuadas reservas férricas ([Fe]). En situación de la ferropenia las IRP estabilizan el ARNm, éste se traduce, y se sintetiza proteína (adaptado de Melcher, 1997 (179))

y disminuye la de la ferritina, mientras que en situación de exceso del hierro sucede lo contrario.

Tal regulación tiene lugar a través de un mecanismo post-transcripcional: el ARNm que codifica para el receptor de la transferrina es inestable cuando la célula contiene suficiente hierro, y estable cuando no. Esto sucede así por la presencia de IREs en el ARNm en la región no traducida 3' (figura 12). A pesar de su denominación de respondedora al hierro, estas regiones son únicamente el sustrato pasivo de la unión con las IRP, que como su nombre indica son las auténticas reguladoras del proceso. Su función está condicionada por la concentración del hierro a través del cambio de la conformación según contengan hierro o no, tal como se indicó en el apartado 3.9. Cuando no hay hierro disponible las IRP se unen al IRE, y esta unión evita la degradación rápida del ARNm alargando su semivida; de esta manera se traduce más ARNm, y se sintetiza más el receptor de la transferrina entrando en consecuencia más hierro hacia el citosol. Cuando hay hierro disponible las IRP no se unen al IRE y el ARNm se degrada rápidamente sintetizándose poco receptor de la transferrina, entrando menos hierro. Por tanto, a través de este mecanismo el hierro controla su propia disponibilidad celular (63).

Otras proteínas tienen este mismo mecanismo de regulación de la síntesis al poseer un IRE en su región no codificada 3'; de esta manera si hay ferropenia se expresan más. Tales proteínas, DMT1, ferroportina 1, hephaestina y SFT, tienden a absorber hierro. El gen que codifica para DMT1 existe en dos formas, una con IRE y otra sin él; la primera forma se da en

los tejidos como el intestino y la segunda en otros tejidos en que la regulación hierro-dependiente no es importante (52).

Contrariamente a lo comentado hasta ahora, la traducción del ARNm de las subunidades H y L de la ferritina está regulada de manera que sólo tiene lugar cuando se halla el hierro libre en el citosol celular. En la región no traducida 5' del ARNm, y no en la 3' como sucedía anteriormente, se halla un IRE (figura 13). Este IRE es el sustrato de unión de la misma proteína IRP, y esta unión puede llevarse a cabo cuando falta el hierro. En la región no traducida 5', la unión de las IRP con esta IRE impide la traducción del ARNm y no se sintetiza la ferritina; no se trata, a diferencia de lo que sucedía con este receptor, de la estabilidad de la molécula, sino de la posibilidad de que se lleve a cabo la traducción del ARNm. Cuando hay un contenido del hierro celular elevado no se bloquea la traducción y se sintetiza más ferritina, y esto sucede al mismo tiempo que aumenta la síntesis del receptor de la transferrina.

Dos enzimas eritrocíticas, la 5-aminolevulinato sintasa (enzima clave en la regulación de la síntesis del grupo hemo) y la aconitasa mitocondrial (que forma parte del ciclo del ácido cítrico o de Krebs) poseen un IRE en 5' (apartado 3.9). Cuando existe suficiente hierro en el citoplasma se traduce más 5-aminolevulinato sintasa, por lo que se forma más protoporfirina IX, y posteriormente más hemo y hemoglobina. El papel de la aconitasa mitocondrial es menos claro; se ha propuesto que al aumentar la expresión de la enzima, expresión que se produce en caso de existir suficiente hierro, se produce más citrato que actúa transportando este metal desde el citoplasma hasta la mitocondria, y posicionando este metal para la síntesis de hemo (ver apartado 5.6) (63).

HFE se expresa menos cuando aumenta la concentración del hierro, y esta regulación tiene lugar a través de una proteína de semivida corta que impide la transcripción de su gen (52); aunque no se conocen ni la naturaleza exacta de este mecanismo ni la identidad de este inhibidor, el efecto es el mismo que el que ejercen las IRP sobre las proteínas con IRE en 5'.

Las IRP se encargan de la regulación a nivel celular cuando se producen cambios locales de forma aguda; tales cambios tienen lugar, por ejemplo, cuando hay una proliferación celular rápida como en las respuestas inmunológicas. En este sentido, se ha visto que los factores de crecimiento liberados en estos procesos aumentan la síntesis de IRP. Pero éste no es su único mecanismo regulador hierro-dependiente: cuando hay

ferropenia, en los linfocitos se produce una inducción de la transcripción del gen del receptor de la transferrina (63). Además, existe la regulación hierro-independiente.

### Regulación hierro-independiente

Las principales proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro como el receptor de la transferrina, la ferritina, y la transferrina poseen, además, mecanismos de la regulación independientes del hierro. Estos se basan principalmente en el aumento de la transcripción de los genes (63). La expresión de algunas proteínas es diferente según el grado de diferenciación celular y según el tipo de célula, y este proceso constituye un mecanismo de regulación que en este caso es hierro-independiente. DMT1 se expresa cinco veces más en el enterocito diferenciado que en el no diferenciado, mientras que HFE lo hace en un 40 % menos (52); de forma análoga, el receptor de la transferrina se expresa más en las células que están proliferando respecto a las que se hallan en reposo, y más en células hematopoyéticas que en células de otros tejidos (63).

Por otra parte, la interleucina-1 aumenta la síntesis de la ferritina (55) y debido a ello, en las inflamaciones se encontrará elevada (11).

### METABOLISMO DEL HIERRO

#### Absorción

##### Proceso absorptivo

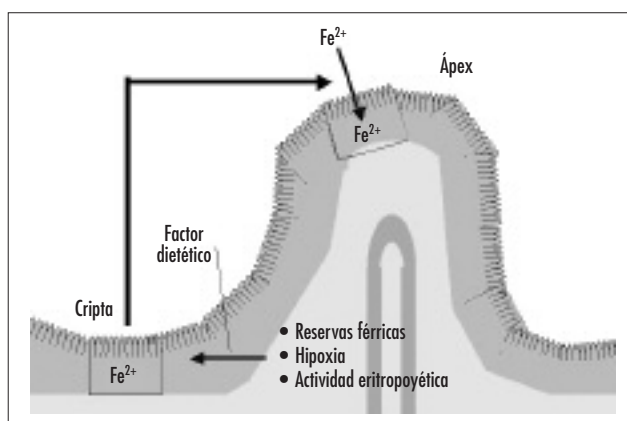
La cantidad del hierro que se absorbe en la dieta supone una pequeña proporción de la necesaria para el organismo, ya que la mayoría procede de la reutilización. A pesar de ello, la absorción es el principal elemento regulador de la homeostasis del hierro ya que debe adecuarse a sus reservas; esta adecuación es crítica ya que el organismo tiene unos mecanismos poco eficaces para excretar este metal (85).

La dieta puede contener hierro orgánico (en forma hemínica) y hierro inorgánico (en forma del hierro(II) y hierro(III)). La mayoría del hierro de la dieta está en forma férrica formando complejos que son solubles al pH ácido del estómago, pero con una solubilidad variable al pH del intestino.

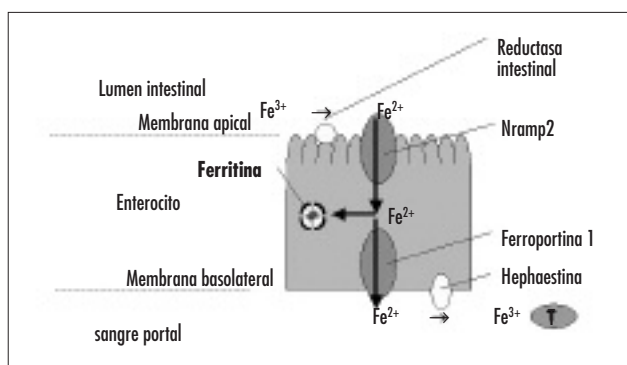
La formación de complejos solubles a pH intestinal es importante para mantener el hierro inorgánico intraluminal en una forma absorbible. El ascorbato, el citrato, los glúcidos, y los aminoácidos forman complejos con el hierro que continúan solubles incluso a los pH alcalinos del intestino (86). Lamentablemente la mayoría del hierro forma complejos insolubles a pH fisiológico, y lo hace con los taninos, los fitatos y el fosfato.

En el duodeno y el yeyuno superior tiene lugar la absorción, que en el caso del hierro hemínico es poco conocida. Tal como se verá al final de este apartado, ésta viene determinada por el denominado factor dietético, las reservas del hierro, la actividad eritropoyética, y la hipoxia. Las reservas del hierro actúan sobre los enterocitos de las criptas, y más concretamente sobre el hierro de su citosol, modulando la absorción de los enterocitos del ápex de las microvellosidades (figura 14).

Es poco probable que la transferrina presente en la luz intestinal, procedente de la secreción biliar, actúe como un transportador del hierro a este nivel; por el contrario, la proteína DMT1 es el principal transportador transmembrana desde la luz intestinal al interior de la célula epitelial del intestino, haciendo lo propio con metales pesados como el manganeso, el zinc, el cobalto, el plomo y el cobre.



**Figura 14** Las reservas férricas, la hipoxia, y la actividad eritropoyética (y el factor dietético) ejercen un efecto sobre la concentración del hierro intracelular de los enterocitos de la cripta, y este efecto influencia la entrada del hierro en los enterocitos del ápex de las microvellosidades intestinales



**Figura 15** Absorción del hierro en los enterocitos del ápex de las microvellosidades intestinales y proteínas implicadas. El hierro accede a la sangre portal sólo en caso de la ferropenia; en caso de reservas férricas adecuadas o sobrecarga se forma ferritina. Nrap2= DMT1, Fe<sup>3+</sup>= hierro(III), T= transferrina

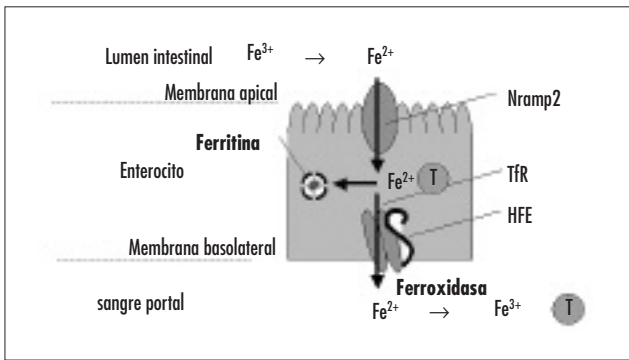
En los enterocitos de la región apical de las microvellosidades intestinales se sitúa una feroreductasa intestinal, que se encarga de reducir el hierro (III) a hierro(II) utilizando NADH (87, 88). Este hierro (II) es transportado hacia el interior del enterocito mediante la proteína DMT1, aunque numerosos datos apuntan a que son varias las moléculas que comparten esta función en los mamíferos; en este sentido se están investigando varios probables transportadores, como SFT y FTR1 (10) (figura 15).

Una vez dentro del enterocito, si las reservas férricas son normales o altas, el hierro del citosol entra en el interior de una molécula de ferritina.

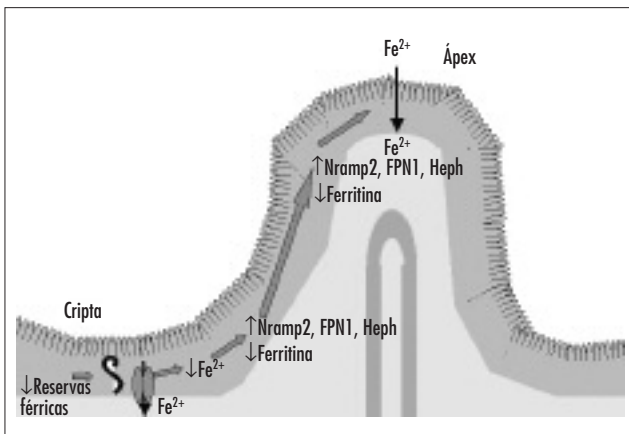
Se cree que la ferroportina 1 transporta el hierro del enterocito a la sangre, y ello sucede en el caso de las bajas reservas férricas (60). La hephaestina oxida el hierro(II) a hierro(III); posteriormente se une a la transferrina.

Las proteínas DMT1, ferroportina 1 y hephaestina promueven la entrada del hierro en su forma férrica al compartimento plasmático desde el lumen intestinal; sus respectivos ARNm poseen IREs en su región no codificada 3', por lo que en el caso de la ferropenia se sintetizan en más cantidad.

Todo lo anterior sucede en la región apical de la microvellosidad intestinal. En el enterocito de la cripta, el hierro(II) también es transportado por DMT1. Pero, una vez dentro del



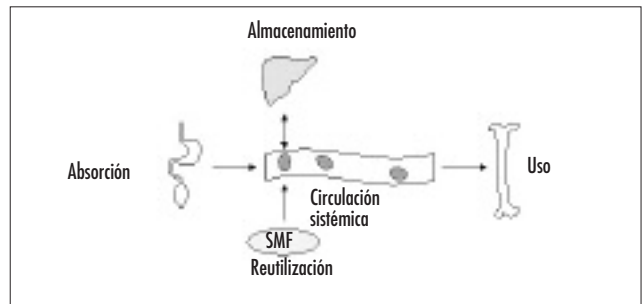
**Figura 16** Absorción del hierro en los enterocitos de la cripta de las microvellosidades intestinales. El hierro accede a la sangre portal sólo en caso de la ferropenia; en caso de reservas férricas adecuadas o sobrecarga se forma ferritina. Nrp2= DMT1,  $Fe^{3+}$ = hierro(III), T= transferrina, TfR= Receptor de transferrina



**Figura 17** Efectos de la ferropenia en la síntesis de proteínas de los enterocitos de las microvellosidades intestinales. En el enterocito de la cripta HFE no ejerce el efecto inhibitorio sobre el receptor de transferrina; éste absorbe hierro hacia la sangre portal disminuyendo su concentración intracelular. Cuando se diferencian los enterocitos de la cripta van desplazándose hacia el ápex, y se sintetizan más moléculas con IREs en 3' (DMT1(Nrp2), ferroportina 1, y hephaestina) y menos con moléculas con IREs en 5' (ferritina).  $Fe^{2+}$ = hierro(II), FPN1= ferroportina 1, Heph= hephaestina

enterocito, el hierro puede permanecer en su interior o bien atravesar la membrana basolateral y ser absorbido dependiendo de la función transportadora del complejo receptor de transferrina/HFE/ $\alpha$ -2-microglobulina. Si se absorbe, la ferroxidasa lo oxida (figura 16).

Cuando hay ferropenia, una proteína de semivida corta (que por el momento se desconoce, pero que, se sospecha, podría ser la hepcidina, que en la ferropenia se sintetiza en menor cantidad) logra que se exprese menos HFE, por lo que esta proteína no se une al receptor de la transferrina en los enterocitos de las criptas (figura 17). El receptor de la transferrina libre puede actuar, y lo hace absorbiendo el hierro y disminuyendo en consecuencia la concentración del hierro del enterocito. Esta es la señal: las proteínas DMT1, ferroportina 1 y hephaestina tienen un IRE en 3', por lo que una baja concentración del hierro estabiliza su ARNm y se expresan más; por el contrario, la ferritina tiene un IRE en 5', por lo que una baja concentración del hierro condiciona la unión de las IRP y por tanto se expresan menos. Como consecuencia, las células de la cripta tienden a absorber



**Figura 18** Transporte del hierro y sus posibles destinos. SMF= Sistema Mononuclear Fagocítico

más el hierro y almacenar menos. Los acontecimientos de la cripta y los del ápex están relacionados: a medida que los enterocitos de las criptas se van diferenciando y pasan al ápex esta tendencia a sintetizar más unas moléculas y menos otras continúa.

En cambio, cuando hay sobrecarga férrica sucede justo lo contrario: el hierro pasa a ferritina en lugar de absorberse, para ser eliminado posteriormente por las heces cuando la célula se descama (89).

#### Regulación de la absorción

La absorción intestinal del hierro está regulada de cuatro maneras diferentes, y con una independencia mutua.

a) En primer lugar, la absorción está influida por la cantidad del hierro ingerida recientemente; el enterocito se vuelve resistente a absorber el hierro después de haberlo hecho durante días.

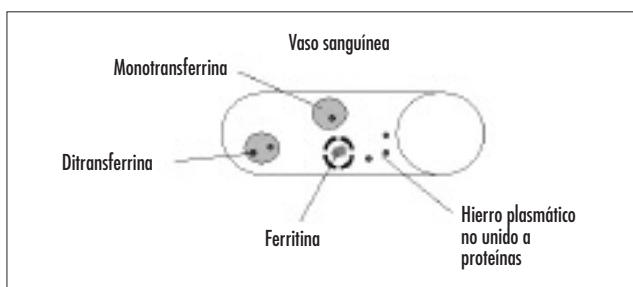
b) En segundo lugar, y por lo que se refiere al hierro inorgánico, la absorción se modifica dependiendo de las reservas del organismo; el mecanismo en este caso es el descrito anteriormente, en el que los enterocitos de las criptas actúan de sensor de las reservas y modulan el comportamiento de los enterocitos de los ápex de las vellosidades. La absorción del hierro inorgánico puede duplicarse o triplicarse; en caso de unas reservas adecuadas la absorción se reduce mucho. En el caso del hierro orgánico la absorción se produce siempre, adaptándose menos a las reservas (90).

c) En tercer lugar, el grado de la eritropoyesis determina la absorción, y lo hace en mayor cuantía que el anterior factor: a mayor eritropoyesis, mayor absorción. No obstante, no en todas las enfermedades con una eritropoyesis aumentada existe una alta absorción intestinal: algunas enfermedades como las talasemias, las anemias diseritropoyéticas congénitas, y las anemias sideroblásticas conllevan una destrucción celular dentro de la médula ósea, por lo que la eritropoyesis se califica de ineficaz; por lo contrario, en las anemias hemolíticas autoinmunes y la esferocitosis hereditaria, en que la destrucción se produce lejos de la médula ósea, no hay un aumento de la absorción intestinal. Este hecho parece indicar que el factor que provoca el aumento de la absorción se produce en las células más inmaduras de la línea eritropoyética.

d) Por fin, en cuarto lugar la hipoxia aumenta la absorción intestinal, aunque se desconoce el mecanismo que logra este efecto (85).

#### Transporte

Una vez absorbido y oxidado, el hierro pasa al sistema portal y luego al sistémico. De la circulación puede pasar al hígado; también puede ser atrapado por el Sistema Mononuclear Fagocítico,



**Figura 19** Formas bajo las que viaja el hierro en el plasma

que se encarga de reutilizar el hierro. Por fin, puede acceder a su destino mayoritario final, la eritropoyesis (figura 18).

En el plasma, el hierro puede viajar de diversas formas (figura 19). Puede hacerlo en forma de complejos de baja masa molecular, que son altamente tóxicos; éstos sólo se forman en unas concentraciones apreciables en las fases avanzadas de la hemocromatosis hereditaria.

Una pequeña parte del hierro viaja con la ferritina, mientras que la mayor parte lo hace unida a la transferrina. La concentración plasmática de la transferrina está en exceso con relación al hierro, de manera que existen moléculas de apotransferrina, monotransferrina, y ditransferrina. La proporción entre estas formas depende de las reservas del hierro del individuo, predominando la apotransferrina en estados de la ferropenia, y la ditransferrina en las sobrecargas férricas (1). Se desconoce el mecanismo por el que la transferrina unida al hierro sale de los capilares hacia los fluidos extravasculares, aunque se cree que media algún receptor (39).

### Captación celular

Una vez fuera del torrente sanguíneo, la captación celular del hierro puede producirse mediante dos vías: la transferrina-dependiente y la transferrina-independiente.

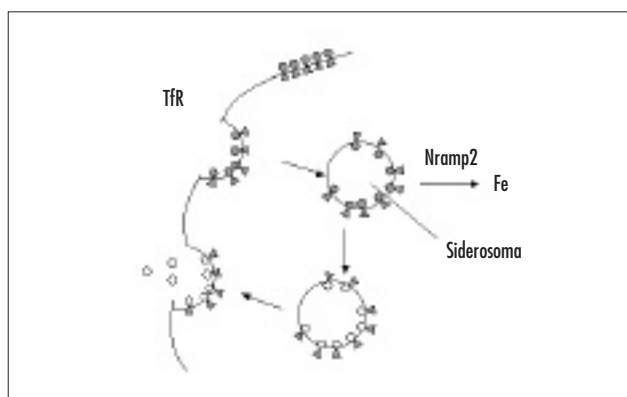
#### Vía transferrina-dependiente

Puede producirse mediante los receptores de transferrina o sin ellos.

#### Vía receptor-dependiente

Mediante la primera de estas posibilidades, la transferrina se une a su receptor. Una vez unida la transferrina di o monoférrica, los complejos receptor de la transferrina-transferrina se concentran en una zona determinada y son internados gracias a la formación de vesículas o endosomas que se unen con otra vesícula de pH 5,5 para formar un nuevo endosoma. Una bomba de hidrogeniones (acoplada a la proteína DMT1) logra un cambio de pH del interior; esta acidificación provoca un cambio de la conformación del receptor de la transferrina que permite la liberación del hierro. Posteriormente, gracias a la acción de DMT1 (10) el hierro atraviesa la membrana del endosoma para salir al citoplasma y almacenarse en la ferritina o, en caso de los precursores eritroides, pasar a la mitocondria y usarse; el receptor de la transferrina y la apotransferrina se reutilizan al fusionarse el endosoma con la membrana citoplasmática (45). Estos procesos constituyen el llamado ciclo endosómico del receptor de la transferrina (figura 20).

El receptor de transferrina de tipo 2 interviene además, de una manera análoga, en la captación del hierro por las células hepáticas (51).



**Figura 20** Ciclo endosómico del receptor de transferrina.

La transferrina di o monoférrica se une a la membrana gracias al receptor de transferrina. Los complejos formados se concentran en una zona y se internalizan gracias a la formación de vesículas; éstas se unen con otra vesícula de pH 5,5. Una bomba de hidrogeniones que está acoplada a DMT1 (Nrap2) logra un cambio de pH del interior y se produce un cambio de conformación del receptor de la transferrina que permite la liberación del hierro. Gracias a la acción de DMT1 atraviesa la membrana del endosoma para entrar al citoplasma; el receptor de la transferrina y la apotransferrina se reutilizan al fusionarse el endosoma con la membrana citoplasmática (adaptado de Huebers y Finch, 1987 (39))

#### Vía receptor-independiente

Se ha descrito que la molécula de ditransferrina se une con una baja afinidad a unos puntos de unión inespecíficos de la superficie celular, que se internalizan para captar el hierro (91).

#### Vía transferrina-independiente

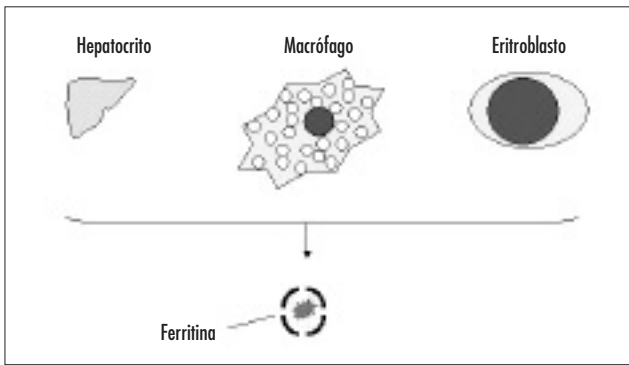
La vía transferrina-independiente es la menos conocida. Se ha propuesto que esta vía se encarga de eliminar de la circulación el hierro que forma complejos de bajo peso molecular (92).

Como ya se ha mencionado con anterioridad, recientemente se ha establecido un papel en la captación celular del hierro por parte de la ferroxidasa. Tal captación se lleva a cabo por un complejo multienzimático presente en la superficie de las células de los mamíferos. Una ferrireductasa que aún no está caracterizada reduce el hierro (III) a hierro (II) a la vez que libera este metal de los complejos que forma, solubilizándolo; posteriormente la ferroxidasa lo oxida a hierro (III) utilizando el ascorbato como un agente reductor, y proporcionando el sustrato adecuado a un transportador específico de cationes trivalentes, que a su vez lo transfiere al citosol. Este transportador, conocido sólo parcialmente en la actualidad, posee una regulación transcripcional, de manera que la síntesis se hace efectiva si hay ferropenia; esto explica el hecho que la ferroxidasa aumenta la captación celular del hierro sólo en las células ferropénicas. Probablemente la ferroxidasa se encarga de mantener la homeostasis del hierro en el hígado (y posiblemente otros tejidos) durante períodos de deficiencia del hierro (64).

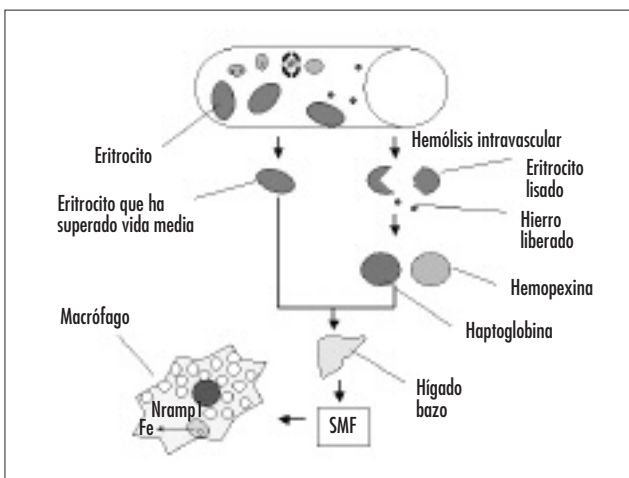
Otras proteínas parecen implicadas en los procesos de la captación del hierro transferrina-independientes como la SFT, que facilita la captación del hierro(II) y hierro(III) libre y posee un IRE en 3' (93). SFT es una candidata a ser el transportador específico de cationes trivalentes del complejo multienzimático descrito en el punto anterior.

### Reserva del hierro

El hepatocito, los macrófagos del Sistema Mononuclear Fagocítico, y los eritroblastos incorporan el hierro en la ferritina y



**Figura 21** Lugares de reserva férrica en forma de ferritina: hepatocitos, macrófagos del Sistema Mononuclear Fagocítico, y eritroblastos



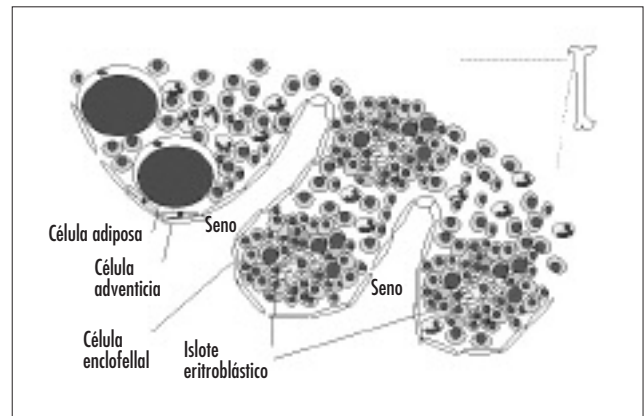
**Figura 22** Reutilización del hierro y papel de la proteína Nramp1. Los macrófagos del Sistema Mononuclear Fagocítico (SMF) fagocitan los eritrocitos viejos, metabolizan su hemoglobina y reciclan el hierro devolviéndoselo a la transferrina. Nramp1 transporta los iones metálicos presentes en los fagolisosomas. En la hemólisis intravascular el hierro de los eritrocitos se recupera gracias a la haptoglobina y la hemopexina mediante la formación de complejos que posteriormente se retiran de la circulación

la hemosiderina (figura 21). La ferritina permite un recambio metabólico del hierro mucho más rápido que la hemosiderina (apartado 3.16). En el hígado el hierro de reserva se halla mayoritariamente en forma de ferritina, mientras que en los macrófagos está en forma de hemosiderina (1).

Los hepatocitos juegan un importante papel en el almacenamiento del hierro. En condiciones normales, la mayor parte del hierro captado por el hígado está unido a la transferrina, y esta captación puede realizarse mediante la vía receptor-dependiente o la receptor-independiente; la primera es la más importante, y probablemente el receptor de la transferrina de tipo 2 contribuye de una forma substancial en la captación de este metal dado, que esta proteína se expresa más que el receptor de la transferrina original (51).

### Reutilización del hierro

Los macrófagos del Sistema Mononuclear Fagocítico fagocitan los eritrocitos que han superado su semivida, metabolizan su hemoglobina y reciclan el hierro devolviéndoselo a la transferrina para que pueda ser usado (figura 22). La proteína Nramp1 (del inglés, *natural resistance-associated macropha-*



**Figura 23** Esquema de la médula ósea. En los islotes eritroblásticos tiene lugar la hematopoyesis (adaptado de Woessner, 1991 (180))

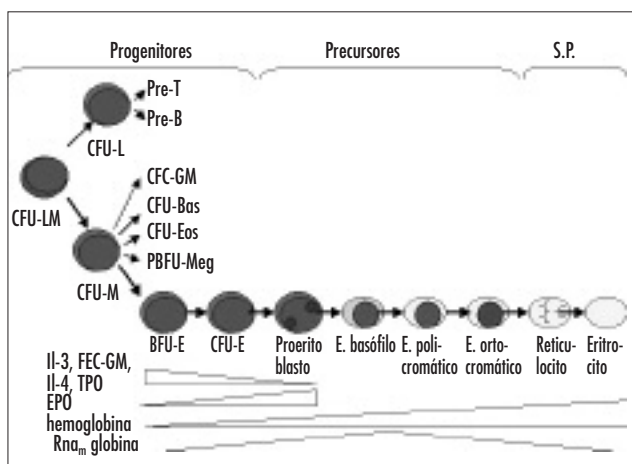
*ge protein 1*) ha sido implicada en estos procesos ya que transporta los iones metálicos presentes en los fagolisosomas, como el hierro. Asimismo, esta proteína tiene un efecto bacteriostático en algunas bacterias, como *Salmonella* y *Mycobacterium*, y en protozoos como *Leishmania*, al secuestrar estos elementos esenciales para su replicación (10). Tal como se ha indicado en el apartado 3.14, un aumento de las reservas férricas del organismo, o una inflamación llevan a un aumento de la expresión de hepcidina, y ésta bloquea la liberación del hierro de los macrófagos. Se desconoce el mecanismo por el que la transferrina sale de los capilares hacia los fluidos extravasculares, aunque se cree que interviene un receptor (39).

Por otra parte, cuando se produce una hemólisis intravascular, el hierro de los eritrocitos se recupera gracias a la haptoglobina y la hemopexina. La haptoglobina forma un complejo con la hemoglobina y que las células de Kupffer del hígado retiran de la circulación; en el caso de la hemopexina, el complejo se forma con el grupo hemo y el hígado lo elimina (94). Cabe destacar que la reutilización del hierro es indispensable porque del 95 al 98 % del hierro necesario para la eritropoyesis se obtiene a partir del reciclaje y las reservas y sólo un 2,5 % procede de la absorción intestinal (1).

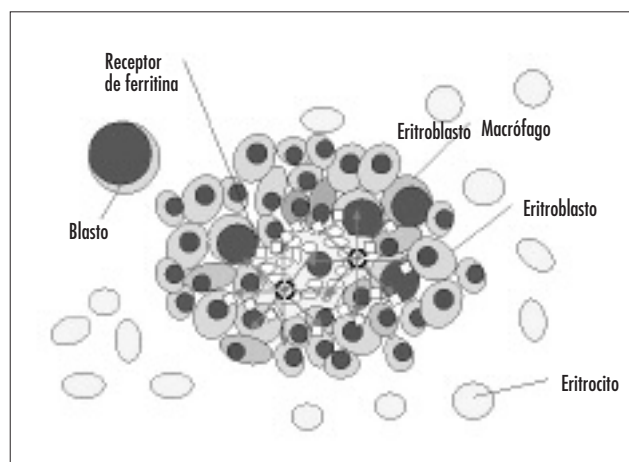
### Uso del hierro

La hematopoyesis es el mecanismo responsable de la formación continua de los distintos tipos de células sanguíneas. En el adulto se desarrolla únicamente en la médula ósea; ésta puede considerarse como un tejido blando contenido en un estuche óseo duro que cede las células hematopoyéticas más maduras a la circulación en los momentos adecuados. Las células hematopoyéticas se depositan sobre las células del armazón como son las endoteliales vasculares y reticulares adventicias (figura 23) (95).

Los elementos formes de la sangre provienen de una célula progenitora común llamada CFU-LM o célula madre linfomieloide, que es capaz de proliferar, renovarse, y diferenciarse en la célula germinal linfóide (CFU-L), que genera los prelinfocitos T y B, y la célula germinal mieloide (CFU-M). La CFU-M puede diferenciarse en varias células, entre ellas las unidades formadoras de las colonias de la línea eritroide, que están definitivamente comprometidas para la eritropoyesis (BFU-E y CFU-E) y se diferencian formando un proeritroblasto. El proeritroblasto sufre una mitosis gracias a la que se forman dos células idénticas que maduran sucesivamente for-



**Figura 24** Esquema de la hematopoyesis, con mayor detalle de la eritropoyesis. S.p.= sangre periférica



**Figura 25** Esquema de la rofecitosis. En el islote eritroblástico los macrófagos ceden hierro a los eritroblastos

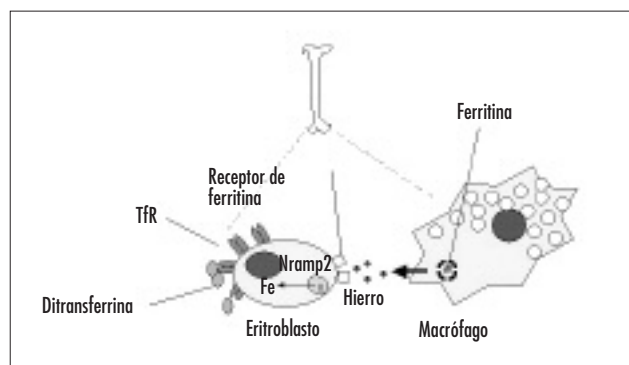
mando las células precursoras: eritroblasto basófilo, policromático y ortocromático. Este último eritroblasto se transforma en el reticulocito, y posteriormente abandona la médula ósea. El tiempo necesario para la formación de un eritrocito maduro es de cinco a siete días (figura 24) (95).

La regulación de la hematopoyesis es muy compleja: intervienen las interacciones entre las células, el microambiente, la matriz extracelular y varios factores de crecimiento (95). Estos últimos son la eritropoyetina, los factores estimulantes de las colonias, y las interleucinas. La eritropoyetina es una glicoproteína de 35 KD sintetizada por las células peritubulares del riñón; estimula la diferenciación de CFU-M a BFU-E, y de ésta a CFU-E, y la proliferación de los eritroblastos, siendo más sensibles a estas acciones los proeritroblastos que la BFU-E. Otras moléculas actúan sinérgicamente con la eritropoyetina, como el factor de crecimiento de las colonias granulomonocíticas (producido por los linfocitos T, los fibroblastos y las células endoteliales), las interleucinas 3 y 4, y la trombo-poyetina (95, 96).

La acumulación de ARNm de la globina es mayor en el proeritroblasto, y la de la hemoglobina en el eritrocito maduro, hechos que nos muestran que la síntesis de la hemoglobina tiene lugar en los precusores que median entre estas dos células. La síntesis de la hemoglobina se lleva a cabo mediante dos vías metabólicas diferentes para las globinas y el hemo. La síntesis del grupo hemo se realiza en la mitocondria a partir de succinato coenzima A y glicina; la síntesis de las globinas está codificada por los genes que se hallan en los cromosomas 11 y 16, y tiene lugar en los ribosomas (83).

Para sintetizar el grupo hemo los eritroblastos necesitan el hierro, y pueden captarlo mediante dos mecanismos: mediante su cesión por parte de un macrófago, o mediante su captación gracias a los receptores de la transferrina.

1. El primero de estos mecanismos se lleva a cabo mediante la rofecitosis: un macrófago actúa como célula nodriza cediendo el hierro de la ferritina y hemosiderina de su citoplasma a los eritroblastos cercanos que poseen receptores de la ferritina (figura 25). En la médula ósea, DMT1 transporta el hierro del interior de los endosomas de los macrófagos hacia su citoplasma (10), donde se almacena en forma de ferritina o hemosiderina, o pasa a la mitocondria para usarse en la síntesis del grupo hemo.



**Figura 26** Vías de llegada del hierro al eritroblasto. Además de conseguir hierro mediante la rofecitosis, el eritroblasto puede captarlo gracias a los receptores de transferrina (TfR) presentes en su membrana. Nrp2= DMT1, Fe= hierro

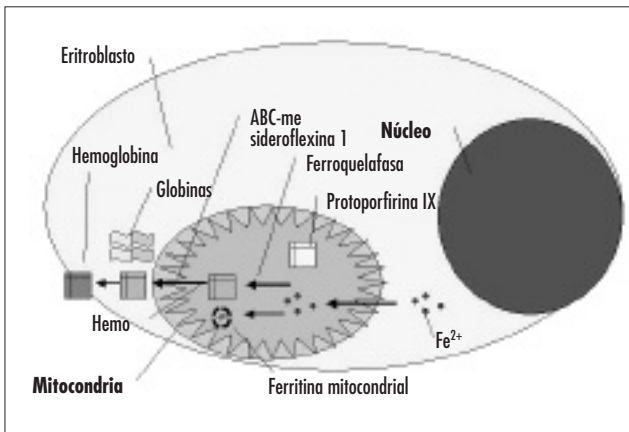
2. El segundo mecanismo es a través del receptor de la transferrina, ya visto (figura 26). En la serie roja de la médula ósea, las células madre y los eritroblastos más maduros tienen una mayor concentración de esta proteína en su membrana (39). Los reticulocitos tienen una baja concentración.

El hierro captado se halla en el citosol pero debe llegar dentro de la mitocondria. Se desconoce cómo el hierro atraviesa la membrana mitocondrial (en el apartado 4.1 se menciona la posible implicación de la aconitasa mitocondrial y el papel del citrato como transportador a este nivel). Una vez dentro se encuentra con la protoporfirina IX; la ferroquelatasa (EC 4.99.1.1) une ambas moléculas formando el hemo. Posteriormente, dos proteínas transmembrana llamadas ABC-me y sideroflexina 1, sacan el hemo de la mitocondria al citoplasma donde se une con cuatro cadenas de la globina para formar la hemoglobina (93) (figura 27). La enzima HRI se encarga de impedir la síntesis de las globinas en caso de la ferropenia (apartado 3.15).

La ferritina mitocondrial parece jugar un papel de reserva férrica en la síntesis del grupo hemo: cuando se bloquea la ferroquelatasa, el hierro se acumula en la ferritina mitocondrial hasta que la función vuelve a restaurarse.

El organismo prioriza el uso del hierro en dos maneras: durante el embarazo el hierro pasa de la circulación materna a la fetal; después del nacimiento el tejido que tiene prioridad es





**Figura 27** Esquema de la síntesis de la hemoglobina. El hierro(II) ( $Fe^{2+}$ ) del citosol atraviesa la membrana mitocondrial. La ferroquelatasa lo une a una molécula de protoporfirina IX formando el hemo. Posteriormente las proteínas ABC-me y la sideroflexina 1 transportan el hemo fuera de la mitocondria donde se une con cuatro cadenas de globina para formar la hemoglobina

el eritropoyético. Por ese motivo, hasta que las reservas se agoten continuará sintetizándose siempre la hemoglobina (85).

### Excreción

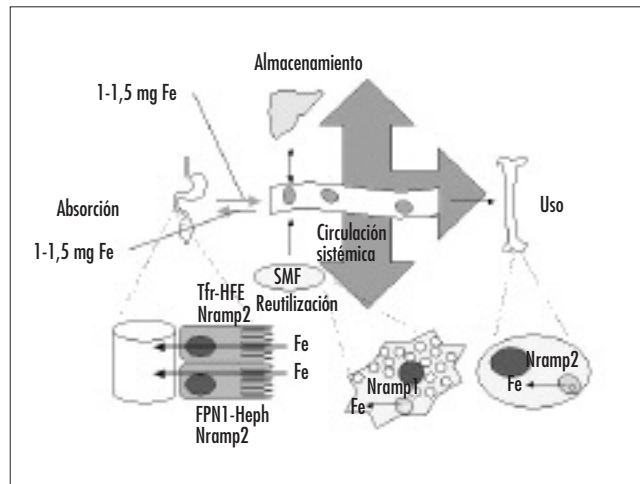
Los mecanismos de excreción del hierro son cuantitativamente poco importantes, pero cualitativamente constituyen la única manera que tiene el organismo de deshacerse del exceso de un metal que puede resultar tóxico.

El principal mecanismo tiene lugar a nivel del enterocito: cuando el hierro entra en el interior del citosol de los enterocitos, si las reservas férricas del organismo son altas, pasa al interior de una molécula de ferritina y al descamarse se pierde por las heces. Además, la excreción del hierro también se lleva a cabo a través de la descamación epitelial, la orina, la bilis y el sudor.

La excreción tiene un cierto papel modulador en el metabolismo del hierro, ya que existen indicios de la adaptación de ésta a las necesidades del organismo: cuando un individuo con las reservas férricas normales recibe el hierro marcado y el ascorbato por vía oral no se aprecia una elevación de su ferritina plasmática, pero sí se observa que este hierro entra en el plasma; cabe pensar que se produce un aumento de la excreción. Por otra parte, la pérdida de 0,9 mg/día de un hombre puede disminuir hasta 0,5 mg/día en caso de una anemia ferropénica y aumentar a 2 mg/día en caso de una sobrecarga férrica (90).

### Balance del metabolismo

Para entender con una mayor profundidad el metabolismo del hierro podemos cifrar cada paso. Un hombre tiene de 35 a 45 mg del hierro por kilogramo de peso; más de los dos tercios de esta cantidad se encuentra en la médula ósea (para un hombre de 90 Kg la masa del hierro con esa localización es de aproximadamente 300 mg) y los eritrocitos circulantes (siguiendo el ejemplo, 1800 mg), y únicamente 3 mg circulan en forma de transferrina plasmática. A partir de una dieta normal, absorbe entre 1 y 1,5 mg del hierro, cantidad que es ligeramente superior a la que elimina a través de las heces, la descamación epitelial, la orina, la bilis y el sudor. La mayoría del hierro necesario para la eritropoyesis se obtiene a partir del reciclaje (en



**Figura 28** Balance del metabolismo del hierro. La mayoría del hierro necesario para la eritropoyesis no se obtiene a partir de la dieta, sino del reciclaje y las reservas. SMF= Sistema Mononuclear Fagocítico. Nrp2= DMT1

el Sistema Mononuclear Fagocítico se hallan 600 mg) y las reservas (el hígado almacena 1000 mg) y sólo una pequeña parte de la absorción intestinal (figura 28).

En consecuencia, podemos afirmar que el metabolismo del hierro es un mecanismo cerrado que requiere una coordinación muy precisa entre absorción, utilización y reserva (85).

## FISIOPATOLOGÍA DE LA DEFICIENCIA Y SOBRECARGA FÉRRICAS

### Deficiencia férrica

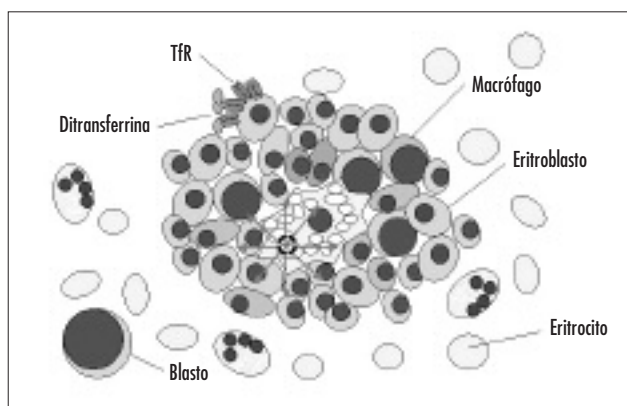
#### Fases de la ferropenia

Si se producen unas pérdidas excesivas del hierro o bien aumenta su necesidad fisiológica (como sucede en el crecimiento, el embarazo, y la lactancia) y los aportes exógenos resultan insuficientes, se produce una reducción progresiva en los depósitos hepáticos (véase la tabla V para consultar un listado más completo de las causas de la ferropenia); y esto sucede al mismo tiempo que los enterocitos, mediante el mecanismo post-transcripcional mencionado, sintetizan más moléculas que absorben hierro (receptor de transferrina, ferroportina 1, hephaestina, DMT1), y menos que lo almacenan (ferritina); esta fase es la fase I de la ferropenia, y a nivel del laboratorio clínico se observa una reducción de la concentración plasmática de la ferritina y el inicio de un tímido aumento del receptor soluble de transferrina (figura 29).

Cuando las reservas ya no pueden hacer frente a las necesidades, en los islotes eritroblásticos de la médula ósea los macrófagos no disponen de un suficiente hierro para ceder mediante la rofeocitosis a los eritroblastos, ni estos últimos pueden captar más hierro a través de sus receptores de transferrina ya que el hierro transportado por la transferrina es también muy bajo (figura 30). En sus mitocondrias la ferroquelatasa empieza a no incorporar hierro a la protoporfirina IX, por lo que la eritropoyesis se califica como ferropénica (I), o lo que es lo mismo, hay una ferropenia funcional. En el laboratorio clínico se observa una disminución del contenido de la hemoglobina de los reticulocitos (que indica una eritropoyesis ferropénica de un inicio en los dos días anteriores), y una elevación del recuento de los eritrocitos hipocró-

**Tabla V.** Causas de la ferropenia. Tomado de Andrews (85)

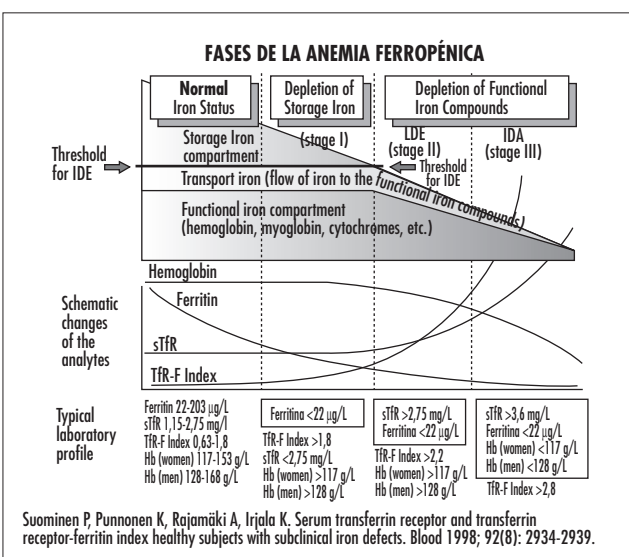
<p><b>Absorción inadecuada</b></p> <p>Dieta con hierro de biodisponibilidad baja                  Tratamiento con antiácidos o pH gástrico elevado                  Dieta con exceso de fibra, tanino, fitato o almidón                  Competencia con otros metales (cobre, plomo)                  Pérdida o disfunción de los enterocitos                  Resección del intestino                  Enfermedad celíaca                  Enfermedad intestinal inflamatoria                  Defectos intrínsecos de los enterocitos</p>
<p><b>Pérdida aumentada</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pérdida gastrointestinal de sangre                      Epistaxis                      Varices                      Gastritis                      Úlcera                      Tumor                      Divertículo de Meckel                      Parasitosis                      Enteropatía del niño inducida por la leche                      Malformaciones vasculares                      Enfermedad inflamatoria intestinal                      Diverticulosis                      Hemorroides</li> <li>• Pérdida genitourinaria de sangre                      Menorragia                      Cáncer                      Infección crónica</li> <li>• Pérdida pulmonar de sangre                      Hemosiderosis pulmonar                      Infección</li> <li>• Otras pérdidas de sangre                      Trauma                      Flebotomía excesiva                      Malformaciones vasculares grandes</li> </ul>



**Figura 30** En la fase II de la ferropenia la falta del hierro impide la llegada del hierro al eritroblasto (gracias a la captación por los receptores de transferrina o la rofeocitosis) para sintetizar hemoglobina. TfR= Receptor de transferrina

**Tabla VI.** Valor discriminante de la concentración sanguínea de la hemoglobina en la sangre para el diagnóstico de anemia, según la Organización Mundial de la Salud (15).

Edad o sexo	San-Hemoglobina; c.masa (g/L)	Hematocrito L/L
niños 6-59 meses	110	0,33
niños 5-11 años	115	0,34
niños 12-14 años	120	0,36
mujer no embarazada (>15 años)	120	0,36
mujer embarazada	110	0,33
hombre (>15 años)	130	0,39



**Figura 29** Fases de la ferropenia. Tomado de Suominen, Punnonen, Rajamäki e Irljala, 1998 (6)

micos (que indica un inicio de la eritropoyesis ferropénica hace más de dos meses); estas magnitudes pueden ser estimadas en los analizadores que miden los eritrocitos de una forma individual, en lugar de los índices promedios (97).

Esta es la segunda fase de la ferropenia, y en ella se eleva la concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina y los índices que relacionan ésta con la concentración plasmática de la ferritina (que sigue disminuyendo); también empieza a disminuir el índice de la saturación de la transferrina, el volumen corpuscular medio de los eritrocitos (la enzima HRI impide la síntesis de las globinas, y el eritrocito originado es más pequeño por la falta de estas proteínas (79)), y a aumentar la concentración plasmática de la protoporfirina eritrocitaria (aunque estos cambios son más tardíos que los del receptor soluble de transferrina). La concentración sanguínea de la hemoglobina empieza su descenso, pero aún no hay anemia. Por fin no se sintetiza la hemoglobina, hasta que se encuentra en una concentración inferior a la considerada como la propia de la anemia (las tablas VI, VII, y VIII muestran los valores discriminantes de la hemoglobina según diferentes entidades). Estamos entonces en la fase III de la ferropenia, en la que ya hay una anemia, además de una tendencia mayor de las magnitudes biológicas antes citadas. El proceso es por tanto, fase I o ferropenia, fase II o eritropoyesis ferropénica o ferropenia funcional, y fase III o anemia ferropénica (figura 29). La tabla IX muestra las consecuencias clínicas de la anemia ferropénica.

Bothwell et al definieron estas fases por primera vez en 1979 (98), y han sido posteriormente revisadas a través de estudios de las flebotomías periódicas y de administración oral del hierro; los primeros consisten en las flebotomías seriadas

**Tabla VII.** Valor discriminante de la concentración sanguínea de la hemoglobina en la sangre para el diagnóstico de la anemia, según el Centro Nacional para Estadísticas de la salud del Centro para el control y la prevención de enfermedades de los Estados Unidos de América (7).

Población	San-Hemoglobina; c. masa (g/dL)
Niños (edad en años)	
1-2	11,0
2-5	11,1
5-8	11,5
8-12	11,9
Hombres (edad en años)	
12-15	12,5
15-18	13,3
>18	13,5
Mujeres no embarazadas ni lactantes	
12-15	11,8
15-18	12,0
>18	12,0
Mujeres embarazadas (semanas gestación)	
12	11,0
16	10,6
20	10,5
24	10,5
28	10,7
32	11,0
36	11,4
40	11,9
Mujeres embarazadas (trimestres gestación)	
1	11,0
2	10,5
3	11,0

**Tabla VIII.** Valor discriminante de la concentración sanguínea de la hemoglobina en la sangre para el diagnóstico de la anemia, según la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (175), que a su vez se basa en las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud de 1975.

edad o sexo	San-Hemoglobina; c.masa (g/dL)
niños 6 meses-6 años	11
niños 6-14 años	12
hombres >14 años	13
mujeres >14 años	12
mujeres embarazadas	11

realizadas en voluntarios para obtener los diferentes grados de la ferropenia (99); los segundos en el tratamiento con el hierro por vía oral con la posología adecuada para completar las reservas férricas de los voluntarios no anémicos con los diferentes grados de la ferropenia (6). En ambos casos, periódicamente se miden la concentración plasmática de varias magnitudes para evaluar el metabolismo del hierro de los individuos y sacar conclusiones sobre las fases de la ferropenia.

**Tabla IX.** Consecuencias de la ferropenia. Tomado de la Organización Mundial de la Salud (15)

<p><b>Desarrollo cognitivo</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Retrasa desarrollo psicomotor y cognitivo en los niños</li> <li>• Disminuye la capacidad de la concentración</li> <li>• Se produce una mala función neurológica</li> <li>• Se asocia con los resultados inferiores en los tests de la inteligencia</li> </ul>
<p><b>Resistencia a la infección</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumenta la morbilidad por las enfermedades infecciosas</li> </ul>
<p><b>Capacidad y productividad del trabajo</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Disminuye la capacidad laboral</li> <li>• Disminuye el rendimiento deportivo</li> </ul>
<p><b>Embarazo</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumenta la mortalidad materna</li> <li>• Aumenta la pérdida prenatal y perinatal</li> </ul>
<p><b>Crecimiento</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Dificulta el crecimiento</li> </ul>
<p><b>Función endocrina</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Se altera la síntesis de la triyodotironina</li> <li>• Se altera la síntesis y el metabolismo de las catecolaminas</li> </ul>
<p><b>Absorción de los metales pesados</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aumenta el riesgo del envenenamiento por otros metales</li> </ul>

El tratamiento con la eritropoyetina recombinante humana a los pacientes con una insuficiencia renal crónica sujetos a la diálisis ha permitido poner en evidencia otras posibles situaciones, como la eritropoyesis ferropénica que tiene lugar con las reservas férricas normales, y no con las reservas bajas; en esta situación los eritroblastos se ven forzados por la eritropoyetina a sintetizar la hemoglobina sobrepasando la capacidad del organismo de suministrar el hierro (97).

Hay que destacar que la morfología de la sangre periférica es una característica en la anemia ferropénica, pero su expresividad es de aparición más tardía que la de otras magnitudes biológicas. La microcitosis con anisocitosis e hipocromía son muy características, y la eliptocitosis y dianocitosis se correlacionan con la gravedad de la anemia ferropénica.

#### *Ferropenia en embarazo*

Un apartado especialmente interesante del metabolismo del hierro es el embarazo. La desproporción entre los aumentos de la volemia y la masa eritrocitaria de la madre causa una hemodilución de la hemoglobina en el primer y segundo trimestres de gestación; por ello la definición de la anemia en el embarazo de la Organización Mundial de la Salud y la Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral es cuando existe una concentración sanguínea de la hemoglobina inferior a 110, y no a 120 g/L que es el valor discriminante propio de la mujer no embarazada según estas mismas entidades (tablas VI y VIII); el Centro para el control y la prevención de

las enfermedades de los Estados Unidos de América sitúa este valor entre 105 y 119 g/L según la semana de la gestación (tabla VII).

Durante las diez primeras semanas de la gestación las necesidades del hierro de la madre son algo inferiores a las de las mujeres fértiles no embarazadas, ya que la ausencia de la menstruación compensa el requerimiento férrico del embrión; a partir de esta semana, el organismo materno necesita más el hierro para aumentar su masa eritrocitaria y para suministrar el hierro al crecimiento fetal (4). Con esta última finalidad, en el tercer trimestre la demanda del hierro por parte del feto conlleva un flujo a favor del gradiente a través de la barrera placentaria. Este movimiento tiene lugar a expensas de las reservas férricas de la madre, y con una independencia del estado de estas (100). En consecuencia, la madre llega muy frecuentemente a un déficit del hierro en sus reservas (ferropenia), que no tiene porqué acompañarse con un déficit del hierro funcional (eritropoyesis ferropénica); si aumentan las necesidades férricas de la madre, puede llegarse a una deficiencia funcional del hierro, y más tarde a una anemia ferropénica. Después del nacimiento, la lactancia supone una vía para perder más el hierro, aunque la amenorrea que la acompaña compensa la pérdida.

Tal como se verá más adelante (apartado 7.4.2.2), en el curso del embarazo los marcadores del metabolismo férrico pierden la fiabilidad, indicando deficiencias aún cuando el balance férrico es positivo. La tabla IX muestra las consecuencias de la ferropenia en el embarazo.

#### *Ferropenia en pacientes pediátricos*

Los niños nacidos a término nacen con las reservas férricas adecuadas en el hígado y el tejido hematopoyético, gracias al reciclaje del hierro derivado de la destrucción de los eritrocitos fetales que tiene lugar después del nacimiento. La leche materna tiene un contenido férrico relativamente bajo, aunque su biodisponibilidad es mejor que la leche de vaca; la ferropenia suele debutar hacia los seis meses de vida si el niño no recibe un suplemento del hierro en su dieta (15). El crecimiento corporal rápido es uno de los mayores factores del riesgo para la ferropenia, y por ello existe una alta prevalencia de la ferropenia y la anemia ferropénica en los niños. La prevalencia disminuye en la edad escolar, pero vuelve a aumentar en la adolescencia; los adolescentes varones sólo presentan un mayor riesgo durante los dos a tres años en que se produce su crecimiento corporal, mientras en que las mujeres persiste durante sus años de la fertilidad por las pérdidas menstruales (4).

Dada la gran prevalencia de la ferropenia y la anemia ferropénica en los niños, existen numerosas recomendaciones para hacer cribados (7, 101-104). No obstante, desde la vida fetal, al nacimiento, la infancia y la adolescencia muchas magnitudes biológicas experimentan importantes variaciones que dificultan el conocimiento del metabolismo férrico (105), y este hecho supone una seria dificultad para el diagnóstico de la ferropenia. El contenido de la hemoglobina de los reticulocitos, la concentración plasmática del receptor de la transferrina, y sus índices con la ferritina contribuyen significativamente a este diagnóstico (76). La tabla IX muestra las consecuencias de la ferropenia en los niños.

Llama la atención el hecho que, aparentemente, nuestro organismo esté tan mal dotado en la gestión del hierro que en la infancia, la adolescencia de la mujer, el embarazo, la lac-

tancia, o la vejez se llegue a la ferropenia. Un estudio revela que la dieta del australopithecino en el paleolítico era adecuada en hierro, al ser este homínido omnívoro pero sobretodo carnívoro. Probablemente la ferropenia empezó a ser prevalente con el desarrollo de la agricultura hace 10.000 años; ahora bien, este período resulta insuficiente para que se den cambios en el genoma del Homo sapiens con el fin de adaptarse a los cambios dietéticos que la agricultura ha comportado. El siglo XX ha devuelto parcialmente el consumo de carne en el primer mundo, pero no en el tercer mundo, donde sigue existiendo ferropenia en todos los grupos de edad (106).

#### **Sobrecarga férrica**

La sobrecarga férrica puede suceder como una consecuencia de una eritropoyesis normal pero con una presencia del hierro excesiva en relación a la capacidad total que tiene la transferrina de unirse a él. La localización del hierro en exceso tiene mucha importancia en cómo el organismo lo tolera; en el supuesto antes citado se acumula en el parénquima hepático (apareciendo fibrosis), el corazón, o varios tejidos endocrinos (el páncreas, la hipófisis, y la paratiroides).

Por otra parte la sobrecarga puede suceder como consecuencia de un aumento del catabolismo de los eritrocitos, y el organismo tolera mucho mejor que el hierro se acumule en los macrófagos del Sistema Mononuclear Fagocítico; sólo cuando se sobrepasa su capacidad de reserva llega al hígado.

En el primero de estos supuestos nos hallamos ante una hemocromatosis hereditaria, en el segundo ante otras sobrecargas férricas (85).

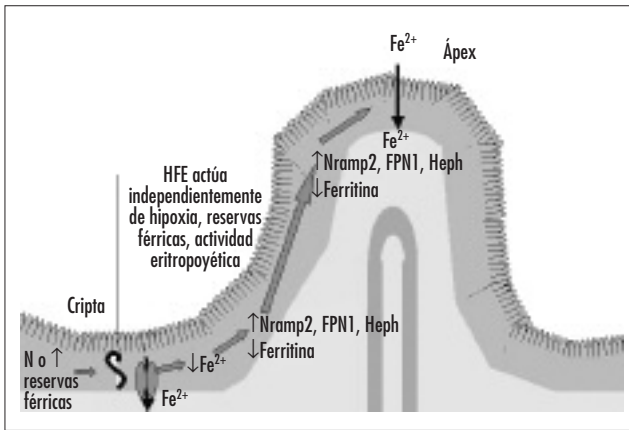
#### *Hemocromatosis hereditaria*

La hemocromatosis hereditaria apareció por culpa de una mutación hace unos 2000 años, y sus consecuencias debieron conceder alguna ventaja a los enfermos o los portadores cuando la ferropenia se hizo prevalente en todos los grupos de edad por la introducción de la agricultura. Actualmente en el primer mundo, en el que la dieta contiene el hierro biodisponible, ya no existen estas ventajas.

En 1976 se descubrió que la disposición genética de la hemocromatosis hereditaria se heredaba conjuntamente con el complejo HLA.A3. Veinte años más tarde Feder et al. descubrieron que en el complejo HLA.A3 del cromosoma 6p se hallaba el gen que codificaba para la proteína HFE (107).

Esta proteína era diferente en los enfermos de la hemocromatosis hereditaria que en los individuos sin esta enfermedad. La mutación C282Y, que es la más importante, consiste en el cambio de una cisteína del dominio 3 por una tirosina; el mismo Feder en 1997 descubrió que este cambio evita la formación de un puente disulfuro que afecta al plegamiento de HFE que interfiere en la unión  $\beta$ 2-microglobulina-HFE y además no se expresa en la membrana. Posteriormente se comprobó que la disrupción del gen HFE en el ratón originaba la síntesis de una proteína HFE no funcional, con el desarrollo de una hemocromatosis hereditaria (10, 85).

La mutación H63D, la segunda en importancia, consiste en el cambio de una histidina por un aspartato, que evita la formación de un puente salino alterándose la estructura terciaria. Se forma una proteína HFE que sí puede unirse a  $\beta$ 2-microglobulina, y por tanto al receptor de la transferrina, y también se expresa en la membrana, pero estas uniones no tienen efectos en la unión posterior con la transferrina (53). La mutación S65C viene dada por el cambio de una serina por una cisteína,



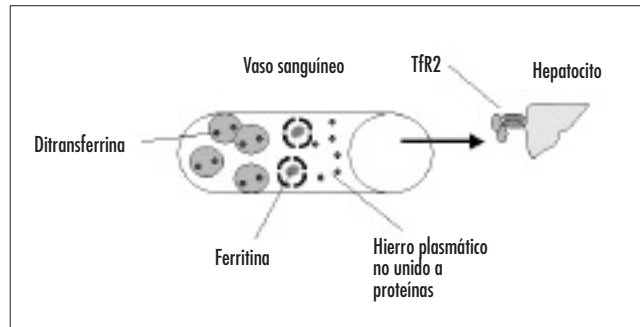
**Figura 31** Absorción del hierro en la hemocromatosis hereditaria. En el enterocito de la cripta HFE no puede ejercer su efecto inhibitorio sobre el receptor de transferrina; éste absorbe hierro hacia la sangre portal disminuyendo su concentración intracelular (con independencia de las reservas férricas). Cuando se diferencian los enterocitos de la cripta van desplazándose hacia el ápex, y se sintetizan más moléculas con IREs en 3' (DMT1 (Nramp2), ferroportina 1, y hephaestina) y menos con moléculas con IREs en 5' (ferritina). Adviértase que la sucesión de hechos es idéntica que la que tiene lugar en la ferropenia, descrita en la figura 10. Fe= hierro, FPN1= ferroportina 1, Heph= hephaestina

cambio que afecta a la región implicada en la unión del receptor de transferrina con HFE (108).

Los pacientes afectados por los genotipos mencionados más adelante de estas mutaciones del gen HFE absorben el hierro crónicamente con la independencia del factor dietético, las reservas férricas, la hipoxia o la actividad eritropoyética. La absorción es entre dos y tres veces la de un individuo normal y obedece al siguiente mecanismo: la proteína HFE no ejerce su efecto sobre el receptor de la transferrina, con lo que la concentración del hierro citosólico del enterocito de la cripta es bajo (a pesar que las reservas férricas del organismo sean altas), y esta señal origina una alta expresión del receptor de la transferrina, DMT1, ferroportina 1 y hephaestina y baja de ferritina; la señal persiste al diferenciarse la célula y pasar al ápex, con lo que se absorbe siempre el hierro (89) (figura 31).

Este hierro sobrepasa la capacidad del plasma de protección al unirse con las proteínas como la transferrina y la ferritina, y viaja en forma de complejos de una baja masa molecular, pudiendo reaccionar con las distintas especies reactivas del oxígeno y formando los radicales. En las primeras fases de la hemocromatosis hereditaria el hierro unido a la transferrina es captado por los receptores de transferrina tipo 2 de los hepatocitos; estos no tienen IRE en 5', con lo que lo captan indefinidamente (figura 32). A medida que progresa la enfermedad, la captación receptor-independiente del hierro unido a los complejos de una baja masa molecular se produce en mayor cuantía. Este exceso del hierro hepático produce unas alteraciones que conllevan la fibrosis, la cirrosis y el riesgo elevado del hepatocarcinoma; el daño hepático es la principal causa de muerte de la hemocromatosis hereditaria (51). La acumulación en el corazón, el páncreas, la hipófisis, la glándula paratiroidea lleva a la cardiomiopatía, la diabetes mellitus, el hipopituitarismo, el hipogonadismo e hipoparatiroidismo (85).

La hemocromatosis se transmite de una forma autosómica recesiva. Los genes de esta enfermedad se heredan con los haplotipos HLA, a los que se hallan unidos. La expresión total de la enfermedad ocurre en la mayoría de los homocigotos, mientras que una pequeña parte de los heterocigotos presentan



**Figura 32** Transporte del hierro en la hemocromatosis hereditaria. El hierro absorbido resulta excesivo para las proteínas que lo transportan en el plasma (transferrina y ferritina), con lo que existe hierro libre. Este es captado por los receptores de transferrina de tipo 2 (Tfr2) del hígado indefinidamente

sólo los signos bioquímicos de la sobrecarga férrica; además, la expresión de la enfermedad debería producirse con igual frecuencia en los hombres y las mujeres, pero no sucede así. En realidad, cada mutación tiene una capacidad determinada para lograr una expresión fenotípica propia de una sobrecarga del hierro; esta capacidad de la expresión fenotípica se denomina penetrancia. La penetrancia es muy alta para la mutación C282Y en el estado homocigótico, pero no es del 100%. Si se detalla la penetrancia en función de la edad y el sexo, resulta ser del 95% en los hombres de más de 40 años (tienen sobrecarga del hierro), aunque sólo el 15% son sintomáticos. En mujeres de más de 40 años la penetrancia es del 80%, con 13% de los síntomas. Sólo un 39% de las mujeres de menos de 40 años tienen una sobrecarga, y ninguna tiene síntomas; probablemente la explicación a la distinta frecuencia entre los sexos es que las mujeres en la edad fértil están protegidas de la sobrecarga del hierro por la pérdida del hierro que comporta su menstruación, o por la cesión del hierro hacia el feto que supone cada embarazo (108).

La expresión fenotípica de la mutación H63D es más compleja y se perfila únicamente como un factor que predispone para la sobrecarga, siempre que se da en combinación con la mutación C282Y en el estado heterocigoto (genotipo mixto C282Y/H63D). La mutación S65C se considera un polimorfismo, pero si el paciente es además heterocigoto para la mutación C282Y (genotipo mixto C282Y/S65C) tiene algo más de riesgo de sufrir una sobrecarga férrica por la hemocromatosis hereditaria (108).

Hasta hace unos años la confirmación de la sobrecarga férrica se realizaba mediante biopsia hepática y medida de la concentración del hierro por gramo de tejido hepático seco; actualmente sólo se realizan las biopsias para el pronóstico de algunos pacientes. La detección de la mutación C282Y homocigótica o los genotipos C282Y/H63D, C282Y/S65C, gracias a la amplificación del ADN por la reacción en cadena de la polimerasa seguida de una restricción enzimática, y la evidencia de la sobrecarga férrica confirman el diagnóstico de la hemocromatosis hereditaria.

Existen otras formas de hemocromatosis hereditarias indistinguibles clínicamente de las hasta ahora descritas que, sin embargo, no poseen ninguna mutación del gen HFE. Este es el caso de la hemocromatosis debida a la mutación del gen del receptor de la transferrina tipo 2, presente en el cromosoma 7q; se sospecha que la captación de la transferrina por este último receptor podría regular la síntesis hepática de la hepci-

dina: una mutación del gen del receptor de la transferrina tipo 2 llevaría a una captación deficiente por parte de este receptor, y una síntesis de la hepcidina disminuida con la consiguiente sobrecarga del hierro (75). Se ha descrito una mutación de un locus presente en el cromosoma 1q que se ha relacionado con la hemocromatosis juvenil. Así mismo, se han descubierto mutaciones del gen de la hepcidina en los casos de las hemocromatosis juveniles en que no se han hallado mutaciones en el gen 1q. También se ha descrito una mutación en el gen de la ferroportina 1 que provoca una hemocromatosis similar a la debida a la mutación C282Y del gen HFE (77).

#### Otras sobrecargas férricas

Todos las anemias no ferropénicas cursan con unas concentraciones plasmáticas elevadas de la ferritina (109), pero sólo cuando el hierro se deposita local o generalizadamente de una forma superior a la normal se habla de una sobrecarga; ésto es lo que sucede en algunas de estas anemias, que tienen una eritropoyesis y una absorción intestinal aumentadas (como las talasemias y en general las anemias hemolíticas, la anemia diseritropoyética congénita, la anemia sideroblástica, o la porfiria cutánea tarda, todas ellas reflejan una eritropoyesis ineficaz); en algunas de estas enfermedades se desconoce el mecanismo exacto del aumento de la absorción intestinal, en otras la hepcidina está elevada, y este péptido se perfila como su responsable (77). La sobrecarga férrica africana, la siderosis transfusional, y la hepatopatía alcohólica, también constituyen sobrecargas férricas. El grupo de las enfermedades citadas en este apartado también se ha denominado hemocromatosis adquirida (110) o secundaria (1).

#### Sobrecarga férrica africana

Esta enfermedad, antes denominada Siderosis Bantú, resulta de una predisposición a la sobrecarga férrica (no debida a una mutación del gen HFE ni al locus HLA) que se suma a una ingestión excesiva del hierro en forma de una bebida tradicional (111).

#### Siderosis transfusional

La trasfusión se ha convertido actualmente en una práctica rutinaria en el tratamiento de las enfermedades como algunas formas graves de las talasemias o el cáncer (85). Antes ya se ha mencionado que la excreción férrica diaria de un hombre puede duplicarse en caso de la sobrecarga férrica. No obstante, este mecanismo resulta insuficiente para eliminar el contenido del hierro que puede sobrecargar el organismo en caso de las trasfusiones repetidas.

#### Anemia de las enfermedades crónicas

Las infecciones crónicas, las inflamaciones, y las neoplasias se acompañan a menudo de una anemia denominada anemia de las enfermedades crónicas. Los procesos antes citados comparten un carácter inflamatorio, que no tiene porqué ser crónico, y por ello también esta anemia se conoce como anemia inflamatoria (1).

En la fisiopatología de esta anemia intervienen varios mecanismos, que se inician por una activación inmune que responde a un antígeno externo o una neoplasia. Este estímulo activa el Sistema Mononuclear Fagocítico, e induce la secreción de las citocinas (1). En la artritis reumatoide el factor de necrosis tumoral- $\alpha$  provoca la apoptosis de los precursores eritroides e inhibe su proliferación; la falta de los precursores lleva a la

anemia; también se produce poca eritropoyetina y su efecto es inferior al que cabría esperar, hechos que contribuyen a esta apoptosis. La interleucina-1 tiene un efecto similar, de inhibición de la proliferación de los precursores eritroides y una baja respuesta a la eritropoyetina.

Otro mecanismo es la alteración del metabolismo del hierro: la concentración del hierro y la transferrina plasmáticas disminuyen. Probablemente esta acción está mediada por la interleucina-6 (112).

La absorción intestinal del hierro disminuye, y se produce un bloqueo del hierro en los macrófagos que lleva a una eritropoyesis ferropénica: en la anemia ferropénica el número de los sideroblastos de los islotes eritroblásticos se halla disminuido, mientras que en la anemia de las enfermedades crónicas está normal o aumentado; no obstante, su hierro no puede transferirse a los eritroblastos. Probablemente estas acciones están mediadas por la hepcidina, tal como se ha visto en el apartado 3.14 (76); la interleucina-1 estimula la actividad de los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos, y la lactoferrina que se libera de sus gránulos se une a los iones hierro(II); el complejo formado es captado por el Sistema Mononuclear Fagocítico (1).

Por otra parte, en la anemia de las enfermedades crónicas el factor de necrosis tumoral, la interleucina-1, y el interferón- $\gamma$  inhiben el efecto que la baja disponibilidad del hierro tiene sobre la transcripción del ARNm del receptor de la transferrina (49), de manera que no aumenta su síntesis; en consecuencia los eritroblastos no expresan el receptor en su superficie celular y captan poco el hierro. Este mecanismo se suma a los anteriores, y a pesar de que el organismo pueda incluso tener una sobrecarga férrica, se produce una eritropoyesis ferropénica y una anemia.

Los hallazgos bioquímicos son una disminución de la concentración plasmática de la transferrina, la capacidad de saturación de la transferrina, un aumento del índice de la saturación de la transferrina, la concentración plasmática de ferritina, y una anemia normo o microcítica; todo ello se produce con una nula o escasa elevación de la concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina (85).

### SEMIOLÓGÍA DE LAS MAGNITUDES BIOLÓGICAS PROTEICAS USADAS EN LA EXPLORACIÓN DEL METABOLISMO DEL HIERRO

No existe un método de referencia claro para detectar la ferropenia (113). El diagnóstico definitivo de la evaluación de las reservas férricas más ampliamente utilizado es el examen microscópico del aspirado medular. No obstante, es una aproximación y puede resultar equívoco cuando las reservas férricas están distribuidas de una forma anómala entre los tejidos parenquimático y retículo-endotelial (90); además, los métodos de la extracción son costosos, entrañan unas dificultades técnicas con posibles daños yatrogénicos, y generan un rechazo por parte del paciente.

La respuesta al tratamiento con el hierro (4,114) o a las flebotomías periódicas (99, 115) constituyen asimismo métodos definitivos; la medida de la susceptibilidad magnética también lo es en cuanto a las reservas hepáticas (116).

El contenido hemoglobínico de los reticulocitos y la proporción de los eritrocitos hipocrómicos son unas magnitudes consideradas como del diagnóstico definitivo de la ferropenia de la fase II por diversos autores (97, 117, 118), al comportar-

**Tabla X.** Rentabilidad diagnóstica de la concentración plasmática de la transferrina.

	Autor	nº casos	población	diagnóstico definitivo	área ROC	estadística Bayesiana				
						Ef	sens	esp	PV+	PV-
Ferropenia	Burns (120)	301	adultos anémicos hospitalizados	M.O.	–	84	56	87	40	93
Anemia ferropénica/ anemia enfermedades crónicas	Punnonnen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,98	–	–	–	–	–
Ferropenia en enfermedades crónicas	Punnonnen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,84	–	–	–	–	–

M.O. = examen microscópico de la médula ósea, ef = eficiencia diagnóstica, sens = sensibilidad diagnóstica, esp = especificidad diagnóstica, PV+ = valor predictivo positivo, PV- = valor predictivo negativo.

se como un reflejo de la actividad de la médula ósea en tiempo real.

La mayor parte de los procedimientos anteriores reúnen inconvenientes que los hacen de un difícil empleo en la práctica clínica, por lo que tradicionalmente se ha optado por el uso de varias magnitudes a la vez (12, 13); de esta manera se soslaya la falta de sensibilidad y especificidad diagnósticas. A continuación va a estudiarse la semiología de las magnitudes biológicas proteicas usadas en la exploración del metabolismo del hierro.

### Transferrina

La concentración plasmática de la transferrina se encuentra elevada en la ferropenia, en el embarazo y el tratamiento con los anticonceptivos orales, ya que los estrógenos aumentan su síntesis (este hecho deberá dar cautela a la hora de interpretar resultados de las mujeres en la edad fértil dada la alta prevalencia del estado de la ferropenia en este grupo y el notable uso que se hace de esta medicación). Se halla disminuida en el déficit congénito de esta proteína, enfermedad muy rara, en cualquier inflamación crónica o neoplasia, en infecciones; en estados de catabolismo o pérdida proteica, como la malnutrición y el síndrome nefrótico; en los estados en que el organismo tiene una presión oncótica elevada como el mieloma múltiple o las enfermedades hepatocelulares, y en los estados de la sobrecarga férrica (94).

Su utilidad clínica es la siguiente:

#### *Diagnóstico diferencial entre la anemia ferropénica y la de las enfermedades crónicas (tabla X)*

La mayor aplicación semiológica de esta proteína se encuentra en el diagnóstico diferencial de la anemia. El diagnóstico diferencial entre la anemia ferropénica y la asociada a las enfermedades crónicas tiene como un elemento de certeza el examen microscópico del aspirado medular: en la primera el número de los sideroblastos se halla disminuido mientras que en la segunda está normal o aumentado al existir un bloqueo del hierro a nivel de los macrófagos en los islotes eritroblásticos. La concentración plasmática de la transferrina aumenta en la anemia ferropénica y está normal o baja en la anemia de las enfermedades crónicas; en este sentido se ha descrito un área bajo la curva ROC de 0,98 (119).

#### *Detección de la ferropenia en la anemia de enfermedades crónicas*

Es moderadamente capaz de discriminar los estados de la ferropenia en los pacientes con anemia de las enfermedades crónicas (área bajo curva ROC de 0,84) (119).

#### *Detección de la ferropenia*

Desafortunadamente la sensibilidad en el diagnóstico del estado de la ferropenia se ve limitada por un notable solapamiento de los valores de la población sana con los de la población con esta afección (120). Además, en los estados de la ferropenia asociados a una malnutrición hay una disminución de la síntesis de la transferrina y su concentración plasmática permanece dentro del intervalo de referencia. Tal como se verá más adelante, la ferritina es un marcador más eficaz en este sentido, y ello sucede porque la síntesis de la transferrina aumenta secundariamente a una ferritina intracelular hepática baja, ferritina que muy probablemente se halla en equilibrio con la plasmática.

### Capacidad total de saturación de transferrina

#### *Definición*

La concentración plasmática de la transferrina puede expresarse indirectamente como la masa del hierro que puede fijar un volumen de plasma, magnitud conocida como *capacidad total de la saturación de la transferrina* (recuérdese que en el plasma, el hierro puede hallarse bajo diversas formas, pero que la mayor parte lo hace estando unido a la transferrina, ver apartado 5.2). A menudo se emplean indistintamente los términos transferrina y capacidad de saturación de transferrina. No obstante, la transferrina, como toda proteína, se expresa como una concentración de sustancia o de masa de la propia proteína; en cambio, la capacidad de saturación de transferrina se expresa como la concentración de sustancia o de masa del hierro que puede contener la muestra.

#### *Variaciones fisiológicas*

La capacidad de la saturación de la transferrina sufre unas oscilaciones de una escasa amplitud a lo largo de la vida: hay valores bajos en los niños recién nacidos, posteriormente se elevan hasta unas cifras máximas a los cuatro a 24 meses, disminuyen hasta los siete años, y aumentan nuevamente en los

**Tabla XI.** Variaciones de las magnitudes biológicas relacionadas con el metabolismo del hierro según la edad. Tomado de Choi et al, 1999 (121)

Grupo edad	edad	nº casos	Fe (µg/L)	CTST (µg/L)	IST %	Fert (µg/L)	sTfR (mg/L)
Neonatos	0-5 min	125	2015 ± 484	2859 ± 783	69,2 ± 15,3	178,5 ± 72,1	4,95 ± 1,24
Niños	4-24 meses	152	732 ± 181	3164 ± 325	23,0 ± 7,1	23,5 ± 10,4	4,51 ± 1,12
	3-7 años	197	773 ± 298	2623 ± 561	29,4 ± 11,4	25,7 ± 9,7	3,02 ± 0,76
Adolescentes	14-16 años	98	905 ± 387	3141 ± 432	28,3 ± 10,5	39,1 ± 10,4	2,86 ± 0,74
	17-19 años	90	834 ± 292	3125 ± 463	27,1 ± 13,2	47,3 ± 26,2	2,09 ± 0,55
Adultos	23-62 años	187	1391 ± 354	3107 ± 312	44,5 ± 12,9	54,1 ± 15,6	2,13 ± 0,51

Fe = hierro, CTST = capacidad de saturación de transferrina, IST = índice de saturación de transferrina, Fert = ferritina, sTfR = receptor soluble de transferrina; en el estudio de esta magnitud se utilizó IDeA sTfR IEMA (Orion Diagnostica, Espoo, Finlandia).

adolescentes de 14 a 19 años, para decrecer nuevamente en la edad adulta (121) (tabla XI).

#### Utilidad clínica

Dado que la capacidad de la saturación de la transferrina es un reflejo de la concentración plasmática de la transferrina, se eleva y disminuye por las mismas causas que ésta, con la excepción de lo que sucede en la hemocromatosis hereditaria (29, 94), y por las razones antes indicadas (122): la capacidad de saturación de la transferrina está elevada y la transferrina disminuida. Su utilidad clínica es también la de la transferrina, y además el cribado de la hemocromatosis hereditaria aunque es menos efectivo para ello que el índice de la saturación de la transferrina.

#### Índice de saturación de transferrina

##### Definición

El índice de la saturación de la transferrina expresa el porcentaje del hierro presente en el plasma en relación con la totalidad del hierro que puede asumir este sistema.

##### Variaciones fisiológicas

El índice de la saturación de la transferrina tiene un valor máximo en los recién nacidos; después del nacimiento disminuye hasta el tercio de este valor, manteniéndose hasta la edad de dos años; se eleva ligeramente a los tres a siete años, en que se mantiene para aumentar nuevamente en la edad adulta (121) (tabla XI).

##### Utilidad clínica (tabla XII)

Se halla elevado en la hemocromatosis hereditaria, la ingestión excesiva del hierro, las talasemias, la deficiencia de la vitamina B<sub>6</sub>, las anemias aplásicas, y las anemias sideroblásticas. Se encuentra disminuido en la eritropoyesis ferropénica, las enfermedades malignas del estómago e intestino delgado, y en el embarazo (94).

##### Cribado de la hemocromatosis hereditaria

Su principal aplicación semiológica es como prueba de cribado en el diagnóstico de la hemocromatosis hereditaria, con una sensibilidad del 100 y una especificidad del 97% (122, 123).

##### Detección de eritropoyesis ferropénica

Otra de las aplicaciones semiológicas del índice de la saturación de la transferrina es como un marcador de la eritropoyesis en relación al hierro: define el hierro presente en el compartimento funcional, en contraposición al que se encuentra en el comparti-

mento de reserva; en esta fase no existe aún la anemia (1). El receptor soluble de la transferrina y sus índices son más eficaces que el índice de la saturación de la transferrina para esta aplicación.

#### Otras utilidades

También puede utilizarse en el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica y la anemia de las enfermedades crónicas, habiéndose descrito un área bajo la curva ROC de 0,84, o en la detección de la ferropenia en una anemia de enfermedad crónica una área de 0,79 (119). En el diagnóstico de la ferropenia se han descrito áreas bajo curvas ROC de 0,74 en los adultos anémicos y de 0,79 en ancianos anémicos (124, 125), una sensibilidad de 76 % y una especificidad de 46 % en los adultos anémicos hospitalizados (109), y una sensibilidad de tan sólo 20 % y una especificidad de 93 % en mujeres no embarazadas de edad fértil (126).

A pesar de que el índice de la saturación de la transferrina puede usarse con estos fines, al ser un cociente entre dos magnitudes posee una incertidumbre igual a la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de las incertidumbres del hierro sérico y la capacidad de la saturación de la transferrina; el hierro tiene un CV<sub>bi</sub> de 26,5 % (valor muy notable debido a la variación en la liberación por parte de las células del Sistema mononuclear fagocítico (4), que es la causa de su baja eficiencia en el diagnóstico de la ferropenia (119)), y la transferrina (en caso de que se calcule la capacidad de la saturación de la transferrina) de 3,0% (127). Su gran variabilidad biológica y poca sensibilidad diagnóstica hacen recomendable que los valores de esta magnitud sean tomados en consideración sólo cuando exceden cifras muy altas o muy bajas. Algunos autores sugieren que esta magnitud, en cuanto a marcador de la eritropoyesis deficiente, debería ser revisada y proponen su reemplazo por el receptor soluble de la transferrina (6).

#### Receptor soluble de transferrina

##### Variaciones fisiológicas

La concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina oscila considerablemente con la edad: decrece gradualmente desde el periodo neonatal hasta la adolescencia, en que experimenta un nuevo aumento después de los 16 años (tabla XI). Hay diferentes opiniones sobre si hay diferencias entre sexos: existen a los 4 a 6 meses según Choi et al (121), a los 10 a 20 años y más de 60 años según Raya et al (47); por el contrario, Allen et al no hallaron diferencia entre los sexos para ninguna de estas edades (128). Su coeficiente de variación intraindividual, de 12 %, es muy inferior al del otro mar-



**Tabla XII.** Rentabilidad diagnóstica del índice de saturación de transferrina

	Autor	nº casos	población	diagnóstico definitivo	área ROC	estadística Bayesiana				
						Ef	sens	esp	PV+	PV-
ferropenia	Guyatt (124)	764	adultos anémicos	M.O.	0,74	-	-	-	-	-
	Burns (120)	301	adultos anémicos hospitalizados	M.O.	-	49	76	46	17	92
	Hallberg (126)	203	H edad fértil	M.O.	-	-	20	93	-	-
	Guyatt (125)	259	>65 años anémicos	M.O.	0,79	-	-	-	-	-
anemia ferropénica/ anemia enfermedades crónicas	Punnonnen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,84	-	-	-	-	-
ferropenia en enfermedades crónicas	Punnonnen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,79	-	-	-	-	-
cribado hemocromatosis	Beilby (122)	20	adultos	biopsia hepática	-	-	100	97	-	-
	Dadone (176)	-	-	biopsia hepática	-	-	92	99	(71-85)	-

M.O. = examen microscópico de la médula ósea, ef = eficiencia diagnóstica, sens = sensibilidad diagnóstica, esp = especificidad diagnóstica, PV+ = valor predictivo positivo, PV- = valor predictivo negativo.

**Tabla XIII.** Rentabilidad diagnóstica de la concentración plasmática del receptor soluble de transferrina

	Autor	nº casos	población	diagnóstico definitivo	área ROC	estadística Bayesiana				
						Ef	sens	esp	PV+	PV-
ferropenia	Mast (143)	62	adultos anémicos	M.O., Tto fe	-	-	92	84	58	98
	Akesson (138)	254	H embarazadas	Hb, Fert	-	-	71	100	100	99
	Olivares (5)	515	niños 4-15 meses	Hb, VCM, IST, FEP	0,75	-	24	98	-	-
anemia ferropénica/ anemia enfermedades crónicas	Punnonnen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,98	94	94	94	92	95
	Remacha (174)	118	adultos anémicos	no indicado	0,98	-	-	-	-	-
	Suominen (145)	98	adultos anémicos	M.O.	0,96 a 0,99	-	-	-	-	-
	Suominen (145)	78	adultos anémicos	MO	0,99	-	-	-	-	-
	Mast (143)	43	bajo VCM	clínica, Fert, sTfR, E de Hb	-	-	88	65	79	-
ferropenia en enfermedades crónicas	Punnonnen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,98	94	94	94	80	98
	Remacha (146)	64	adultos anémicos	M.O., Tto fe	-	87	92	81	-	-
	Suominen (145)	98	adultos anémicos	M.O.	0,92 a 0,97	-	-	-	-	-
	Suominen (148)	78	adultos anémicos	M.O.	0,95	-	-	-	-	-

M.O. = examen microscópico de la médula ósea, Tto fe = tratamiento con hierro, Hb = concentración sanguínea de hemoglobina, Fert = concentración plasmática de ferritina, VCM = volumen corpuscular medio eritrocitario, IST = índice de saturación de transferrina, FEP = concentración de protoporfirina eritrocitaria libre, sTfR = concentración plasmática de receptor soluble de transferrina, E de Hb = electroforesis de hemoglobina, ef = eficiencia diagnóstica, sens = sensibilidad diagnóstica, esp = especificidad diagnóstica, PV+ = valor predictivo positivo, PV- = valor predictivo negativo.

cador del hierro funcional, el índice de la saturación de la transferrina, y al de la ferritina (129).

#### Utilidad clínica (tabla XIII)

Se halla disminuido en la anemia aplásica, la anemia de la insuficiencia renal crónica, y elevado en las anemias ferropénicas, las hemolíticas, y las eritropoyesis ineficaces como las anemias sideroblásticas, los síndromes mielodisplásicos y las anemias megaloblásticas (130, 131).

#### Estimación de la masa eritroblástica

Se ha estimado que los precursores eritroides contribuyen con el 60% de la concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina presente en el plasma (132); ello le otorga un valor como reflejo de la masa eritroblástica medular o eritropoyesis del organismo (130, 133). Existen diversas aplicaciones clínicas por lo que se refiere a la vertiente como marcador de masa eritropoyética de esta magnitud. La concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina y de la ferritina pueden decidir el tratamiento de la anemia asociada a la insuficiencia renal crónica, o pueden usarse para monitorizarla: una concentración plasmática elevada del receptor soluble asociada a una de ferritina normal o baja indican un tratamiento con hierro i.v., mientras que una concentración plasmática del receptor soluble baja con una de ferritina normal o alta predicen un aumento de la eritropoyesis tras un tratamiento con eritropoyetina (134); lo mismo sucede con la anemia asociada a las neoplasias o la artritis reumatoide. Tras una quimioterapia, el receptor soluble de la transferrina puede usarse como un marcador de la masa eritroblástica (47).

#### Detección de eritropoyesis ferropénica

Cuando aumenta la necesidad del hierro los precursores eritroides incrementan sus procesos de la maduración y la división. Aparece un mayor número de células con receptores de transferrina, una mayor densidad de éstos en las superficies celulares gracias a una mayor expresión (135, 136), y en consecuencia una mayor concentración plasmática de éstos en la circulación. Al igual que el índice de la saturación de la transferrina y la protoporfirina eritrocitaria, es un marcador del compartimento funcional del hierro (6) y se correlaciona bien con esta última magnitud (5). En estudios de flebotomía, la concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina se correlaciona inversamente con la estimación del déficit del hierro del organismo (100).

La ferropenia y la anemia ferropénica son muy prevalentes en la mujer embarazada. Los clínicos utilizan frecuentemente la concentración sanguínea de la hemoglobina como único marcador para tomar la decisión de iniciar el tratamiento con hierro (7). No obstante, esta magnitud no es suficientemente sensible como para detectar las eritropoyesis ferropénicas, y además no es específica de la anemia ferropénica al poder estar disminuida en otros tipos de anemia (137). Desgraciadamente los marcadores del metabolismo férrico se alteran considerablemente dificultando la interpretación del estado en relación a este metal; así sucede con la concentración plasmática de la transferrina, la capacidad de saturación de la transferrina que aumentan, y el índice de la saturación de la transferrina que disminuye (por la elevación que sufre la concentración plasmática de la transferrina en el embarazo); la concentración plasmática de la ferritina disminuye, y la del receptor soluble de la transferrina aumenta progresivamente a lo largo del embarazo (138,

139, 140); la de la ferritina por la movilización de las reservas a favor del feto; la del receptor soluble de transferrina por el aumento de la eritropoyesis de la madre (138, 139) probablemente con la finalidad de oxigenar al feto.

La concentración plasmática de la ferritina refleja el compartimento de la reserva y no el funcional, y además, una deplección de la reserva férrica materna se asocia con una disminución fetal de la concentración plasmática de la ferritina pero no con una disminución del hierro funcional fetal (62). El receptor soluble de la transferrina es especialmente útil en el curso del embarazo, ya que un aumento de su concentración plasmática respecto a los valores de referencia constituye un indicio de una eritropoyesis ferropénica. Su eficiencia como un marcador de la anemia ferropénica tiene una sensibilidad de 71%, una especificidad de 100%, un valor predictivo de un resultado positivo de 100%, y de uno negativo de 99% (138).

En un estudio realizado a partir de muestras de sangre extraídas del cordón umbilical se ha visto que la sideremia, la ferritinemia, y la capacidad de la saturación de la transferrina fetal aumentan a lo largo de la edad de la gestación llegando a un valor máximo antes del parto (las dos primeras por la movilización de las reservas a favor del feto). Por el contrario, la concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina se mantiene estable en la sangre umbilical a lo largo de la gestación, y se correlaciona con la concentración sanguínea de la hemoglobina y la del número de reticulocitos, por lo que los autores del trabajo sugieren el uso de esta magnitud para conocer el estado del metabolismo del hierro en el feto (141). Asimismo, los recién nacidos poseen valores de la sideremia, la ferritinemia, el índice de la saturación de la transferrina y la capacidad de saturación de la transferrina notablemente mayores que los de los niños de más de cuatro meses. A pesar de que estas cifras disminuyen drásticamente al cabo de unos días, la concentración plasmática del receptor soluble de transferrina no experimenta esta diferencia, por lo que también se ha sugerido que es un excelente marcador para este grupo de edad (121). Un estudio realizado en los niños de cuatro a 15 meses describe una concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina mayor que la de los adultos y atribuye este hecho a una mayor masa eritropoyética del niño; asimismo, halla un área bajo la curva ROC de 0,75 para el receptor soluble de la transferrina y de 0,67 para la ferritina en el diagnóstico de la ferropenia, y concluye que el primero es el mejor marcador de los estudiados (5).

#### Detección de la ferropenia

En estudios de flebotomía se ha observado que al progresar la pérdida del hierro mientras aún existen reservas férricas, la concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina se desplaza hacia la parte más alta del intervalo de referencia (100). Este ligero aumento hace de esta magnitud un marcador de la ferropenia de fase I poco sensible (figura 29). Dado que esta magnitud se eleva con claridad en la eritropoyesis ferropénica y la anemia ferropénica, en los pacientes anémicos se puede usar como un marcador del estado de la ferropenia. Aunque algunos autores sugieren que no es una magnitud muy eficiente (142), otros han descrito una sensibilidad del 92% y una especificidad del 84 % (143). Es una magnitud poco específico al verse aumentada por otras causas como las anemias megaloblásticas y las hemolíticas.

Al ser un marcador de compartimentos férricos diferentes, su correlación con la concentración plasmática de la ferritina es pobre (5), y sólo moderada con la concentración sanguínea

**Tabla XIV.** Rentabilidad diagnóstica de la concentración plasmática de la ferritina, el receptor soluble de la transferrina, y sus índices, y los valores discriminantes utilizados

	magnitud biológica	estadística Bayesiana				
		Ef	sens	esp	PV+	PV-
Anemia ferropénica/ anemia enfermedades crónicas	Fert	98	98	98	98	98
	sTfR	94	94	94	92	95
	sTfRx100/Fert	98	98	98	98	98
	sTfR/log Fert	100	100	100	100	100
Ferropenia en enfermedades crónicas	Fert	93	71	98	92	93
	sTfR	94	94	94	80	98
	sTfRx100/Fert	96	88	98	94	97
	sTfR/log Fert	99	94	100	100	98

Fert = Ferritina, sTfR= Receptor soluble de transferrina, ef = eficiencia diagnóstica, sens = sensibilidad diagnóstica, esp = especificidad diagnóstica, PV+ = valor predictivo positivo, PV- = valor predictivo negativo. Los valores discriminantes utilizados fueron 41 mg/L para la concentración plasmática de ferritina, 2,7 mg/L para la concentración plasmática del receptor soluble de transferrina, 4,5 para sTfRx100/Fert, y 1,5 para sTfR/log Fert. La concentración plasmática del receptor soluble de transferrina se midió utilizando un enzoinmunoanálisis heterogéneo no competitivo tipo sándwich de antígeno utilizando anticuerpos de captura policlonales (Clinigen, R&D Systems, Minneapolis, Estados Unidos de América). Tomado de Punnonen, Irjala, y Rajamäki (119).

de la hemoglobina de los pacientes ferropénicos sin inflamación (144). Su aumento tiene lugar antes que el de la concentración plasmática de la protoporfirina eritrocitaria y la disminución del volumen corpuscular medio eritrocitario (144).

#### Diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica y la de las enfermedades crónicas

Muestra una gran habilidad en el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica con la de las enfermedades crónicas sin componente ferropénico, habiéndose descrito una área bajo la curva ROC de 0,96 a 0,99 (145) y de 0,98 (118, 145). En el diagnóstico diferencial de las anemias microcíticas se ha descrito una sensibilidad del 88% y una especificidad del 65% (143).

La tabla XIV muestra la rentabilidad diagnóstica de la concentración plasmática de la ferritina, la del receptor soluble de la transferrina, y sus índices, y los valores discriminantes utilizados para dos aplicaciones clínicas: el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica y la de las enfermedades crónicas, y la detección de la ferropenia en la anemia de las enfermedades crónicas.

#### Detección de la ferropenia en la anemia de las enfermedades crónicas

Las enfermedades crónicas, las inflamatorias y las neoplásicas suelen cursar con una anemia y ésta puede tener un componente ferropénico: se ha descrito que del 30 al 60 % de los pacientes con una artritis reumatoidea tienen una ferropenia (147). La mayoría de las magnitudes empleadas en el diagnóstico de la ferropenia se ven afectadas por esta concurrencia de la inflamación y la ferropenia dificultándolo. La concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina se eleva en estos pacientes (mientras que la concentración plasmática de la ferritina se encuentra dentro o incluso por encima del intervalo de referencia), confiriéndole su mayor valor: la capacidad de discriminar los estados de la ferropenia en los pacientes con procesos inflamatorios. Se ha descrito una área bajo la curva ROC de 0,92 a 0,97 (144), 0,95 (148), y 0,98, siendo un marcador más hábil que la ferritina (119); también se ha descrito una sensibilidad del 92 % y una especificidad del 81 % (146).

La concentración plasmática del receptor soluble de la transferrina no se correlaciona con la de los marcadores de la inflamación como la proteína C reactiva, la haptoglobina, o el recuento de los leucocitos, pero de una forma sorprendente recientemente se ha descubierto que sí lo hace con la concentración plasmática del orosomucoide ( $\alpha$ -1-glicoproteína ácida) (48). Puede mostrar una escasa elevación en la artritis reumatoidea sin ferropenia; se interpreta que es por la falta de la disponibilidad del hierro en los eritroblastos (149) (en la anemia de las enfermedades crónicas se produce una eritropoyesis ferropénica como ya se ha comentado en el apartado 6.3). Tal como sucedía en su función de la detección de la ferropenia, debido a que refleja la masa eritroblástica medular ve disminuida su especificidad como un marcador de las eritropoyesis ferropénicas en las enfermedades en que ésta se halla elevada.

#### Índices que relacionan receptor soluble de transferrina y ferritina

El índice [receptor soluble de transferrina/log(ferritina)] es un marcador aún más eficaz que el receptor soluble para detectar eritropoyesis ferropénica, al combinar los distintos comportamientos que tienen las dos proteínas en los procesos antes mencionados (aumento del primero, disminución del segundo). Es especialmente útil para los valores del receptor soluble o la ferritina cercanos a los valores de referencia (6). En los niños de 4 a 15 meses se ha descrito un área bajo la curva ROC de 0,72 (5).

En el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica y la de las enfermedades crónicas, y en la detección de la ferropenia en las enfermedades crónicas se ha descrito un área bajo la curva ROC de 1,00 (119).

También se utiliza el índice [receptor soluble de transferrina  $\times$  100/ferritina], con un área de 1,00 en el diagnóstico diferencial antes mencionado y 0,94 en la detección de la ferropenia en las enfermedades crónicas (119) (tablas XV y XVI).

#### Ferritina

##### Variaciones fisiológicas

La concentración plasmática máxima de la ferritina se produce justo después del nacimiento. Posteriormente disminuye

**Tabla XV.** Rentabilidad diagnóstica del índice [receptor soluble de transferrina  $\times$  100/ferritina]

	Autor	nº casos	población	diagnóstico definitivo	área ROC	estadística Bayesiana				
						Ef	sens	esp	PV+	PV-
ferropenia	Olivares (5)	515	niños 4-15 meses	Hb, VCM, IST, FEP	0,72	–	68	63	–	–
anemia ferropénica/ anemia enfermedades crónicas	Punnonen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	1,00	98	98	98	98	98
ferropenia en enfermedades crónicas	Remacha (146)	64	adultos anémicos	M.O., Tto fe	–	100	97	–	–	–
	Punnonen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,94	96	88	98	94	97

M.O. = examen microscópico de la médula ósea, Tto fe = tratamiento con hierro, Hb = concentración sanguínea de hemoglobina, Fert = concentración plasmática de ferritina, VCM = volumen corpuscular medio eritrocitario, IST = índice de saturación de transferrina, FEP = concentración de protoporfirina eritrocitaria libre, sTfR = concentración plasmática de receptor soluble de transferrina, ef = eficiencia diagnóstica, sens = sensibilidad diagnóstica, esp = especificidad diagnóstica, PV+ = valor predictivo positivo, PV- = valor predictivo negativo.

**Tabla XVI.** Rentabilidad diagnóstica del índice [logaritmo del receptor soluble de transferrina/ferritina]

	Autor	nº casos	población	diagnóstico definitivo	área ROC	estadística Bayesiana				
						Ef	sens	esp	PV+	PV-
anemia ferropénica/ anemia enfermedades crónicas	Punnonen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	1,00	100	100	100	100	100
ferropenia en enfermedades crónicas	Punnonen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	1,00	99	94	100	100	98

M.O. = examen microscópico de la médula ósea, ef = eficiencia diagnóstica, sens = sensibilidad diagnóstica, esp = especificidad diagnóstica, PV+ = valor predictivo positivo, PV- = valor predictivo negativo.

hasta dividirse por siete en los niños de siete años, y se eleva progresivamente para estabilizarse en la edad adulta (121) (tabla XI).

#### Utilidad clínica (tabla XVII)

Se encuentra muy elevada en los estados de las sobrecargas férricas como la hemacromatosis y algunas hepatopatías, y elevada en las enfermedades inflamatorias (responde como un reactante de fase aguda), las leucemias agudas, la enfermedad de Hodgkin y el carcinoma de mama. Está disminuida en las ferropenias (95).

#### Detección de la ferropenia

Hay una relación entre la concentración de la ferritina celular y la plasmática, hecho que confiere a la segunda un valor como un marcador de los depósitos tisulares férricos (148). La concentración plasmática de la ferritina se correlaciona bien con el hierro medular (150-151), aunque cuando el grupo de los pacientes estudiado tiene una anemia con un componente inflamatorio existe una disparidad entre los autores a favor (147) o en contra (120) de tal correlación. En cierta medida, la

concentración plasmática de la ferritina refleja mejor las reservas del organismo que el hierro medular, ya que en ausencia del hierro medular aún se detecta ferritina en el suero (120); en los estudios de la flebotomía, el hierro de reserva estimado se correlaciona bien con la concentración plasmática de la ferritina sólo mientras existe tal reserva (100).

La utilidad clínica principal de la ferritina es la de cribar y diagnosticar las ferropenias. El valor discriminante usado con estos fines tiene una especial importancia. En la estimación de los valores de referencia el problema radica en definir el grupo de referencia empleado en su cálculo: la primera dificultad estriba en describir qué es *normal* en materia de la ferropenia teniendo en cuenta su prevalencia. Debe recordarse que al tratarse de un metabolismo cerrado la ausencia de las reservas puede persistir mucho tiempo sin llegar a la eritropoyesis ferropénica, gracias a la reutilización del hierro. No obstante, si se asume que deben existir unas reservas férricas en un individuo porque su falta tiene una implicación clínica, y para evitar que cualquier pérdida del hierro induzca una eritropoyesis ferropénica que pueda acabar en una anemia, entonces aparece el segundo problema, que esta vez es metodológico: en la

**Tabla XVII.** Rentabilidad diagnóstica de la concentración plasmática de la ferritina

	Autor	n° casos	población	diagnóstico definitivo	área ROC	estadística Bayesiana				
						Ef	sens	esp	PV+	PV-
ferropenia	Guyatt (124)	2579	adultos anémicos	M.O.	0,95	-	-	-	-	-
	Mast (143)	62	adultos anémicos	M.O., Tto Fe	-	-	92	98	92	98
	Burns (120)	301	adultos anémicos	M.O.	-	89	52	95	62	92
	Olivares (5)	515	hospitalizados niños	Hb, VCM, IST, FEP	0,67	-	64	61	-	-
	Hallberg (126)	203	H edad fértil	M.O.	-	91	75	98	-	-
	Patterson (153)	259	>65 años anémicos	M.O.	0,91	-	-	-	-	-
anemia ferropénica/ anemia enfermedades crónicas	Punnonen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,98	98	98	98	98	98
	Mast (143)	43	bajo VCM	clínica, Fert, sTfR, E de Hb	-	-	96	100	-	-
ferropenia en enfermedades crónicas	Punnonen (119)	129	adultos anémicos	M.O.	0,89	93	71	98	92	93
	Guyatt (125)	919	adultos anémicos	M.O.	0,93	-	-	-	-	-
	Kurer (147)	45	adultos anémicos	M.O.	-	-	86	90	-	-
cribado hemocromatosis	Dadone (176)	-	-	biopsia hepática	-	-	-	-	71	-
	Edwards (165)	25	adultos donantes de sangre	biopsia hepática	-	-	40	-	-	-

M.O. = examen microscópico de la médula ósea, Tto fe = tratamiento con hierro, Hb = concentración sanguínea de hemoglobina, Fert = concentración plasmática de ferritina, VCM = volumen corpuscular medio eritrocitario, IST = índice de saturación de transferrina, FEP = concentración de protoporfirina eritrocitaria libre, sTfR = concentración plasmática de receptor soluble de transferrina, E de Hb = electroforesis de hemobina, ef = eficiencia diagnóstica, sens = sensibilidad diagnóstica, esp = especificidad diagnóstica, PV+ = valor predictivo positivo, PV- = valor predictivo negativo.

**Tabla XVIII.** Cocientes de la probabilidad para la concentración plasmática de la ferritina en el diagnóstico de la ferropenia. Tomado de Guyatt et al, 1992 (124)

Ferritina (µg/L)	Cociente de probabilidad
>100	0,08
45<100	0,54
35<45	1,83
25<35	2,54
15<25	8,83
≤15	51,85

estimación de los valores de referencia de la ferritina a menudo suele emplearse un grupo de los pacientes que no han sido explorados mediante un procedimiento definitivo como el examen microscópico del aspirado medular; al contrario, se suelen usar magnitudes biológicas menos sensibles que la ferritina, como la hemoglobina o la capacidad de saturación de la transferrina, y dada la alta prevalencia de las ferropenias subclínicas algunos individuos presentes en el grupo de referencia pueden presentar estos procesos (152). Por ello los valores de referencia suelen tener un sesgo a la izquierda que lo aleja con-

siderablemente del valor discriminante óptimo para diagnosticar ferropenias (107); de esta manera, un estudio realizado sobre el proceso diagnóstico en la anemia ferropénica concluye que el intervalo de referencia conduce a una mala interpretación de la concentración plasmática de la ferritina (153). Suominen e Irjala proponen que la población usada en la estimación del intervalo sea un grupo de los pacientes previamente tratados con el hierro, y por lo tanto con las reservas del hierro llenas (154), en cuyo caso el límite inferior de referencia puede usarse eficientemente como un valor discriminante en el diagnóstico de la ferropenia.

Guyatt (124) afirma que las concentraciones inferiores a 15 µg/L confirman una ferropenia, y superiores a 100 µg/L la excluyen; Suominen et al (6) y Guyatt et al (124) proponen un valor discriminante entre 22 y 40 µg/L para el diagnóstico de la ferropenia sin un componente inflamatorio, y 70 µg/L para la ferropenia con un componente inflamatorio, valores superiores al tradicionalmente usado que se sitúa entre 12 y 20 µg/L. Una solución más exacta al problema es la utilización de los cocientes de probabilidad, que permiten el uso de múltiples niveles de decisión; la tabla XVIII muestra algunos ejemplos y la figura 33 el nomograma usado para el cálculo de la probabilidad post-prueba.

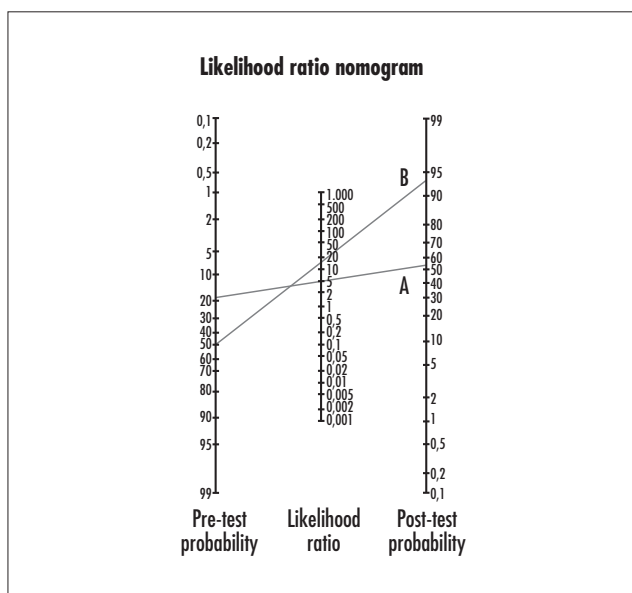


Figura 33 Nomograma para el cálculo de la probabilidad post-prueba

Un metaanálisis realizado en el año 1992 recoge los resultados de 55 estudios sobre un total de 2.579 pacientes en los que se usó el examen microscópico del aspirado medular como diagnóstico de certeza, y ofrece un área bajo la curva ROC de 0,95 en el diagnóstico de la anemia ferropénica. La ferritina resultó significativamente más eficaz para este propósito que el índice de la saturación de la transferrina, la protoporfirina eritrocitaria, la amplitud de la distribución del tamaño de los eritrocitos, y el volumen corpuscular medio de los eritrocitos (124). En los adultos anémicos, para un valor discriminante de 30  $\mu\text{g/L}$  se ha descrito una sensibilidad del 92 % y una especificidad del 96 %, y se ha postulado como el mejor indicador para este estado (147). En los adultos anémicos hospitalizados se ha descrito una sensibilidad del 52 % y una especificidad del 95 % para un valor discriminante de 25  $\mu\text{g/L}$  en hombres y 13  $\mu\text{g/L}$  en mujeres (120). En las mujeres de edad fértil se ha descrito una sensibilidad de 75 % y una especificidad de 98 % para un valor discriminante de 16  $\mu\text{g/L}$  (126). Patterson et al concluyeron que la ferritina era el mejor predictor de la probabilidad postprueba en el diagnóstico de la anemia ferropénica en los ancianos, con un área bajo la curva de 0,91; este valor resultó significativamente superior al hallado por los autores para el índice de la saturación de la transferrina, el volumen eritrocitario medio, y la protoporfirina eritrocitaria (125, 153). En los niños de 4 a 15 meses se ha descrito una sensibilidad de 64 % y una especificidad de 61 % (5). Así, diversos trabajos (120, 125, 155) y protocolos (156, 157), lo recomiendan como prueba de elección en el diagnóstico de la ferropenia, o para el cribado de la anemia ferropénica, conjuntamente con la hemoglobina (158).

Existen diversos estudios que evalúan la contribución de cada magnitud con independencia de las otras en el diagnóstico de la ferropenia mediante el análisis de la regresión, y en todos ellos la ferritina resulta ser la magnitud más valiosa. Antes de la introducción del receptor soluble de la transferrina, Beck et al concluyeron que la medida de la ferritina y el volumen corpuscular medio de los eritrocitos tenían suficiente valor diagnóstico; en caso de que este diagnóstico no fuera

claro, el hierro sérico, la capacidad de la saturación de la transferrina y la eritrosedimentación contribuían significativamente (159). Charache et al combinaron el volumen eritrocitario medio, la amplitud de la distribución del volumen eritrocitario, la transferrina y la ferritina, y en otra aproximación el volumen medio eritrocitario, el índice de la saturación de la transferrina, la eritrosedimentación y la ferritina; en ambos casos la ferritina resultó el mejor predictor del hierro medular (160). Este último trabajo emplea un marcador de la inflamación para interpretar las concentraciones de la ferritina, dado que ésta se eleva en las inflamaciones (apartado 3.4). En este mismo sentido Witte et al concluyeron que el uso conjunto de la ferritina y la eritrosedimentación era más útil que el uso de la ferritina sola en la predicción de las reservas medulares del hierro en pacientes hospitalizados (161, 162). Posteriormente a la introducción del receptor soluble de la transferrina, otro análisis logístico discriminante ha investigado qué combinación de magnitudes era la más eficiente en la distinción entre la anemia ferropénica y la anemia de las enfermedades crónicas, y la detección de la ferropenia en las enfermedades crónicas, y ha evidenciado que el uso del receptor soluble de la transferrina, la ferritina y la eritrosedimentación es el más adecuado (163). El receptor soluble de la transferrina se revela entonces como una variable estadísticamente significativa en un modelo óptimo para los fines indicados.

#### Diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica y la de las enfermedades crónicas

También se puede utilizar en el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica y la de las enfermedades crónicas, habiéndose descrito un área de curva ROC de 0,98 (119), o una sensibilidad del 96 y especificidad del 100 % (147). Evidentemente esta habilidad se vale de la baja concentración plasmática de la magnitud en la anemia ferropénica y la alta en los procesos inflamatorios.

#### Detección de la ferropenia en la anemia de las enfermedades crónicas

Debido a su carácter de reactante de fase aguda, la concurrencia de una ferropenia con una enfermedad inflamatoria, aguda o crónica restan sensibilidad a esta magnitud en cuanto a marcador de la ferropenia (147). En este sentido puede correlacionarse con la concentración plasmática de los reactantes de la fase aguda y la actividad de la enfermedad (148). La falta de sensibilidad se ha intentado soslayar por diferentes autores elevando el valor discriminante (124), aunque, según algunos autores, el solapamiento de los valores mejora sólo parcialmente (47). Se ha descrito un área bajo la curva ROC de 0,89 (119) y 0,93 (124).

#### Monitorización del tratamiento con hierro

Un inconveniente de la ferritina es su elevado coeficiente de la variación intraindividual, 14,9 %, que limita su uso al comparar el valor actual con el precedente y, por tanto, su uso en la monitorización del tratamiento de la anemia ferropénica (129).

En los últimos veinte años se han producido extensos debates a cerca de la posible asociación entre las reservas férricas y el riesgo de la enfermedad cardiovascular. Numerosos estudios epidemiológicos realizados en los diferentes países han intentado establecer el papel de la ferritina como un factor de riesgo independiente. El estado actual del conocimiento deri-

vado de la mayoría de estos estudios parece desestimar tal teoría (164).

#### *Cribado de la hemocromatosis hereditaria*

La ferritina no constituye un marcador muy efectivo en el cribado de la hemocromatosis, con una sensibilidad del 40 % (165).

### **METROLOGÍA O CÁLCULO DE LAS MAGNITUDES BIOLÓGICAS PROTEICAS USADAS EN LA EXPLORACIÓN DEL METABOLISMO DEL HIERRO**

#### **Transferrina**

Entre los principios de medida más utilizados para esta proteína está la inmunonefelometría e inmunoturbidimetría. Desde 1993 existe un material de referencia certificado para la transferrina y 13 proteínas más, el CRM 470, preparado por la Oficina Comunitaria de Referencia (BCR) y distribuido por el Instituto para Materiales y Medidas de Referencia (IRMM) de la Comisión Europea. Ha sido elaborado a partir de los sueros de varios centenares de individuos de cinco ciudades europeas, y se ha asignado su valor a partir de la medida de varias diluciones de un material de referencia primario, en este caso la proteína pura. En consecuencia, se trata de un material de referencia secundario, a partir del cual se asignan los valores de los calibradores (constituyendo los patrones terciarios) y los controles de los fabricantes. De esta manera, los resultados obtenidos por los laboratorios son trazables a los calibradores usados, al CRM 470, y a la proteína pura (166).

#### **Capacidad total de saturación de transferrina**

La correlación entre la concentración plasmática de la transferrina y la capacidad de la saturación de la transferrina es buena, habiéndose descrito un valor para  $r^2$  de 0,941 y 0,968 según los procedimientos de medida usados (167). Ello ha permitido que la capacidad de la saturación de la transferrina se mida como tal o que, en muchos centros, se calcule a partir de la concentración plasmática de transferrina. Hay autores que recomiendan calcularla y no medirla al hallar un error aleatorio en el procedimiento de la medida de la capacidad de la saturación de la transferrina mayor que en el de la transferrina (121). Asimismo, se ha descrito que en circunstancias de una acumulación del hierro del organismo, la ferritina plasmática puede unirse al hierro elevando la medida de la capacidad de la saturación de la transferrina sin que medie un aumento de la concentración plasmática de la transferrina (121).

También el cálculo de la capacidad de la saturación de la transferrina puede contener diferentes formas de error: la molécula de la transferrina posee dos grupos glucídicos que se modifican por la acción de unas glucotransferasas, y varias circunstancias pueden modificar el tamaño de estos residuos, por lo que el peso molecular puede variar según la bibliografía consultada. Otra fuente de error es la presunción del número de los iones férricos que van a unirse a una molécula de la transferrina; tal como ya se ha mencionado (apartado 5.2), las reservas férricas del organismo determinan que predomine la apo, mono o ditransferrina, por lo que toda cifra usada en el cálculo constituye únicamente una aproximación. La proporción de dos iones férricos por una molécula de transferrina es la más usada (167, 168), por lo que a menudo se emplea la fórmula:

$$\text{CTST } (\mu\text{mol hierro/L}) = \text{Transferrina } (\mu\text{mol/L}) \times 2$$

Aceptando una masa molecular de 79570 Da (40) la fórmula queda como:

$$\text{CTST } (\mu\text{mol hierro/L}) = \text{Transferrina } (\text{g/L}) \times 25,1$$

No obstante, existen bastantes trabajos que estudian la relación empírica entre ambas magnitudes y muestran resultados bastante dispersos del factor que multiplica a la transferrina, desde 11,3 a 26,1 (168, 169). Algunos autores atribuyen esta dispersión al error aleatorio de los procedimientos de medida usados para las dos magnitudes y al uso de los calibradores poco adecuados, desechando la posibilidad de que el número de los cationes férricos que reaccionan por molécula de transferrina pueda variar (167).

#### **Índice de saturación de transferrina**

Es un cálculo entre la concentración plasmática del hierro y la capacidad de saturación de transferrina o la concentración plasmática de transferrina. Puede expresarse en forma de cociente, o, más corrientemente, de porcentaje.

$$\text{IST} = \frac{\text{Hierro } (\mu\text{mol/L})}{\text{CTST } (\mu\text{mol hierro/L})} \times 100$$

$$\text{IST} = \frac{\text{Hierro } (\mu\text{mol/L})}{\text{Transferrina } (\mu\text{mol/L}) \times 2} \times 100$$

$$\text{IST} = \frac{\text{Hierro } (\mu\text{mol/L})}{\text{Transferrina } (\text{g/L}) \times 25,1} \times 100$$

#### **Receptor soluble de transferrina**

Los principios de medida de esta magnitud biológica son el radioinmunoanálisis (168), el enzimoimmunoanálisis heterogéneo no competitivo tipo sándwich de antígeno utilizando los anticuerpos de captura mono (128, 131, 147, 170) o policlonales (130), la inmunonefelometría y la inmunoturbidimetría con los anticuerpos de captura policlonales (147).

No existe, hasta la fecha, materiales de referencia certificados para el receptor soluble de la transferrina, ni tampoco consenso entre los fabricantes sobre la obtención de los calibradores (135). Algunos utilizan complejos diméricos receptor soluble de la transferrina-transferrina unidos por un puente disulfuro, aislados a partir de la placenta humana (130, 131) o del suero humano (147); mientras que otros utilizan monómeros del receptor soluble obtenidos a partir del suero humano (128). La disparidad de los valores de referencia y los valores críticos, dependiendo del calibrador y la marca comercial usados, dificulta la implantación del uso clínico de esta magnitud. El descubrimiento reciente sobre las variaciones en la composición del receptor soluble de transferrina según la homeostasis del hierro del paciente (apartado 3.2) podría tener implicaciones en la estandarización de los sistemas de medida y las recomendaciones sobre la estabilidad del espécimen (50).

#### **Ferritina**

Los principios de medida más utilizados para esta proteína son el enzimoimmunoanálisis heterogéneo no competitivo tipo sánd-

wich de antígeno, el radioinmunoanálisis, el fluoroinmunoanálisis heterogéneo, el fluoroinmunoanálisis no competitivo, el quimioluminoinmunoanálisis, la inmunoturbidimetría y la inmunonefelometría. Existen varios materiales de referencia preparados por la Oficina Comunitaria de Referencia (BCR) a partir de la ferritina humana del hígado o el bazo, y certificados por la Organización Mundial de la Salud: WHO 80/602 (171), WHO 80/578, y además un material preparado por el Instituto Nacional de Patrones Biológicos y Control (NIBSC) a partir de la ferritina recombinante: NIBSC 94/572 (172). Los calibradores y los controles disponibles comercialmente para la ferritina constituyen patrones secundarios trazables a estas preparaciones.

## CONCLUSIÓN

La transferrina en relación al transporte, la ferritina en relación a la reserva y la detoxificación, y el receptor de la transferrina en relación a la entrada y uso celular son tres moléculas fundamentales en el metabolismo del hierro. No obstante, en los últimos años se ha avanzado hacia una mayor comprensión del metabolismo del hierro por el descubrimiento de nuevas moléculas y de nuevas funciones de moléculas ya conocidas. Entre estas proteínas está HFE, que disminuye el paso del hierro a través de la membrana que lleva a cabo el receptor de la transferrina; Nramp2, que moviliza el hierro unido a transferrina presente en los endosomas en el ciclo endosómico y transfiere el hierro en la membrana basolateral del enterocito; ferroportina 1 que transporta el hierro del enterocito a la sangre, oxidándolo posteriormente la hephaestina; SFT facilita la captación del hierro de forma muy específica.

Las proteínas IRP-1 e IRP-2 se unen a las estructuras IRE en la región no codificada 3' del ARNm que codifica para moléculas como el receptor de la transferrina, DMT1, ferroportina 1, hephaestina y SFT, o 5' de moléculas como ferritina, 5-aminolevulinato sintasa eritrocitaria, y aconitasa mitocondrial constituyendo un mecanismo de la regulación hierro-dependiente. Además, existen mecanismos independientes del hierro basados principalmente en el aumento de la transcripción de los genes.

La ferropenia es la deficiencia nutricional más prevalente en el mundo, y es la única deficiencia nutricional con una prevalencia significativa en todos los países industrializados. En los niños de 1 a 3 años, los adolescentes, las mujeres fértiles y los ancianos (especialmente los institucionalizados), la ferropenia y la anemia ferropénica continúan siendo trastornos nutricionales muy prevalentes. La población con escasos recursos económicos y los enfermos hospitalizados tienen un mayor riesgo de padecer alguno de estos procesos. El diagnóstico correcto de la ferropenia y la anemia ferropénica es de gran importancia por las consecuencias clínicas que comportan, y por asociarse a las enfermedades graves. La hemocromatosis hereditaria es una de las anomalías hereditarias más frecuentes, y su diagnóstico es también de gran importancia ya que sin tratamiento se puede complicar gravemente.

El clínico dispone de magnitudes biológicas que permiten el cribado, el diagnóstico, y la monitorización de las alteraciones del metabolismo férrico (127); a pesar de ello, se ha descrito que en los hospitales la anemia ferropénica es ignorada o investigada de una forma deficiente en un importante porcentaje de los casos (14). Entre las actividades asistenciales del laboratorio clínico, la vertiente semiológica (173) supone una actualización constante por parte de sus facultativos. La alta

prevalencia de las alteraciones del metabolismo del hierro y la frecuencia del uso de las magnitudes que la evalúan, hacen necesaria una actualización de tales conocimientos.

La mayor aplicación semiológica de la transferrina se encuentra en el diagnóstico diferencial de la anemia; en menor grado contribuye a la detección de la ferropenia en la anemia ferropénica y la de las enfermedades crónicas.

La principal aplicación clínica de la capacidad de la saturación de la transferrina es el cribado de la hemocromatosis hereditaria; además se utiliza en el cálculo del índice de la saturación de la transferrina. Este índice también se emplea con gran eficacia para cribar la hemocromatosis hereditaria, como un marcador de la eritropoyesis ferropénica, y en el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica y la anemia de las enfermedades crónicas; su gran variabilidad biológica y poca sensibilidad diagnóstica hacen recomendable que se reemplace por el receptor soluble de la transferrina.

El receptor soluble de transferrina se utiliza en la estimación de la masa eritroblástica, y la detección de la eritropoyesis ferropénica (especialmente en la mujer embarazada y el niño); además muestra una gran habilidad en el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica con la de las enfermedades crónicas sin un componente ferropénico, y en la detección de la ferropenia en la anemia de las enfermedades crónicas. No existe, hasta la fecha, materiales de referencia certificados para el receptor soluble de la transferrina, ni tampoco consenso entre los fabricantes sobre la obtención de los calibradores. Las últimas aplicaciones clínicas mencionadas del receptor soluble de la transferrina pueden verse mejoradas si se emplea alguno de los índices que lo relacionan con la ferritina.

La ferritina es un marcador de los depósitos tisulares férricos y se utiliza en el cribado y el diagnóstico de las ferropenias, aunque su concentración plasmática debe examinarse conjuntamente con un marcador de la inflamación, dado que se eleva en las inflamaciones. También se puede utilizar en el diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica y la de las enfermedades crónicas, y en la detección de la ferropenia en la anemia de las enfermedades crónicas. Su elevado coeficiente de variación intraindividual limita su aplicación en la monitorización del tratamiento de la anemia ferropénica. Por lo que se refiere a la hemocromatosis hereditaria, su contribución estriba en la estimación de las reservas férricas de los enfermos siendo poco sensible para el cribado.

## AGRADECIMIENTOS

Miguel García Montes, Cecilia Martínez Brú, Luís Borque de Larrea, Mariano Cortés Rius, M<sup>a</sup> Angeles Diéguez Junquera, Isabel Llompart Alabern, Teresa Rodríguez González, José Antonio Viedma Contreras, José María Queraltó Compañó, Josep Burgés Montserrat, Angel Remacha.

## BIBLIOGRAFIA

1. Vives Corrons JL. Anemia ferropénica y otros trastornos del metabolismo del hierro. En: Sans-Sabrafen J. Hematología clínica. Madrid: Mosby Doyma, 1994; 111-30.
2. Department of Chemistry, University of Washington. Iron in Biology: Iron content in ferritin, the iron storage protein, 1998. <<http://wunmr.wustl.edu/EduDev/ferritin/>>
3. De Maeyer E, Adiels-Tengman M. The prevalence of anemia in the world. World Health Stat Q 1985; 38: 302-16.
4. Cook JD. Iron-deficiency anaemia. Baillière's Clinical Haematology 1994; 7(4): 787-801.



5. Olivares M, Walter T, Cook JD, Hertrampf E, Pizarro F. Usefulness of serum transferrin receptor and serum ferritin in diagnosis of iron deficiency in infancy. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1191-5.
6. Suominen P, Punnonen K, Rajamäki A, Irjala K. Serum transferrin receptor and transferrin receptor-ferritin index identify healthy subjects with subclinical iron defects. *Blood* 1998; 92(8): 2934-9.
7. Center of Disease Control. Recommendations to prevent and control deficiency in the United States. *MMWR* 47 (RR-3); 1-36. 04/03/1998. <ftp://ftp.cdc.gov/pub/Publications/mmwr/rr/rr4703.pdf>
8. Rokey DC, Cello JP. Evaluation of the gastrointestinal tract in patients with iron-deficiency anemia. *N Eng J Med* 1993; 329: 1691-5.
9. Niederau C, Fischer R, Sonnenhellberg A, Stremmel W, Trampich HJ, Stroeyer G. Survival and causes of death in cirrhotic and non-cirrhotic patients with primary hemochromatosis. *N Eng J Med* 1985; 313: 1256-62.
10. Andrews NC, Levy JE. Iron is hot: an update on the pathophysiology of hemochromatosis. *Blood* 1998; 92: 1845-51.
11. Ponka P, Beaumont C, Rihardson DR. Function and regulation of transferrin and ferritin. *Sem Hematol* 1998; 35: 35-54.
12. Yip R. Iron nutritional status defined. En: Filer LJ Jr, ed. *Dietary iron: birth to two years*. New York, NY: Raven Press, 1989:19-36.
13. Goodnough LT, Skikne B, Brugnara C. Erythropoietin, iron, and erythropoiesis. *Blood* 2000; 96(3): 823-33.
14. Smieja MJ, Cook DJ, Hunt DJ, Ali MAM, Guyatt GH. Recognizing and investigating iron-deficiency anemia in hospitalized elderly people. *Can Med Assoc* 1996; 155: 691-6.
15. World Health Organization. Iron deficiency anaemia. Assessment, prevention, and control. A guide for programme managers. WHO/NH D/01.3, 2001. <http://www.who.int/nut/documents/ida\_assessment\_prevention\_control.pdf>
16. Committee on iron deficiency. Iron deficiency in the United States. *JAMA* 1968; 203: 119-24.
17. Dallman PR, Yip R, Jonson C. Prevalence and causes of anaemia in the United States, 1976 to 1980. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 437-45.
18. Looker AC, Dallman PR, Carroll M, Gunter EW, Jonson CL. Prevalence of iron deficiency in the United States. *JAMA* 1997; 277: 973-6.
19. González de Aledo A, Rollán A, Bonilla C. Estudio prospectivo sobre la prevalencia de la ferropenia en lactantes de Cantabria, su relación con la introducción de la leche de vaca y el desarrollo psicomotor. *An Esp Pediatr* 1990; 32: 24-7.
20. Lafuente P, Ojembarrena E, Sasieta M, Pinan MA, Urreta MJ, Lombardero JL. Anemia and depletion of iron reserves in healthy 12-month-old infants. *An Esp Pediatr* 1992; 37(1): 24-8.
21. Requejo AM, Navia B, López-Sobaler AM, Quintas E, Gaspar MJ, Osorio O. The age at which meat is first included in the diet affects the incidence of iron deficiency and ferropenic anaemia in a group of pre-school children from Madrid. *Int J Vitam Nutr Res* 1999; 69: 127-31.
22. Hermosa V, Mazo E, Bureo E, Carril JJ, Cordovilla J, Zubizarreta A. Estudio prospectivo sobre la prevalencia de la ferropenia en Cantabria entre niños de seis a catorce años. *An Esp Pediatr* 1987; 27: 275-80.
23. Aranceta J, Pérez C, Marzana I, Egileor I, Gondra J, González L, Sáenz de Buruaga J. Prevalencia de anemia ferropénica en el País Vasco. *Aten Primaria* 1998; 22: 353-61.
24. Bermejo B, Olona M, Serra M, Carrera A, Vaque J. Prevalence of iron deficiency in the female working population in the reproductive age. *Rev Clin Esp* 1996; 196: 446-50.
25. Serra LI, Ribas L, García R, Ramón JM, Salvador G, Farrán A et al. Llibre blanc: avaluació de l'estat nutricional de la població catalana 1992-1993: avaluació dels hàbits alimentaris, consum d'aliments, energia i nutrients i de l'estat nutricional mitjançant indicadors bioquímics i antropomètrics. Barcelona: Direcció General de Salut Pública i Departament de Sanitat i Seguretat Social, Generalitat de Catalunya, 1995.
26. Quintas ME, Requejo AM, Ortega RM, Redondo MR, López-Sobaler AM, Gaspar MJ. The female Spanish population; a group at risk of nutritional iron deficiency. *Int J Food Sci Nutr* 1997; 271-9.
27. Arija V, Fernández J, Salas J. Carencia del hierro y anemia ferropénica en la población española. *Med Clin (Barc)* 1997; 109: 425-30.
28. Velati C, Piperno A, Fargion S, Colombo S, Fiorelli G. Prevalence of idiopathic hemochromatosis in Italy: study of 1301 blood donors. *Haematologica* 1990; 75: 309-12.
29. Wiggers P, Dalhøj J, Kiaer H, Ring-Larsen H, Petersen PH, Blaabjerg O, Hørdér M J. Screening for hemochromatosis: prevalence among Danish blood donors. *Intern Med* 1991; 230: 265-70.
30. Benn HP, Nielsen P, Fischer R, Schwarz D, Engelhardt R, Darda C, Dittmer R, Knödler B, Gabbe EE, Kühnl P. Screening for hereditary hemochromatosis in prospective blood donors. *Beitr Infusionsther Transfusionsmed* 1994; 32: 314-6.
31. Nielsen P, Carpinteiro S, Fischer R, Cabeda JM, Porto G, Gabbe EE. Prevalence of the C282Y and H63D mutations in the HFE gene in patients with hereditary haemochromatosis and in control subjects from Northern Germany. *Br J Haematol* 1998; 103: 842-5.
32. Bradley LA, Johnson DD, Palomaki GE, Haddow JE, Robertson NH, Ferrie RM. Hereditary haemochromatosis mutation frequencies in the general population. *J Med Screen* 1998; 5: 34-6.
33. Martínez-Vázquez C, Martínez Cadilla J, Gil M, Sopeña B, Torres J, Cordeiro E, Seijas M, de la Fuente J, Méndez MJ. Prevalence of hereditary hemochromatosis among healthy workers. Diagnostic value of transferrin saturation assay. *An Med Interna* 2000; 17: 628-31.
34. Sánchez M, Bruguera M, Bosch J, Rodés J, Ballesta F, Oliva R. Prevalence of the Cys282Tyr and His63Asp HFE gene mutations in Spanish patients with hereditary hemochromatosis and in controls. *J Hepatol* 1998; 29:725-8.
35. Moreno L, Vallcorba P, Boixeda D, Cabello P, Bermejo F, San Román C. The usefulness of the detection of Cys282Tyr and His63Asp mutations in the diagnosis of hereditary hemochromatosis. *Rev Clin Esp* 1999; 199: 632-6.
36. Guix P, Picornell A, Parera M, Galmes A, Obrador A, Ramon MM, Castro JA. Distribution of HFE C282Y and H63D mutations in the Balearic Islands (NE Spain). *Clin Genet* 2002; 61:43-8.
37. Fábrega E, Castro B, Sánchez-Castro L, Benito A, Fernández-Luna JL, Pons-Romero F. The prevalence of the Cys282Tyr mutation in the hemochromatosis gene in Cantabria in patients diagnosed with hereditary hemochromatosis. *Med Clin (Barc)* 1999; 112: 451-3.
38. De Juan D, Reta A, Castiella A, Pozueta J, Prada A, Cuadrado E. HFE gene mutations analysis in Basque hereditary haemochromatosis patients and controls. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 961-4.
39. Huebers HA, Finch C. The physiology of transferrin and transferrin receptors. *Physiol Rev* 1987; 67: 521-69.
40. McGillivray RTA, Mendez E, Shewale JG, Sinha SK, Lineback-Zins J, Brew K. The primary structure of human serum transferrin. *J Biol Chem* 1983; 258: 3543-53.
41. Anton RF. Carbohydrate-deficient transferrin for the detection and monitoring of sustained heavy drinking. What have we learned? Where do we go from here? *Alcohol* 2001;25(3): 185-8.
42. Van der Heul C, Kroos MJ, Van Noort WL, Van Eijk HG. No functional difference of the two iron-binding sites of human transferrin in vitro. *Clin Sci (Lond)* 1981; 60(2): 185-90.
43. Bauer JD. Hemoglobina, porfirina y metabolismo del hierro. En: Kaplan LA, Pesce AJ. *Química clínica. Técnicas de laboratorio, fisiopatología, métodos de análisis*. Buenos Aires: Panamericana, 1986; 721-73.
44. Aguzzi F, Merlini G. Aspectos clínicos del análisis de las proteínas plasmáticas. Milan: Fabio Mainardi, 1990.
45. Feelders RA, Kuiper-Kramer E, van Eijk HG. Structure, function and clinical significance of transferrin receptors. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37(1):1-10.
46. Testa U, Pelosi E, Peschle C. The transferrin receptor. *Crit Rev Oncogen* 1993; 4: 241-76.
47. Young SP, Bomford A, Williams R. The effect of the iron saturation of transferrin on its binding and uptake by rabbit reticulocytes. *Biochem J* 1984; 218:505-19.
48. Raya G, Henny J, Steinmetz J, Herbeth B, Siest G. Soluble transferrin receptor (sTfR): biological variations and reference limits. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39(11): 1162-8.
49. Means RT, Krantz SB. Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease. *Blood* 1992; 80: 1639-47.
50. Kato J, Kobune M, Kohgo Y, Fujikawa K, Takimoto R, Torimoto Y et al. Ratio of transferrin (Tf) to Tf-receptor complex in circulation differs depending on Tf iron saturation. *Clin Chem* 2002; 48: 181-3.
51. Fleming RE, Migas MC, Holden CC, Waheed A, Britton RS, Tomatsu S et al. Transferrin receptor 2: continued expression in mouse liver in the face of iron overload and in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2214-9.
52. Han O, Fleet JC, Wood RJ. Reciprocal regulation and Nramp2 gene expression by iron in human intestinal cells. *J Nutr* 1999; 129: 98-104.
53. Bennett MJ, Lebrón JA, Bjorkman PJ. Crystal structure of the hereditary haemochromatosis protein HFE complexed with transferrin receptor. *Nature* 2000; 403: 46-52.
54. Mc Laren GD. Iron storage proteins and iron overload. *Curr Hematol Oncol* 1988; 6: 185-230.
55. Dinarello CA. Interleukin-1. *Rev Infect Dis* 1984; 6(1): 51-95.
56. Levi S, Corsi B, Bosisio M, Invernizzi R, Volz A, Sanford D, Arosio P, Drysdale J. A human mitochondrial ferritin encoded by an intronless gene. *The Journal of biological chemistry* 2001; 270(27): 24437-40.
57. Fleming MD, Trenor CC, Su MA, Foerzler D, Beier DR, Dietrich WF, Andrews NC. Microcytic anaemia mice have a mutation in

- Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet* 1997; 16: 383-6.
58. Gunshin H, MacKenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Borron WF et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-iron transporter. *Nature* 1997; 388: 482-8.
  59. Donovan A, Brownlie A, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH et al. Zebrafish *Weissherbst* encodes a novel multiple transmembrane domain protein required for iron transport during embryogenesis. *Blood* 1999; 94 (supl 1): 643 a.
  60. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt S, Moynihan J et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin 1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403: 776-81.
  61. Vulpe CD, Kuo Y-M, Murphy TL, Cowley L, Askwith C, Libina N et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the *sla* mouse. *Nature genetics* 1999; 21: 195-9.
  62. Yu J, Wessling-Resnick M. Structural and functional analysis of SFT, a stimulator of Fe transport. *J Biol Chem* 1998; 273: 21380-5.
  63. Kühn CK. Molecular regulation of iron proteins. *Baillière's Clin Haematol* 1994; 7: 763-85.
  64. Attieh ZK, Mukhopadhyay CK, Seshadi V, Tripoulast NA, Fox PL. Ceruloplasmin ferroxidase activity stimulates cellular iron uptake by a trivalent cation-specific transport mechanism. *J Biol Chem* 1999; 274: 1116-23.
  65. Baker HM, Anderson B, Baker E. Dealing with iron: Common structural principles in proteins that transports iron and heme. *Prod Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 3579-83.
  66. Tolosano E, Altruda F. Hemoexin: structure, function and regulation. *DNA Cell Biol* 2002; 21: 297-306.
  67. McPherson RA. Specific proteins. En: Bernard Henry J. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 20ª Ed. Philadelphia: Saunders, 2001: 249-63.
  68. Delanghe JR, Langlois MR. Hemoexin: a review of biological aspects and the role in the laboratory medicine. *Clin Chim Acta*; 2001: 13-23.
  69. Levay PF, Viljoen M. Lactoferrin: a general review. *Haematologica* 1995; 80: 252-67.
  70. Weissman G, Smolen JE, Korchak HM. Release of inflammatory mediators from stimulated neutrophils. *N Eng J Med* 1980; 303(1): 27-34.
  71. Laurent PE. Induction et régulation de la réaction inflammatoire systémique. *Ann Biol Clin* 1988; 329-335.
  72. Caccavo D, Pellegrino, Altamura M, Rigon A, Amati L, Amoroso A, Jirillo E. Antimicrobial and immunoregulatory functions of lactoferrin and its potential therapeutic application. *J Endotoxin Res* 2002; 8: 403-17.
  73. Natan C, Cohn Z. Cellular components of inflammation: monocytes and macrophages. En: Kelley W, Harris E, Rddy S, Sledge C. *Textbook of rheumatology*, 2ª Ed, vol 1. Filadelfia: Saunders, 1985; 144-69.
  74. Britigan BE, Serody JS, Cohen MS. The role of lactoferrin as an anti-inflammatory molecule. *Adv Exp Med Biol* 1994; 357: 143-56.
  75. Nicolas G, Bannoun 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. *Prod Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 8780-5.
  76. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem* 2003; 49: 1573-8.
  77. Gehrke SG, Kulaksiz H, Hermann T, Riedel H-D, Bents K, Veltkamp C, Stremmel W. Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to non-transferrin-bound iron. *Blood* 2003; 102: 371-6.
  78. Krishnamoorthy T, Pavitt GD, Zhang F, Dever TE, Hinnebusch AG. Tight binding of the phosphorylated a-subunit of initiation factor 2 (eIF2a) to the regulatory subunits of guanine nucleotide exchange factor eIF2a is required for inhibition of translation initiation. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 5018-30.
  79. Han A-P, Yu C, Lu L, Fujiwara Y, Browne C, Chin G et al. Heme-regulated eIF2a (HRI) is required for translational regulation of erythroid precursors in iron deficiency. *EMBO Journal* 2001; 20: 6909-18.
  80. Fairbanks V, Klee G. *Biochemical aspects of hematology*. En: Burtis CA, Ashwood ER. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 3ª ed. Philadelphia: Saunders 1999.
  81. Bauer JD. Investigación de laboratorio de la hemoglobina. En: Sonnenwirth AC, Jarett L. *Métodos y diagnósticos del laboratorio clínico*. 8ª ed. Buenos Aires: Panamericana 1983.
  82. Stryer L. *Biochemistry*. 3ª ed. New York: Freeman 1988.
  83. Martínez JM, Palencia MT. Hierro y hemoglobina. En: Fuentes X, Castiñeiras MJ, Queraltó JM. *Bioquímica clínica y patología molecular*. 2ª ed. Barcelona: Reverté 1998.
  84. Horton R, Moran L, Ochs R, Rawn D, Scrimgeour G. *Principles of biochemistry*. 3ª ed. Upper Saddle River: Prentice Hall 2001.
  85. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Eng J Med* 1999; 341: 1986-95.
  86. Bridges KR, Bunn F. Anemias with disturbed iron metabolism. En: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL. *Harrison's principles of internal medicine*. 13ª Ed. New York: Mc Graw Hill, 1994; 1717-21.
  87. McKie AT, Barrow D, Pountney D, Bornford A, Farzneh F, Peters T et al. Molecular cloning of a B-type cytochrome reductase implicated in iron absorption from mouse duodenal mucosa. *Bioiron Sorrento* 1999; 95.
  88. Riedel H-D, Remus AJ, Fitscher BA, Stremmel W. Characterization and partial purification of a ferrereductase from human duodenal microvillus membranes. *Biochem J* 1995; 309: 745-8.
  89. Zoller H, Pietrangello A, Vogel W, Weiss G. Duodenal metal-transporter (DMT-1, Nramp-2) expression in patients with hereditary haemochromatosis. *Lancet* 1999; 353: 2120-3.
  90. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood* 1994; 84: 1697-1702.
  91. Sciot R, Van Eyken P, Desmet VJ. Transferrin receptor expression in normal and iron overloaded liver. *APMIS suppl* 1991; 23: 21-31.
  92. Kaplan J, Jordan I, Sturrock A. Regulation of the transferrin-independent iron transport system in cultures cells. *J Biol Chem* 1991; 266(5): 2997-3004.
  93. Remacha AF, Altés A. Nuevos avances en la patología de las alteraciones del metabolismo del hierro. *Haematologica* ed. esp 2000; 85: 25-31.
  94. Tietz N. *Clinical guide to laboratory tests*. Philadelphia: Saunders, 1995.
  95. Florensa L, Woessner S. Hematopoyesis y linfopoyesis. Morfología de los elementos formes de la sangre y órganos hematopoyéticos. En: Sans-Sabrafen J. *Hematología clínica*. Madrid: Mosby Doyma, 1994; 111-30.
  96. Bunn F. Pathophysiology of the anemias. En: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL. *Harrison's principles of internal medicine*. 13ª Ed. New York: Mc Graw Hill, 1994; 1717-21.
  97. Thomas C, Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnostic of functional iron deficiency. *Clin Chem* 2002; 48: 1066-76.
  98. Bothwell TH, Charlton RW, Cook JD, Finch CA. *Iron metabolism in man*. Oxford, U.K.: Blackwell Scientific, 1979.
  99. Skikne BS, Flowers CH, Cook JD. Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood* 1990; 75: 1870-6.
  100. Bentley DP. Iron metabolism and anaemia in pregnancy. *Clin Haematol* 1985; 14: 613-28.
  101. Institute of Medicine. *Iron deficiency anemia: recommended guidelines for the prevention, detection, and management among U.S. children and women of childbearing age*. Washington, DC: National Academy Press, 1993.
  102. Feightner JW. Prevention of iron deficiency anemia in infants. En: Canadian Task Force on the Periodic Health Examination. *The Canadian guide to clinical preventive health care*. Ottawa: Canada Communication Group, 1994:244-55. <[http://www.hc-sc.gc.ca/hppb/healthcare/pubs/clinical\\_preventive/](http://www.hc-sc.gc.ca/hppb/healthcare/pubs/clinical_preventive/)>
  103. American Academy of Pediatrics, Committee on Practice and Ambulatory Medicine. Recommendations for preventive pediatric health care. *Pediatrics* 1995;96:373-4.
  104. American Academy of Family Physicians. *Age charts for periodic health examination*. Kansas City, MO: American Academy of Family Physicians, 1994. (Reprint no. 510).
  105. Dallman PR, Yip R, Oski FA. Iron deficiency and related nutritional anemias. En: Nathan DG, Oski FA, eds. *Hematology of infancy and childhood*. 4ª Ed. Philadelphia: WB Saunders, 1993: 413-50.
  106. Eaton SB, Konner M. Paleolithic nutrition. A consideration of its nature and current implications. *N Eng J Med* 1985; 312: 283-9.
  107. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A et al. A novel MHC class-I like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature Genet* 1996; 13: 399-408.
  108. Lyon E, Frank EL. Hereditary hemochromatosis since discovery of the HFE gene. *Clin Chem* 2001; 47(7): 1147-56.
  109. Wallach JB. *Interpretation of diagnostics tests*. Boston: Little, Brown and Company, 1996; 293-451.
  110. Powell LW, Isselbacher KJ. Hemochromatosis. En: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL. *Harrison's principles of internal medicine*. 13ª Ed. New York: Mc Graw Hill, 1994; 1717-21.
  111. Gordeuk V, Mukiibi J, Hasstedt SJ et al. Iron overload in Africa: interaction between a gene and dietary iron content. *N Eng J Med* 1992; 326: 95-100.
  112. Cazzola M, Ponchio L, de Benedetti F, Ravelli A, Rosti V, Beguin Y, Invernizzi R, Barosi G, Martini A. Defective iron supply for erythropoiesis and adequate endogenous erythropoietin production in the

- anemia with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Blood* 1996; 87: 4824-30.
113. Brugnara C. A hematologic «gold standard» for iron-deficient states? *Clin Chem* 2002; 981-2.
  114. Ahluwalia N, Lamni-Keefe CJ, Bendel RB, Morse EE, Beard JL, Haley NR. Iron deficiency and anemia of chronic disease in elderly women: a discriminant-analysis approach for differentiation. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 590-6.
  115. Haskins D, Stevens AR, Finch S, Finch CA. Iron stores in man as measured by phlebotomy. *J Clin Invest* 1952; 31: 543.
  116. Brittenham GM, Farrell DE, Harris JW, Feldman ES, Danish EH, Muer WA et al. Magnetic susceptibility measurements of human iron stores. *N Eng J Med* 1982; 307: 1671
  117. Macdougall I, Cavill I, Hulme B, Bain B, Mc Gregor, McKay et al. Detection of functional iron deficiency during erythropoietin treatment: a new approach. *B Med J* 1992; 304: 225-6
  118. Brugnara C, Zurakowski D, Boyd T, Platt O. Reticulocyte hemoglobin content to diagnose iron deficiency in children. *JAMA* 1999; 281: 2225-30
  119. Punnonen K, Irjala K, Rajamäki A. Serum Transferrin. Receptor and its ratio to serum Ferritin in the Diagnosis of Iron deficiency. *Blood* 1997; 89: 1052-7.
  120. Burns ER, Goldberg SN, Lawrence C, Weinz B. Clinical utility of serum tests for iron deficiency in hospitalized patients. *AJCP* 1990; 93: 240-5.
  121. Choi JW, Pai AH, Im MW, Kim SK. Change in transferrin receptor concentrations with age. *Clin Chem* 1999; 45(9): 1562-3.
  122. Beilby J, Olynyk J, Ching S, Prins A, Swanson N, Reed W et al. Transferrin index: an alternative method for calculating the iron saturation of transferrin. *Clin Chem* 1992; 38: 2078-81.
  123. González-Revaldería J, de Paula Ruiz M, Pascual Durán T, Cabezas Martínez A, Miravalles González E. Utilidad de la medida del contenido del hierro del hígado en el diagnóstico de la hemocromatosis. *Química Clínica* 2001; 20: 227-31.
  124. Guyatt GH, Okman AD, Willan AM, Mc Ilroy W, Patterson C. Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia: an overview. *J Gen Intern Med* 1992; 7(2): 145-53.
  125. Guyatt GH, Patterson C, Ali M, Singer J, Levine M, Turpie I, Meyer R. Diagnosis of iron-deficiency anemia in the elderly. *Am J Med* 1990; 88: 205-9.
  126. Hallberg L, Bengtsson C, Lapidus L, Lindstedt G, Lundberg PA, Hultén L. Screening for iron deficiency: an analysis based on bone-marrow examinations and serum determinations in a population sample of women. *Br J Haematol* 1993; 85: 787-98.
  127. Comisión de Calidad Analítica, Sociedad Española de Bioquímica Clínica y Patología molecular. Especificaciones de la calidad analítica en laboratorios clínicos con distintos niveles de recursos. *Química Clínica* 2000; 19(3): 219-36.
  128. Allen J, Backstrom KR, Cooper JA, Cooper MC, Detwiler TC, Essex DW, Fritz RP, Means RT, Meier PB, Pearlman SR, Roitman-Johnson B, Seligman PA. Measurement of soluble transferrin receptor in serum of healthy adults. *Clin Chem* 1998; 44: 35-9.
  129. Cooper MJ, Zlotkin SA. Day-to-day variation of transferrin receptor and ferritin in healthy men and women. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 738.
  130. Huebers HA, Beguin Y, Pootrakul P, Einspaahr D, Finch CA. Intact transferrin receptors in human plasma and their relation to erythropoiesis. *Blood* 1990; 75(1): 102-7.
  131. Flowers CH, Skikne BS, Covell AM, Cook JD. The clinical measurement of serum transferrin receptor. *J Lab Clin Med* 1989; 114: 368-77.
  132. Kohgo Y, Niitsu Y, Kondo H, Kato J, Tsushima N, Sasaki et al. Serum transferrin receptor as a new index of erythropoiesis. *Blood* 1987; 70: 1955-8.
  133. Beguin Y. The soluble transferrin receptor: biological aspects and clinical usefulness as quantitative measure of erythropoiesis. *Haematologica* 1992; 77: 1-10.
  134. Skikne BS. Circulating transferrin Receptor assay- Coming of Age. *Clin Chem* 1998; 44:7-9.
  135. Baynes RD, Skikne BS, Cook JD. Circulating transferrin receptors and assessment of iron status. *J Ntr Biochem* 1994; 5: 322.
  136. Baynes RD, Cook JD. Current issues in iron deficiency. *Curr Opin Hematol* 1996; 3: 145-9.
  137. Hallberg L. Iron balance in pregnancy and lactation. New York: Raven Press; 1988: 115-27.
  138. Akesson A, Bjellerup P, Berglund M, Bremme K, Vahter M. Serum transferrin receptor: a specific marker of iron deficiency in pregnancy. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1241-6.
  139. Choi JW, Im MW, Pai SH. Serum transferrin receptor concentrations during normal pregnancy. *Clin Chem* 2000; 46: 725-7.
  140. Kuvibidila S, Yu LC, Ode DL, Warriar RP, Mbebe V. Assessment of iron status of Zairean women of childbearing age by serum transferrin receptor. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 603-9.
  141. Sweet DG, Savage GA, Tubman R, Lappin TRJ, Halliday HL. Cord blood transferrin receptors to assess fetal iron status. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2001; 85: F46-8.
  142. Noth M, Dallalio G, Donath AS, Melink R, Means RT. Serum transferrin receptor levels in patients undergoing evaluation of iron stores: correlation with other parameters and observed versus predicted results. *Clin Lab Haematol* 1997; 19(2): 93-7.
  143. Mast A, Blinder M, Gronowski A, Chumley C, Scott M. Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clin Chem* 1998; 44: 45-51.
  144. Ferguson BJ, Skikne BS, Simpson KM, Baynes RD, Cook JD. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med* 1992; 119: 385-90.
  145. Suominen P, Punnonen K, Rajamäki A, Irjala K. Evaluation of new immunoenzymometric assay for measuring soluble transferrin receptor to detect iron deficiency in anemic patients. *Clin Chem* 1997; 43: 1641-6.
  146. Remacha AF, Sarda MP, Parellada M, Ubeda J, Manteiga R. The role of serum transferrin receptor in the diagnosis of iron deficiency. *Haematologica* 1998; 83: 963-6.
  147. Kurer SB, Seifert B, Michel B, Ruegg R, Fehr J. Prediction of iron deficiency in chronic inflammation rheumatic disease anemia. *Br J Haematol* 1995; 91: 820-6.
  148. Suominen P, Punnonen K, Rajamäki A, Majuri R, Hänninen V, Irjala K. Automated immunoturbidimetric method for measurement serum transferrin receptor. *Clin Chem* 1999; 8: 1302-5.
  149. Feelders RA. Serum transferrin receptor levels in anaemia of rheumatoid arthritis and effects of iron chelation treatment. *Eur J Haematol* 1994; 52: 61-2.
  150. Brittenham GM, Danish EH, Harris JW. Assessment of bone marrow and body iron stores: old techniques and new techniques. *Semin Hematol* 1981; 18: 194-215.
  151. Ali MAM, Luxton AW, Walker WHC. Serum ferritin concentration and bone marrow iron stores: a prospective study. *CMA Journal* 1978; 118: 945-6.
  152. Takala TI, Suominen P, Isoaho R, Kivela S-L, Löppönen M, Peltola O et al. Iron replete reference intervals to increase sensitivity of hematologic and iron status laboratory tests in the elderly. *Clin Chem* 2002; 48: 1856-9.
  153. Patterson C, Guyatt GH, Singer J, Ali M, Turpie I. Iron deficiency anemia in the elderly: the diagnostic process. *Can Med Assoc J* 1991; 4: 435-40.
  154. Suominen P, Irjala K. Health-related decision limits rather than reference limits to guide the use of ferritin measurements. *Clin Biochem* 2001; 34: 345-6
  155. Mam A, Cello JP, Walker WHC. Serum ferritin concentration and bone marrow iron stores: a prospective study. *Can Med Assoc J* 1978; 118: 945-6.
  156. Protocol Steering Committee. Protocol for the use of serum ferritin and total iron and iron binding capacity. British Columbia Medical Association, Medical Services Commission, Government of British Columbia, 1997 < <http://www.hlth.gov.bc.ca/msp/protoguides/gps/ferritin.html> >
  157. US Preventive Services Task force. Screening for iron deficiency anemia - Including iron prophylaxis. En: Guide to clinical preventive services, 2º Ed. 1996. <<http://hstat.nlm.nih.gov/hq/Hquest/db/local.gcps.cps/screen/TocDisplay/action/Toc.>>
  158. U.S. Preventive Services Task Force. Guide to clinical preventive services. Baltimore: Williams-Wilkins, 1996; 231-46.
  159. Beck JR, Cornwell GC, French EE, Meier FA, Brink-Johnsen T, Rawnsley HM. The "iron screen": modification of standard laboratory practice with data analysis. *Human Pathol* 1981; 12: 118-26.
  160. Charache S, Gittlesohn AM, Allen H, Cox CW, Flanigan V, Periasamy V, Lafrance ND, Perlstein M. Noninvasive assessment of tissue iron stores. *AJCP* 1987; 88: 333-7.
  161. Witte DL, Kraemer DF, Johnson GF, Dick FR, Hamilton H. Prediction of bone marrow iron findings from tests performed on peripheral blood. *AJCP* 1996; 85: 201-6.
  162. Witte DL, Angstadt DS, Davis SH, Schrantz RD. Predicting bone marrow iron stores in anaemic patients in a community hospital using ferritin and erythrocyte sedimentation rate. *AJCP* 1988; 90:85-7.
  163. Ahluwalia N, Lamni-Keefe CJ, Bendel RB, Morse EE, Beard JL, Haley NR. Iron deficiency and anemia of chronic disease in elderly women: a discriminant-analysis approach for differentiation. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 590-6.
  164. Ma J, Stampfer MJ. Body iron stores and coronary heart disease. *Clin Chem* 2002; 48(4): 601-3.
  165. Edwards CQ, Griffen LM, Goldgar D, Drummond C, Skolnick MH, Kushner MD. Prevalence of hemochromatosis among 11065 presumably healthy blood donors. *N Eng J Med* 1988; 318: 1355-62.
  166. Wicher JT, Ritchie RF, Johnson AM, Baudner S, Bienvenu J, Blurup-Jensen S, Carlstrom A, Dati F, Ward AM, Svendsen PJ. New Interna-

- tional Reference Preparation for human Serum (RPPHS). Clin Chem 1994; 934-8.
167. Gambino R, Desvarieux E, Orth M, Matan H, Ackattupathil T, Lijoi E et al. The relation between chemically measured total iron-binding capacity concentrations and immunologically measured transferrin concentrations in human serum. Clin Chem 1997; 43(12): 2408-12.
168. Van der Heul, Van Eijk HG, Wiltink WF, Leijnse B. The binding of iron to transferrin and to other serum components at different degrees of saturation with iron. Clin Chim Acta 1972; 38: 347-53.
169. Lentjes GWQM, Lindeman JHN, Van de Bent W, Berger HM. Measured versus calculated latent iron binding capacity in plasma of newborns. Ann Clin Biochem 1995; 32: 478-81.
170. Kohgo Y, Nishisato T, Kondo H, Tsushima N, Niitsu Y, Urushizaki I. Circulating transferrin receptor in human serum. Br J Haematol 1986; 64: 277-81.
171. Bothwell T, Cook JD, Chrichton R, Crosby WH, Dallman PR, Drysdale JW. Proposed international standard of human ferritin for the serum ferritin assay. Br J Haematol 1985; 61-3.
172. Thorpe SJ, Walker D, Arosio P, Heath A, Cook JD, Worwood M. International collaborative study to evaluate a recombinant L ferritin preparation as an International Standard. Clin Chem 1997; 43: 1582-7.
173. Fuentes Arderiu X, Castiñeiras Lacambra MJ. La actividad clínica en el laboratorio clínico. Boletín informativo SEQC 2001; 122: 7-8.
174. Remacha AF, Sardà MP. Receptor soluble de la transferrina. Valoración del método totalmente automatizado. Roche Diagnostics informa 2001; junio: 14-9.
175. Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral. Protocolo de evaluación del estado del hierro de una población. Documento 1-EP-1993. Madrid: SENPE, 1993.
176. Dadone MM, Kushner JP, Edwards CQ, Bishop DT, Skolnick MH. Hereditary hemochromatosis: analysis of laboratory expression of the disease by genotype in 18 pedigrees. Am J Clin Pathol 1982; 78: 196-207.
177. Pfam database of protein families and HMMs, Washington University in St. Louis, 2003 <http://pfam.wustl.edu/index.html>.
178. Laboratory of Structural Biology School of Biological Sciences, The University of Auckland, New Zealand, 2003 <<http://xena.lsb.sbs.auckland.ac.nz/projects.html>>.
179. Melcher U. Oklahoma State University. Molecular Genetics. 1997. <<http://opbs.okstate.edu>>
180. Woessner S, Lafuente R, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 3ª Ed. Barcelona: Medici, 1991.

Correspondencia:  
Dr. David Pérez Surribas  
Laboratori Pasteur  
c/Bonaventura Armengol 15, 1º  
Andorra la Vella. Andorra  
E-mail maida@andorra.ad