

Nuevos marcadores bioquímicos para el estudio de pacientes con anemia

New biochemical markers as indicators of iron restricted erythropoiesis.

Sala MC, Díaz LA

*Laboratorio de Hematología y Hemostasia,
Laboratorio Central y Servicio de Hematología y Oncología.
Hospital Nacional de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan*

mariaceciliasala@gmail.com



**NUEVOS MARCADORES
BIOQUÍMICOS EN
EQUIPOS DE ÚLTIMA
GENERACIÓN PARA
EL ESTUDIO DE
PACIENTES CON ANEMIA**

HEMATOLOGÍA
Volumen 21 N° Extraordinario: 126-136
XXIII Congreso Argentino
de Hematología
Noviembre 2017

Palabras claves: deficiencia de hierro,
nuevos parámetros bioquímicos,
utilidad clínica.

Keywords: iron deficiency,
new biochemical parameters,
clinical utility.

Introducción

La causa más frecuente de anemia es la falta de disponibilidad de hierro para llevar a cabo una adecuada eritropoyesis. Se describen cuatro condiciones clínicas asociadas a ésta: I) la deficiencia absoluta de hierro, II) la deficiencia funcional de hierro por

su secuestro en los sitios de depósito, III) la deficiencia funcional de hierro por desbalance entre el hierro disponible y los requerimientos incrementados y IV) los defectos moleculares en las vías de transporte, reciclaje y utilización del hierro (**Tabla 1**)⁽¹⁾.

Tabla 1. Condiciones asociadas a eritropoyesis hierro-restricta

Deficiencia absoluta de hierro

Absorción inadecuada	Ingesta insuficiente o inadecuada, síndromes malabsortivos, pérdida de superficie absorptiva, enfermedad celíaca, parasitosis, etc.
Depósitos disminuidos	Prematuros o gemelares, hemorragia intrauterina, etc.
Aumento de los requerimientos	Crecimiento acelerado: lactantes y adolescentes. Embarazo, lactancia, etc.
Pérdidas aumentadas	Hemorragias perinatales, digestivas, pérdidas menstruales excesivas, epistaxis reiteradas, parasitosis, etc.

Deficiencia funcional de hierro

I) Síndromes por secuestro de hierro

Anemia de la inflamación	Enfermedades autoinmunes, infecciones, neoplasias, enfermedad renal crónica.
Adenomas productores de hepcidina	
IRIDA (iron refractory iron deficiency anemia)	

II) Tratamiento con agentes estimulantes de la eritropoyesis

Defectos moleculares en proteínas implicadas en el transporte y reutilización del hierro

Mutaciones en el DMT-1
Hipotransferrinemia o atranferrinemia
Mutaciones en la ferroportina
Aceruloplasminemia
Anemias sideroblásticas hereditarias (mutaciones en ALAS2)
Deficiencia de la hemo-oxigenasa

La **deficiencia absoluta de hierro** es la principal causa de anemia a nivel mundial. Su detección y tratamiento temprano son fundamentales para prevenir sus complicaciones⁽²⁾. El desarrollo de la deficiencia de hierro y su transición hacia la anemia ferropénica es un proceso continuo. Inicialmente disminuyen los depósitos de hierro, reflejado por el descenso de la ferritina sérica y los depósitos en médula ósea. A medida que progresa la disminución de hierro en el organismo, no se satisfacen los requerimientos de la médula ósea y comienza a alterarse la eritropoyesis. Esto se traduce en bajos niveles de hierro sérico y saturación de transferrina, y alta capacidad de unión al hierro (TIBC) y zinc-protoporfirina. Ya en la fase final, los niveles de hemoglobina disminuyen, dando lugar a la anemia microcítica hipocrómica característica.

La **deficiencia funcional de hierro (DFH)** es un estado en el cual existe una incorporación insuficiente de hierro a los precursores eritroides en presencia de depósitos aparentemente adecuados. La DFH, también conocida como deficiencia relativa de hierro, se observa ante el tratamiento con agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE) y en los síndromes por secuestro de hierro, siendo la anemia de la inflamación su principal causa⁽³⁾.

La anemia de la inflamación es la causa más frecuente de anemia en los pacientes con cuadros inflamatorios de base (enfermedades autoinmunes, infecciosas, malignas o renales). La falta de regulación de la homeostasis del hierro que se produce en los trastornos inflamatorios es consecuencia del secuestro de hierro promovido por la hepcidina. Esta hormona induce la degradación de la ferroportina, bloqueando

la exportación de hierro desde las células del sistema retículo endotelial y los enterocitos duodenales. Este bloqueo parcial en la movilización de hierro hacia la médula ósea lleva a una incorporación insuficiente de hierro a los precursores eritroides en desarrollo, conduciendo finalmente a la anemia⁽⁴⁾.

La DFH también se produce durante la estimulación intensa de la eritropoyesis por la eritropoyetina endógena o por el tratamiento con AEE^(1,2). Bajo estas condiciones, la movilización de hierro desde los macrófagos del sistema retículo endotelial no es lo suficientemente rápida como para satisfacer los requerimientos de la médula ósea, pese a que los depósitos de hierro son normales. La DFH es una de las principales causas de falta de respuesta al tratamiento con AEE en los pacientes con insuficiencia renal crónica^(3,5).

Aunque menos frecuentes, los defectos moleculares en genes que codifican para proteínas implicadas en el metabolismo férrico también pueden llevar a una deficiencia de hierro. El fenotipo dependerá de la proteína involucrada⁽⁶⁾.

Si bien las causas que conducen a una menor disponibilidad de hierro para la eritropoyesis se reconocen y describen como entidades diferentes, pueden combinarse dificultando el diagnóstico⁽⁷⁾. Es por ello, que uno de los principales desafíos es poder contar con las pruebas adecuadas, a fin de detectar el desequilibrio entre el aporte de hierro y las necesidades de la médula.

Estudios de laboratorio

La evaluación del metabolismo férrico se ha basado históricamente en los datos del hemograma junto a la ferremia, transferrina, saturación de transferrina, zinc-protoporfirina, ferritina sérica y tinción de Perls en los aspirados de médula ósea.

La utilidad del **hemograma** es limitada, dado que la disminución de los niveles de hemoglobina y la alteración de los índices hematimétricos son un hecho tardío en el desarrollo de la deficiencia de hierro. Además, estos parámetros permiten identificar la anemia, pero no su causa, ni detectar una deficiencia temprana de hierro⁽³⁾.

La **ferritina sérica** es ampliamente reconocida como marcador de hierro de depósito. Refleja el hierro almacenado en las células del sistema reticuloendotelial del hígado, bazo y médula ósea si no hay un proceso inflamatorio simultáneo. Es así como un

valor disminuido confirma la deficiencia de hierro, mientras que, por comportarse como reactante de fase aguda, un valor normal o elevado, hace necesario recurrir a otros parámetros bioquímicos^(8,9).

La **tinción de Perls** es uno de los mejores métodos para conocer las reservas de hierro en la médula ósea. No obstante, es un reflejo del hierro metabólicamente inactivo que no necesariamente se encuentra disponible para la eritropoyesis. La gran variabilidad interobservador, invasividad y posibilidad de obtener material insuficiente o inadecuado, hacen que rara vez se justifique este procedimiento con el solo propósito de evaluar los depósitos de hierro^(3,7).

La concentración plasmática de **transferrina** se modifica de acuerdo a las necesidades de hierro del organismo. Su concentración aumenta en la deficiencia de hierro y disminuye cuando existe sobrecarga. Por comportarse como una proteína reactante de fase aguda negativa, disminuye también en los trastornos inflamatorios. En pacientes con patologías asociadas a pérdida proteica, como el síndrome nefrótico, enteropatías perdedoras de proteínas y malnutrición proteica, también se encuentra disminuida, mientras que durante el embarazo y en mujeres que toman anticonceptivos orales, su concentración se incrementa debido a la acción directa que ejercen los estrógenos sobre la transcripción del ARNm⁽⁹⁾.

La **ferremia** se encuentra afectada por condiciones preanalíticas como el ritmo circadiano, el contenido de hierro de la dieta y dependiendo de la técnica, por la contaminación con hierro ambiental. Puede encontrarse disminuida en pacientes que reciben AEE, aún con depósitos de hierro adecuados.

La **saturación de transferrina** es ampliamente empleada para definir deficiencia de hierro al reflejar el hierro funcional disponible. Depende de la ferremia y transferrina, por lo que debe interpretarse cuidadosamente ante aquellas condiciones que afecten a estos parámetros.

Durante la síntesis del grupo hemo, el hierro es incorporado a la protoporfirina IX, siendo el zinc un ligando alternativo que se incorpora ante la escasez de hierro. La determinación de **zinc-protoporfirina** es un test poco disponible que no parece incrementar la sensibilidad y especificidad respecto a las demás pruebas del perfil férrico. Sus valores también aumentan en la intoxicación con plomo^(3,8).

Cuando la deficiencia de hierro es moderada o severa los marcadores tradicionales del perfil férrico,

acompañados de una anamnesis apropiada y examen físico son suficientes para el diagnóstico. Sin embargo, las formas leves o combinadas suelen representar un reto mayor. En estos casos, los parámetros descritos pueden no ser determinantes y es necesario recurrir a varias pruebas de laboratorio para realizar el diagnóstico diferencial.

Los avances tecnológicos han incorporado nuevos parámetros que proporcionan información adicional a los marcadores clásicos. Entre ellos se encuentran la hemoglobina reticulocitaria, la fracción de reticulocitos inmaduros, el porcentaje de células hipocrómicas, el receptor soluble de transferrina y más recientemente, la hepcidina. Aunque menos estudiados, otros parámetros ofrecidos son el volumen reticulocitario medio, el porcentaje de células hiperocrómicas, el porcentaje de células microcíticas y la amplitud de distribución de la hemoglobina, entre otros⁽¹⁰⁾.

Cada fabricante aplica la tecnología de manera diferente, por lo que estos nuevos parámetros son exclusivos de cada marca. Ellos difieren en cuanto a disponibilidad, ventajas y limitaciones, lo cual debe evaluarse a fin de demostrar su potencial utilidad en diferentes situaciones clínicas (**Tabla 2**).

Hemoglobina reticulocitaria

La introducción de la citometría de flujo fluorescente ha logrado mejorar significativamente la precisión y sensibilidad en el recuento de reticulocitos. Esto ha permitido que actualmente se encuentren disponibles marcadores derivados de esta población, que son aplicados a nuevos objetivos como el el screening y diagnóstico de anemia y el monitoreo de la respuesta eritroide luego de la terapia con hierro o eritropoyetina⁽¹¹⁾.

La hemoglobina reticulocitaria atrajo especial atención en los últimos años por ser una medida directa de la ferrocínica de la hematopoyesis. En las fases iniciales de la deficiencia de hierro, el menor aporte de hierro a la médula ósea conduce a la liberación de reticulocitos con menor contenido de hemoglobina. Dado que los reticulocitos tienen una vida media en circulación de uno a dos días, con un recambio más rápido que los glóbulos rojos maduros, los índices reticulocitarios proveen un reflejo de la actividad eritropoyética más reciente. Esto permite detectar estadios tempranos de deficiencia de hierro, que todavía no resultan evidentes en el hemograma^(1,12).

La medición de la hemoglobina reticulocitaria pue-

de realizarse por diferentes tecnologías, siendo los parámetros exclusivos de cada compañía. Los autoanalizadores Siemens Advia 120 y 2120 y los autoanalizadores Abbott Cell-Dyn Sapphire informan el contenido de hemoglobina reticulocitaria, expresado por las siglas CHr y MCHr respectivamente. Estos equipos miden el volumen reticulocitario y la concentración de hemoglobina en cada uno de ellos, y obtienen el contenido de hemoglobina reticulocitaria como el producto de ambas mediciones. Los autoanalizadores Sysmex de las series XN y XE calculan el equivalente de hemoglobina reticulocitaria (Ret-He) a partir del dispersograma de tamaño en función del contenido de ARN, obtenido del canal de reticulocitos. El término “equivalente” fue propuesto por el fabricante, dado que no es una medida directa del contenido celular de hemoglobina⁽¹³⁾. Múltiples trabajos han descrito una buena correlación entre el CHr, MHCr y Ret-He^(10,12,13).

La utilidad de la hemoglobina reticulocitaria como indicador de deficiencia de hierro ha sido ampliamente reportada en los últimos años⁽¹⁴⁻¹⁷⁾. Debido a que no se comporta como un reactante de fase aguda, orienta al diagnóstico del déficit absoluto de hierro en pacientes con procesos inflamatorios, aún cuando la ferritina sérica resulta inadecuada^(11,18).

La hemoglobina reticulocitaria es un predictor temprano de la respuesta al tratamiento con hierro, ya que aumenta rápidamente luego de su administración. Esto permite detectar pacientes no respondedores al hierro oral que requieren terapia parenteral^(11,19).

Su uso en el seguimiento de pacientes con insuficiencia renal crónica en diálisis que reciben AEE ha permitido predecir la respuesta al hierro endovenoso^(20,21,23) y disminuir la dosis de eritropoyetina a la mínima necesaria^(3,12,22). Diferentes guías para el manejo de la anemia en los pacientes con enfermedad renal crónica recomiendan su determinación previo a iniciar la diálisis, a fin de evaluar el estado férrico inicial y poder compararlo luego de instaurado el tratamiento^(24,25).

La hemoglobina reticulocitaria es un marcador rápido, económico y de fácil determinación, que fue incorporado en múltiples algoritmos para el screening de anemia en los últimos años^(11,27). No obstante, ciertas condiciones se asocian a valores equívocos. En el contexto de una talasemia, la microcitosis e hipocromía afectan de igual forma a los eritrocitos y reticu-

locitos. Esto lleva a que existan niveles disminuidos de hemoglobina reticulocitaria, aún sin deficiencia de hierro^(12,15,16). Lo opuesto ocurre en pacientes con macrocitosis, quienes cursan con valores falsamente elevados^(12,14). Condiciones preanalíticas, como el tiempo y temperatura de almacenamiento de la muestra, también afectan el tamaño celular e interfieren en la medición⁽¹⁶⁾.

Tabla 2. Nuevos parámetros bioquímicos para el estudio de pacientes con anemia.

Parámetro	Fabricante/ Métodos	Aplicación clínica propuesta	Limitaciones
Hemoglobina reticulocitaria	CHr: Siemens Advia 120/ 2120	Evaluación de la eritropoyesis hierro-restricta. Monitoreo de la respuesta temprana a la terapia con hierro o AEE.	Valor limitado en presencia de talasemias y macrocitosis. Afectado por variables preanalíticas (temperatura y tiempo de almacenamiento). Valores de referencia y corte dependientes de la metodología
	Ret-He: Sysmex XE/ XN		
	MCHr: Abbott Sapphire		
	RHE: Mindray BC 6800		
Fracción de reticulocitos inamduros (FRI)	Todos los autoanalizadores	Clasificación y monitoreo de las anemias. Evaluación de la recuperación medular luego del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas.	Valores de referencia y corte dependientes de la metodología.
Porcentaje de células hipocrómicas	Hypo%: Siemens Advia 120/ 2120	Evaluación de la disponibilidad de hierro. Monitoreo de la respuesta a la terapia con AEE. Relacionado al estado férrico de los 3 meses previos.	Marcador tardío de deficiencia de hierro y de recuperación luego del tratamiento. Afectado por variables preanalíticas (temperatura y tiempo de almacenamiento). Valores de referencia y corte dependientes de la metodología. Valor limitado en presencia de talasemias y macrocitosis.
	%Hypo-He: Sysmex XE/ XN		
	HPO: Abbott Cell-Dyn Sapphire		
LHD%: Beckman Coulter LH/ DxH 800			
Receptor soluble de transferrina (sTfR)	Inmunoensayos	Indicador de deficiencia de hierro independientemente del estado inflamatorio.	Dependiente de la tasa de eritropoyesis. Poca estandarización y disponibilidad de ensayos.
Hepcidina	Espectrometría de masa	Indicador de los niveles de hierro.	Poca estandarización y disponibilidad de ensayos.
	Inmunoensayos	Orienta hacia el tipo de estudio molecular en pacientes con sobrecarga de hierro.	

Fracción de reticulocitos inmaduros

La automatización en el recuento de reticulocitos ha permitido obtener conteos rápidos y reducir considerablemente la imprecisión asociada a las técnicas manuales⁽¹¹⁾. En los últimos años, ha atraído especial interés un nuevo parámetro dependiente del contenido de ARN de los reticulocitos: la fracción de reticulocitos inmaduros (FRI).

Los autoanalizadores emplean un colorante fluorescente capaz de unirse a los ácidos nucleicos. Dependiendo de la cantidad de ARN, los reticulocitos fluorescerán con diferente intensidad. La suma de las fracciones de fluorescencia media y elevada constituye la FRI.

La FRI refleja los distintos niveles de maduración de los reticulocitos. Esta fracción es liberada durante períodos de intensa eritropoyesis, por lo que resulta un índice temprano y sensible de la actividad eritropoyética⁽³⁾.

Se propone la medición de la FRI junto al recuento de reticulocitos, para clasificar las anemias de acuerdo a la respuesta medular y para monitorear la respuesta al tratamiento de las anemias carenciales⁽¹¹⁾.

Una de sus principales aplicaciones es la evaluación de la recuperación medular luego del trasplante de células progenitoras hematopoyéticas o quimioterapia, aunque todavía no ha sido ampliamente empleado en la práctica clínica^(28,29).

Porcentaje de células hipocrómicas

Los autoanalizadores hematológicos modernos son capaces de analizar los eritrocitos individuales, en lugar de calcular parámetros a partir de la media poblacional. El porcentaje de células hipocrómicas identifica una subpoblación de glóbulos rojos maduros con evidencia de contenido insuficiente de hemoglobina.

Cada fabricante define este parámetro de acuerdo a la tecnología empleada. El %HRC descrito por la tecnología *Siemens* (Advia 120 y 2120), se basa en la medición óptica de la hemoglobina de cada célula y se define como el porcentaje de eritrocitos cuya concentración de hemoglobina es menor a 28 g/dl; el %Hypo-He provisto por los autoanalizadores *Sysmex XE-5000* y *XN*, refleja el porcentaje de glóbulos rojos cuyo contenido de hemoglobina es menor a 17 pg; el LHD% (*low hemoglobin density*) disponible en los contadores de la serie *LH* de *Beckman Coulter*, se basa en la transformación matemática del

CHCM y el %HPO de la línea *Abbott Cell-Dyn Sapphire*, refleja el porcentaje de eritrocitos con concentración de hemoglobina menor a 28 g/dL⁽³⁾.

El porcentaje de células hipocrómicas es un buen indicador del grado de hemoglobinización de los eritrocitos maduros y, por tanto, refleja indirectamente la disponibilidad de hierro. Junto a la hemoglobina reticulocitaria permite distinguir la deficiencia absoluta de hierro, de la anemia de la inflamación e identificar estados combinados. Ambos parámetros han sido incorporados a las guías para el diagnóstico de la DFH y monitoreo de la anemia en pacientes con enfermedad renal crónica que reciben AEE^(24,25). Se ha demostrado su potencial para predecir la respuesta al tratamiento con hierro endovenoso con mayor eficacia que la saturación de transferrina^(22,30,31).

Su bajo costo, rapidez y fácil determinación, lo hacen una herramienta prometedora, aunque no libre de limitaciones. Dado que deriva de la población completa de eritrocitos maduros, se relaciona con el estado férrico de los 2-3 meses previos. Por este motivo, no resulta un indicador temprano de deficiencia de hierro, ni de respuesta al tratamiento^(1,16). Dado que su medición depende del volumen celular, su interpretación se encuentra afectada en presencia de macrocitosis, talasemias y condiciones preanalíticas como el tiempo y temperatura de conservación de la muestra^(10,16).

Receptor soluble de transferrina

El receptor de transferrina es una glicoproteína dimerica, en la cual cada dímero es capaz de unir una molécula de transferrina diférrica. El receptor soluble de transferrina (sTfR) es un fragmento derivado de la proteólisis del receptor de transferrina de las membranas celulares y se correlaciona con su expresión en membrana. El número de receptores sobre la superficie de las células eritroides proliferantes es el factor determinante de la mayor adquisición de hierro.

La síntesis del receptor de transferrina depende de los niveles de hierro en el organismo: si los niveles de hierro bajan, se induce la síntesis del receptor para hacer frente a dicha deficiencia, y a la inversa cuando los niveles de hierro suben⁽⁷⁾.

La medición del sTfR cobró relevancia en los últimos años. Los inmunoensayos disponibles emplean anticuerpos con diferentes especificidades de epítopes, dificultando la estandarización de su medición.

En el año 2010, se puso a disposición el primer estándar de la WHO (07/202) (NIBSC)⁽³²⁾. A pesar de la alta expectativa, su empleo como patrón internacional no pudo efectivizarse en la práctica clínica, y actualmente las marcas comerciales siguen empleando sus preparaciones de referencia. Todavía resulta necesaria la elección de un método de referencia y/o definición de un epítipo específico, a fin de unificar los intervalos de referencia y valores de corte publicados⁽⁷⁾.

Diferentes estudios demuestran que el sTfR se encuentra menos afectado por la inflamación en comparación con la ferritina sérica^(1,33). Por este motivo, ha sido propuesto para la detección del déficit de hierro y estados combinados (niveles elevados) y su diferenciación de la anemia de la inflamación (niveles normales o disminuidos)^(7,15,18,33).

Su concentración guarda relación directa con la masa del compartimiento eritroide. De esta forma, condiciones asociadas a una alta tasa de eritropoyesis como las talasemias intermedias, anemias hemolíticas, déficit de vitamina B12 o ácido fólico cursan con niveles aumentados del receptor, sin que ello implique la coexistencia de un déficit de hierro⁽⁷⁾. A la inversa, sus niveles disminuyen cuando existe hipoplasia medular⁽⁸⁾.

El tratamiento con AEE incrementa la actividad eritropoyética y, en consecuencia, los niveles del sTfR. Así, su utilidad en el monitoreo de la anemia de los pacientes con enfermedad renal es limitada⁽³³⁾, habiéndose descrito un desempeño inferior comparado al de la hemoglobina reticulocitaria o el porcentaje de células hipocrómicas⁽³⁾.

Dado que el sTfR es un indicador de disponibilidad de hierro, mientras que la ferritina sérica de depósito, la combinación de ambos parámetros en el índice sTfR/log ferritina, provee una mejor estimación del estado férrico de los pacientes. La variación en sentido inverso del sTfR y la ferritina en la deficiencia de hierro, hace que el índice sTfR/log ferritina resulte en un indicador de mejor sensibilidad y especificidad, particularmente en presencia de enfermedades inflamatorias^(8,33). A diferencia de la medición aislada del sTfR, este índice predice más fehacientemente la respuesta al hierro endovenoso en pacientes que reciben AEE⁽³⁾. Thomas C y col. han propuesto la combinación del índice sTfR/log ferritina junto a la hemoglobina reticulocitaria, para diferenciar a los pacientes con deficiencia temprana de hierro, ane-

mia ferropénica, anemia de la inflamación y estados combinados⁽³⁴⁾.

Hepcidina

La hepcidina es la hormona reguladora central de la homeostasis sistémica del hierro. Es sintetizada principalmente por el hígado como una proteína precursora de 84 aminoácidos que, luego de diferentes clivajes enzimáticos, resulta en el péptido maduro de 25 aminoácidos. Existen otras 2 isoformas producto de la degradación de la isoforma de 25 aminoácidos: la hepcidina de 20 y 22 aminoácidos. La regulación del metabolismo del hierro se debe principalmente a la forma bioactiva madura de 25 aminoácidos⁽⁴⁾.

La unión de la hepcidina a la ferroportina produce su internalización y posterior degradación en el compartimento lisosomal. La ausencia de ferroportina sobre la membrana del enterocito duodenal impide el ingreso de hierro al organismo, mientras que en los macrófagos y hepatocitos, resulta en la retención de hierro en los sitios de depósito^(4,36).

Existen cuatro mecanismos que modulan la síntesis de hepcidina permitiendo que exista una correcta homeostasis del metabolismo férrico: el contenido de hierro, la inflamación, la actividad eritropoyética y la hipoxia^(4,36,37).

Tanto el aumento del hierro sérico como de depósito se traduce en un aumento de la síntesis de hepcidina, previniendo la absorción intestinal y la acumulación de hierro en exceso. Por el contrario, un menor contenido de hierro corporal lleva a una disminución de su expresión, proporcionando un mecanismo para el aumento de la absorción intestinal de hierro y liberación desde los sitios de depósitos.

La inflamación funciona como un estímulo para la producción de hepcidina. Las citoquinas proinflamatorias como la IL-6 e IL-1 liberadas durante los procesos inflamatorios, funcionan como ligandos de la vía de señalización que activa la transcripción de la hepcidina. El aumento de la hepcidina en los procesos inflamatorios es el principal mecanismo responsable de la anemia de la inflamación.

La actividad eritropoyética ejerce un efecto inhibitorio sobre la síntesis de hepcidina. Este parece ser uno de los mecanismos reguladores de mayor importancia, que incluso puede anular la regulación positiva mediada por el exceso de hierro o la inflamación. Ejemplo de esto es la disminución paradó-

jica de la hepcidina en pacientes talasémicos con sobrecarga de hierro⁽³⁷⁾.

La hipoxia inhibe la producción de hepcidina directamente a través del HIF (*hypoxia inducible factor*) o indirectamente, promoviendo la síntesis de eritropoyetina.

Desde el descubrimiento de la hepcidina ha habido un interés creciente en desarrollar métodos confiables para poder evaluar sus niveles. En la actualidad, la hepcidina se determina en suero y orina a través de la espectrometría de masa o inmunoensayos. La espectrometría de masa permite distinguir la isoforma bioactiva de 25 aminoácidos de las que no lo son, pero su elevado costo y necesidad de contar con equipamientos especializados, hace que este método quede relegado a proyectos de investigación. Los inmunoensayos se consideran los métodos de elección por su fácil accesibilidad y menor costo económico. No obstante, en algunos *kits* comerciales los péptidos no activos pueden interferir con la cuantificación de la hepcidina-25. Se ha descrito una falta de correlación entre los métodos disponibles como consecuencia del uso de estándares de preparación propia y del reconocimiento de diferentes fracciones (libre, unida a proteínas o ambas) e isoformas^(3,36,38). Es necesario el consenso entre los diversos métodos a fin de implementar futuros ensayos en los laboratorios de rutina, unificar intervalos de referencia, límites de decisión médica, y así facilitar la interpretación de los resultados.

Los niveles de hepcidina disminuyen en la deficiencia de hierro, proporcionando un mecanismo para el aumento de la absorción intestinal de hierro y liberación de los sitios de depósitos, y aumentan en la inflamación y la sobrecarga de hierro, reduciendo el hierro sérico. Se propone su medición para detectar la deficiencia absoluta de hierro^(3,38), aunque todavía no hay acuerdo sobre su capacidad para diferenciar los estados combinados de la anemia de la inflamación^(17,35,39). Dado que la combinación de los *test* tradicionales y los nuevos parámetros más accesibles permite reconocer estas condiciones, su empleo en los laboratorios de rutina es controversial^(1,39).

Existen desórdenes primarios asociados a la síntesis y regulación de la hepcidina. La hemocromatosis hereditaria (HH) comprende una serie de desórdenes caracterizados por exceso de hierro en el organismo. En la mayoría de los pacientes con HH, la síntesis de hepcidina no aumenta en respuesta al incremento

de los depósitos de hierro. Esta desregulación ocurre por la presencia de mutaciones en los genes que codifican para proteínas reguladoras de la hepcidina (HFE, HJV, TFR2) y, aunque menos frecuente, en el gen de la hepcidina (HAMP). Estos pacientes tienen aumentada la absorción intestinal y los depósitos de hierro. Ciertas mutaciones en el gen de la ferroporfina (SLC40A1) llevan a que pierda la regulación por parte de la hepcidina. Estos pacientes presentan un fenotipo similar al de la HH, aunque cursan con niveles de hepcidina elevados. Se ha propuesto la medición de la hepcidina para orientar la búsqueda de genes implicados en la HH y monitorear el tratamiento con flebotomías.

Mutaciones en el gen Tmprss6, llevan a una pérdida de actividad de la matriptasa-2, y resultan en niveles elevados de hepcidina. Estos pacientes presentan anemia microcítica hipocrómica congénita con bajas concentraciones de hierro sérico y saturación de transferrina, ferritina sérica elevada y resistencia a la suplementación con hierro oral (IRIDA). La medición de la hepcidina en pacientes con este fenotipo, permitiría orientar la búsqueda hacia un defecto en la matriptasa-2^(4,36).

Conclusiones

Los avances en el campo del metabolismo del hierro han modificando los conceptos tradicionales sobre la anemia. Estos hallazgos señalan la necesidad de contar con nuevas pruebas diagnósticas que sean capaces de evaluar fehacientemente las causas que llevan a condiciones clínicas aparentemente similares. La disponibilidad en los contadores hematológicos actuales, bajo costo y rápido procesamiento a partir de una única muestra, permite que los nuevos parámetros derivados del hemograma puedan incluirse dentro del examen hematológico de rutina.

La ausencia de estándares internacionales de referencia, de métodos estandarizados y de programas de control externo de la calidad dificultan la comparación de resultados numéricos obtenidos de diferentes fabricantes. En la actualidad, cada laboratorio debe establecer sus propios rangos de referencia y valores de corte para cada parámetro de acuerdo a la metodología empleada.

Solo luego de lograr la armonización de las técnicas, se podrán comparar los resultados de aquellos parámetros que todavía son demasiado diferentes y acreditar futuros métodos comerciales que tengan

validez y comprueben su verdadero potencial diagnóstico.

Si bien éstas son herramientas prometedoras, aún no han podido cumplir con las expectativas depositadas en ellas. Es importante tener en claro que, hasta el momento, la combinación adecuada de estas pruebas con los parámetros bioquímicos tradicionales es lo que permite evaluar con mayor precisión el estado férrico de cada paciente y, por lo tanto, indicar el tratamiento apropiado.

Declaración de conflictos de interés:

Las autoras declaran que no poseen conflictos de interés.

Bibliografía

1. Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood*. 2010; 116:4754-4761.
2. Toki Y, Ikuta K, Kawahara Y y col. Reticulocyte hemoglobin equivalent as a potential marker for diagnosis of iron deficiency. *Int J Hematol*. 2017; 106:116-125.
3. Thomas DW, Hinchliffe RF, Briggs C y col. Guideline for the laboratory diagnosis of functional iron deficiency. *Br J Haematol*. 2013; 161:639-648.
4. Reichert CO, Cunha J, Levy D y col. Hcpidin: Homeostasis and diseases related to iron metabolism. *Acta Haematol*. 2017; 137:220-236.
5. NKF KDOQI GUIDELINES. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *AJKD American Journal of Kidney Diseases*. 2006 47:S28-S32.
6. García Rosolen N, Eandi Eberle S, Feliú Torres A y col. Conceptos actuales sobre fisiología y patología del hierro. *Hematología*. 2010; 14:48-57.
7. Braga F, Infusino I, Dolci A y col. Soluble transferrin receptor in complicated anemia. *Clin Chim Acta*. 2014; 431:143-147.
8. WHO, CDC. Assessment the iron status of population. Report of a Joint World Health Organization (WHO)/ Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Technical Consultation on the Assessment of Iron Status at the Population Level. Geneva, Switzerland, 2004 2nd ed.
9. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: New diagnostic approaches. *Clin Chem* 2003; 49:1573-1578.
10. Ermens AAM, Hoffmann JJML, Krockemberger M y col. New erythrocyte and reticulocyte parameters on CELL-DYN Sapphire: analytical and preanalytical aspects. *Int J Lab Hem*. 2012; 34:274-282.
11. Buttarello M. Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how? *Int J Lab Hem*. 2016; 38 (Suppl. 1):123-132.
12. Brungara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol*. 2006; 28:303-308.
13. Thomas L, Franck S, Messinger M y col. Reticulocyte hemoglobin measurement - comparison of two methods in the diagnosis of iron-restricted erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med*. 2005; 43:1193-1202.
14. Mast AE, Blinder MA, Lu Q y col. Clinical utility of the reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency. *Blood*. 2002; 99:1489-1491.
15. Canals C, Remacha AF, Sardá MP y col. Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter -reticulocyte hemoglobin equivalent- in the diagnosis of anemia. *Haematologica*. 2005; 90:1133-1134.
16. Buttarello M, Pajola R, Novello E y col. Evaluation of the hypochromic erythrocyte and reticulocyte hemoglobin content provided by the Sysmex XE-5000 analyzer in diagnosis of iron deficiency erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med*. 2016; 54:1939-1945.
17. van Santen S, van Dongen-Lases EC, de Vegt F y col. Hcpidin and hemoglobin content parameters in the diagnosis of iron deficiency in

- rheumatoid arthritis patients with anemia. *Arthritis Rheum.* 2011; 63:3672-3680.
18. Markovic M, Majkic-singh N, Ignjatovic S y col. Reticulocyte haemoglobin content vs. soluble transferrin receptor and ferritin index in iron deficiency anaemia accompanied with inflammation. *Int Jnl Lab Hem.* 2007; 29:341-346.
 19. Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ. Reticulocyte hemoglobin content (CHr): Early indicator of iron deficiency and response to therapy. *Blood.* 1994; 83:3100-3101.
 20. Buttarello M, Pajola R, Novello E y col. Diagnosis of iron deficiency in patients undergoing hemodialysis. *Am J Clin Pathol.* 2010; 133:949-954.
 21. Chuang CL, Liu RS, Wei YH y col. Early prediction of response to intravenous iron supplementation by reticulocyte haemoglobin content and high-fluorescence reticulocyte count in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18:370-377.
 22. Urrechaga E, Boveda O, Aguayo FJ y col. Percentage of hypochromic erythrocytes and reticulocyte hemoglobin equivalent predictors of response to intravenous iron in hemodialysis patients. *Int J Lab Hem.* 2016; 38:360-365.
 23. Fishbane S, Shapiro W, Dutka P y col. A randomized trial of iron deficiency testing strategies in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2001; 60:2406-2411.
 24. NKF KDOQI GUIDELINES. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *AJKD American Journal of Kidney Diseases.* 2006 47:S28-S32.
 25. KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for anemia in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2006;47(suppl 3):s11-145.
 26. Semmelrock MJ, Raggam RB, Amrein K y col. Reticulocyte hemoglobin content allows early and reliable detection of functional iron deficiency in blood donors. *Clin Chim Acta.* 2012; 413:678-82.
 27. Stoffman N, Brugnara C, Woods ER. An algorithm using reticulocyte hemoglobin content (CHr) measurement in screening adolescents for iron deficiency. *J Adolesc Health.* 2005 ;36:529e1-529e6.
 28. Noronha JFA, De Souza CA, Vigorito AC y col. Immature reticulocytes as an early predictor of engraftment in autologous and allogeneic bone marrow transplantation. *Clin Lab Haematol.* 2003; 25:47-54.
 29. Piva E, Brugnara C, Chiandetti L y col. Automated reticulocyte counting: state of the art and clinical applications in the evaluation of erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48:1369-1380.
 30. Buttarello M, Pajola R, Novello E y col. Diagnosis of iron deficiency in patients undergoing hemodialysis. *Am J Clin Pathol.* 2010; 133:949-954.
 31. Tessitore N, Solero GP, Lippi G y col. The role of iron status markers in predicting response to intravenous iron in haemodialysis patients on maintenance erythropoietin. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16:1416-23.
 32. Thorpe SJ, Heath A, Sharp G y col. A WHO reference reagent for the Serum Transferrin Receptor (sTfR): international collaborative study to evaluate a recombinant soluble transferrin receptor preparation. *Clin Chem Lab Med.* 2010; 48:815-820.
 33. Skikne BS, Punnonen K, Caldron PH y col. Improved differential diagnosis of anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: a prospective multicenter evaluation of soluble transferrin receptor and the sTfR/log ferritin index. *Am J Hematol.* 2011; 86:923-927.
 34. Thomas C, Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem.* 2002; 48:1066-1076.
 35. Thomas C, Kobold U, Balan y col. Serum hepcidin-25 may replace the ferritin index in the Thomas plot in assessing iron status in anemic patients. *Int J Lab Hem.* 2011; 33:187-193.

36. Kroot JJC, Tjalsma H, Fleming RE y col. Hepcidin in human iron disorders: Diagnostic implications. *Clin Chem*. 2011; 57:1650-1669.
37. Beaumont C, Delaby. Recycling iron in normal and pathological states. *Semin Hematol*. 2009; 46:328-338.
38. Kemna EHJM, Tjalsma H, Willems HL y col. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica*. 2008; 93:90-97.
39. Theurl I, Aigner E, Theurl M y col. Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: diagnostic and therapeutic implications. *Blood*. 2009; 113:5277-0-97.