



**Universidad**  
Zaragoza

## Trabajo Fin de Grado

**REGULACIÓN HORMONAL DEL HIERRO**

**REGULATION OF IRON METABOLISM**

Autor:

**Laura Morales Chicote**

Director:

**Dr. Escanero Marcén, Jesús Fernando**

Facultad de Medicina.

Departamento de Fisiología y Farmacología

2016/2017



# ÍNDICE

|      |  |    |
|------|--|----|
| 1.   | RESUMEN.....   | 3  |
| I.   | RESUMEN.....   | 3  |
| II.  | ABSTRACT .....   | 3  |
| 2.   | INTRODUCCIÓN .....   | 5  |
| I.   | FISIOLOGIA DEL HIERRO .....  | 6  |
| II.  | METABOLISMO .....  | 6  |
| 1)   | Vías de Absorción Intestinal .....   | 6  |
| 2)   | Transporte.....  | 8  |
| 3)   | Consumo y almacenamiento .....   | 9  |
| 4)   | Degradación .....  | 12 |
| 3.   | OBJETIVOS .....  | 13 |
| 4.   | MATERIAL Y MÉTODOS.....  | 14 |
| I.   | BASES DE DATOS.....  | 14 |
| II.  | PALABRAS CLAVE .....   | 14 |
| 5.   | RESULTADOS.....  | 15 |
| I.   | ACTUALIZACIÓN METABOLISO DEL HIERRO .....                                    | 15 |
| II.  | TEORÍAS PROPUESTAS Y DISCUTIDAS SOBRE LAS VÍAS DE REGULACIÓN DEL HIERRO..... | 22 |
| III. | REPERCUSIÓN CLÍNICA DE LAS ALTERACIONES EN EL METABOLISMO DEL HIERRO.....    | 25 |
| 6.   | CONCLUSIONES.....  | 28 |
| 7.   | BIBLIOGRAFÍA .....   | 30 |

# **1. RESUMEN**

## **I. RESUMEN**

En los últimos años los conocimientos sobre la fisiología del hierro han evolucionado considerablemente. De un modelo relativamente simple, en el que la absorción se realizaba por la vía del receptor de transferrina y el almacenamiento estaba basado en la ferritina, ha pasado a ser un proceso complejo y altamente regulado. Actualmente se sabe que, en este proceso se integran las funciones especializadas de algunos tipos de células y las acciones de múltiples proteínas genéticamente programadas. Todas las células del organismo requieren la presencia de hierro, en una forma u otra, para su normal funcionamiento. Sin embargo, cuatro poblaciones celulares se destacan en este contexto: los enterocitos, los macrófagos, los hepatocitos y los eritroblastos. La identificación de proteínas como HFE, RTf-2, hemojuvelina, hepcidina, ferroportina, hephaestina, matriptasa-2 o eritroferrona, unas actuando como transportadores, otras con actividad oxidasa o reductasa, pero todas ellas participando en la delicada regulación del metabolismo del hierro, son evidencia directa del conocimiento adquirido en los últimos años. Estos estudios han permitido conocer mejor la fisiopatología de la deficiencia y la sobrecarga de hierro.

## **II. ABSTRACT**

In recent years knowledge about the physiology of iron has considerably developed. From a relative simple model, in which the uptake was done via the transferrin receptor and storage was based on ferrite, it had passed to a complex and highly regulated process. Nowadays, it is known that in this process the specialized functions of some types of cell and the actions of multiple genetically programmed proteins are integrated. All cells of the organism require the presence of iron, in one form or another, for normal functioning. However, four cell populations stand out in this context: enterocytes, macrophages, hepatocytes and erythroblasts. The identification of proteins such as HFE, RTF-2, hemocidal, hepcidin, ferroportin, hephaestin, matriptase-2 or erythroferrone, some acting as transporters, others with

oxidase or reductase activity, all involved in the delicate regulation of iron metabolism, have been direct evidence of knowledge acquired in recent years. These fascinating studies have led to a better understanding of the physiopathology of iron deficiency and overload.

## **2. INTRODUCCIÓN**

El hierro es un elemento esencial para el ser humano e interviene en una gran variedad de procesos metabólicos. Es el elemento traza más abundante en el organismo animal, el segundo metal más abundante en la corteza terrestre y desde el punto de vista biológico, las dos formas relevantes son el hierro oxidado o férrico ( $\text{Fe}^{+3}$ ) y el reducido o ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ) (1).

Al inicio de la evolución, los organismos primitivos lo emplean para la generación de energía, predominando el estado ferroso debido al escaso oxígeno ambiental. A medida que la cantidad de oxígeno terrestre aumentó, lo hicieron también las formas oxidadas, las cuales son poco solubles a pH fisiológico. De esta forma, a pesar de su abundancia ambiental, la captación por el ser humano está limitada. Este hecho obligó a los organismos a adaptarse y para ello sintetizaron moléculas que pudiesen unirse al hierro. Esta función la desarrollan las proteínas *transferrina (Tf)* y *ferritina*, quienes son, las responsables del transporte y almacenamiento de hierro respectivamente (1).

Una característica de este elemento que lo diferencia de los demás nutrientes, es que su contenido corporal es altamente conservado y en ausencia de sangrados o aumento en los requerimientos (embarazo, crecimiento, lactancia...) las pérdidas de hierro son muy pequeñas y prácticamente constantes. Debido a esta falta de control en las pérdidas, el hierro que debe reponerse para compensarlas depende exclusivamente de variaciones en la cantidad neta de hierro absorbida. Contradicatoriamente, las mismas propiedades que hacen a este metal de transición imprescindible para procesos biológicos vitales, como el transporte de oxígeno y de electrones, lo hacen tóxico, pues es capaz de generar radicales libres que provocan daño oxidativo de importantes componentes celulares. No es raro entonces, que se hayan desarrollado mecanismos que permiten mantener un estricto control de los niveles de este mineral (1).

## I. FISIOLOGIA DEL HIERRO

En un adulto normal (70 Kg) la cantidad total de hierro es de 4-5 g. Aproximadamente, el 60% se encuentra en la hemoglobina, 5% en la mioglobina, 5 % en enzimas que contienen hierro y el resto en compuestos de depósito como son la ferritina (20%) y la hemosiderina (10%). El hierro almacenado supone únicamente 0.5 g y en su mayor parte se encuentra depositado a nivel hepático.

Las funciones del hierro en el ser vivo son por un lado transportar oxígeno a través de la sangre y en el propio tejido muscular y, por otro, intervenir en el metabolismo energético. Sus fuentes de origen son:

- *Animal (hemo o hemínico)*: forma parte de la hemoglobina o mioglobina. Se caracteriza por presentar una muy buena absorción, aproximadamente entre el 10 y 25%, sin que existan factores que favorezcan o inhiban la absorción.
- *Vegetal (no hemo o no hemínico)*: cuando no forma parte de la hemoglobina sino de cualquier otro compuesto. Representa el 90% del hierro aportado de forma exógena. Su absorción es sólo del 2 al 5%, e intervienen una serie de factores intraluminales que aumentan su absorción (ácido ascórbico o vitamina C) o la disminuyen (sustancias alcalinas, fosfatos, lignina, taninos como café o té).

La dieta normal contiene aproximadamente 10-20 mg de hierro. Del total ingerido, únicamente se absorben entre 1-2 mg al día, pudiendo variar esta cantidad en función de las necesidades. Los procesos que determinan la tasa de absorción del hierro de la dieta son fundamentalmente, la actividad de la médula ósea, el nivel de sus reservas, la concentración de hemoglobina, la concentración de oxígeno en sangre y las situaciones de inflamación sistémica (1).

## II. METABOLISMO

### 1) Vías de Absorción Intestinal

La absorción intestinal se define como el paso desde la luz intestinal del hierro hacia la circulación a través de los enterocitos. Se realiza principalmente en el duodeno

y el yeyuno proximal, cuyas mucosas poseen microvellosidades que maximizan la superficie absorbiva.

Por un lado, la absorción del hierro no hemo precisa en primer lugar ser reducido de férrico a ferroso. Esta acción la lleva a cabo el *citocromo duodenal B (DCYTB o CYBRD1)* que se encuentra en la membrana apical de las células intestinales. A continuación, el Fe<sup>2+</sup> pasa a través del *transportador metálico divalente (DMT1)* al interior del enterocito (2).

Por otro lado, la absorción del hierro hemínico permanece aún poco conocido. Se propuso que la proteína de membrana *HCP1 (heme carrier protein-1)* mediaba su absorción, pero luego se demostró que la función principal de esta proteína es transportar folato. Se sabe que el complejo hierro-protoporfirina ingresa al enterocito en forma directa, y en su interior es transformado enzimáticamente por la *hemoxigenasa (HO1)* a Fe<sup>2+</sup>. Después, el hierro así liberado ingresa a una vía común con el hierro no hemínico. El descubrimiento de proteínas exportadoras del grupo hemo, como *FLVCR (Feline leukemia virus subgroup C receptor)*, plantea la posibilidad del pasaje de hemo intacto del enterocito hacia el plasma (3).

Una vez en el interior del enterocito, el mineral puede tener dos destinos. Por un lado, puede ser almacenado como *ferritina* y excretado en las heces cuando se produce la descamación de los enterocitos senescentes. Por otro lado, puede ser transferido por la *ferroportina 1 (FPT 1)* también denominada *proteína reguladora de hierro (IREG113)* o *proteína transportadora de metales (MTP1)*. Esta proteína transportadora se encuentra situada tanto en la membrana basolateral del enterocito, como en la superficie celular de los macrófagos del sistema retículo-endotelial, los hepatocitos y la placenta (1).

Antes de ser exportado a la circulación, se lleva a cabo una reacción de oxidación que transforma los iones ferrosos en férricos por una molécula análoga a la ceruloplasmina denominada *hefaestina*, de la cual hablaremos más adelante en detalle.

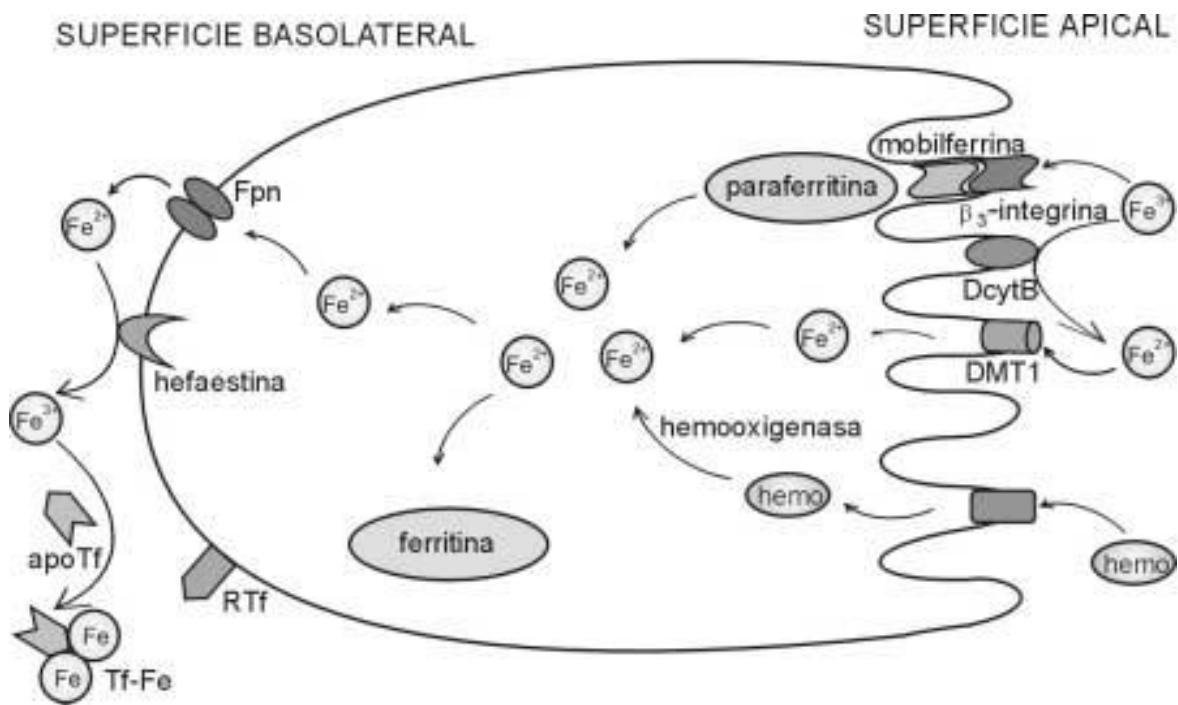


Fig. 1. Enterocito duodenal. El transportador de membrana DMT-1 introduce los iones de hierro en el interior de la célula una vez reducidos por el citocromo DCYTB (4).

## 2) Transporte

El hierro que es exportado de las células por la FPT se une a la *transferrina plasmática*, sintetizada en el retículo endoplásmico de las células parenquimatosas del hígado. Existen otros dos tipos de Tf, la *lactoferrina* y la *ovoferrina*, que en las infecciones fijan el hierro e impiden que esté disponible para los agentes microbianos.

La Tf tiene la capacidad de unir dos iones férricos y en situaciones fisiológicas, está saturada entre un 20 y un 40%, si bien este porcentaje varía en función de la cantidad de hierro que sea necesario transportar. La proteína que permanece insaturada **apotransferrina (apoTf)** actúa como buffer ante la posibilidad de que hierro absorbido o liberado quedase en estado libre y resultase tóxico para el organismo (3).

Cuando la capacidad de saturación de la Tf es superada, puede aparecer en el plasma *hierro no unido a Tf (NTBI = non-transferrin-bound serum iron)*. Esta fracción de hierro es biológicamente tóxica y dentro de la misma se encuentra el *hierro plasmático lábil (LPI = labile plasma iron)*, que es el de mayor toxicidad. NTBI penetra

en las células independientemente del *receptor de transferrina (RTf)*, así lo hace en hígado, corazón y otros órganos (3).

El hierro unido a trasferrina circula por el plasma desde las células intestinales a los receptores celulares de hierro. Todas las células del organismo tienen TfR y el complejo Fe-Tf puede unirse a dos tipos de receptores:

- *TfR1*: homodímero que consta de dos subunidades transmembrana idénticas. Se expresa en gran cantidad en todas las células en división, en linfocitos activados y en los precursores eritroides con mayor demanda de hierro. Se une selectivamente a la Tf diférica para internalizarla en la célula (endocitosis mediada por receptor).
- *TfR2*: molécula de señalización.

El número y estabilidad del receptor de la transferrina en la superficie celular son determinantes en la captación de hierro.

### **3) Consumo y Almacenamiento**

Las células con mayor demanda de hierro son las que sintetizan hemoglobina, la placenta y las células de división rápida, que son a la vez las que tienen mayor cantidad de receptores de transferrina en sus membranas.

Los precursores eritroides en condiciones normales tienen el 80% de los receptores de hierro del organismo (proporción mayor cuando esta estimulada la eritropoyesis). Durante la maduración y proliferación celular de la serie roja en médula, el número de receptores de la membrana no es constante. Las células indiferenciadas tienen un bajo número de receptores, que va aumentando progresivamente hasta el estadio de normoblasto, luego disminuyen en el reticulocito (que tiene todavía capacidad de síntesis de hemoglobina), y desaparecen totalmente en el glóbulo rojo maduro. Esta evolución corresponde a la necesidad de hierro de cada estadio (1).

Cada RTf puede unirse a una o dos moléculas de transferrina (en sangre hay apotransferrina, transferrina monoférica y transferrina diférica). Una vez que se ha unido al receptor de membrana, se invagina y recubre de clatrina. Finalmente, se forma una vesícula endocítica o endosoma, que se separa de la membrana y se interna en la célula. El interior de esta vesícula se va acidificando en un proceso dependiente de energía. A pH ácido la afinidad del hierro por la transferrina es muy baja y este se libera para poder ser utilizado por la célula. El complejo transferrina receptor no es digerido por enzimas intracelulares líticas, gracias a que es muy estable a pH ácido. Finalmente, la vesícula se aproxima a la membrana celular y se fusiona con la misma. En el exterior celular, el pH neutro favorece la liberación de la apotransferrina, ya que esta tiene poca afinidad por el receptor. Cada ciclo dura entre 3 y 16 minutos, y a su término se reciclan tanto la transferrina como su receptor (3).

La mayor parte del hierro exportado de los endosomas se destina a la mitocondria, principal organela responsable de la homeostasis. La *mitoferrina 1 y 2 (MTF 1,2)* se encarga de transportarlo a través de la membrana mitocondrial interna, para que sea utilizado en la síntesis del *grupo hemo* y de los complejos *hierro-sulfuro (ISC = iron sulfur clusters)*, así como formar parte de la *ferritina mitocondrial*. Una vez sintetizado, el hemo se exporta por medio de proteínas de la familia ABC (**AtP-Binding Cassette**), para unirse en el citosol a las globinas y citocromos y finalmente la formación de hemoglobina.

El hígado es otro órgano con cantidades considerables de RTf. Actúa como lugar de reserva orgánica del hierro en forma de ferritina y lo emplea para la síntesis de enzimas en los hepatocitos. Por otra parte, los agregados resultantes de la degradación de la ferritina conforman la *hemosiderina*. El hierro contenido tanto en la ferritina como en la hemosiderina está disponible para su movilización (2).

Por otro lado, los macrófagos son células capaces de almacenar el hierro proveniente de eritrocitos senescentes, de células apoptóticas, del plasma y de bacterias. El hierro se almacena en el citosol de los macrófagos en forma de *ferritina*, y la degradación de ésta en los lisosomas da origen a la *hemosiderina*.

La demanda de hierro en las células depende de los siguientes factores:

- La función que estas cumplan en el organismo.
- La mayor o menor cantidad de hierro que tenga la célula
- Su actividad proliferativa.

Se puede hablar de dos tipos de tejidos diferenciados en función del tipo de control que se ejerce sobre el número de receptores de transferrina en su membrana celular:

1. Tejidos constituidos por células no proliferantes, como las neuronas y las células musculares estriadas. Poseen receptores de transferrina que permiten el aporte de hierro para sus funciones y almacenamiento tisular.
2. Tejidos con células altamente proliferativas que expresan de forma variable los receptores de transferrina atendiendo a sus necesidades metabólicas: eritroblastos, células trofoblásticas, hepatocitos, linfocitos y células tumorales.

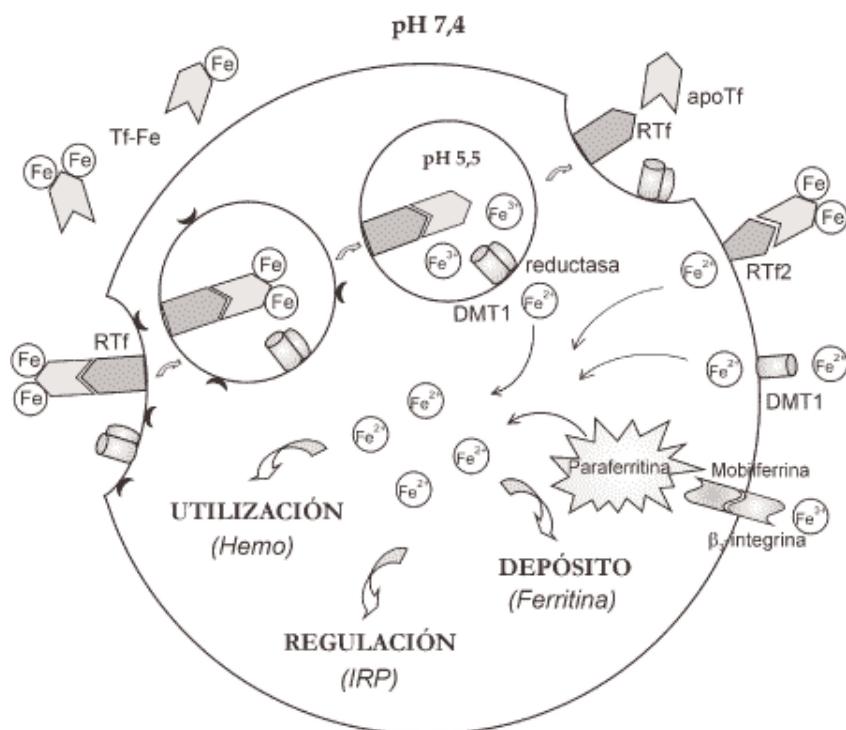


Fig. 2. Captación y destino celular de hierro. Tf: transferrina, RTf y RTf2: receptores de transferrina, IRP (Iron Regulatory Protein: proteína reguladora), DMT1 (divalent metal transporter 1: transportador de metales divalentes) (3).

#### 4) Degradación

Una de las principales funciones de los macrófagos esplénicos y hepáticos es degradar los eritrocitos senescentes para liberar el hierro que forma parte de la hemoglobina y que esté disponible para otro ciclo. Este reciclado de los macrófagos del sistema reticulo endotelial, contribuye en mayor medida a aumentar las concentraciones de hierro en plasma. De esta forma en condiciones fisiológicas, sólo es necesario un aporte externo diario relativamente pequeño para reponer las pérdidas que se producen (3).

Los macrófagos son capaces de reconocer aquellos eritrocitos senescentes a través de distintos marcadores. Destacan las modificaciones de la *familia 4 soluto portador (intercambiador de aniones)*, *miembro 1 (SLC4A1)*, la presencia de fosfatidilserina de membrana, y la disminución de la flexibilidad de la membrana, ácido siálico y del antígeno de diferenciación 47 (CD47). Una combinación de estas modificaciones desencadenan la fagocitosis de los eritrocitos por el macrófago (2).

Una vez en el fagolisoma, el eritrocito se somete a las *especies reactivas de oxígeno (ROS)* y enzimas hidrolíticas que promueven la liberación del hemo al fluido vacuolar. A continuación, la *hemo-oxigenasa tipo 1 (HO-1)* junto con O<sub>2</sub> rompe la molécula hemo en monóxido de carbono y biliverdina. Los macrófagos también captan a través del receptor de superficie celular CD163 la hemoglobina liberada al suero de los eritrocitos degradados, que se encuentran unidos a la *haptoglobina*.

El hierro obtenido de la degradación del eritrocito sale del fagosome a través de los transportadores de membrana DMT1. Una vez en el citoplasma, puede almacenarse en forma de ferritina o ser transportado a través del citosol por la *proteína polimérica de unión nuclear (PCBP)* y entrega el Fe<sup>2+</sup> al FPN1 para la exportación celular, seguida por la reducción a Fe<sup>3+</sup> por el *glicosilfosfatidilinositol (Gpi-Cp)* y final unión a la transferrina sérica (1).

Con esta explicación finalizo la primera parte de esta revisión bibliográfica. En el apartado siguiente (OBJETIVOS) se expondrán las razones principales de este trabajo.

### **3. OBJETIVOS**

#### **PRINCIPAL:**

Actualizar y presentar las principales características de las nuevas proteínas y factores implicados en la regulación del metabolismo del hierro.

#### **SECUNDARIOS:**

1. Explicar y discutir las teorías propuestas sobre las vías de regulación del hierro.
2. Analizar el papel de la hepcidina.
3. Realizar una síntesis de los cambios en los factores estudiados ante un déficit o un exceso de hierro.

## **4. MATERIAL Y MÉTODOS**

En este apartado se va a proceder a describir las bases de la bibliografía utilizadas así como las palabras clave seleccionadas.

### **I. BASES DE DATOS**

Los artículos usados en la creación del presente trabajo han sido obtenidos de la base de datos:

- Pubmed
- Elsevier Science
- SciELO – Scientific Electronic Library Online
- IBECS – Índice Bibliográfico Español en Ciencias de la Salud
- LILACS – Literatura Latinoamericana y del Caribe en Ciencias de la Salud

No se incluyeron los trabajos a los que no se pudo acceder al texto completo, aquellos publicados en un idioma distinto al inglés o español. Tampoco se incluyeron aquellos artículos llevados a cabo con cultivos celulares o in vitro, ni los realizados con animales.

### **II. PALABRAS CLAVE**

Las siguientes palabras clave han sido utilizadas para la búsqueda la información: Iron; Transferrin; Transferrin receptors; Human iron requirement; Alternative routes of iron uptake; Iron metabolism; Hepcidin.

## **5. RESULTADOS**

Para el desarrollo de los objetivos planteados se aborda, en un primer apartado, la estructura y la función de cada una de las nuevas proteínas descubiertas y los mecanismos de su regulación, para poder revisar posteriormente con una mayor profundidad el metabolismo de este metal. A continuación, se describe más en detalle las propiedades de una proteína en concreto, la hepcidina. Más adelante, se realiza un resumen de los efectos sobre los factores expuestos ante un déficit o una sobrecarga de hierro. Finalmente, se exponen las enfermedades asociadas a las reservas del hierro, tanto por deficiencia como por exceso. Para concluir, se revisan brevemente los principios de medida de cada magnitud y la existencia de materiales de referencia.

### **I. ACTUALIZACIÓN METABOLISO DEL HIERRO**

En primer lugar, he desarrollado una búsqueda exhaustiva en diferentes bases de datos y de toda la información abarcada he seleccionado 3 artículos sobre los que basaré la posterior exposición.

| <b>BASE DE DATOS</b> | <b>ARTÍCULO</b>  |
|----------------------|--|
| ELVESIER             | Guixa P, Parera M, Castroc J.A, Picornellc A., Ramónc M and Obradorb A. Aspectos Moleculares De La Absorción Duodenal De Hierro. Papel Del Gen HFE. Gastroenterol Hepatol. Volumen 26(2):86-93. 2003 |
| PUBMED               | Brissot P and Loréal O. Iron metabolism and related genetic diseases: A cleared land, keeping mysteries. J Hepatol. Volumen 64(2):505-15. 2016   |
| PUBMED               | Jing Liu MS, Bingbing Sun, PhD Huijun, Yin MD, and Sijin Liu PhD. Hepcidin: A Promising Therapeutic Target for Iron Disorders. Medicine (Baltimore). Volumen 95(14):e3150. 2016                      |

Hasta hace algo más de dos décadas solo se conocían 3 proteínas que intervenían en el metabolismo del hierro: la ferritina (principal proteína de reserva), la transferrina (principal transportador) y el receptor de transferrina (RTf), indispensable para la internalización del mineral. Durante los últimos años se han descubierto de forma

secuencial, y a partir del estudio de algunas enfermedades genéticas como la hemocromatosis hereditaria, nuevas proteínas que participan en la homeostasis del hierro y que están implicadas en su transporte, absorción, reciclaje y balance en el organismo. La identificación y aislamiento de estas proteínas llevan inevitablemente a la modificación de los modelos clásicos de regulación de la homeostasis de este importante mineral.

| GEN/<br>PROTEÍNA                 | LOCALIZACIÓN<br>DEL GEN | PRINCIPAL SITIO<br>DE EXPRESIÓN            | FUNCIÓN EN EL METABOLISMO   |
|----------------------------------|-------------------------|--|---|
| <b>HFE</b>                       | 6p21.3                  | Enterocitos y macrófagos                   | Modula:<br>- Homeostasis del hierro corporal.<br>- La incorporación celular del hierro unido a la transferrina.<br>- La expresión de la hepcidina |
| <b>SLC11A2/<br/>DMT1</b>         | 12q13                   | Enterocitos                                | Transportador de hierro y otros metales divalentes  |
| <b>TFR2/RTf2</b>                 | 7q22                    | Hígado y células mononucleares             | Sensor de la saturación de transferrina. Modula la expresión de la hepcidina  |
| <b>Heph / Hefaestina</b>         | Xq11 – q12              | Intestino                                  | Eflujo de hierro del enterocito   |
| <b>SLC40A1/<br/>Ferroportina</b> | 2q32                    | Placenta, intestino, hígado, bazo, músculo | Exportador de hierro que participa en su adquisición del medio y reciclaje de las reservas corporales   |
| <b>HAMP / Hepcidina</b>          | 19q13                   | Hígado                                     | Hormona reguladora del hierro   |
| <b>HJV / Hemojuvelina</b>        | 1q21                    | Hígado, corazón, músculo esquelético       | Modula expresión de la hepcidina  |
| <b>ERFE / Eritroferrona</b>      |                         |  | Modula expresión de la hepcidina  |

Tabla 1. Proteínas implicadas en el metabolismo del hierro

## 1) HFE

La proteína HFE fue identificada en 1996 y es codificada por el gen HFE, que está situado en las proximidades del *complejo mayor de histocompatibilidad tipo 1 (HLA-1)* del cromosoma 6. Es una proteína considera atípica: no une péptidos ni desempeña ningún papel conocido a día de hoy en el sistema inmune; tampoco se une ni transporta hierro. Se localiza en los macrófagos y la cara basolateral de los enterocitos, donde actúa como sensor de las reservas corporales del hierro.

La proteína HFE necesita unirse a la beta-2-microglobulina para expresarse en la superficie celular e interaccionar así con el TfR1. En condiciones fisiológicas, la transferrina ligada al hierro se une al receptor TfR1, y de esta forma se introduce en el interior de las células. Hay varios modelos propuestos, pero el que parece más probable se basa en que la HFE compite con la transferrina por la unión al TfR1, modulando de esta forma la cantidad de hierro que se introduce en las células. Según esta teoría, el aumento de la expresión del gen HFE provoca la disminución de la absorción del hierro de la dieta, y de forma inversa, las mutaciones que afecten a este gen impidiendo su unión con la beta-2-microglobulina, darán lugar al depósito patológico del mismo (4).

En fecha reciente, se ha sugerido que HFE normalmente facilita más que obstaculiza la incorporación celular de hierro unido con la transferrina mediada por el RTf, y parece que esta proteína puede también unir otras proteínas o ejercer efecto directo sobre el transporte endosomal del mineral (1).

## 2) DMT1

Este transportador se descubrió a finales del siglo XX, presente en la membrana apical de las células de la mucosa intestinal, es el encargado de canalizar el hierro desde el lumen del intestino al interior de las células de mucosa y cuya expresión en la membrana, aumenta o disminuye de acuerdo con las necesidades de hierro. Desde un punto de vista celular, las *proteínas dependientes de hierro (IRP1, IRP2)* estimulan la síntesis de ferritina y reducen la síntesis de DMT1 cuando hay hierro suficiente,

mientras que en la deficiencia de hierro se reduce la síntesis de ferritina y se estimula la síntesis de DMT1. Así, por esta vía, las células de la mucosa podrían detectar el estado de hierro del individuo y aumentarían la absorción de hierro en casos de deficiencia y la disminuirían en casos de exceso (5).

### 3) RTf 2

El RTf 2 es un homólogo de RTf 1, cuya expresión está restringida a hepatocitos, células duodenales y eritroides, lo que sugiere un rol más especializado en el metabolismo del hierro. Se une al complejo Fe/Tf con menor afinidad que el TfR1, y su papel principal es como molécula de señalización.

Aunque ambos receptores son capaces de transportar hierro unido a la transferrina al interior celular, sus propiedades difieren:

- RTf2 tiene una menor afinidad por la holotransferrina que el RTf1, con el que forma un heterodímero.
- RTf2 no se une al HFE.
- El patrón de expresión del RTf 2 es elevado en el hígado y en las células mononucleares de sangre periférica, a diferencia del RTf 1, cuya expresión hepática es mucho menor.

Ambos receptores también difieren en su respuesta a los cambios en el nivel de hierro celular, ya que como el ARNm del RTf 2 no contiene IRE en su región 3'UTR, sus niveles de ARNm y proteínas varían poco con los cambios en los niveles de hierro. Sin embargo, se plantea que puede mediar la incorporación celular de hierro en proporción directa a la saturación de transferrina plasmática, lo que implica que se comporta como un sensor de la saturación de transferrina. Además, a partir de datos experimentales, se ha planteado que contribuye a modular la producción de hepcidina e incluso se ha sugerido que actúa por encima de la HFE en la cascada de señales de inducción de la hepcidina (4).

La función exacta del RTf 2 en el metabolismo del hierro es aún desconocida. Sin embargo, es evidente que esta es importante para el mantenimiento de la

homeostasia del hierro, pues mutaciones en el gen de este receptor, son la causa de una variante de hemocromatosis humana no vinculada al HFE, denominada hemocromatosis hereditaria tipo 3.

#### **4) HEFAESTINA**

Proteína descubierta en 1999 que constituye un importante punto de unión en el metabolismo del cobre y del hierro. Es una proteína rica en cobre, similar a la ceruloplasmina plasmática, con la que tiene una significativa homología estructural y probablemente funcional. Se plantea que actúa como una ferroxidasa necesaria para la salida del hierro del enterocito a la circulación. Su expresión es elevada en el intestino, específicamente en las vellosidades intestinales. En su porción C-terminal tiene un dominio de anclaje a membrana que puede orientar la actividad ferroxidasa sobre la superficie celular o en el interior de las vesículas, para actuar conjuntamente con un exportador de hierro (3).

Se ha planteado que la hefaestina forma parte, junto con el DMT1, de una vía de incorporación de hierro regulada por el HFE.

#### **5) HEPCIDINA**

La proteína antimicrobiana hepática, hepcidina, es un péptido implicado en el control de la absorción intestinal del hierro. Fue así denominada en 2001 al aislarse en orina humana un péptido sintetizado por el hígado (hep-), con propiedades antimicrobianas (antifúngica y antibacteriana) in vitro (-cidin). Actualmente se la conoce también como HAMP (hepcidin antimicrobial peptid).

Está formada por 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.

Durante muchos años diversos investigadores han sospechado la existencia de un factor plasmático que actuara como señal entre diferentes tejidos como el hígado, el

intestino, la médula ósea, y los macrófagos, y la hepcidina parece cumplir esta expectativa. Un aumento de la expresión de la hepcidina tiene un doble efecto, por un lado, inhibe la absorción intestinal del hierro y por otro, bloquea la reserva del hierro de los macrófagos. Con ambas acciones la hepcidina parece estar dedicada a prevenir la sobrecarga férrica del organismo. El efecto en la absorción intestinal del hierro es parecido al de la proteína HFE y existe la sospecha que la hepcidina interacciona con el complejo receptor de transferrina/HFE/ $\beta$ -2-microglobulina inhibiendo el transporte del hierro (4).

La síntesis de la hepcidina está regulada a través de tres estímulos. Los dos primeros tienen que ver con las reservas férricas. Por un lado, un incremento de las reservas férricas del hígado aumenta la expresión de hepcidina, pero un aumento del hierro en forma de complejos de un bajo peso molecular disminuye su expresión. 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). Este último hecho apunta una posible relación de la hepcidina con la patogénesis de la anemia de las enfermedades crónicas (3).

En resumen, estamos ante una hormona implicada en la regulación del metabolismo del hierro cuyo exceso determina anemia de enfermedades crónicas y su defecto enfermedades de sobrecarga de hierro.

## 6) FERROPORTINA

Esta proteína se aisló y caracterizó en el 2000 y es también conocida como *Ireg1* (**i**ron-**r**egulated **t**ransporter **1**) y *MTP1* (**m**etal **t**ransporter **p**rotein). Es la primera proteína transportadora de hierro para el egreso transmembrana del mineral identificada en vertebrados. Se expresa en tejidos involucrados en la homeostasis del hierro, incluido el sistema retículo endotelial (SRE) maduro y en desarrollo, el hígado, el duodeno (especialmente en las células absortivas maduras de las vellosidades), en el

útero de embarazadas y en los músculos y las células del sistema nervioso central de embriones.

Este transportador es una proteína transmembrana multimérica regulada por hierro, que se localiza en la membrana basolateral de las células del epitelio duodenal y en el compartimiento citoplasmático de células del SRE, donde tiene una distribución predominantemente basolateral. No obstante, puede encontrarse en el citoplasma basal y apical de estas células. Está relacionada con la familia de los transportadores divalentes del DMT1 y como transportador de membrana de hierro ferroso requiere una actividad ferroxidasa, para lo que se acopla a la hefastina.

La existencia de un IRE en la región 5'UTR del ARNm de la ferroportina indica una regulación dependiente de hierro semejante a la de la ferritina. Asimismo, se ha observado que la expresión de esta proteína en hígado y duodeno es regulada por el hierro de forma recíproca y que la sobreexpresión en cultivos celulares conduce a la depleción intracelular del mineral.

Se plantea que tiene una función clave en do aspectos diferentes de la homeostasia del hierro; por un lado, en la absorción del mineral por los enterocitos duodenales y por otro, la liberación de las reservas corporales por células retículoendoteliales, por lo que se postula como el principal y único exportador de hierro que funciona en estos 2 puntos claves del metabolismo férrico. Recientemente se ha planteado que la ferroportina es esencial para el reciclaje del hierro hemo por los macrófagos.

## 7) HEMOJUVELINA

La hemojuvelina (**HJV**) es una proteína de membrana producida principalmente en el hígado y, en una menor proporción, en el músculo esquelético y cardiaco. El gen de expresión de la HJV está ubicado en el cromosoma 1q21 y es también conocido como HJV o HFE2 (por ser responsable de la hemocromatosis juvenil).

Aunque su función fisiológica permanece sin esclarecer, se piensa que junto al HFE y al RTf2, puede ser uno de los elementos de la cascada de señalización que controla la

expresión de la hepcidina, como puede deducirse del hecho de que pacientes deficientes de HFE y HJV no manifiestan aumento de la producción de hepcidina en respuesta a la sobrecarga de hierro.

### **8) ERITROFERRONA**

La eritroferrona (ERFE), es una hormona sintetizada en la médula ósea por los eritroblastos, en respuesta a la eritropoyetina en situaciones de hipoxia y/o anemia. Su función principal es mediar precozmente la supresión de hepcidina contribuyendo a la sobrecarga de hierro, permitiendo una mayor disponibilidad para la producción de eritrocitos. Es la única vía negativa de la regulación hormonal del hierro.

Este es el mecanismo productor de enfermedades como por ejemplo la beta talasemia intermedia y en otras anemias congénitas, incluso en ausencia de transfusiones o con mínimo numero de concentrado de hematíes (4).

## **II. TEORÍAS PROPUESTAS Y DISCUTIDAS SOBRE LAS VÍAS DE REGULACIÓN DEL HIERRO.**

En primer lugar, he desarrollado una búsqueda exhaustiva en diferentes bases de datos y de toda la información abarcada he seleccionado 3 artículos sobre los que basaré la posterior exposición.

| <b>BASE DE DATOS</b> | <b>ARTÍCULO</b>   |
|----------------------|---|
| SCIELO               | Ganz T. Hepcidin and iron regulation. 10 years later. Blood. Volumen 117(17):4425-33. 2011.   |
| PUBMED               | Rochette L, Gudjoncik A, Guenancia C, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. The iron-regulatory hormone hepcidin. Pharmacol Ther. Volumen 146:35-52. 2015. |

Para explicar la regulación de la absorción se han propuesto 2 modelos: el de las criptas programadas y el de la hepcidina.

## **1. Modelo de las criptas programadas**

Plantea que la cantidad de hierro que se absorbe viene determinada por la carga de hierro de los enterocitos en las criptas. La expresión de DMT1, del receptor de transferrina 1 (TfR1) y de la ferritina, son controladas por los niveles de hierro en estas células a través de la interacción de las proteínas reguladoras de hierro (IRP1 y 2) con los elementos de respuesta al hierro (IRE) en los ARN mensajeros (ARNm) de estas proteínas. En ausencia de hierro, la IRP1 se une con el IRE del ARNm del TfR1, DMT1 y Fpn, el transcripto se estabiliza, se produce la traducción y, en consecuencia, las proteínas son sintetizadas. Luego, el aumento de la actividad de unión de IRP1 es reflejo de la disminución de las reservas corporales de hierro que resulta en la estimulación de la síntesis de estas proteínas con el consecuente aumento de la absorción intestinal de hierro. Sin embargo, cuando las IRP se unen al IRE del ARNm de la ferritina la traducción del transcripto se bloquea y la síntesis se detiene. Así, las concentraciones de ferritina son recíprocamente reguladas, estando aumentadas en los estados de repleción y disminuidas en la depleción del mineral.

## **2. Modelo de la hepcidina**

La identificación y caracterización de las proteínas explicadas en el apartado anterior, ha conducido inevitablemente a la modificación del modelo clásico resumido en el punto anterior.

Actualmente es un hecho casi indiscutible el papel central del hígado en determinar cuánto hierro se absorbe en el intestino y su influencia en la liberación del mineral a partir de los sitios de reserva.

El descubrimiento de la hepcidina reveló la importancia del hígado en la regulación del estado de hierro corporal y en la modulación de la liberación del hierro celular mediada por la ferroportina. La hepcidina es capaz de unirse directamente a la ferroportina, lo que produce su internalización y degradación. En el enterocito, esta acción podría disminuir el transporte basolateral del hierro y así disminuir la absorción

del mineral. Por su parte, en los macrófagos y hepatocitos, la hepcidina puede guiar a la exportación del hierro y a la disminución de las reservas del mineral.

La expresión de la hepcidina en el hígado es regulada por los mismos factores que afectan la absorción del hierro, por lo tanto, cuando alguno de estos factores se altera, la absorción de hierro varía inversamente con la expresión hepática de la hepcidina. Además la expresión de esta proteína es afectada por el RTf 2, la HFE y la HJV. Se ha planteado que estas moléculas operan por encima de la hepcidina, y que la ferroportina está por debajo de esta molécula en la ruta de control de la homeostasis del hierro (7).

Actualmente se plantea que el hepatocito no solo es el sitio de almacenamiento de los depósitos de hierro, sino que es el centro de control del mantenimiento de la homeostasia de este mineral, pues él recibe múltiples señales relacionadas con el balance del hierro y es el responsable del control transcripcional de la hepcidina.

Las alteraciones en la regulación de la hepcidina han sido estudiadas fundamentalmente en 2 condiciones clínicas: la hemocromatosis hereditaria y la anemia de los procesos crónicos. Las variaciones de la homeostasia del hierro observadas en estas entidades son contrarias. Así, la expresión de la hepcidina es extremadamente baja en pacientes con hemocromatosis, mientras está aumentada en pacientes con estados inflamatorios. En la hemocromatosis hereditaria hay un incremento de la absorción del hierro dietético, una escasez relativa de hierro en los macrófagos del SRE y un aumento de la saturación de la transferrina circulante, lo que hace que los hepatocitos se carguen con hierro probablemente porque la incorporación de hierro de la circulación excede la exportación mediada por la ferroportina. Por el contrario, en la anemia de los procesos crónicos, la retención de hierro por los enterocitos duodenales y los macrófagos conduce a una saturación de la transferrina marcadamente disminuida, a una eritropoyesis restringida de hierro y a una anemia de ligera a moderada. Así, la hepcidina ofrece una explicación unificada para las alteraciones del metabolismo del hierro observadas en estas 2 condiciones clínicas.

Indiscutiblemente, en los últimos años se han producido notables avances en la comprensión de los mecanismos que regulan la homeostasia del hierro. Sin embargo, existe consenso en que aún quedan muchas interrogantes acerca de cómo son reguladas la absorción y distribución del hierro. Algunas de ellas son: cuál es el mecanismo molecular por el que HFE, RTf 2 y HJV influyen sobre la expresión de la hepcidina; qué influencia tiene la expresión de HFE en otras células sobre la homeostasia del hierro; qué otros genes están involucrados en el metabolismo de este mineral, como el transportador del hemo o las proteínas participantes en el tráfico intracelular; y más futurista aún, el posible potencial terapéutico para los antagonistas de la hepcidina en el tratamiento de la anemia de los procesos crónicos o la posible utilización de hepcidina exógena en el tratamiento de la hemocromatosis hereditaria (8).

### **III. SÍNTESIS DE LOS CAMBIOS EN LOS FACTORES ESTUDIADOS ANTE UN DÉFICIT O UN EXCESO DE HIERRO.**

#### **1. Déficit plasmático de hierro**

La deficiencia de hierro se produce cuando los requerimientos del organismo exceden los aportes. En aquellas situaciones en que existe escaso hierro disponible, se producen limitaciones en la síntesis de compuestos fisiológicamente activos que lo contienen y, por lo tanto, surgen consecuencias deletéreas (6).

Las causas que pueden conducir a la deficiencia de hierro involucran cuatro factores principales:

- Pérdida de sangre (uterina en las mujeres, gastrointestinal en ambos sexos).
- Dieta deficiente o inadecuada (pobre en hierro o con exceso de inhibidores de la absorción del metal)
- Aumento de la demanda (embarazo) y d) mala absorción (patologías gastrointestinales).

En un principio, las necesidades pueden ser cubiertas recurriendo a las reservas de hierro asociado a ferritina y hemosiderina; pero si el balance negativo persiste, dichas reservas terminan por agotarse.

Como respuesta a una importante disminución del pool intracitoplasmático de hierro, se induce el aumento de la expresión de los RTf a través del mecanismo mediado por la interacción IRE-IRP. De esta manera, las células se adecuan para captar el hierro necesario para cubrir sus requerimientos.

Bajo condiciones de deficiencia de hierro, su absorción intestinal también se incrementa como consecuencia de distintas adaptaciones:

- La expresión de la proteína DMT1, mediadora del transporte de iones ferrosos desde el lumen intestinal al interior de los enterocitos, es regulada positivamente. El gen que codifica esta proteína produce dos transcriptos diferentes por splicing alternativo. Sólo la isoforma L, que es expresada en la porción proximal del duodeno, contiene una secuencia IRE en la región UTR 3' de su ARNm. Esta secuencia sería responsable del aumento de la expresión de DMT1 como consecuencia del déficit de hierro dietario. La expresión de la reductasa férrica duodenal DcytB, aumenta también bajo condiciones de deficiencia de hierro. Tras una dosis oral elevada del metal se produce una rápida disminución de la expresión de DMT1 y DcytB (4).
- Las células absorptivas de sujetos con deficiencia del metal esencial contienen elevados niveles de hemooxigenasa, sugiriendo un aumento del aporte de hierro de origen hémico.

## **2. Sobrecarga plasmática de hierro**

Un estado de sobrecarga en el contenido total de hierro resulta de un aporte del metal que excede los requerimientos. Como las necesidades son limitadas y los seres humanos carecen de un mecanismo fisiológico para la excreción del exceso de hierro, un incremento sostenido en su absorción puede, eventualmente, resultar en una acumulación del metal. Como consecuencia, si la capacidad del organismo para

llevar a cabo su transporte y almacenamiento es excedida, la toxicidad del metal puede producir daño a distintos órganos e, inclusive, desencadenar la muerte (4).

Las manifestaciones tóxicas de la sobrecarga de hierro dependen en parte de la magnitud del exceso, de la velocidad de acumulación y de la partición del metal entre sitios de depósito relativamente benignos en los macrófagos y los más perjudiciales en las células parenquimatosas.

Contrariamente a lo que sucede bajo condiciones de deficiencia de hierro, el aumento de la saturación de Tf sérica induce la regulación negativa de la expresión de RTf en células hepáticas y de otros órganos.

Por otra parte, el excedente de hierro que circula en la forma de complejos de bajo peso molecular, induciría el aumento de la captación del metal por la vía independiente de Tf en aquellas células encargadas de la detoxificación del medio, como los macrófagos (5).

En respuesta a la sobrecarga de hierro, el hígado secreta hepcidina, una hormona proteica que controla los niveles plasmáticos del metal, regulando la absorción de hierro dietario. La unión de hepcidina a la Fpn induce la internalización y posterior degradación de la proteína transportadora. Como consecuencia, disminuye la exportación de hierro desde el enterocito hacia el plasma.

La forma más común de sobrecarga de hierro es la hemocromatosis hereditaria. Los pacientes con este desorden autosómico recesivo absorben regularmente dos o tres veces más hierro dietario que las personas normales. Por lo tanto, la cantidad del metal unido a Tf aumenta. El exceso de hierro es depositado en las células parenquimatosas del hígado, corazón, páncreas, glándula pituitaria y paratiroides. Como consecuencia, los pacientes desarrollan hepatomegalia con fibrosis y cirrosis, cardiomielopatías y diversas endocrinopatías como diabetes mellitus, hipopituitarismo, hipogonadismo e hipoparatiroidismo.

## **6. CONCLUSIONES**

Este trabajo, si bien no es una revisión completa de todos los aspectos bioquímicos y nutricionales del hierro, trata de comprender los aspectos metabólicos más relevantes de este mineral esencial.

El avance de la biología molecular ha aportado nueva luz en el estudio del metabolismo del hierro, al descubrirse la existencia de proteínas con diferentes denominaciones y funciones en la regulación corporal de este elemento. Por ello se hace necesaria una reordenación de nuestros conocimientos en este área para su correcta aplicación en la clínica. Aunque la cantidad de hierro en los sistemas biológicos es mínima, no lo es su importancia en los procesos metabólicos, especialmente por su capacidad de aceptar o donar electrones rápidamente a través de su interconversión entre las formas férricas ( $\text{Fe}^{3+}$ ) y ferrosas ( $\text{Fe}^{2+}$ ). Este tipo de reacciones, necesarias para un metabolismo celular normal, no son inocuas para la integridad de las células ya que producen radicales libres de oxígeno, los cuales dañan las membranas, las proteínas y los ácidos nucleicos. Una primera consecuencia de este hecho fisiológico es la necesidad de que su transporte, transmisión y almacenamiento en las células deba hacerse con el átomo enclaustrado en proteínas, que lo solubilizan y evitan el daño tisular. La patología secundaria a los trastornos del metabolismo del hierro ocurre tanto por defecto como por exceso y su comprensión pasa obligatoriamente por el análisis de los mecanismos básicos operativos en condiciones fisiológicas.

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

anoxia han representado un avance trascendental en el entendimiento de estos fenómenos.

Por último, cabe destacar que las investigaciones actuales y las propuestas en un futuro están orientadas al desarrollo de compuestos agonistas (para tratar enfermedades de sobrecarga de hierro como la hemacromatosis y las talasemias) o antagonistas de esta hormona (para tratar anemia de la inflamación). También se están desarrollando drogas que interfieran con la producción de citoquinas inflamatorias las cuales activan las rutas de señalización para la producción de hepcidina.

## **7. BIBLIOGRAFÍA**

1. Wallace DF. The Regulation of Iron Absorption and Homeostasis. *Clin Biochem Rev.* 37(2), 51-62, 2016.
2. Alam MZ, Devalaraja S and Haldar M. The Heme Connection: Linking Erythrocytes and Macrophage Biology. *Front Immunol.* 1(1), 8-33, 2017.
3. Perez G, Vittori D, Pregi N, Garbossa G and Nesse A. Homeostasis del hierro. Mecanismos de absorción, captación celular y regulación. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 39(3), 301-314, 2005.
4. Guixa P, Parera M, Castroc JA, Picornellc A, Ramónc M and Obradorb A. Aspectos Moleculares De La Absorción Duodenal De Hierro. Papel Del Gen HFE. *Gastroenterol Hepatol.* 26(2), 86-93, 2003.
5. Brissot P and Loréal O. Iron metabolism and related genetic diseases: A cleared land, keeping mysteries. *J Hepatol.* 64(2), 505-15, 2016.
6. Jing Liu M, Bingbing S, Huijun J, Yin M, and Sijin L. Hepcidin: A Promising Therapeutic Target for Iron Disorders. *PhD.* 95(14), 10-15, 2016.
7. Ganz T. Hepcidin and iron regulation. 10 years later. *Blood.* 117(17), 4425-4433, 2011.
8. Rochette L, Gudjoncik A, Guenancia C, Zeller M, Cottin Y and Vergely C. The iron-regulatory hormone hepcidin. *Pharmacol Ther.* 146, 35-52, 2015.
9. Nazanin A, Richard H and Roya Kelishadi. *J Res Med Sci.* 19(2), 164–174. 2014.
10. Abbaspour N, Hurrell R and Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. *J Res Med Sci.* 19, 164-74, 2014.
11. Mayeur C, Patricio A, Starsha A, Binglan Y and Kenneth D. BMP type II receptors have redundant roles in the regulation of hepatic hepcidin gene expression and iron metabolism. *Blood.* 24(13), 211-223, 2014.
12. Park CH, Valore EV, Waring AJ and Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem.* 276, 7806–7810, 2001.
13. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T and Vogel HJ. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem.* 277, 37597–37603, 2001.

14. Pandur E, Nagy J, Poór VS, Sarnyai A, Huszár A, Miseta A and Sipos K. Alpha-1 antitrypsin binds preprohepcidin intracellularly and prohepcidin in the serum. FEBS J. 276(7), 2012-2021, 2009.