

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD**



TESIS

ASOCIACIÓN DE LAS ANEMIAS HIPOCRÓMICAS Y LOS NIVELES DE HEPCIDINA SÉRICA COMO MARCADOR DE DIAGNÓSTICO EN PACIENTES CON TRASTORNOS EN EL METABOLISMO DEL HIERRO

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias de la Salud

Presenta

QFB. JOSÉ ARTURO MEDINA CAMACHO

Directora de tesis

Dra. Mirna del Carmen Brito Perea

Co-Directora

Dra. Bertha Landeros Sánchez

Tijuana, Baja California; Noviembre de 2016

AGRADECIMIENTOS

A mi esposa, padres, hermanos, familia y amigos, por su apoyo incondicional y motivación, para lograr esta meta en mi vida profesional.

A mi asesora de tesis, Dra. Mirna del Carmen Brito Perea, por su esfuerzo, dedicación y paciencia.

A mi comité de tesis por sus consejos y guía durante mi formación como investigador.

A la Universidad Autónoma de Baja California, por mi formación académica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento para la realización de este proyecto de investigación.

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

FOLIO No. 193

Tijuana, B. C., a 11 de noviembre de 2016

C. José Arturo Medina Camacho
Pasante de: Maestro en Ciencias de la Salud
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS

Es propuesto, por las C. Dras. Mirna del Carmen Brito Perea y Bertha Landeros
Sánchez

Quienes serán las responsables de la calidad del trabajo que usted presente, referido al
tema: ASOCIACIÓN DE LAS ANEMIAS HIPOCRÓMICAS Y LOS NIVELES DE HEPcidina
SÉRICA COMO MARCADOR DE DIAGNÓSTICO EN PACIENTES CON TRASTORNOS EN
EL METABOLISMO DEL HIERRO.

el cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I.- INTRODUCCION
- II.- ANTECEDENTES
- III.- JUSTIFICACION
- IV.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
- V.- GENERALIDADES
- VI.- OBJETIVO GENERAL
- VII.- METODOLOGÍA
- VIII.- RESULTADOS
- IX.- CONCLUSION
- X.- REFERENCIAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS E INGENIERÍA

Dr. José Luis González Vázquez
Secretario

Dra. Mirna del Carmen Brito Perea
Directora de Tesis
Dra. Bertha Landeros Sánchez
Co-Directora de Tesis
Dr. Luis Enrique Palafox Maestre
Director

CONTENIDO

	<i>Paginas</i>
ÍNDICE DE CUADROS, GRÁFICOS Y FIGURAS	3
I- INTRODUCCIÓN	4 - 5
II- ANTECEDENTES	6 - 9
III- JUSTIFICACIÓN	10 - 12
IV- PLANTEAMIENTO DE PROBLEMA	13 - 14
V- GENERALIDADES	15 - 18
VI- OBJETIVO GENERAL	19
VI.I- OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
VII- METODOLOGÍA	20
VII.I- ACTIVIDADES	21 - 26
VIII- RESULTADOS	27 - 33
IX- CONCLUSIÓN	34 - 35
X- REFERENCIAS	36 - 40

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Valores de las absorbancias utilizadas para la curva de calibración del kit para hepcidina.	23
2	Correlación entre niveles de hepcidina y perfil de hierro en anemias ferropénicas.	30
3	Correlación entre los niveles de hepcidina y el perfil de hierro en anemias sideroblásticas.	31
4	Correlación entre los niveles de hepcidina y el perfil de hierro en anemias asociadas a padecimientos crónicos.	31
5	Propuesta de inclusión de los niveles Hepcidina como un nuevo marcador para el diagnóstico diferencial de Padecimientos asociados al metabolismo del hierro (Anemias Hipocrómicas).	35

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico	Descripción	Página
1	Curva de calibración para la determinación de hepcidina.	23
2	Representación de la población en estudio.	27
3	Distribución de la población por grupo de edad con signos de anemia hipocrómica.	28
4	Clasificación según el diagnóstico diferencial de las anemias hipocrómicas en estudio.	28
5	Frecuencia de la alteración en los niveles de Hepcidina en casos con y sin diagnóstico de anemia.	29
6	Frecuencia en las alteraciones del perfil de hierro en población con signos de anemia hipocrómica.	29
7	Niveles de hepcidina en pacientes sin diagnóstico de anemia.	32

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Representación de las funciones que realiza la hepcidina en la regulación del hierro sanguíneo, tanto del proveniente de la dieta, como el reciclado celular	16
2	Diagrama de flujo para selección de los candidatos para estudio.	21

I- INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las anemias son un problema de salud pública afectando a un 24.8% de la población mundial, repercutiendo con esto, a las diversas poblaciones, a ambos géneros y a todas las edades, existen más de 817 millones de personas que presentan esta patología en el mundo y cada día se incrementa la prevalencia de presentarla en algún momento de sus vidas (*WHO Global Data Base on Anemia, 2008*).

Las anemias por deficiencia de hierro son consecuencia de la disminución en la concentración de hierro en el organismo, debido a una mala nutrición, procesos inflamatorios, hemorragias y factores de origen hereditario. La carencia de este mineral afecta principalmente el sistema inmunológico, los procesos de crecimiento, la función del sistema digestivo, el rendimiento físico, así como la producción de la hemoglobina, que juega un papel fundamental en la oxigenación de todos los tejidos del cuerpo (Bregman David et al., 2013), (Giuliani R. A., 2012).

La deficiencia de hierro ocurre en tres etapas de severidad creciente. Primero (Etapa I) ocurre un agotamiento en las reservas del hierro en forma de ferritina, con esto desarrollando una depleción de los depósitos férricos, al continuar el déficit de hierro (Etapa II) se compromete el aporte de hierro a los tejidos, lo que incrementa la concentración de la transferrina (proteína encargada de facilitar el flujo del hierro al plasma sanguíneo), por lo que empieza a generar una alteración en la síntesis de hemoglobina (eritropoyesis), en la etapa III, al no contar con una concentración necesaria de hierro que abastezca la producción de la hemoglobina, los eritrocitos se tornan hipocrómicos microcíticos, generando con esto una hematopatología severa, como lo es la anemia por deficiencia de hierro. (Barbella et al., 2013).

La Hecpídina es una hormona peptídica relativamente joven, debido a su descubrimiento en el año 2000, esta es producida principalmente por el hígado y se ha encontrado que también se produce en bajas concentraciones en el corazón, páncreas, pulmones y células hematopoyéticas, también conocida como la

hormona peptídica antimicrobiana, debido a la participación activa durante los procesos inflamatorios, ya que presenta similitud con otros péptidos antimicrobianos como las defensinas y las protegrinas (García et al.,2008).

La hepcidina es fundamental en la regulación del hierro a nivel intestinal, proveniente de la dieta diaria, favorece al almacenamiento del hierro intracelular, así como regula los niveles férricos en el torrente sanguíneo, de igual forma, mantiene el control sobre el hierro proveniente de la degradación de células rojas por los macrófagos y en las células hepáticas (Kroot et al.,2011).

El método de determinación de la hepcidina, se realiza a través del inmunoensayo ELISA DGR-Hepcidin-25 HS en muestras séricas. Conociendo la importancia de esta hormona y la concentración presente en sangre, es un parámetro para contemplar dentro del perfil de diagnóstico especializado de las anemias ferropénicas, junto con otros parámetros como la transferrina, ferritina, hierro total, Índice de saturación de la transferrina (IST) y la capacidad total de fijación del hierro (CTFH), para generar un diagnóstico completo, eficaz y específico, dirigido al diagnóstico de los trastornos hemáticos, específicamente las anemias microcíticas hipocrómicas, incluyendo las anemias refractarias al tratamiento.(E.H.J.M. et al.,2008), (Galesloot et al., 2011), (Gaun et al., 2014), (Liu Jing et al.,2016).

II- ANTECEDENTES

El hierro es un metal importante y fundamental en el funcionamiento hemostático en los seres vivos, este se encuentra presente en los procesos eritropoyéticos, ya que es clave en la producción de la hemoglobina presente en los glóbulos rojos, una deficiencia o exceso del hierro sérico, puede favorecer al desarrollo de diversas patologías, como lo son las inflamaciones, degeneraciones neurológicas, cáncer y algunas alteraciones metabólicas, como las anemias (Camaschella, 2013),(Arezes J., 2015) .

Las anemias son un problema de salud pública afectando a un 24.8% de la población global, en el cual, toda clase de grupos son susceptibles a poder presentarlo en algún momento de sus vidas, con mayor prevalencia en niños preescolares con un 47.4% y en grupos de mujeres no embarazadas con una cifra de 468.4 millones de mujeres (*WHO Global Data Base on Anemia, 2008*).

Las anemias se caracterizan por ser una alteración en las células rojas de la sangre, lo cual las hace inadecuadas para realizar sus funciones vitales como el transporte de oxígeno y nutrientes, así como el dióxido de carbono y desechos de los tejidos de manera óptima, existen diversos factores que puedan afectar estas células, también la prevalencia de presentar anemias varía conforme a la edad y sexo, por ejemplo siendo en un 26.1% en hombres y 20.1% en mujeres mayores de 85 años (Poggiali et al.,2014).

Las causas dentro de la generación de una anemia, pueden ser multifactoriales, por ejemplo; la presencia de una mala nutrición, en algún proceso hemorrágico, en algunas alteraciones metabólicas, así como alteraciones en el material genético celular de carácter hereditario (Pita et al., 2010).

Los tipos de anemias existentes se clasifican en 4 grupos; las anemias sideroblásticas, las talasemias (5% de la población mundial es portadora de la mutación en el cromosoma 16, gen precursor de la alfa globina y en algunas regiones puede alcanzar el 25% de su población), anemias asociadas a enfermedades crónicas y la anemia por deficiencia de hierro, siendo esta última la

que presenta mayor prevalencia globalmente (*WHO Global Data Base on Anemia, 2008*), (WHO, 2011).

Los trastornos en el metabolismo del hierro, pueden desencadenar un exceso, una deficiente o nula absorción de este metal, lo que puede conllevar al desarrollo de hipercromatosis o hipocromatosis respectivamente, lo que puede favorecer a una falla principalmente en la producción de hemoglobina, así como generar otras hemoglobinopatías, neuropatías, hepatopatías, entre otras afecciones fisioanatómicas (Toxqui et al., 2010).

Las anemias por deficiencia de hierro son consecuencia de la disminución en la concentración de hierro en el organismo, generando con esto eritrocitos hipocrómicos y microcíticos por la falta de hierro necesario para formar hemoglobina, este tipo de anemias lo presenta el 30% de la población mundial, y a ella se le atribuye como una de las principales causas de desencadenar otras patologías, las causas principales para presentar este tipo de anemias son; deficiencia en la ingesta de hierro en la dieta, embarazo, hemorragias, periodo menstrual, así como alteraciones en las diversas estructuras involucradas en el metabolismo del hierro como lo es la transferrina y la hepcidina (Rojas et al., 2008), (Dawn et al., 2014).

El hierro que se ingiere en la dieta es principalmente obtenido de los productos de origen animal, como las carnes que contienen grupos Hemo proveniente de la hemoglobina, el resto del hierro que es introducido al organismo es de origen inorgánico, este al llegar a la porción duodenal del intestino pasará por un proceso de reducción de Fe^{+3} a Fe^{+2} , el cual tiene la forma necesaria para poder ser transportando a través de los transportadores divalentes de metales (Por sus siglas en ingles DMT) al interior de los enterocitos para su posterior utilización (Gulec et al., 2014).

Una vez que el hierro reducido (Fe^{+2}) se encuentra en el interior del enterocitos ocurre una serie de procesos en el que se decide si se almacena en forma de ferritina o es transportado al torrente sanguíneo por vía transmembranosa

utilizando a la proteína ferroportina y a la transferrina (se le conoce como holotransferrina a su forma activa enlazada con el hierro), la cual es la proteína encargada del transporte del hierro, para su posterior utilización en la formación de nuevas células sanguíneas o almacenamiento del hierro en otro tejido (Gulec et al.,2014).

La regulación del hierro a nivel intestinal es modulado por la hepcidina, actuando como un inhibidor de la proteína transmembranosa ferroportina, cuando existe un incremento en la concentración de hepcidina, el hierro entra al plasma en grandes cantidades, por lo contrario, si la hepcidina incrementa, esta se une a la ferroportina, causando su internalización y degradación en el enterocito, lo cual reduce el flujo de hierro proveniente de la dieta al plasma sanguíneo, atrapando al hierro en los enterocitos en forma de ferritina, al igual que la hepcidina regula el flujo de hierro en los enterocitos, también lo hace en los macrófagos involucrados en el reciclado férrico proveniente de eritrocitos viejos y en los hepatocitos evita la exportación del hierro almacenado, a través del mismo mecanismo, (Wagner Patrick, 2010), (Poggiali Erika et al.,2014).

La determinación de la hepcidina se realiza mediante pruebas de inmunoensayo Elisa, de las utilizadas se encuentra el DGR Hepcidin Pro-Hormone Kit, que funciona a través de la unión competitiva enzimática en suero y orina, otro es el Kit DGR-HEPCIDIN-25, entre otros kits de inmunoensayo, por otro lado también se realiza la determinación por ensayos de espectrometría de masas en suero para hepcidina y ferroportina, estableciendo para la hepcidina un rango de 29-254 ng/mL en hombres y 17-286 ng/mL en mujeres.(San Miguel et al., 2007),(Tomas Ganz,2011),(Kroot et al.,2010).

La importancia en determinar el nivel de hepcidina en sangre es fundamental, ya que al involucrarla junto con los demás parámetros del perfil de hierro (ferritina, ferroportina, transferrina, etc.), genera un panel de estudios completos que nos dará una interpretación más certera al momento de entender el comportamiento del hierro en pacientes con anemias hipocrómicas y de esta manera poder clasificar

correctamente el tipo de anemia que presenta el paciente (Khuong-Quang et al.,2013).

En las anemias refractarias al hierro, es de gran importancia contemplar al momento de realizar un diagnóstico y formular una terapia para una posible anemia por deficiencia de hierro, los pacientes que presentan este tipo de anemia son tratados como una ferropenia, por lo que se les administra una terapia alta en hierro, ya sea vía oral, intramuscular o venosa, sin tener cambio alguno en sus concentraciones séricas de hierro, lo cual el paciente no presenta mejora, debido a que este es un trastorno hereditario donde se ve afectado el gen TMPRSS6 en el cromosoma 19, que codifica para la producción de la proteína membranosa matriptase-2, esta proteína es la responsable de la regulación de la hepcidina y con ella la regulación del hierro al plasma sanguíneo(De Falco et al.,2013), (Muñoz et al.,2008).

En la actualidad se propone a la hepcidina para generar terapias farmacológicas por su gran potencial como agente antimicrobiano en los procesos de inflamación, así como un posible tratamiento para contrarrestar las hemocromatosis por exceso de hierro, dando protección a órganos susceptibles a una afección por esta sobre concentración férrica(Rochette et al.,2014).

Como se puede observar el gran impacto que presentan las anemias y en particular las anemias por deficiencia de hierro, genera una gran problemática de salud pública mundial, por lo que se propone involucrar en el perfil férrico a la hepcidina, como un marcador para generar un diagnóstico certero y oportuno, con ello, crear una terapia adecuada para contrarrestar este trastorno metabólico y así favorecer la evolución del paciente que presente este tipo de patologías.

III- JUSTIFICACIÓN

La concentración férrica sanguínea es esencial para el desarrollo eritropoyético humano, el hierro es un componente clave para el transporte de oxígeno a través de la hemoglobina, tiene un papel fundamental en el metabolismo, crecimiento y diferenciación celular. La ingesta inadecuada del hierro en la dieta diaria, así como las condiciones inflamatorias crónicas o agudas entre otras patologías como las anemias férricas, están asociadas con alteraciones en la homeostasis de este metal (Cailliat et al.,2013).

La hepcidina es fundamental en el funcionamiento hemático, esta es producida en el hígado y regula la absorción del hierro en el cuerpo, así como el mantenimiento de la homeostasis. Esta hormona es de suma importancia en el diagnóstico de padecimientos asociados al metabolismo del hierro, como los son las anemias hipocrómicas, ya que favorece la realización del diagnóstico diferencial de estas anemias, tanto por deficiencia de hierro, así como las refractarias al hierro terapéutico (Ganz et al., 2011), (Dao et al.,2013).

Las estadísticas de la base de datos de la Organización de las Naciones Unidas (ONU) establecen que de las anemias existentes, el 50% se le atribuye solo a las anemias por deficiencia de hierro, entre 1993 y 2005 con un 95% de confianza.

Globalmente las anemias afecta al 24.8% de la población, teniendo como alta prevalencia el 47.4% en niños preescolares (0-4.99 años de edad) y baja prevalencia en el 12.7% en hombres (15-59.99 años de edad), sin embargo, la mayor población con individuos afectados en estos casos son mujeres no embarazadas (15-49.99 años de edad) con 468.4 millones de mujeres, sin olvidar la prevalencia del 23.9% en ancianos (≤ 60 años de edad) con 164 millones de personas(*WHO Global Data Base on Anemia, 2008*).

En Europa existe una prevalencia del 21.7% en niños preescolares, 25.1% en mujeres embarazadas (sin rango de edad definido) y 19% en mujeres no embarazadas.

Mientras que en Asia existe una prevalencia del 65.5% en niños preescolares, 48.2% en mujeres embarazadas (sin rango de edad definido) y 45.7% en mujeres no embarazadas, siendo el segundo continente registrado con más población afectada por las anemias con un 315.4 millones de personas.

En África existe una prevalencia del 67.6%, equivalente a 83.5 millones de niños preescolares, 57.1% en mujeres embarazadas (sin rango de edad definido) y 47.5% en mujeres no embarazadas, siendo el continente con un mayor registro de población afectada por las anemias.

Existe en los países del Mediterráneo Oriental, una prevalencia del 46.7% en niños preescolares, 44.2% en mujeres embarazadas (sin rango de edad definido) y 32.4% en mujeres no embarazadas.

La región del Pacífico Occidental, presenta una prevalencia del 23.1% en niños preescolares, 30.7% en mujeres embarazadas (sin rango de edad definido) y 21.5% en mujeres no embarazadas.

La prevalencia en el continente de América, es del 29.3% en niños preescolares, 24.1% en mujeres embarazadas (sin rango de edad definido) y 17.8% equivalente a 39 millones de en mujeres no embarazadas.

La prevalencia de esta enfermedad registrada por la WHO en el 2008, en México de acuerdo a género y grupos etarios fue, niños de 0 a 4.99 años, 23.7%; mujeres de 12 a 14.99 años, 8.2-14.4%; mujeres de 15 a 44.99 años, 15.6%; mujeres gestantes, 20.6% y hombres de 15 a 59.99 años, 5.3% (*WHO Global Data Base on Anemia, 2008*).

Según las Encuestas Nacionales de Salud y Nutrición (ENSANUT), la prevalencia de anemias se ubicó en 23.3%, siendo la población mayormente afectada con un 13.6% los niños de ambos sexos, en el 2012 la mayor prevalencia registrada fue en los estados de Campeche (42.7%) y Quintana Roo (40.1%), entre otros estados con prevalencias menores al 30% se encuentra Sinaloa, Distrito Federal,

Aguascalientes, México, Sonora, Michoacán, Querétaro y Baja California (ENSANUT, 2012).

En Baja California, la prevalencia de anemias registradas en el 2012 fueron de 25.3% en preescolares de 1 a 4 años de edad, 16.2% en niños escolares de 5 a 11 años de edad, 5.2% en adolescentes de 12 a 19 años de edad, 8.6% en adultos de 20 a 59 años de edad y 10.7% en la población de ancianos de $\leq$ a 60 años de edad, siendo con esto la población en más riesgo los niños menores de 5 años, especialmente entre los 12 y 24 meses de edad. (ENSANUT, 2012).

Actualmente en México, no existen registros en bases de datos electrónicos sobre la prevalencia de anemias ferropénicas ligadas a los niveles sanguíneos de hepcidina, ni valores de referencia en población mexicana, por lo que abre un enorme campo de investigación en el análisis de esta nueva hormona, que como anteriormente mencionada, es una pieza clave en el diagnóstico correcto de alteraciones en el metabolismo del hierro.

Una población que ha pasado desapercibida por el sector salud en México, son los adolescentes y adultos jóvenes, estos entre los 18 a 26 años de edad, está registrada la prevalencia mundial de anemias en esta población de un 15% (27% en países subdesarrollados y 6% en países desarrollados), lo cual es una cifra en incremento debido a los múltiples trastornos alimenticios y patologías adyacentes que puedan causar una anemia hipocrómica.

Por lo que se propone involucrar el método c-Elisa para la determinación de hepcidina sérica, dentro del perfil de diagnóstico especializado de las anemias ferropénicas, junto con otros parámetros como la transferrina, ferritina e hierro total, planteando con lo anterior descrito, generar un diagnóstico completo dirigido a los trastornos hemáticos, específicamente las anemias hipocrómicas microcíticas y refractarias de hierro, para con ello, mejorar el diagnóstico del paciente para un correcto seguimiento terapéutico.

IV- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las anemias forman parte de las hematopatologías con mayor prevalencia en el mundo, estas pueden ser causadas por la desnutrición, las hemorragias, las enfermedades crónicas, algunos trastornos genéticos, entre otros, así mismo, se encuentran en mayor proporción las anemias hipocrómicas microcíticas por deficiencia de hierro (García et al.,2008).

En el mundo la anemia afecta a 1.6 billones de personas, lo que corresponde al 24.8% de la población, teniendo como alta prevalencia el 47.4% en niños preescolares (0-4.99 años de edad) y baja prevalencia en el 12.7% en hombres (15-59.99 años de edad), sin embargo, la mayor población con individuos afectados en estos casos son mujeres no embarazadas (15-49.99 años de edad) con 468.4 millones de mujeres (*WHO Global Data Base on Anemia, 2008*).

El hierro es un elemento abundante en el mundo, los seres vivos utilizan el hierro en diversos procesos del metabolismo, como el transporte de oxígeno a través de la sangre hasta los tejidos, para el control de crecimiento celular y dentro del metabolismo energético del cuerpo, lo cual hace fundamental incluir al hierro como nutriente en su dieta diaria para mantener la homeostasis (Gulec et al., 2014).

Dentro del metabolismo del hierro se encuentra la hepcidina, una hormona peptídica que se cree es la clave en la regulación del hierro en el metabolismo, esta es una hormona producida por el hígado y participa en conjunto con la actividad eritropoyética, al igual que diversas proteínas en los enterocitos de la porción duodenal como la ferroportina, ambas regulan la absorción, almacenamiento e inhibición del hierro (Barrios et al., 2007), (Dostalíkova et al.,2014), (Zughaiera et al.,2014).

Dentro del perfil de análisis del hierro sérico se encuentran parámetros como la concentración de ferritina, la transferrina y el hierro total, dado a que la hepcidina guarda estrecha relación con los niveles de hierro en sangre, se propone como un marcador a futuro para el correcto diagnóstico de muchas hematopatologías, como lo es la hemocromatosis, talasemias, anemias sideroblásticas, anemias por

deficiencia de hierro, anemias refractarias de hierro, entre otras, lamentablemente es común que no se realice un adecuado diagnóstico confirmatorio ni diferencial de este tipo de anemias de manera rutinaria, se ve afectando el tratamiento específico de las mismas y por lo tanto la calidad de vida y la salud de los pacientes.(Kroot et al., 2011), (Mercadel et al.,2014), (Theurl et al.,2014), (Liu et al., 2016).

V- GENERALIDADES

La hepcidina es una hormona de reciente documentación, debido a su descubrimiento en el año 2000 por una serie de investigadores, también conocida por su participación en procesos inmunológicos como la hormona peptídica antimicrobiana (por sus siglas en inglés LEAP1), posteriormente se identifica que es sintetizada principalmente por el hígado y en bajas concentraciones en órganos como el riñón, tejido adiposo, corazón, páncreas, pulmón y cerebro. Se ha descrito que es una pieza clave en la regulación del metabolismo del hierro. (García et al., 2008).

V.I- Estructura química.

En los humanos el gen que dará origen a la hepcidina se localiza en el cromosoma 19, esta se expresa como un precursor de 84 aminoácidos con 2 divisiones secuenciales, la primera es la secuencia de señal y la segunda es la región que producirá la hepcidina-25 madura. Esta es una molécula formada por 25 aminoácidos (2789.4 Da), presenta una estructura proteínica beta- lamiar con cuatro puentes disulfuro intermoleculares para su estabilización. Junto con forma bioactiva Hpcidina-25, se han encontrado 2 formas cortas que son hepcidina-20 y hepcidina-22, las cuales solo tienen participación dentro del metabolismo del hierro en caso de padecimientos crónicos y sepsis. (Kroot et al.,2011).

V.II- Funciones de la hepcidina.

La hepcidina-25 es fundamental en la regulación del hierro absorbido a nivel intestinal proveniente de la dieta diaria en los enterocitos, a parte apoya al incremento del almacenamiento del hierro intracelular (Ferritina) por degradación e internalización de la proteína ferroportina, la cual es exportadora del hierro intracelular en hepatocitos y macrófagos, lo cual disminuye los niveles férricos en el torrente sanguíneo, esta última propiedad, actúa como un mecanismo de defensa contra microorganismos patógenos, que dentro de su propagación y crecimiento dependan de la concentración de hierro libre, lo que lo convierte a la

hepcidina en una hormona bacteriostática por la restricción del hierro plasmático (Figura 1).

Otra de sus funciones que ha observado en varios casos, es el rol que juega en la modulación de la respuesta inflamatoria estimulada por la expresión de Interleucinas-6, proteínas morfogenéticas óseas (BPM2/4/5/6/7/9) y otras vías de señalización celular. (Ganz Tomas et al.,2003), (Kroot et al.,2011),(Liu et al.,2016).

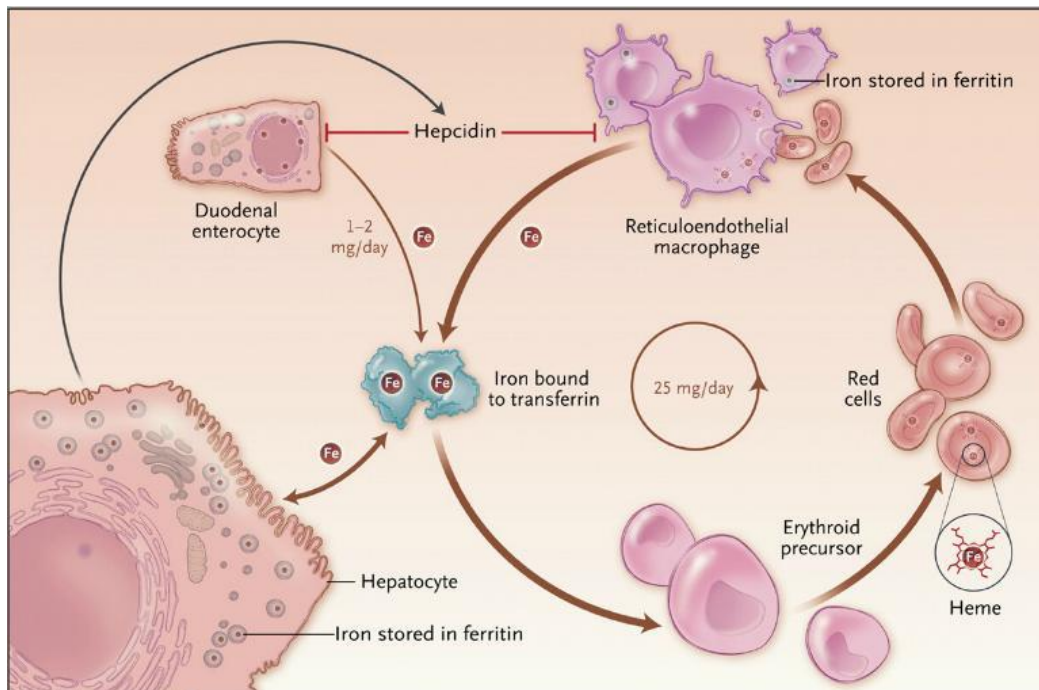


Figura 1.- Representación de las funciones que realiza la hepcidina en la regulación del hierro sanguíneo, tanto del proveniente de la dieta, como el reciclado celular (Kroot et al.,2011).

V.III- Mecanismo de acción de la hepcidina.

La mayor concentración de hepcidina es secretada por los hepatocitos, esta se activa por las concentraciones de hierro extracelular o almacenado, así mismo por procesos inflamatorios, eritropoyéticos o hipoxia.

La hepcidina circulante en el torrente sanguíneo se encuentra ligada a proteínas como la albumina y la α -2-macroglobulina, al ligarse con ferroportina, la única proteína exportadora de hierro en la membrana celular, la hepcidina la inhibe por

internalización y degradación, causando una baja liberación de hierro intracelular al medio, en el sitio de acción la hepcidina se degrada, de igual manera, la hepcidina libre es excretada por los riñones debido a que atraviesa el filtrado glomerular.

V.III.I- Regulación en la expresión de la hepcidina por el hierro.

Existen varios mecanismos para la señalización y expresión de la hepcidina, uno de ellos ligado a la intercomunicación entre las reservas del hierro intracelular y las BPM's, lo cual desencadena una activación de las SMAD (por sus siglas en inglés), proteínas intracelulares que transmiten la señalización extracelular, sobre la concentración de hierro ligado a transferrina y con esto incrementando la transcripción de la hepcidina en caso de existir elevada concentración de hierro.

V.III.II- Regulación por inflamación.

El incremento en la expresión de hepcidina durante un proceso inflamatorio es regulado por las interleucinas (IL-6), a través del receptor quinasa de janus (JAK) activador de la vía de transcripción-3 en conjunto con las STAT's (por sus siglas en inglés) o por estrés oxidativo del retículo endoplásmico, desencadenando la liberación de factores de transcripción de la hepcidina.

V.III.III- La regulación por señalización eritropoyética e hipoxia.

La eritropoyesis necesita una gran cantidad de hierro para la generación de eritrocitos nuevos y que estos puedan realizar el transporte de oxígeno adecuadamente, en este proceso la eritropoyetina actúa directamente en los receptores hepáticos suprimiendo la expresión de señalizadores interno, causando una baja en la concentración de hepcidina, lo cual provocara que la ferroportina continúe con su mecanismo de flujo del hierro de reserva hacia el torrente sanguíneo. En el caso de presentar hipoxia, el mecanismo es similar, ya que la falta de oxígeno en los tejidos estimulara la producción de eritropoyetina en el torrente sanguíneo, ocasionando lo antes mencionado.

V.IV- Hepcidina en trastornos en el metabolismo de hierro.

Dentro de los trastornos en el metabolismo del hierro se encuentran las anemias, estas por deficiencia de hierro, ligadas a padecimientos crónicos, procesos sideroblásticos o talasemias.

Una deficiencia en la concentración de hepcidina promueve que exista un flujo mayor de hierro al torrente sanguíneo y por ende, los diversos órganos que utilizan hierro pueden realizar sus funciones, al exceder la demanda de hierro y no regularse, puede generar en estos una hemocromatosis, el cual puede propiciar afecciones en los tejidos, así como cirrosis hepática e intoxicación de los diferentes órganos (San Miguel et al., 2007), (Ugarte Sebastián et al., 2010), (Warsch et al., 2013).

Un incremento en la liberación de la hepcidina desencadena una serie de procesos de inhibición del hierro intracelular, a ser liberado al plasma, como en el caso de los procesos crónicos o inflamatorios, ya sea por agentes biológicos como microorganismos o desequilibrio hormonal como en el caso de las hormonas sexuales y del crecimiento.

Por otra parte, factores hereditarios como la afección en la proteína matriptase-2, propicia a que desarrolle una liberación excesiva de la hepcidina, trayendo consigo otro desequilibrio metabólico por deficiencia de hierro en plasma generando así hematopatologías como las anemias por deficiencia de hierro (Tomas Ganz, 2011).

VI- OBJETIVO GENERAL

Asociar los niveles séricos de la hormona hepcidina en pacientes con trastornos del metabolismo del hierro, mediante la técnica Elisa, para incluirla como un marcador de diagnóstico en el perfil férrico.

VI.I- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar las concentraciones de hepcidina sérica en estudiantes de la facultad de ciencias químicas e ingeniería (FCQI) de la Universidad Autónoma de Baja California, campus Tijuana.
2. Determinar los factores asociados a las alteraciones en la concentración de hepcidina sérica de la población en estudio.
3. Determinar la correlación entre los niveles de hepcidina y los trastornos relacionados al metabolismo del hierro.

VII- METODOLOGÍA DEL ESTUDIO

Es un estudio transversal prospectivo llevado a cabo en la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, de la Universidad Autónoma de Baja California, campus Tijuana, entre octubre-noviembre de 2015. La población estuvo constituida por 127 estudiantes femeninas, de rango de edad entre 18 a 26 años, quienes asistieron al laboratorio de hematología de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la misma universidad, de manera voluntaria y con previo consentimiento para el manejo de las muestras sanguíneas, tomando en cuenta los siguientes criterios de inclusión: Ser estudiante de la FCQel de la UABC, Campus Tijuana, entre 18 a 26 años de edad, se procesaran muestras de sueros que hayan sido conservadas de 2 a 8 °C por no más de 24 Hrs, así como muestras de suero congeladas a -20 °C por no más de 12 meses.

Con datos obtenidos de un estudio epidemiológico complementario en colaboración con otros investigadores, se cuantificaron niveles de Hepcidina por inmunoensayo (DGR 25-HS), en la población en estudio, 24% resulto con anemia hipocrómica, a través de un diagnóstico diferencial y se clasificaron en pacientes con anemia ferropénica, sideroblástica y asociada a padecimientos crónicos, el resto sin evidencia de anemia.

La variable de las constantes hematológicas (Hb, VGM, HCM, CMHC) se determinó utilizando el método automatizado (ADVIA-60TC). Entre las variables del perfil férrico se determinaron: Hepcidina, Ferritina (Spinreact), Transferrina y Hierro sérico (Pointe), se utilizó el método de ELISA (DRG Diagnostics) en la determinación de Hepcidina-25.

1. VARIABLES

Variables independientes

-El perfil de hierro

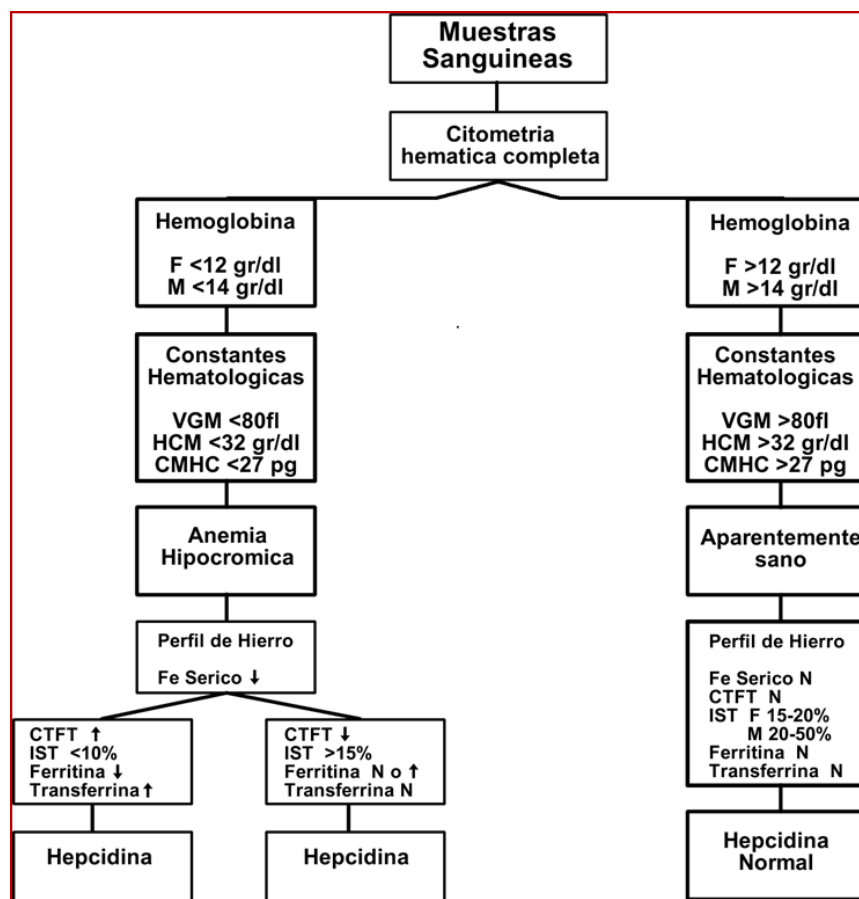
Variables dependientes

-La concentración de hepcidina sérica

VII.I- ACTIVIDADES

- VII.I.I- Elaboración del protocolo para definir población de estudio.
- VII.I.II- Elaborar del diagrama de flujo para la clasificación de la población.
- VII.I.III- Elaboración de la encuesta y consentimiento informado del participante.
- VII.I.IV- Aplicación de encuesta, consentimiento informado y toma de las muestras sanguíneas del participante.
- VII.I.V- Separación, transporte y almacenado de las muestras obtenidas.
- VII.I.VI- Procesamiento de las muestras sanguíneas.
- VII.I.VII- Obtención de los resultados y análisis de los mismos.
- VII.I.VIII- Generación de conclusiones.
- VII.I.IX- Finalizar el trabajo de tesis.
- VII.I.X- Realizar defensa de tesis para la obtención del grado.

Figura 2.- Diagrama de flujo para selección de pacientes



DESCRIPCIÓN DE ACTIVIDADES

Determinación de la población de estudio.

El tamaño muestral se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot p \cdot (1-p)}{(N-1) \cdot e^2 + Z^2 \cdot p \cdot (1-p)}$$

n= Tamaño de la muestra que se desea calcular.

N= Tamaño del universo.

Z= Es la desviación del valor medio para lograr el nivel de confianza deseado (95%)

e= Margen de error máximo admitido (5%).

p= Proporción que se espera encontrar.

Determinación de Hepcidina Sérica

Las muestras de suero congeladas pasaron por un proceso de descongelación lenta, llevándolas de -20°C del congelador a una temperatura de 2-8 °C en el refrigerador por 24 horas, posteriormente se expusieron a temperatura ambiente para estabilizar la muestra.

Antes del análisis se verificó que el Lector (Eliread 2100c) estuviera calibrado, a temperatura y listo para realizar las lecturas de las muestras.

Se analizaron de 16 a 24 muestras simultáneas, estas se cuantificaron por inmunoensayo (DGR Hepcidin25-HS). La placa contiene 96 pocillos de poliestireno recubiertos con anticuerpos anti-hepcidina-25 monoclonal (Incluida en el Kit DGR Hepcidin-25 HS), se realizó una curva de calibración utilizando los reactivos estándares; estándar 0 (0 ng/mL), estándar 1 (1ng/mL), estándar 2 (3 ng/mL), estándar 3 (9 ng/mL), estándar 4 (27 ng/mL) y estándar 5 (81 ng/mL) (Ver cuadro 1 y el gráfico 1), se adicionó a cada pocillo 20µL de cada estándar, control (Alto y bajo), así como de cada muestra a analizar, utilizando entre cada muestra una puntilla nueva, después dispensar 50 µL del conjugado enzimático (Hepcidina 25-Biotina) a

cada pocillo y mezclar por 10 segundos con movimientos circulares, cubrir con un pedazo de parafilm e incubar a temperatura ambiente durante 60 minutos.

Ya terminado el periodo de incubación se decanta el contenido y se realizan 4 lavados con 300 µL de la solución de lavado (Wash solution) y extrayendo el contenido líquido a través de golpes en seco sobre un papel absorbente, repetir el proceso hasta dejar sin liquido cada pocillo.

Adicionar 100 µL del complejo enzimático (Estreptavidina con peroxidasa de rabano) para que este se una por medio del complejo Biotina-Estreptavidina, mezclar por 10 segundos con movimientos circulares, cubrir con Parafilm e incubar durante 30 minutos.

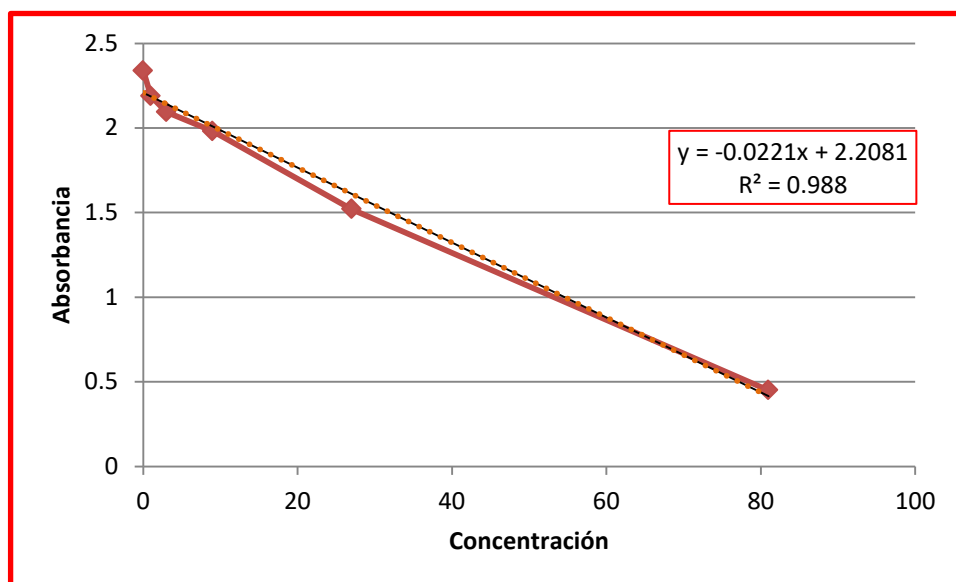
Pasado el periodo de incubación se decanta el contenido líquido y se repite el proceso de lavado con 300 µL de solución y secado hasta que no haya contenido liquido en cada pocillo. Se agregan 100 µL de la solución de sustrato a cada pocillo y se incuba durante 20 minutos a temperatura ambiente.

Concluido el tiempo se detiene la reacción adicionando 100 µL de la solución de parado (Stop solution) a cada pocillo y se lee la densidad óptica (DO) por duplicado a 450nm (Coeficiente de Correlación Intraclass CCI=0.991), dentro de los 10 min después de la adición de la solución de parado.

Los cálculos se realizaron utilizando las absorbancias medias para cada conjunto de estándares y muestras de los pacientes, correlacionando la DO en el eje Y y la concentración de Hepcidina (ng/dL) en eje X.

Cuadro 1 y Grafico 1- Curva de calibración para la determinación de hepcidina y controles.

Control	Absorbancia promedio
0	2.338
1	2.188
3	2.094
9	1.98
27	1.52
81	0.45



Determinación de Ferritina sérica

Se realizó a través del método de ELISA Ferritin (AcuBind), en una placa con 96 pocillos previamente recubiertos con anticuerpo anti-Ferritina. Se realiza el proceso de descongelación de la muestra y ambientación de reactivos como antes mencionado y se genera una curva de calibración por medio de la utilización de las diferentes soluciones estándar que incluye el Kit, se adiciona 25µL de cada estándar; estándar 0 (0 ng/mL), estándar 1 (10ng/mL), estándar 2 (50 ng/mL), estándar 3 (150 ng/mL), estándar 4 (400 ng/mL) y estándar 5 (800 ng/mL), así como de cada muestra a analizar, utilizando entre cada muestra una puntilla nueva.

Después se adicionan 100 µL del conjugado enzimático Ferritina-Biotina en cada pocillo con cuidado de no contaminar el resto de las muestras, se agita gentilmente por 20-30 segundos y se recubre con Parafilm e incuba por 30 minutos a temperatura ambiente.

Ya terminado el periodo de incubación se decanta el contenido y se realizan 4 lavados con 350 µL de la solución de lavado (Wash solution) y extrayendo el contenido líquido a través de golpes en seco sobre un papel absorbente, repetir el proceso hasta dejar sin liquido cada pocillo.

Se realiza el proceso de unión del complejo por medio de la adición de 100 µL la Estreptavidina-Peroxidasa de rábano y dejar incubar a temperatura ambiente por 30 minutos sin agitar.

Al concluir el tiempo de incubación se decanta el contenido y se realizan 4 lavados con 350 µL de la solución de lavado (Wash solution) y extrayendo el contenido líquido a través de golpes en seco sobre un papel absorbente, repetir el proceso hasta dejar sin liquido cada pocillo, para de esta manera evitar falsos positivos. A continuación se agrega 100 µL del sustrato activo y de igual manera se incuba por 15 minutos sin agitar.

Para detener el proceso enzimático se vierten 50 µL de la solución de alto y se lee la densidad óptica a 450nm antes de los 30 minutos después del frenado de reacción. Los cálculos se realizaron utilizando las absorbancias medias para cada conjunto de

estándares y muestras de los pacientes, correlacionando la DO en el eje Y y la concentración de Ferritina (ng/dL) en eje X.

Determinación de Hierro sérico

El hierro total se determinó mediante el reactivo enzimático Ferrozine (Pointe), este actúa por medio de la reducción del hierro al interaccionar en un medio ácido, lo cual será detectado por medio del complejo Ferrozine por una coloración violeta, en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 560nm.

Se rotulan los tubos según corresponda (Blanco, Estándar y Muestra), se adiciona 2.5ml del reactivo de hierro y 0.5ml de las muestras respectivamente (al Blanco agregar 0.5 ml de agua libre de hierro), llevar a cabo la calibración del espectrofotómetro a 560nm con el control Blanco y después con cada muestra problema (Registrar Absorbancia 1).

Después agregar 0.5ml del colorante del hierro e incubar a 37°C por 10 minutos y leer absorbancia (A2), calcular la concentración utilizando la siguiente fórmula para cada muestra:

$$\frac{A1 \text{ muestra} - A2 \text{ muestra}}{A2 \text{ Estandar} - A1 \text{ Estandar}} * \text{Concentracion del estandar} = \text{Hierro total}$$

Determinación de la Transferrina Sérica

La transferrina por turbidimetría, es un análisis de detección en los cambios de absorbancia por reacción de complejos, las muestras a analizar deben de encontrarse a temperatura ambiente por no más de 4 días o a congelación a -20°C por no más de 7 días.

La metodología se debe de realizar de manera precisa y rápida, colocando agua destilada en un tubo rotulado como cero, para la calibración del espectrofotómetro a una longitud de onda de 340nm, de igual manera se debe de realizar una curva de calibración a través de diluciones con ClNa 9g/L y reactivo de calibración (ProtCal), para generar una curva de 6 puntos con las siguientes concentraciones; Cal.1 (100 µL de ClNa y 0 µL de ProtCal), Cal. 2(90 µL de ClNa y 10 µL de ProtCal), Cal. 3(75

μL de CINA y 25 μL de ProtCal), Cal. 4(50 μL de CINA y 50 μL de ProtCal), Cal. 5(25 μL de CINA y 75 μL de ProtCal), Cal. 6(0 μL de CINA y 100 μL de ProtCal).

Se adiciona a tubos rotulados respectivamente, 800μL del reactivo R1 y 10 μL de muestra problema, se agita rápidamente y se lee la absorbancia (A1), después se adicionan 200 μL del reactivo R2 y se realiza la segunda lectura de absorbancia (A2).

Los cálculos de determinan por diferencia de absorbancias (A2 - A1) y mediante los puntos de intersección de la curva realizada con los calibradores.

Determinación de la Capacidad de Fijación Total de Hierro (CTFH)

La CTFH, nos brinda información sobre la cantidad de hierro sérico no saturado o residual, el cual no se encuentra ligado a la transferrina, que esta se satura por un exceso de hierro libre.

Para esta metodología se debe de utilizar suero no heparinizado, el cual deberá ambientarse a 37°C, antes de su uso o ser almacenado de 2-8°C, por no más de 7 días.

Se realiza el pipeteo en los tubos previamente rotulados, 0.5 μL de muestra problema y 1mL de reactivo R5 (solución saturaste), este se debe mezclar bien e incubar por 10 min a temperatura ambiente (15-25°C).

Concluido el tiempo, se adicionan 3 dosis del agente precipitante R6 (carbonato de magnesio), se retira el sobrenadante y se procesa como una determinación de hierro, como antes mencionado.

Se calcula la CTFH por medio de la siguiente formula:

$$CTFH= \text{Concentración de hierro en el sobrenadante} \times 3(\text{factor de dilución})$$

VIII- RESULTADOS

Se obtuvieron resultados del estudio realizado durante el periodo de octubre- Noviembre 2015, se incluyó una población de 127 alumnas de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, campus Tijuana, quienes decidieron participar de forma voluntaria.

La población del estudio fue aparentemente sana, ya que no presentaba ningún síntoma o signo asociado a una posible anemia al momento de la entrevista, se procedió al análisis de la citometría hemática completa para la evaluación de las constantes hematológicas (datos próximos a publicar por Paola Moreno y colaboradores, 2016), la población de estudio se dividió en dos grupos; i) población sin signos de anemia y ii) población con diagnóstico de anemia hipocrómica, dando un resultado del 24% de la población con signos de posible anemia y 76% de la población sin signos de anemia (Gráfico 2).

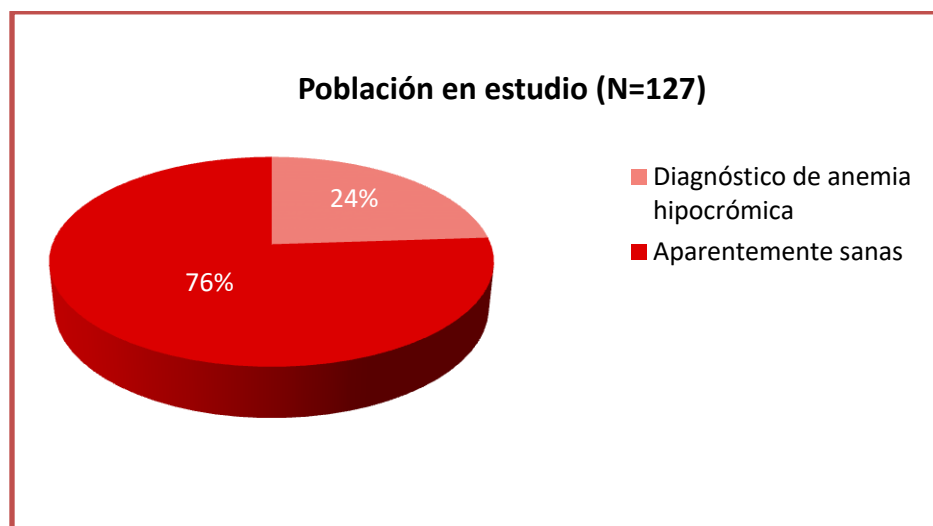


Gráfico 2. Representación de la población en estudio (n=127), mediante un gráfico de Pastel.

Cuando se determinó la prevalencia de anemia hipocrómica, se encontró que la mayor frecuencia oscila entre las edades de 19 a 21 años de edad (Gráfico 3), es importante señalar que este comportamiento se presenta en un grupo de

población vulnerable que pocas veces se toma en cuenta para estudios epidemiológicos.

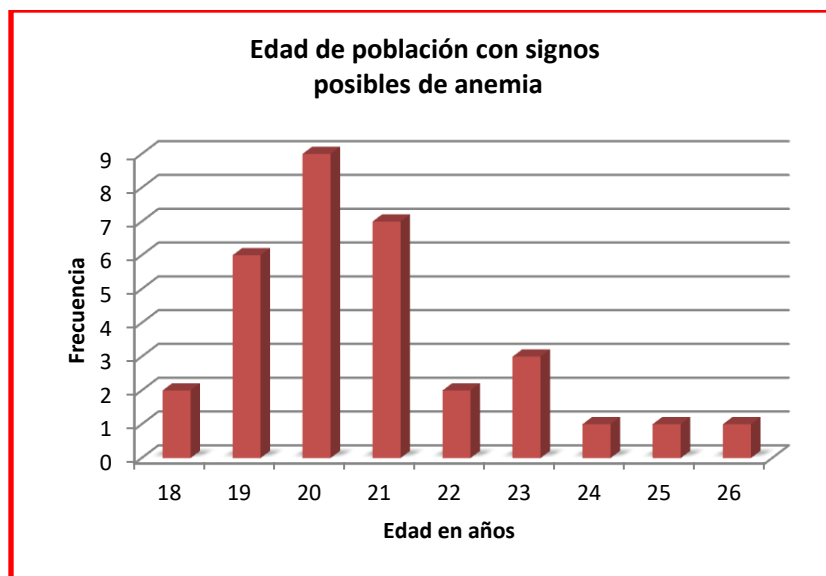


Gráfico 3. Distribución de la población por grupo de edad con signos de anemia (n=30).

Para el diagnóstico diferencial de las pacientes con presencia de anemia, se clasificaron en tres grupos según el tipo de anemia hipocrómica (Gráfico 4); i) anemia ferropénica (80%), ii) anemias sideroblástica (17%) y iii) anemia asociadas a padecimientos crónicos (3%).

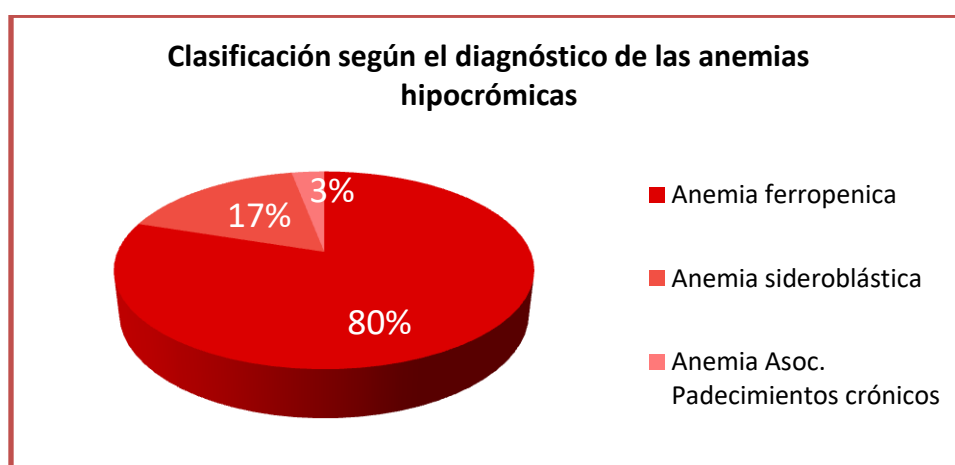


Gráfico 4. Clasificación según el diagnóstico diferencial de las anemias hipocrómicas en estudio.

Se demostró una diferencia estadísticamente significativa de los niveles de Hepcidina entre la población con y sin diagnóstico de anemia hipocrómica, 57 % en el caso de las estudiantes con diagnóstico de anemia en comparación con un 34 % de las que no la presentaban ($p<0.05$, IC:95%), (Gráfico 5).

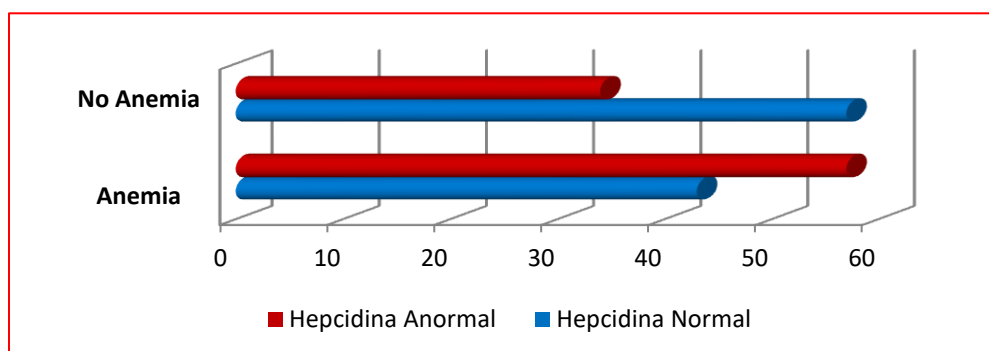


Gráfico 5. Alteración en los niveles de Hepcidina en casos con y sin diagnóstico de anemia.

Para el análisis de los parámetros del perfil de hierro y hepcidina, se encontraron alteraciones en la concentración de los marcadores, hepcidina (43.8%), hierro sérico (15.6%), ferritina (40%), transferrina (53.1%) y CTFH (18.8%), lo anterior indica que existe un comportamiento similar en los niveles alterados de hepcidina y el resto de los parámetros del perfil de hierro (Gráfico 6).

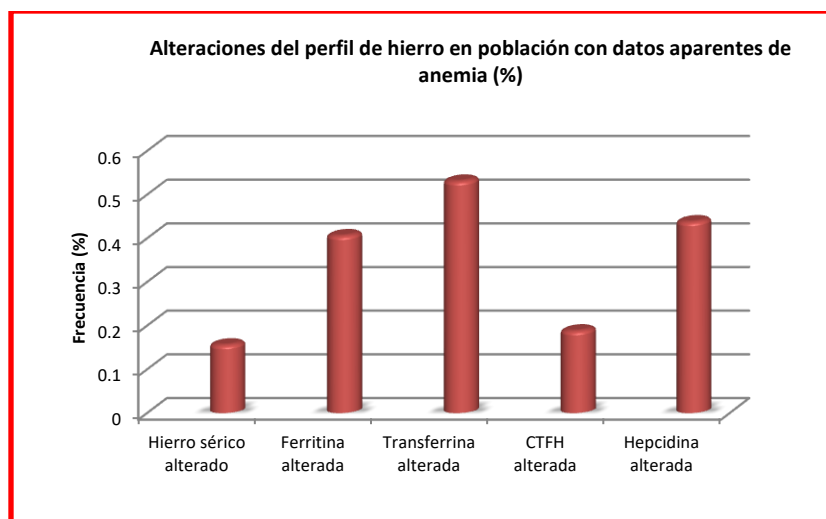


Gráfico 6. Frecuencia en las alteraciones del perfil de hierro en % de población con signos de anemia hipocrómica (n=30).

En la correlación de la concentración de la hormona hepcidina y los parámetros del perfil de hierro, existe una diferencia estadísticamente significativa mediante el estadístico chi-cuadrada ($p < 0.05$, IC:95%) entre el rango anormal de hepcidina y la concentración baja de ferritina ($<10\text{ng/mL}$) para las anemias ferropénicas (Cuadro 2), entre el rango anormal de la hepcidina, la concentración de ferritina ($10\text{-}124\text{ng/mL}$) y la transferrina ($200\text{-}360\text{mg/dL}$) para las anemias sideroblástica (Cuadro 3) y en la clasificada como anemia asociada a padecimientos crónicos no se encontró diferencia significativa, debido a la falta de pacientes para realizar la correlación, sin embargo en el único caso se presentaron valores de ferritina y transferrina esperados según la bibliografía (Cuadro 4).

Cuadro 2. Correlación entre los niveles de hepcidina y las concentraciones de ferritina y transferrina en anemias ferropénicas.

Rango de los niveles de Hepcidina	Concentraciones de ferritina		
	$<10\text{ng/mL}$	$10\text{-}124\text{ng/mL}$	Total
	%	%	%
Rango normal	25.0	37.5	62.5
Rango anormal	33.3	4.2	37.5
Total	58.3	41.7	100

Diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$, IC: 95%)

Cuadro 3. Correlación entre los niveles de hepcidina y las concentraciones de ferritina y transferrina en anemias sideroblástica.

Rango de los niveles de hepcidina	Concentraciones de ferritina		Concentraciones de transferrina	
	<10ng/mL	10-124ng/mL	<200mg/dL	200-360mg/dL
	%	%	%	%
Rango normal	0	60	0	60
Rango anormal	0	40	0	40
Total	0	100	0	100

Diferencia estadísticamente significativa (p<0.05, IC: 95%)

Cuadro 4. Correlación entre concentración de hepcidina y parámetros del perfil de hierro en pacientes con diagnóstico diferencial de Anemia Asociada a Padecimientos Crónicos.

Rango de los niveles de hepcidina	Concentraciones de ferritina		Concentraciones del índice de saturación de la transferrina	
	<10ng/mL	10-124ng/mL	< 25%	25–50%
Rango normal	0	1	0	1
Rango anormal	0	0	0	0
Total	0	1	0	1

En la distribución de las concentraciones de hepcidina sérica en pacientes sin signos de anemia hipocrómica (n=97) se determina una media estadística del (SD): 26.26± 3.7ng/mL (Gráfico 7).

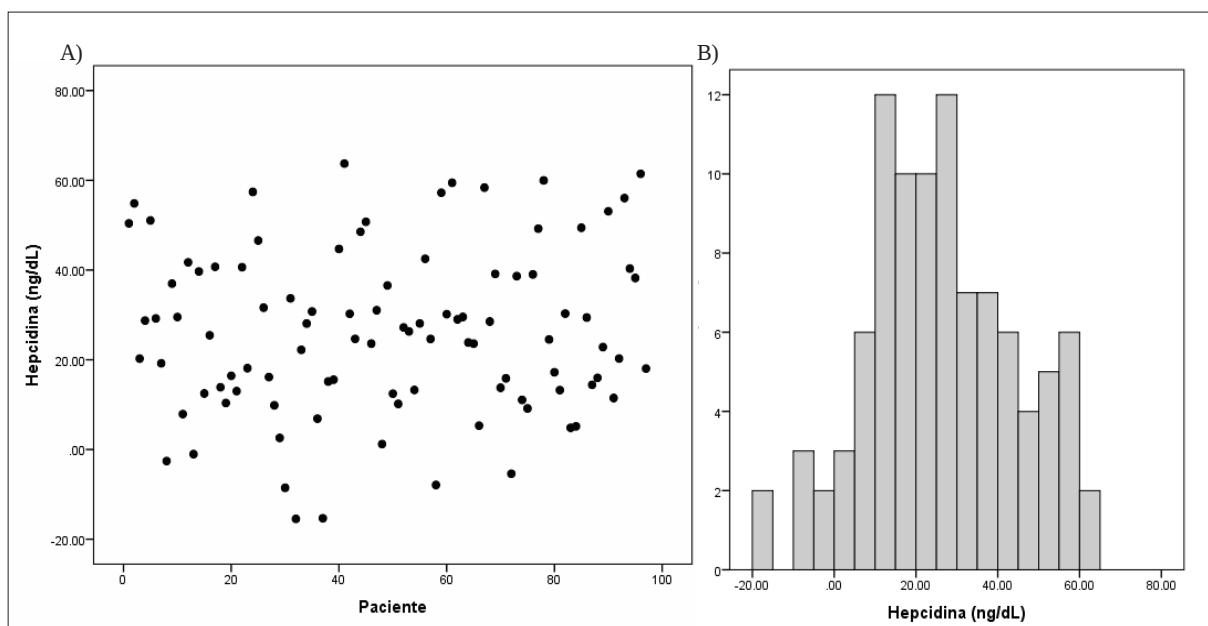


Gráfico 7. Niveles de hepcidina en pacientes sin diagnóstico de anemia hipocrómica. A) Histograma de distribución de las concentraciones de hepcidina (ng/dL), b) Grafica de frecuencias agrupadas de las concentraciones de hepcidina en la población (n=97).

La hormona hepcidina causa la internalización y degradación de la ferroportina, por lo que disminuye la absorción del hierro proveniente de la dieta o del reciclado por los macrófagos, propiciando el desarrollo de trastornos en el metabolismo del hierro. La concentración de la hepcidina sérica, es un marcador de apoyo en el diagnóstico de diversos trastornos, se demostró una correlación entre los niveles de hepcidina, alteraciones en el metabolismo del hierro y en el diagnóstico diferencial de las anemias hipocrómicas, lo cual concuerda con investigaciones previas, proponiendo a la hepcidina para ser incluida en el perfil de pruebas de rutina, para la detección temprana de padecimientos como las anemias hipocrómicas y para brindar el tratamiento oportuno de estas patologías mediante el desarrollo de antagonistas de la hepcidina. (Mahmoud et al.,2015), (Lieke et al., 2016), (Zhao et al.,2013), (Arezes et al., 2015).

Es necesario determinar los índices biológicos de referencia de la concentración sérica de hepcidina en población mexicana, para evitar sesgo en las mediciones que se encuentras en valor limítrofe alto o bajo al que maneja el valor de referencia del kit (DGR International), la media de la concentración de hepcidina

obtenida de esta población en estudio es de 26.26 ng/mL, mientras que en población Alemana su media es de 11.02ng/mL, en Pakistán se presentó una media de 13.2ng/mL, Arabia Saudita 13.80ng/mL y en población de Bulgaria es de 7.9 ng/mL, lo cual nos muestra una discrepancia en los valores según la población, de igual forma como lo presenta Manolov (2014), nos vemos en la necesidad de realizar la estandarización en el horario de la toma de muestra, debido a su variable comportamiento en el transcurso del día . (Manolov et al., 2014), (Mahmoud et al., 2015).

Se puede destacar que los valores de hepcidina en la población Mexicana es lo doble e incluso tres veces mayor que en otros países, lo que es indicativo de la existencia de otras variables que contemplar en el análisis, como los son el tipo de nutrición, rangos de edades diversas, hora en que se realizó la toma de muestra. Por lo que nos vemos en la necesidad de continuar estudiando el comportamiento de la hepcidina en esta población.

IX- CONCLUSIÓN

Se confirmó un diagnóstico de anemia en el 24% de la población en estudio, de las cuales el 32 % presentó valores fuera de rango en los niveles de Hepcidina,

Se demostró una diferencia estadísticamente significativa de los niveles de hepcidina entre la población con y sin diagnóstico de anemia hipocrómica, 57 % en el caso de las estudiantes con diagnóstico de anemia en comparación con un 34 % de las que no la presentaban.

Se confirmó una correlación entre los niveles de hepcidina, alteraciones del metabolismo del hierro y en el diagnóstico diferencial de las anemias hipocrómicas, por lo que se propone para ser incluido en el perfil de pruebas para la detección temprana y el tratamiento oportuno de estas patologías (Cuadro 5).

Se identificó una media de los niveles de Hepcidina con un valor de 26.26 ng/mL en población en estudio, mientras que en población Alemana se reporta con un valor de 11.02 ng/mL, 13.2 ng/mL en Pakistán, 13.80ng/mL Arabia Saudita y en población de Bulgaria de 7.9 ng/mL, lo cual refleja un valor muy elevado de hepcidina en esta población de jóvenes universitarias mexicanas en comparación con lo publicado por otros autores en otros países, lo cual motiva a continuar con este tipo de estudios en grupos poblacionales de mayor amplitud.

Cuadro 5.- Propuesta de inclusión de los niveles Hepcidina como un nuevo marcador para el diagnóstico diferencial de Padecimientos asociados al metabolismo del hierro (Anemias Hipocrómicas)

	Hb	VGM	HCM	CMHC	CTFT	Hierro sérico	Ferritina	Transferrina	IST	Hepcidina
Anemia ferropénica (AF)	↓	↓	↓	↓	↑	↓	↓	↓	↓	↓
Anemia asociada a padecimientos crónicos (APC)	↓	↓	↓	↓	↓	↓	No ↑	↑	N	↑
Anemia sideroblástica (AS)	↓	↓	↓	↓	↓	No ↑	↑	No ↓	↑	No ↑

X- REFERENCIAS

A. San Miguel, F. J. Martin Gil. Utilidad clínica de la proteína hepcidina. *Revista de Diagnostico Biologico* 2007; 56(4): 161-164.

Clara Camaschella, Iron and hepcidin: a story of recycling and balance. *Hematology* 2013: 1-8.

Davis B. Bregman, David Morris, Todd A. Koch, Andy He, Lawrence T. Goodnough. Hepcidin levels predict nonresponsiveness to oral iron therapy in patients with iron deficiency anemia. *American Journals of Hematology* 2013;88: 97-101.

Dong-Anh Khuong-Quang, MD. Jeremy Schwartzentruber, MSc. Mark Westerman, PhD. Pierre Lepage, PhD. Karin E. Finberg MD, PhD. Jacek Majewski, MD, PhD. Nada Jabado, PhD. Iron refractory iron deficiency anemia: Presentation with hyperferritinemia and response to oral iron therapy. *Pediatrics* 2013; 131(2): e620-e625.

Erika Poggiali, Margherita Migone De Amicis, Irene Motta. Anemia of chronic disease: A unique defect of iron recycling for many different chronic diseases. *European Journal of internal medicine* 2014; 25: 12-17.

Erwin H.J.M., Tjalsma H., Willems HL, Swinkels DW. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 2008; 93(1): 90-97.

Gisela Pita Rodríguez. ¿Cuál es la asociación entre la inflamación y la anemia?. *Rev Cub Aliment Nutr* 2010;20(1):129-134.

Giuliani R. A. Hepcidina, Hierro, Hipoxia e Inflamación. *Hematología* 2012; 16(2): 100-102

I. Muñoz Rojas, F. L. Reinoso Pérez, A. López de la Guía, F. Hernández Navarro. Trastornos del metabolismo del hierro. *Medicine* 2008; 10(20): 1318-1325.

J. Arezes, E. Nemeth. Hepcidin and iron disorders: new biology and clinical approaches. *Internal Journal of Laboratory Hematology*. 2015;37(1): 92-98.

José Antonio García Erce, Manuel Muños Gómez. Hepcidina: una molécula clave para explicar la fisiopatología de la anemia. *GH Continuada* 2008;7(3) 119-123.

Joyce J. C. Kroot, Harold Tjalsma, Robert E. Fleming, Dorine W. Swinkels. Hecpidin in human iron disorders: Diagnostic implications. *Clinical Chemistry* 2011; 57(12): 1650-1669.

Joyce J. C. Kroot, Coby M. M. Laarakkers, Anneke J. Geurts-Moespot, Nicolai Grebenchtchikov, Peter Pickkers, Annelies E. Van Ede, Hilde P. E. Peters, Edme'e Van Dongen-Lases, Jack F. M. Wetzels, Fred C. G. J. Sweep, Harold Tjalsma, Dorine W. Swinkels. Immunochemical and mass-spectrometry-based serum hepcidin assay for iron metabolism disorders. *Clinical Chemistry* 2010; 26(10): 1570-1579.

L. Toxiqui, A. De Piero, V. Courtois, S. Bastida, F. J. Sanchez-Muniz, M. P. Vaquero. Deficiencia y sobre carga de hierro; implicaciones en el estado oxidativo y la salud cardiovascular. *Nutr Hosp* 2010;25(3): 350-365.

Lieke Uijterschout, Magnus Domellöf, Staffan K Berglund, Micky Abbink, Paul Vos, Lyanne Rövekamp, Bart Boersma, Carina Lagerqvist, Cisca Hudig, Johannes B van Goudoever & Frank Brus. Serum hepcidin in infants born after 32 to 37 wk of gestational age. *Pediatric Research* 2016: 79, 608–613.

Luc Rochette, Aurelie Gudjoncik, Charles Guenancia, Marianne Zeller, Yves Cottin, Catherine Vergely. The iron-regulatory hormone hepcidin: A possible therapeutic target?. *Pharmacology and Therapeutics* 2014.

Lucile Mercadel, Marie Metzger, Jean Philippe Hayman, Eric Thervet, Jean-Jacques Boffa, Martin Flamant, Francois Vrtovsnik, Pascal Houllier, Marc Froissart, Benedicte Stengel. The relation of hepcidin to iron disorders, inflammation and hemoglobin in chronic kidney disease. *Plos One* 2014;9 (6):e99781.

Luigia De Falco, Mayka Sanchez, Laura Silvestri, Caroline Kannengiesser, Martina U. Muckenthaler, Achille Lolascon, Laurent Gouya, Clara Camaschella, Carole Beaumont. Iron refractory iron deficiency anemia. *Haematologica* 2013; 98(6):845-853.

Manuel Muñoz Gómez, Silvia E. Molero León, José Antonio García-Erce. Fisiopatología del metabolismo del hierro y sus implicaciones en la anemia perioperatoria. *Rev. Anemia* 2008; 1(2): 47-60.

Maria Carlota Dao, Simin Nikbin Meydani. Iron biology, immunology, aging, and obesity: Four field connected by the small peptide hormone hepcidin. *American Society for Nutrition. Adv. Nutr.* 2013; 4:602-617.

María Cristina Cailliat, Nilda Ester Fink, Algoritmos de laboratorio para el estudio del estado del hierro. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2013; 47 (3): 507-22.

Marketa Dostalíková-Cimburová, Kamila Balusíková, Karolína Kratka, Jitka Chmelíková, Václav Hejda, Jan Hnaníček, Jitka Neubauerová, Jana Vranová, Jan Kovár, Jiri Horák. Role of duodenal iron transporters and hepcidin in patients with alcoholic liver disease. *J. Cell. Mol. Med.* 2014; 20(10).

Mahmoud Mohamed Elgari, Al-Oufi F, Mohammed al Salmi, M. Kurdi, NA Ibrahim, Abdelgadir Elmugadam. Role of serum hepcidin levels in the diagnosis of iron deficiency anemia in children in Saudi Arabia. *American Journal of Research Communication*, 2015, 3(7): 24-30} Mahmoud Mohamed Elgari, Al-Oufi F, Mohammed alSalmi, M. Kurdi, NA Ibrahim, Abdelgadir Elmugadam. Role of serum hepcidin levels in the diagnosis of iron deficiency anemia in children in Saudi Arabia. *American Journal of Research Communication*, 2015, 3(7): 24-30.

Mary Dawn Koenig, Lisa Tussing-Himphreys, Jessica Day, Brooke Cadwell, Elizabeta Nemeth. Hepcidin and iron homeostasis during pregnancy. *Nutrients* 2014; 6: 3062-3083.

Michels K. Nemeth, Tomas Ganz, B. Mehrad. Hepcidin and host defense against infectious diseases. *PLoS Pathog* 2015; 11(8).

Milan Theurl, Manfred Nairz, Andrea Schroll, Thomas Sonnweber, Malte Aßhoff, David Haschka, Markus Seifert, Wolfgang Willenbacher, Doris Wilflingseder, Wilfried Posch, Anthony T. Murphy, Derrick R. Witcher, Igor Theurl, Günter Weiss. Hepcidin as a predictive factor and therapeutic target in erythropoiesis-stimulating agent treatment for anemia of chronic disease in rats. *Haematologica* 2014; 99.

Ningning Zhao, An-Sheng Zhang, Caroline A. Enns. Iron regulation by hepcidin. *J Clin Invest* 2013; 123(6): 2337-2343.

Organización Mundial de la Salud, Drepanocitosis y otras hemoglobinopatías, 2011; <http://www.who.int/mediacentre/factsheet/fs308/es/.htm>

Sajjad H. Naqvi, Syed Faizan-ul-Hassan Naqvi, Iftikhar H. Naqvi, Muhammad Farhan, Tanveer Abbas, Lu Yang and Asma Gul. Serum Hepcidin: Its Correlation with Serum Ferritin, Serum Iron and Hemoglobin in Patients of Iron Deficiency Anemia. *Inmunology, Endocrine and Metabolic Agents in Medicinal Chemistry* 2016, 14 (2): 105-113.

Salvador Villalpando, Teresa Shamah Levy, Vanessa de la Cruz Gongora, Verónica Mundo Rosas, Erick Rolando Mauricio López. ENSANUT Baja California 2012.

Sean Warsch, John Byrnes. Emerging causes of iron deficiency anemia refractory to oral iron supplementation. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2013; 4(3): 49-53.

Sebastián Ugarte, Gabriel de la Fuente, Gonzalo Torres, Carlos Garces. Anemia en el paciente crítico y el rol de la hepcidina; Entendiendo los nuevos conceptos sobre la interacción entre lesión, inflamación y anemia. *Revista Chilena de Medicina Intensiva* 2010; Vol.25 (3): 155-162.

Sobeida Barbella, Gina Latouche, Arelis Conde. Etapas de la deficiencia de hierro y anemia ferropénica en niños de la comunidad de Miguel Peña. Valencia 2011-2012. *Academia Biomédica Digital* 2013; 55.

Sukru Gulec, Gregory J. Anderson, James F. Collins. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014; 307: G397-G409.

Susu M. Zughaiera, Jessica A Alvarez, John H. Sloan, Robert J. Konrad, Vin Tangpricha. The role of vitamin D in regulating the iron-hepcidin-ferroportin axis in monocytes. *J. Clin. Transl. Endocrinol* 2014;1(1): 19-25.

Tessel E. Galesloot, Sita H. Vermeulen, Anneke J. Geurt-Moespot, Siem M. Klaver, Joyce J. Kroot, Dorlene Van Tienoven, Jack F. M. Wetzel, Lambertus A. L. M. Kiemeny, Fred C. Swerrp, Martinden Heijer, Dorine W. Swinkels. Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood* 2011; 117(25): 218-225.

Tomas Ganz. Iron homeostasis: Fitting the puzzle pieces together. *Cell Metabolism* 2008; 7:288-290.

Tomas Ganz. Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102(3): 783-788.

Tomas Ganz, Heparin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011; 117(17): 4425-4433.

Tomas Ganz, Elizabeth Nemeth. The hepcidin-ferroportin system as a therapeutic target in anemias and iron overload disorders. *American Society of Hematology* 2011: 538-542.

Vera Gaun, Bonnie Patchen, Josephine Volovetz, Aileen Zhen, Aleksandr Andreev, Michael P. Pollastri, Paula G. Fraenkel. A chemical screen identifies small molecules that regulate hepcidin expression. *Blood Cells Mol. Diseases* 2014; 1-10.

V. Manolov, B. Atanasova, M. Velizarova, V. Vasilev, K. Tzatchev. Serum hepcidin levels in Bulgarian population. *Clin Lab.* 2014; 60(12): 2001-6.

V. Manolov, B. Atanasova, V. Vasilev, K. Tzatchev and M. Velizarova. ELISA method for serum hepcidin quantification in Bulgarian population. *Acta Medica Bulgarica* 2014; Vol. XLI,(1).

World Health Organization. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005, WHO Global database on Anaemia 2008.

Yubire Barrios, Edgar Acosta, Milagros Espinoza, Andreína Meléndez, Daliana Méndez. La homeostasis del hierro y una hormona: la hepcidina. *Rev. de la facultad de ciencias de la salud* 2007;11:20-25.