

Reconocimiento a la trayectoria de la Prof. Dra. Nilda Fink

Anemia inflamatoria: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento

Inflammatory anemia: pathophysiology, diagnosis and treatment

Anemia inflamatória: fisiopatologia, diagnóstico e tratamento

- Leonardo Feldman^{1b,d*}, Roberto Najle^{2b,c}, Mariana Alejandra Rivero^{2a,c}, Edgardo Mario Rodríguez^{3a,c}, Silvia Marcela Estein^{2a*}

¹ Médico, Profesor Titular de la Escuela Superior de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires - Argentina (ESCS UNICEN). Jefe del Servicio de Trasplante de Médula Ósea de la Fundación Favaloro Hospital Universitario.

² Dr. en Ciencia Animal.

³ Magister Scientiae en Biometría.

^a Departamento de Sanidad Animal y Medicina Preventiva. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN-CONICET-CIC). Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tandil. Buenos Aires. Argentina

^b Departamento de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Tandil. Buenos Aires. Argentina

^c Escuela Superior de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. Olavarría. Buenos Aires. Argentina

^d Fundación Favaloro

Los autores declaran que no existen conflictos de interés.

* Los Dres. Leonardo Feldman y Silvia Estein comparten la primera autoría.

Resumen

La anemia de la Inflamación (AI) es considerada la segunda causa más frecuente de anemia a nivel mundial después de la deficiencia de hierro. Se observa comúnmente en infecciones crónicas, tumores, traumas, y desórdenes inflamatorios. La AI es típicamente normocítica normocrómica usualmente moderada y se produce por una hipoferremia como resultado del secuestro de hierro en el sistema retículo endotelial, de la reducción de la eritropoyesis y de la inhibición de la absorción del hierro en intestino. La patogenia de la AI está mediada por citoquinas inflamatorias y hepcidina, péptido producido en el hígado, que regulan la homeostasis del hierro, actúan suprimiendo la eritropoyesis, y la vida media de los eritrocitos se encuentra ligeramente acortada. Los métodos diagnósticos de rutina que se describen en esta revisión pueden ser de utilidad, pero quedará un grupo de estados anémicos con alta sospecha de AI que no podrán ser fácilmente clasificados. Recientemente se han desarrollado inmunoensayos para determinar hepcidina y citoquinas inflamatorias que podrán colaborar, en un futuro, para un diagnóstico correcto. Existen actualmente modelos experimentales de AI en ratones, los cuales podrían ser útiles para evaluar diferentes tratamientos. En este sentido, los inhibidores de la hepcidina y diversos moduladores inflamatorios aparecen como terapias prometedoras.

Palabras clave: anemia inflamatoria * hepcidina * citoquinas inflamatorias * hierro * eritropoyetina * diagnóstico * tratamiento

Abstract

Anaemia of inflammation (AI) is the second most common cause of anaemia worldwide, after iron deficiency. This pathology is commonly observed in patients with chronic infections, malignancy, trauma, and inflammatory disorders. Typically, AI is normocytic normochromic usually mild anaemia produced by hypoferremia resulted from reticulo endothelial sequestration of iron and interruption of intestinal iron absorption. The pathogenesis of AI is mediated by inflammatory cytokines and hepcidin, a liver-derived poly-

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

peptide regulator of iron homeostasis, acting together to suppress erythropoiesis and shorten erythrocyte survival in blood. The routine diagnostic methods described in this review may be useful, but there will remain a group of anemic states with high suspicion of AI that cannot be easily classified. Recently, different immunoassays have been developed to evaluate hepcidin and inflammatory cytokines levels, which will improve the diagnosis. AI models have been developed in mouse taking into account the proposed pathophysiology and could be useful for evaluating different types of treatment. In fact, inhibitors of hepcidin, and various inflammatory modulators show promise in a near future.

Keywords: inflammatory anemia * hepcidin * inflammatory cytokines * iron * erythropoietin * diagnosis * treatment

Resumo

Anemia da inflamação (AI) é considerada a segunda causa mais comum de anemia em todo o mundo após a deficiência de ferro. É geralmente observada em infecções crônicas, tumores, traumas e distúrbios inflamatórios. A AI é tipicamente normocítica normocrômica comumente moderada e ocorre por uma hipoferremia como resultado do sequestro de ferro no sistema retículo endotelial, da redução da eritropoiese e da inibição da absorção do ferro no intestino. A patogenia da AI é mediada por citocinas inflamatórias e hepcidina, peptídeo produzido no fígado, que regulam a homeostase do ferro, agem suprimindo a eritropoiese e a meia-vida dos eritrócitos é levemente diminuída. Os métodos de diagnóstico de rotina descritos nesta revisão podem ser úteis, mas ficará um grupo de estados anêmicos com alta suspeita de AI que não poderão ser classificados facilmente. Recentemente têm sido desenvolvidos imunoenaios para determinar hepcidina e citocinas inflamatórias, que poderão colaborar no futuro, para um diagnóstico certo. Existem atualmente modelos experimentais de AI em ratos que poderiam ser úteis para avaliar diferentes tratamentos. A este respeito, os inibidores de hepcidina e vários moduladores inflamatórios aparecem como terapias promissoras.

Palavras-chave: anemia inflamatória * hepcidina * citocinas inflamatórias * ferro * eritropoietina * diagnóstico * tratamento

Introducción y Epidemiología

La Anemia de la Inflamación (AI) es la segunda en prevalencia después de la deficiencia de hierro (IDA, del inglés: *Iron Deficiency Anemia*). Se trata de una producción disminuida de eritrocitos relacionada con estados inflamatorios crónicos, que está típicamente asociada a enfermedades malignas, infecciones crónicas, enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso, artritis reumatoidea y otras vasculitis) y que frecuentemente se observa en el rechazo crónico de receptores de órganos sólidos (Tabla I). Este tipo de anemia puede ocurrir también en el contexto de procesos inflamatorios agudos y en afecciones persistentes con signos inflamatorios mínimos como en la obesidad, en la falla renal y recientemente se ha asociado a la anemia no determinada del adulto mayor. Debido a esta diversidad de procesos que acompañan a este tipo de anemia se ha sugerido modificar la nomenclatura de “Anemia de los Trastornos Crónicos” por una denominación más abarcativa como “Anemia de la Inflamación”.

La AI es típicamente normocítica normocrômica, se caracteriza por bajos niveles de hierro (Fe) sérico, disminución de la saturación de transferrina (Tf), disminución de sideroblastos en médula ósea (MO) e incremento de Fe en el sistema retículo endotelial (SRE).

I. Infecciones (agudas y crónicas)
A. Infecciones virales incluido HIV
B. Bacterianas
C. Parasitarias
D. Hongos
II. Malignidades
A. Hematológicas
B. Tumores sólidos
III. Autoinmunes
A. Artritis reumatoidea
B. Lupus, enfermedades del tejido conectivo
C. Vasculitis
D. Enfermedades inflamatorias del intestino
IV. Enfermedades renales crónicas
V. Síndrome polimetabólico
VI. Cardio Renal Anemia Síndrome (CRAS) - TRANSPLANTES

Tabla I. Algunas enfermedades inflamatorias asociadas al desarrollo de anemias de la inflamación

El complejo mecanismo que produce la anemia incluye disminución en la producción de eritropoyetina (EPO), una respuesta disminuida de los precursores eritroides de la MO a la EPO y elevados niveles de marcadores inflamatorios, siendo en definitiva una eritropoyesis restrictiva en Fe.

Una base de datos nacional de EE.UU., *The National Health and Nutrition Examination Study* (NHANESIII), determinó que casi 1 millón de americanos mayores de 65 años presentaban una anemia con las características de AI (1). Este tipo de anemia es común en pacientes hospitalizados y en aquellos con enfermedades críticas que están internados en terapia intensiva. La hemoglobina (Hb) en estos pacientes puede disminuir a pesar de recibir transfusiones y los valores menores a 9 g/dL resultaron ser un factor predictivo independiente del aumento de la mortalidad (2).

En estudios realizados en adultos mayores hospitalizados, el 70% presentó un cuadro de AI, el 17% tenía enfermedad renal crónica (IRC) concomitante y porcentajes variables de pacientes presentaron infecciones agudas o crónicas, cáncer o enfermedades autoinmunes (3). Existe además una interrelación entre obesidad, inflamación crónica, desórdenes metabólicos y anemia. Los pacientes obesos pueden presentar niveles plasmáticos elevados de citoquinas proinflamatorias y un cuadro de AI con eritropoyesis restrictiva en Fe (4). Estudios recientes muestran que un 52% de los pacientes con obesidad evaluados para cirugía bariátrica revelan una deficiencia funcional de Fe (5).

La AI se asocia frecuentemente a las neoplasias, e inclusive los tumores sólidos, aún sin infiltración de la MO, se asocian al desarrollo de anemia. En un estudio prospectivo observacional, el 64% de pacientes con carcinoma presentó anemia. En dicho estudio, se observó que la prevalencia y la severidad se incrementó en estadios más avanzados, y paralelamente, éstos se relacionaron con el aumento en los niveles de marcadores inflamatorios tales como: proteína C reactiva (PCR), fibrinógeno, interleuquina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), IL-1 β , ferritina y hepcidina (Hp) (6).

Fisiopatología de la AI

Los avances recientes en el conocimiento sobre el metabolismo del Fe y su regulación, así como los mecanismos de la función y secreción de la EPO, han hecho posible una mayor comprensión de la fisiopatología de este tipo de anemia. Esta patología tiene todas las características de los cuadros que producen una activación aguda o crónica del sistema inmunitario. Patrones similares a este tipo de anemia se han observado en diversas situaciones clínicas sin manifestaciones evidentes de inflamación, como la anemia no determinada de los adultos mayores y la anemia de la insuficiencia cardíaca. Sin embargo, se ha postulado que en estos cuadros ocurren cambios proinflamatorios sutiles (7) (8).

Las citoquinas y las células retículoendoteliales son estimuladas en un medioambiente inflamatorio y producen cambios en la homeostasis del Fe, con reducción de la producción y respuesta eritropoyética adecuada

a eritropoyetina (EPO) y, además, la vida media de los glóbulos rojos (GR) maduros se encuentra acortada.

ALTERACIÓN DE LA HOMEOSTASIS DEL Fe

El descubrimiento de la Ferroportina (Fp), un exportador de Fe²⁺ de membrana (expresado principalmente en los macrófagos del hígado y el bazo, en la membrana basolateral del enterocito duodenal y en la placenta) y de la Hp, un polipéptido de la familia de las defensinas, revolucionó la comprensión del metabolismo del Fe. A medida que los progenitores eritroides maduran, éstos aumentan la expresión del receptor de transferrina 1 (TR1) para adquirir el Fe suficiente para la producción de Hb. Los GR senescentes son reconocidos por los macrófagos del bazo, MO y por las células de Kupffer en el hígado debido a diversas modificaciones bioquímicas que ocurren durante su vida (externalización de la fosfatidil-serina, peroxidación de los lípidos de membrana, pérdida de los residuos de ácido siálico y formación de neo antígenos en la senescencia). A través de receptores específicos en los macrófagos, el GR es internalizado por los fagocitos, se produce la maduración del fagosoma, el cual incluye el reclutamiento del retículo endoplásmico (RE). Esto lleva a la degradación de los componentes del GR por la acción de un complejo enzimático anclado en la membrana del RE con la participación de una NADPH-Citocromo C reductasa, hemoxigenasa 1, y biliverdina reductasa (9). El catabolismo intracelular del hemo produce CO, Fe y bilirrubina. El Fe es reciclado liberándose al plasma para ser reutilizado para la producción de nuevos eritrocitos o bien, es depositado asociado a la molécula de ferritina (10), mientras que el egreso del Fe es realizado por la Fp. La caracterización de la deficiencia de Fp en *ferroportin-deficient zebra fish weissherbsrt* (11) y ratones *ferroportin knockout* (12) reveló que la Fp se requiere para exportar el Fe²⁺ y en caso de deficiencia de ésta, el Fe se mantiene secuestrado en los macrófagos lo que impide la llegada de éste a los precursores eritroides con el consiguiente bloqueo de su maduración (13).

En la AI es habitual observar bajos niveles de Fe sérico. La inyección de citoquinas proinflamatorias como IL-1 y TNF- α en ratones produjo hipoferremia y anemia (14) mientras que en voluntarios humanos la inyección de IL-6 causó la reducción de los niveles de Fe sérico y de la saturación de Tf (15), lo que actualmente se atribuye a la acción de la Hp (16) (17).

En respuesta a una sobrecarga de Fe o a un proceso inflamatorio, los hepatocitos secretan Hp (18) (19), una hormona reguladora de la homeostasis del Fe (20).

El gen de la Hp es de tamaño pequeño, está compuesto por 3 exones que codifican una pre-pro-proteína de 84 aminoácidos (aa), incluye un péptido señal en la región N-terminal y una región C-terminal que es el péptido maduro de 25 aa (21). Básicamente, la regula-

ción de la producción de Hp ocurre a partir del reconocimiento de los niveles de Fe y de la actividad eritropoyética. El exceso de Fe estimula la producción de Hp llevando a una reducción en la absorción e inhibiendo la liberación del Fe de los depósitos. Contrariamente, en los estados de deficiencia se suprime la producción de Hp incrementando la absorción del Fe y estimulando la liberación de éste desde los depósitos.

Actualmente, está bien establecido que la Hp reduce la cantidad de Fe circulante previniendo la salida de éste desde las células, especialmente del enterocito y del macrófago. Para limitar el egreso de Fe celular, la Hp se une a la Fp induciendo su internalización y degradación (22-24). Por el contrario, en ausencia de Hp aumenta la absorción intestinal de Fe y el eflujo de éste desde los macrófagos, llevando a una sobrecarga de Fe en los parénquimas. Recientemente se ha sugerido que la Hp podría interferir en la absorción de Fe en los enterocitos por inhibición de su absorción, regulando negativamente al Transportador de Metales Divalentes-1 (DMT1), expresado en la membrana apical del enterocito, y responsable de la absorción intestinal del Fe no hemínico (25).

La Hp sería la llave reguladora de la homeostasis del Fe debido a que la pérdida de la función por mutación de los genes que regulan la expresión de las proteínas que intervienen en la regulación de la producción de la Hpcidina (por ejemplo, el receptor de transferrina 2 (TR2), HFE y Hemojuvelina (HJV), o de la propia Hpcidina han sido asociados a síndromes de sobrecarga de hierro hereditarios (26).

El mantenimiento de niveles apropiados de Hp depende de una compleja interacción de factores reguladores, entre otros: *Bone Morphogenic Proteins* (BMPs) y su correceptor HJV, proteasas como la furina y matriptasa-2 (MT-2), además de las citoquinas inflamatorias (26).

Varias citoquinas intervienen en la fisiopatología de la AI. Las IL-6 e IL-1 β (27) desencadenan la expresión de Hp. Los factores de transcripción que median los efectos de la inflamación incluyen STAT-3, C/EBP α y p53 (28) (29). La IL-6 intensifica la señalización JAK/STAT-3 que lleva a un incremento de la fosforilación de STAT-3 e incrementa la unión STAT-3 a la región promotora de la Hp (29) (30).

La IL-1 β induce la expresión de Hp a través de la vía de señalización C/EBP α y BMP/SMAD. Además, los hepatocitos dañados por vía del estrés del RE o por procesos oxidativos intensifican la actividad de C/EBP α (31) (32) y/o STAT-3 (33) respectivamente, y por lo tanto se incrementa la expresión de Hp.

Los Lipopolisacáridos (LPS) liberados en las infecciones bacterianas activan la señalización de los llamados *Toll-like receptor* (TLR) de tipo 4. Estos receptores de transmembrana reconocen patrones moleculares expresados por un amplio espectro de agentes infecciosos, y estimulan una variedad de respuestas inflamatorias que inducen la producción de IL-6 por los macrófa-

gos mientras que ésta, a su vez, estimula la producción de Hp (34).

La Hp también es regulada por el Factor de Diferenciación (GDF-15), una hormona derivada de la eritropoyesis. El GDF-15 se encuentra marcadamente incrementado en anemias con diseritropoyesis que habitualmente cursan con sobrecarga de Fe y paradójicamente, es un inhibidor de la expresión de Hp, quizás más potente que los niveles de Fe propiamente dichos, y que contribuye a la sobrecarga de Fe que se observa en estas anemias como en la beta talasemia mayor, la anemia diseritropoyética congénita y eventualmente en ciertos casos de mielodisplasia (35) (37).

Recientemente se ha descrito otra proteína, la *Erythroferrone* (EFR), codificada por el gen *FAM132B* que inhibe la expresión/acción de la Hp y es producida por los eritroblastos en la MO en respuesta a la EPO. La síntesis de la EFR es regulada por la unión de EPO a su receptor activando la señalización de la vía JAK2/STAT-5 y que ha mostrado un posible rol en la AI (38) (39). También esta proteína tendría implicancia en las anemias con diseritropoyesis. Se ha propuesto que la EPO puede mediar la represión de Hp a través de la señalización del receptor de EPO (Epo-R) y la regulación del factor de transcripción C/EBP α (40).

El factor inducible por hipoxia (HIF-1) es un heterodímero cuya expresión es regulada post-transcripcionalmente en respuesta a la hipoxia, y puede unirse a la región promotora de Hp actuando negativamente sobre la producción de la Hp reduciendo su expresión en el hígado (41).

La Hp no es la única proteína que induce el secuestro del Fe durante las infecciones. Existen estudios realizados en ratones que indican que la estimulación de TLR2 y TLR6 reduce la expresión de Fp en los macrófagos produciendo hipoferrremia sin aumentar la expresión de Hp (42).

El LPS estimula a los macrófagos a producir Lipocalina 2 y ésta secuestra Fe interactuando con los sideróforos producidos por las bacterias (43). Otra forma de secuestrar el Fe durante la infección o procesos inflamatorios es a través de la liberación por parte de los neutrófilos de la Lactoferrina que captura el Fe disminuyendo su disponibilidad para los patógenos y produciría una inhibición en el crecimiento bacteriano (44).

En algunos individuos con obesidad o el llamado síndrome polimetabólico se ha observado incremento en las citoquinas proinflamatorias y además en la Leptina, Hp y Lipocalina 2. La Leptina y las citoquinas inflamatorias estimulan la producción de Hp por los hepatocitos y adipocitos (45). Los adipocitos y las células mononucleares de la sangre periférica de estos pacientes producen Lipocalina 2, la que induce restricción de Fe para la eritropoyesis (46). Por último, las citoquinas proinflamatorias disminuyen la síntesis de EPO, impiden la diferenciación

eritroide y en los procesos inflamatorios se observó una disminución de la vida media de los GR (47).

Como se expresó previamente, en condiciones de inflamación, la producción de Hp está aumentada y la IL-6 se ha descrito como un potente inductor de Hp por la vía transductor de señal y activador de transcripción-3 (STAT-3) (15) (48). Sin embargo, hay evidencias del rol de otras citoquinas inflamatorias como IL-1 y de BMPs 2, 4, 6 y 9 (27) (49).

La relación entre citoquinas y Hp puede variar en procesos malignos. En pacientes con enfermedad de Hodgkin se observó una correlación estrecha entre los niveles de Hp e IL-6 mayor que con otras citoquinas (50). Por otro lado, en pacientes con Mieloma Múltiple, se sugiere que es la BMP-2 (más que la IL-6), la inductora de un aumento de Hp que está inversamente correlacionado con los niveles de Hb (51). Además, pueden presentarse casos de AI sin aumento de Hp pero con incremento de citoquinas inflamatorias, especialmente en adultos mayores, por lo que el incremento de Hp podría ocurrir sólo en casos de inflamación activa y la anemia podría estar mediada a través de mecanismos inflamatorios Hp independientes, entre otros mediado por TNF- α (52).

Otro aspecto a tener en cuenta es la asociación frecuente de AI e IDA. En estos casos de difícil diagnóstico los niveles de Hp pueden ser menores a los esperados para la AI *per se* y por lo tanto el organismo es capaz de absorber Fe y movilizarlo desde los macrófagos. Esta observación debería tenerse en cuenta si los niveles de Hp fueran incorporados en un futuro para el diagnóstico de la AI.

Reducción de la producción de EPO

En condiciones fisiológicas los niveles de EPO se correlacionan inversamente con los niveles de Hb y el estado de oxigenación de los tejidos. En los casos de anemias de los procesos inflamatorios la respuesta de la EPO es insuficiente para el grado de anemia (54). Se ha demostrado que la IL-1 y el TNF- α inhiben en forma directa la expresión del gen *EPO* y el receptor de EPO (EPO-R) disminuyendo la proliferación y diferenciación e incrementando la apoptosis eritroide (55). Sin embargo, otros estudios mostraron que la disminución de EPO no se observa en todos los casos de AI por lo que probablemente dependa del tipo de proceso inflamatorio subyacente. Para el caso del uso terapéutico de EPO, debe tenerse en cuenta que algunas neoplasias activas podrían evolucionar desfavorablemente, sin embargo, los resultados son contradictorios (56) (57).

Alteración de la respuesta eritropoyética

En la AI la proliferación y diferenciación de los progenitores eritroides de la MO se encuentran reducidas. Estudios clásicos mostraron que los macrófagos de pacientes

con AI son capaces de suprimir la formación de colonias eritroides *in vitro* (58). En estos pacientes se describe que diversas citoquinas IFN- α 1, IFN- β 1, TNF- α e IL-1 están implicadas en la inhibición de los diferentes estados del desarrollo eritroide (47). La Hp por sí misma tendría un efecto inhibitorio sobre la eritropoyesis (59). Se ha demostrado un crecimiento defectuoso en cultivos de MO de pacientes con artritis reumatoidea activa si se compara con controles normales y además, una correlación inversa con los niveles de TNF- α en el sobrenadante de los cultivos. Los efectos fueron revertidos luego del tratamiento con infliximab, un anticuerpo contra TNF- α (60).

Sobrevida de los eritrocitos

Existe evidencia de un *turnover* aumentado de GR en modelos animales de AI (61) pero la sobrevida eritrocitaria sólo ha sido estudiada en un grupo reducido de pacientes. Un estudio en el que se determinó el nivel de CO en el aliento confirmó una reducción modesta de la sobrevida de GR en pacientes con artritis reumatoidea y anemia (62) que podría ser un factor que contribuye a la AI. No se conocen con precisión los mecanismos involucrados pero se especula que existiría un incremento de la eritrofagocitosis por los macrófagos estimulados por citoquinas (63) y un daño oxidativo con reducción de la vida media de los GR (47). En la Figura 1 se muestran los mecanismos fisiopatológicos que intervienen en la AI.

Diagnóstico

Existe una variedad de métodos diagnósticos con diferente sensibilidad y especificidad que estarían influenciados por las enfermedades que acompañan a la AI, por lo tanto desde el punto de vista clínico, dos elementos son de importancia para iniciar un camino diagnóstico: la probabilidad y la causalidad.

La diversidad de condiciones clínicas que pueden asociarse a la AI puede hacer el diagnóstico difícil. Son condiciones de confusión las hemoglobinopatías, deficiencias nutricionales, hemorragia o hemólisis, medicamentos, flebotomías recurrentes, infecciones o infiltración de la MO, dado que todas pueden afectar el cuadro hematológico. Típicamente, la anemia es mínima a moderada y de tipo normocrómica-normocítica. Con el progreso de la enfermedad puede transformarse en microcítica y los reticulocitos son en general bajos para el grado de anemia por lo que se la califica como hiporregenerativa.

La exclusión de la deficiencia de hierro (IDA) es muy importante en la marcha diagnóstica de pacientes con AI dado que las dos condiciones frecuentemente coexisten. En general, el Fe y la saturación de Tf se encuentran disminuidos tanto en la AI como en la IDA pero los niveles de Tf habitualmente se observan aumentados en la IDA

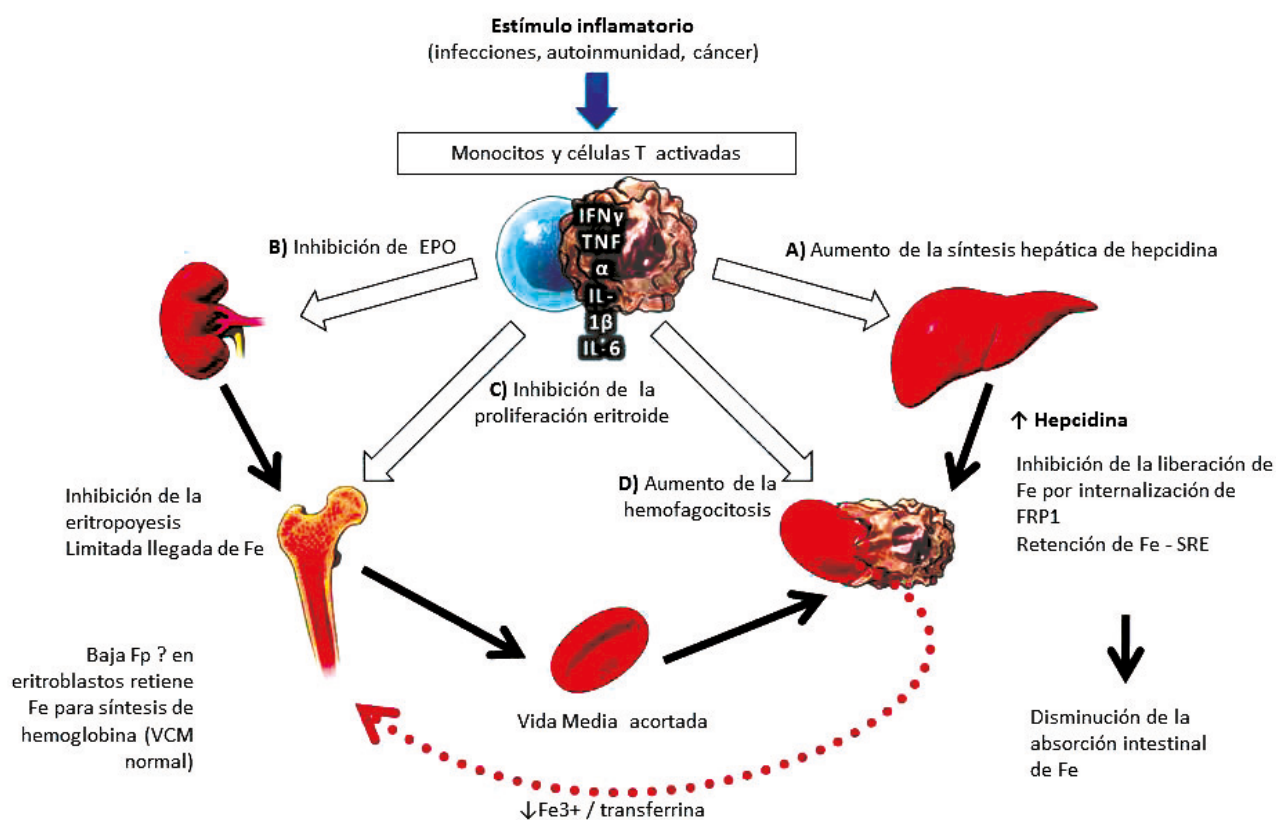


Figura 1. Esquema de la fisiopatología de las anemias de la inflamación.

mientras que son normales o ligeramente disminuidos en AI. La determinación de ferritina sérica tiene un valor relativo dado que a pesar de ser un indicador de los depósitos de Fe es, además, una proteína de fase aguda y los niveles pueden incrementarse en presencia de inflamación. Históricamente el *gold standard* fue la observación en la MO de los depósitos de Fe normales con ausencia de Fe en los eritroblastos con la tinción de Perl's. En la actualidad este estudio invasivo sólo debería usarse en casos de duda diagnóstica y para descartar otras patologías superpuestas o modificaciones en el fenotipo hematológico producidas por la terapéutica, como en el caso de pacientes que concurren medicados con EPO. En éstos puede inducirse un cuadro de morfología displásica (citopenia idiopática de significado no determinado o displasia idiopática de significado no determinado [ICUS o IDUS, por sus siglas en inglés]) (64).

El típico cuadro de anemia moderada normocítica con ferritina normal o ligeramente aumentada y saturación de Tf baja (<16%) en el contexto de un cuadro inflamatorio, puede acercarse al diagnóstico de AI y podría ser suficiente, pero otros estudios pueden ser de utilidad en un intento por confirmarlo.

Los parámetros estándar de estudios hematológicos tienen un valor diagnóstico relativo. En general, el volumen corpuscular medio (VCM) y la hemoglobina corpus-

cular media (HCM) son normales pero pueden disminuir a medida que la patología de base persista. Los analizadores hematológicos modernos son capaces de evaluar nuevos índices de apoyo, de los cuales el contenido de Hb de los reticulocitos (CHr) y el porcentaje de GR hipocrómicos (%HIPO) podrían ser considerados. El CHr es posible que sea usado en un futuro con mayor frecuencia que en la actualidad. Éste representa el contenido de Hb en los GR de producción reciente. Debido a la vida media relativamente prolongada de los eritrocitos, los procesos que disminuyen la síntesis de Hb pueden presentar una disminución del CHr más temprana que la disminución de Hb en la población total de GR. La medida de CHr es un método diagnóstico sensible que demostró utilidad en las etapas tempranas de la deficiencia de hierro. El CHr podría ser un parámetro útil en el monitoreo de la respuesta efectiva al tratamiento de pacientes con deficiencia real de Fe pero asociada a inflamación aguda o crónica. Esto ocurre con relativa frecuencia especialmente en las enfermedades inflamatorias del intestino, que muchas veces son sangrantes y presentan deficiencia asociada de la absorción de Fe. Este hecho dificulta el diagnóstico diferencial entre una anemia por deficiencia de Fe pura (IDA), con una AI asociada a deficiencia de Fe o una AI pura. Se sugiere que valores inferiores a 28 pg del contenido de Hb en los reticulocitos (CHr) son consistentes

con IDA (65) aunque este parámetro todavía no se utiliza en la práctica clínica de rutina.

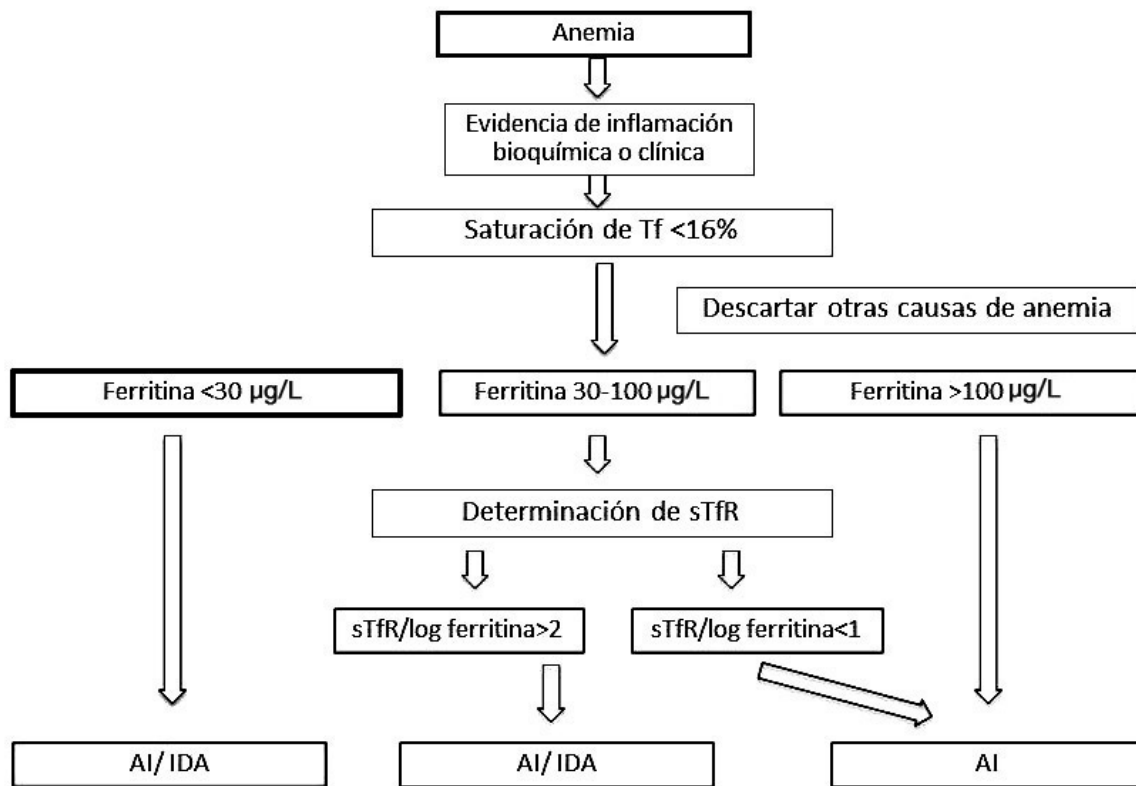
La medida en suero del receptor soluble de transferrina (sTfR), un fragmento del receptor de Tf de la membrana de las células eritroides que se libera a la circulación, ha sido propuesta como un posible indicador para diferenciar la AI de IDA, o la presencia de IDA asociada a AI. Los niveles de sTfR se incrementan en la IDA por la menor disponibilidad de Fe para la eritropoyesis mientras que en la AI no difieren de los basales debido a que la expresión del Receptor de Tf está afectada negativamente por las citoquinas inflamatorias (66), sin embargo, el uso de este ensayo en la práctica no está estandarizado. Por otro lado, la relación de sTfR sobre el logaritmo de ferritina se ha propuesto como elemento de utilidad en el diagnóstico de la AI y en especial para diferenciarla de la IDA y para evaluar la asociación de AI y ferropenia. Una relación <1 se considera asociada a AI, mientras que relación >2 sugiere ferropenia con o sin AI (67) (68). Estos parámetros podrían ser de utilidad para decidir una suplementación de Fe parenteral en la AI. En la Figura 2 se presenta un algoritmo de aproximación para el diagnóstico de AI asociada o no a IDA y en la Tabla II el diagnóstico diferencial entre AI y AI asociada a IDA.

Tabla II. Diagnóstico diferencial entre AI e IDA

Parámetro	AI	IDA
Concentración de Fe sérico	Reducido o normal	Reducido
Niveles de transferrina (Tf)	Reducido o normal	Aumento
Saturación de Tf	Reducido o normal	Reducido
Ferritina	Normal o incrementado	Reducido
Receptor de Tf en suero (sTfR)	Normal	Aumento
sTfR/log ferritina	Bajo (<1)	Alto (>2)
Zinc protoportirina IX	Alto	Alto
Porcentaje RBC hipocrómica	N/A	Alto
Citoquinas (TNF, IL-1, IL-6)	Aumento	Normal

Los niveles de citoquinas se correlacionan inversamente con el grado de anemia.

IDA: Anemia por deficiencia de hierro. AI: anemia de la inflamación.



sTfR: Receptor soluble de transferrina; IDA: Anemia por deficiencia de hierro

Figura 2. Diagnóstico diferencial entre AI y AI asociada a IDA.

El ancho de la distribución de tamaños de los GR (RDW, por las siglas en inglés) es un indicador de la heterogeneidad en esta población celular. Estudios recientes sugieren que un incremento del RDW en la insuficiencia cardíaca se relaciona con un estrés inflamatorio e impedimento para la movilización de Fe (69) indicando su posible uso para la AI, aunque este método no se ha estudiado específicamente en este contexto.

La presencia de inflamación es frecuentemente sospechada por la presentación de anemia en concordancia con una enfermedad de base, por lo que en la práctica un aumento en los neutrófilos, monocitos y plaquetas puede colaborar en el diagnóstico. La detección de la PCR ha mejorado con métodos de mayor sensibilidad pero todavía continúa siendo un colaborador no específico como marcador de inflamación, aunque se sugiere su uso en el diagnóstico de AI.

Existen en la actualidad una variedad de técnicas de ELISA accesibles para el análisis de citoquinas inflamatorias individuales o en análisis multiplex que pueden eventualmente ayudar a discriminar diferentes mecanismos que llevan a la AI.

Ensayos de Hepcidina

En las patologías inflamatorias o desórdenes restrictivos en Fe la producción de Hp aumenta por las citoquinas inflamatorias, por la producción autónoma en tumores (70) o alteraciones genéticas como mutación de la Matriptasa-2 (MT-2) perteneciente a la familia de las serin proteasas transmembrana tipo 2 (TMPRSS2), un regulador negativo de la transcripción de Hp y asociado a una anemia genéticamente determinada (IRIDA, *Iron-Refractory Iron Deficiency Anemia*) (71). La Hp también puede aumentar debido a disminución del *clearance* en enfermedades renales. Independientemente de la causa, el aumento de ésta inhibe la absorción de Fe y restringe la salida de éste de los macrófagos limitando el flujo de Fe para la síntesis de Hb, lo que resulta en una anemia por restricción de Fe. Este proceso tendría como objetivo reducir la disponibilidad de Fe para el crecimiento de gérmenes patógenos. La corrección del nivel de Fe para mejorar la anemia en pacientes con infección activa debería realizarse con precaución pues podría provocar una evolución desfavorable de la infección. Esto hace que el diagnóstico así como la terapéutica ideal de la AI esté todavía en plena discusión.

Teniendo en cuenta el rol que tendría la Hp en las diferentes patologías relacionadas a las alteraciones del metabolismo del Fe, tanto en la deficiencia como en los cuadros de sobrecarga y especialmente en la patogénesis de la AI, la medida de los niveles

de esta proteína podría ser de utilidad en la evaluación diagnóstica de estos casos. Los primeros intentos de medición se basaron en la extracción de Hp de la orina y fueron muy laboriosos (15). Posteriormente se desarrollaron otros métodos como la espectrometría de masa (72) y métodos inmunológicos (73) para la determinación de los niveles de Hp en suero y orina que tendrían la potencialidad del uso en la clínica, algunos de los cuales se encuentran accesibles comercialmente.

Los niveles séricos elevados de Hp se han descrito en un amplio espectro de enfermedades inflamatorias, entre otras, enfermedades reumatológicas, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), infecciones, mieloma múltiple, linfoma no Hodgkin, y pacientes en estado crítico (73) (74). Se debe tener en cuenta que la Hp estaría aumentada en la AI, pero los niveles pueden no estar elevados si coexiste con IDA. La inflamación induce aumento de Hp, mientras que la IDA induce disminución de Hp, por lo tanto, la determinación de Hp para el diagnóstico de AI debe evaluarse en un contexto amplio de razonamiento fisiológico. Con el uso rutinario en un futuro, probablemente se estandarizarán los valores para determinar si son los adecuados para AI pura o asociada a IDA en forma semejante a cuando se describen valores inadecuados de EPO para el grado de anemia.

En casos dudosos, una mejoría de la anemia con el uso de Fe oral dará una pista de que existe absorción de Fe por el duodeno, situación que no ocurriría si se tratara de una AI pura. Por todo lo anterior, un estudio metódico para descartar pérdidas digestivas es mandatorio. Como se mencionó anteriormente, en los casos de anemia no determinada del adulto mayor se sugiere una fisiopatología semejante a la AI. Sin embargo, en estudios de pacientes mayores de 65 años con anemia se observó que los niveles de Hp urinaria se correlacionaban muy estrechamente con los niveles de Fe pero no con los marcadores inflamatorios. Por lo tanto, es posible que mecanismos independientes de la Hp puedan contribuir a la hipofeemia de la AI o que la Hp sólo aumente en condiciones de marcada inflamación (52) y que la anemia podría estar mediada a través de mecanismos inflamatorios Hp independientes como por TNF- α .

Modelos experimentales

Se han desarrollado modelos experimentales de AI teniendo en cuenta la fisiopatología propuesta, los cuales podrían ser de utilidad para evaluar diferentes tipos de tratamientos.

Una suspensión de *Brucella abortus* (*B. abortus*) (BA) inactivada por calor inyectada vía intraperitoneal en ratones produjo una disminución del 50% de la Hb alrededor del día 14 con una recuperación posterior en forma gradual a semejanza de lo que ocurre en humanos al recuperarse de una sepsis. Éste es un modelo relativamente sencillo y reproducible que sirvió de base

para evaluar en distintos tiempos los efectos hematológicos de la inflamación en diferentes cepas de ratón, por ejemplo en ratones *hepcidin knockout*. En estos ratones, la inyección de BA produjo un efecto marcado en el comienzo de la anemia (75). Sin embargo, cuando se evaluó el efecto en ratones *IL-6 knockout* se observó que la deficiencia de IL-6 los protegió de la hipoferrremia y de la anemia, lo que sería un argumento a favor de que una inhibición de IL-6 podría lograr revertir la AI.

Tratamiento de AI

La anemia que se presenta en estados inflamatorios crónicos es en general mínima a moderada y su corrección no siempre es necesaria. Siempre debe tenerse en cuenta que lo ideal es realizar un correcto diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de base que provoca la anemia. La corrección de la anemia se puede observar en casos de remisión de los procesos inflamatorios o de la enfermedad maligna subyacente. Las razones para corregir la anemia tienen como principal objetivo mejorar la calidad de vida de los pacientes debido a los efectos deletéreos de ésta sobre el sistema cardiovascular y a la disminución del transporte de oxígeno a los tejidos. Además, la anemia se ha asociado a un peor pronóstico en una serie de trastornos agudos y crónicos como por ejemplo, trastornos cardiovasculares (76) (77). Además, como factor pronóstico independiente para la supervivencia en pacientes con cáncer (78) y en pacientes internados en terapia intensiva (79).

Existen casos donde el tratamiento de la enfermedad de base no siempre es posible: cáncer avanzado, enfermedad renal y cardíaca crónica. La transfusión sanguínea es un método simple y rápido para corregir la anemia en casos severos o con importantes manifestaciones clínicas. Sin embargo, debe usarse como un procedimiento excepcional, ya que el uso reiterado puede llevar a sobrecarga de Fe y a una aloinmunización. Si fuera necesaria debería descartarse otra patología asociada a pérdidas intestinales o un error diagnóstico.

Los Agentes Estimulantes de la Eritropoyesis (ESAs, por sus siglas en inglés) han sido utilizados en AI basados en una buena respuesta especialmente con valores de EPO bajos o insuficientes para el grado de anemia. La EPO recombinante humana (rHuEPO) es frecuentemente usada en pacientes con insuficiencia renal crónica, cáncer en tratamientos quimioterápicos y en aquellos tratados con anti-retrovirales, observándose evidencia de una respuesta favorable. Además, se obtuvieron efectos positivos en otras formas de AI como en la artritis reumatoidea aunque se han evaluado en un pequeño número de pacientes (80).

La mayoría de los estudios se han realizado en pacientes con tumores sólidos y malignidades hematológicas en tratamiento, por lo que la anemia podría ser causada por la mielosupresión más que por el proceso inflamatorio

(81); de todas formas, se demostró una mejoría en la calidad de vida pero no en la supervivencia.

Recientemente se han descrito algunos efectos adversos posiblemente debidos al uso de EPO en AI como un aumento de eventos cardiovasculares y trombosis. El estudio CHOIR (*Correction of Haemoglobin and Outcomes in Renal Insufficiency*) (82) mostró que tratar de realizar una corrección mayor a 11,3 g/dL de Hb llevando a un *target* de 13,5 g/dL en insuficientes renales puede aumentar el riesgo de estos eventos sin mejorar la calidad de vida, lo que sugiere que se debe ser cauto en el intento de corrección. El *Anchor Study* (83) en pacientes con falla cardíaca e IRC mostró que valores de Hb >17 g/dL o <13 g/dL son predictores independientes del riesgo de muerte.

Estudios randomizados de uso de EPO en pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC), que no recibían quimioterapia se terminó prematuramente por alta mortalidad en el grupo con EPO (84). Estos estudios junto con otros que sugieren que las células tumorales podrían expresar receptores para EPO llevó a que la FDA de EE.UU. recomendara que la prescripción de ESAs (EPO) debería usarse a la menor dosis que incremente en forma gradual la Hb por el riesgo de eventos cardiovasculares con niveles de Hb >12 g/dL, y sólo para evitar transfusiones, y no usarlo en determinados tipo de tumores como mama, cabeza y cuello y pulmón, o enfermedad maligna activa que no reciban quimio/radioterapia. Recomendaciones semejantes han sido realizadas por la *American Society of Hematology* y por la *American Society of Clinical Oncology* (85). Sin embargo, un metaanálisis de 60 estudios de ESAs en pacientes con cáncer no mostró evidencia de reducción de la supervivencia o aumento de la progresión (86). Además, existen dudas sobre el nivel de la expresión de receptores de EPO en líneas celulares tumorales. La respuesta de la AI a la terapia con EPO puede estar reducida si se acompaña con una inflamación intensa o cuando se asocia a IDA que como se dijo previamente es frecuente, por lo que antes de iniciar una terapéutica con EPO se debe asegurar que existan depósitos de Fe adecuados, y en caso contrario, reponerlos con Fe parenteral, actualmente por vía endovenosa (EV).

La terapia con Fe especialmente por vía EV tendría un rol en la AI aunque se trata de una deficiencia funcional (87). Por otro lado, una IDA puede desarrollarse durante el tratamiento con ESAs. El Fe oral no debería absorberse por aumento de Hp en AI y sólo sería pasible de uso si coexiste una deficiencia real de Fe. Sólo escasos trabajos plantean el uso exclusivo de Fe parenteral endovenoso (EV) para el tratamiento de AI, y en varios no se definió si presentaban asociada una deficiencia real de Fe. La mayoría de los estudios con suplemento de Fe EV se produjo en el campo de la nefrología demostrando la superioridad sobre el Fe oral y mejorando la respuesta a los ESAs, inclusive logrando reducir la dosis de éstas (88). Además, se observó que los pacientes en hemodiálisis

lisis presentaron una mayor y más rápida elevación de la Hb que los controles. Existe evidencia que el Fe EV puede incrementar los efectos de ESAs en pacientes con anemia relacionada a las neoplasias (89) (90).

Dado los efectos positivos de Fe EV en AI no se conoce con certeza cómo el Fe EV sobrepasa el bloqueo del sistema reticuloendotelial que es típico de la AI. Posiblemente, el Fe infundido pueda asociarse directamente a la Tf sin ingresar al macrófago y llegaría al menos en parte, al eritrón en forma directa. Nuevas formulaciones de Fe EV con mínima toxicidad han hecho posible el uso seguro de este tipo de fármacos como: hierro dextrán de bajo peso molecular, hierro sucrosa, hierro férrico carboximaltosa y gluconato férrico sódico. Se debe tener en cuenta que uno de los efectos positivos de la AI es retener Fe para evitar el crecimiento bacteriano, pero no hay datos evidentes sobre el incremento de infecciones con su uso en AI y no parece tener un efecto tóxico oxidativo de seriedad (91).

Otros tratamientos experimentales (direcciones futuras)

En años recientes se ha realizado un esfuerzo para modular la relación entre Hp y Fp que incluyen drogas para inhibir la producción, agentes que puedan bloquear la acción de la Hp, la mayoría evaluados en modelos experimentales. Entre otros, un potente antagonista del receptor de BMP, *Bone Morphogenic Protein*, denominado LDN-193189, que inhibe la señalización y los niveles del mRNA de Hp de manera dosis dependiente, fue probado por vía oral en ratones y mejoró la AI producida por turpentina (92). En forma similar en modelos murinos de enfermedad inflamatoria intestinal (EII), se ha ensayado la HJV, una proteína recombinante que impide la unión de BMPs a su receptor (93), y también, anticuerpos anti-BMP-6 que inhiben la expresión de Hp. Un nuevo compuesto anti-Hp (Spiegelmer-NOX_H94) con estructura de L-oligorribonucleótido, se une con alta afinidad a la Hp (94), y en un estudio fase I en humanos administrado por vía parenteral, pudo inhibir la hipoferrémia inducida por LPS (95). Otros anti-Hp se encuentran en desarrollo.

Tratamientos experimentales y observaciones clínicas indican la posible utilidad de la IL-6 como posible *target* terapéutico (96). Por ejemplo, la Enfermedad de Castleman Multicéntrica (ECM) fue útil como modelo debido a que estos pacientes presentan linfadenomegalias generalizadas, inflamación sistémica crónica, incremento notorio de IL-6 y AI. El Siltuximab es un anticuerpo monoclonal quimérico humano-ratón anti-IL-6 que fue aprobado para el tratamiento de ECM y llevó a una mejoría de la anemia en estos pacientes (97). Algunos autores sugirieron que Siltuximab podría ser efectivo en estadios tempranos de casos con síndromes mielodisplásicos (SMD) dependientes de transfusiones,

en quienes se observa aumento de citoquinas inflamatorias, pero los resultados no mostraron reducción del requerimiento transfusional. En cambio, otro anticuerpo monoclonal humanizado anti-IL-6 como el Tocilizumab, produjo una reducción de los niveles de Hp y mejoró la anemia en ECM y artritis reumatoidea (98).

La Dorsomorfina es una molécula pequeña que inhibe la señalización de la BMP. Estudios *in vitro* mostraron que puede inhibir la BMP, HJV, IL-6, todas estimulantes de la expresión de Hp (99), sugiriendo un posible rol en el tratamiento de la AI. La heparina se puede unir a las BMPs y puede eventualmente afectar la señalización. Algunos investigadores observaron reducción de los niveles de Hp y aumento de Fe sérico en pacientes tratados con Heparina por cuadros de trombosis venosa incluyendo las heparinas de bajo peso molecular, sugiriendo un efecto mediado por un secuestro de BMP formando un complejo incapaz de estimular la señalización vía SMAD de la expresión de Hp. Estudios futuros serán necesarios para usar la heparina como potencial agente terapéutico (100).

Un estudio reciente mostró una asociación entre la deficiencia de Vitamina D y la AI en adultos mayores (101). Los individuos con AI tenían el doble de posibilidades de ser deficientes en Vitamina D que los sujetos no anémicos. Además, existe evidencia que sugiere que la Vitamina D y derivados pueden suprimir la expresión de IL-6 y IL-8 en cultivos de fibroblastos (102).

La Pentoxifilina es una droga con propiedades antiinflamatorias que puede suprimir la producción de TNF- α e IFN. Se ha observado beneficio de esta droga en enfermos renales crónicos con anemia resistente a la EPO (103) y con reducción de citoquinas inflamatorias. No se conoce completamente el mecanismo de acción de la droga y seguramente se realizarán estudios en un futuro cercano.

En la Tabla III se presentan algunos agentes con actividad potencial para el tratamiento de la AI.

Tabla III. Algunos agentes con actividad potencial para el tratamiento de AI.

1.	Anticuerpo Anti-hepcidina
2.	Inhibidores del receptor BMP tipo II (dorsomorfina y derivados)
3.	Hemojuvelina (HJV) soluble: Agonista de BMP
4.	Eritropoyetina: modula TFG β (GDF15)
5.	Heparina no fraccionada: unión BMP6 - \downarrow PCR - \downarrow IL-6, bloquea SMAD
6.	Inhibidores de STAT3 experimental
7.	GDF15 antagonista BMP (<i>in vitro</i>)
8.	TMPRSS6 vía clivaje HJV soluble (mutación IRIDA) <i>in vitro</i>
9.	Neogenin - Inhibe secreción de HJV (<i>in vitro</i>)
10.	Antagonista SMAD4: Vit D: Suprime IL-6 - Acción antiinflamatoria - Suprime HIF1 α (sensor de hipoxia)
11.	Tocilizumab: Anticuerpo anti-receptor IL-6
12.	L-oligorribonucleótido anti-hepcidina "Spiegelmer"

Conclusión

La AI es la segunda causa de anemia luego de la IDA. Contribuye a la morbilidad y eventualmente a la disminución de la supervivencia en un gran número de pacientes con enfermedades inflamatorias agudas y crónicas y enfermedades infecciosas y malignas. En los últimos años se ha incrementado el conocimiento de la fisiopatología de este proceso, especialmente sobre los mecanismos que regulan la absorción intestinal, liberación por el macrófago, el transporte y la utilización del Fe en la eritropoyesis, en particular la actividad de la Hp y de las citoquinas inflamatorias que producen este tipo de "alteración funcional del Fe".

Seguramente las nuevas determinaciones bioquímicas podrán distinguir este tipo de anemia de otras variantes que frecuentemente coexisten y dificultan el diagnóstico. Además, se espera el desarrollo de nuevas terapéuticas más específicas sobre los mecanismos moleculares involucrados en la patogénesis de la AI.

CORRESPONDENCIA

Dr. Prof. LEONARDO FELDMAN
Escuela Superior de Ciencias de la Salud
Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires
7000. TANDIL. Buenos Aires, Argentina.
Tel +54 249 438-5850, int. 3284
E-mail: leonardofeldman2009@gmail.com

Referencias bibliográficas

- Guralnik JM, Eisenstaedt RS, Ferrucci L, Klein HG, Woodman RC. Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood* 2004; 104 (8): 2263-8.
- Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, Fink MP, Levy MM, Abraham E, *et al.* The CRIT Study: Anemia and blood transfusion in the critically ill--current clinical practice in the United States. *Crit Care Med* 2004; 32 (1): 39-52.
- Joosten E, Lioen P. Iron deficiency anemia and anemia of chronic disease in geriatric hospitalized patients: how frequent are comorbidities as an additional explanation for the anemia? *Geriatr Gerontol Int* 2015; 15 (8): 931-5.
- Coimbra S, Catarino C, Santos-Silva A. The role of adipocytes in the modulation of iron metabolism in obesity. *Obes Rev* 2013; 14 (10): 771-9.
- Careaga M, Moizé V, Flores L, Deulofeu R, Andreu A, Vidal J. Inflammation and iron status in bariatric surgery candidates. *Surg Obes Relat Dis* 2015; 11 (4): 906-11.
- Macciò A, Madeddu C, Gramignano G, Mulas C, Tanca L, Cherchi MC, *et al.* The role of inflammation, iron, and nutritional status in cancer-related anemia: results of a large, prospective, observational study. *Hematologica* 2015; 100 (1): 124-32.
- Ferrucci L, Balducci L. Anemia of aging: the role of chronic inflammation and cancer. *Semin Hematol* 2008; 45 (4): 242-9.
- Opasich C, Cazzola M, Scelsi L, de Feo S, Bosimini E, Lagioia R, *et al.* Blunted erythropoietin production and defective iron supply for erythropoiesis as major causes of anaemia in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 2005; 26 (21): 2232-7.
- Desjardins M. ER-mediated phagocytosis: A new membrane for new functions, *Nat Rev Immunol* 2003; 3 (4): 280-91.
- Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 2008; 112 (2): 219-30.
- Fraenkel PG, Traver D, Donovan A, Zahrieh D, Zon LI. Ferroportin1 is required for normal iron cycling in zebrafish. *J Clin Invest* 2005; 115 (6): 1532-41.
- Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, *et al.* The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab* 2005; 1 (3): 191-200.
- Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, *et al.* Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403 (6771): 776-81.
- Alvarez-Hernández X, Licéaga J, McKay IC, Brock JH. Induction of hypoferrremia and modulation of macrophage iron metabolism by tumor necrosis factor. *Lab Invest* 1989; 61 (3): 319-22.
- Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, *et al.* IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004; 113 (9): 1271-6.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276 (11): 7806-10.
- Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, López MA, Farshidi D, Ganz T. Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 2005; 106 (6): 2196-9.
- Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 2004; 117 (3): 285-97.
- Bolondia G, Garuti C, Corradini E, Zoller H, Vogel W, Finkenstedt A, *et al.* Altered hepatic BMP signaling pathway in human HFE hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 2010; 45 (4): 308-12.
- Nemeth E, Ganz T. The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematol* 2009; 122 (2-3): 78-86.
- Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102 (3): 783-8.
- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM *et al.* Hepcidin regulates iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004b; 306 (5704): 2090-3.

23. Delaby C, Pilard N, Goncalves ES, Beaumont C, Canonne-Hergaux F. Presence of the iron exporter ferroportin at the plasma membrane of macrophages is enhanced by iron loading and down-regulated by hepcidin. *Blood* 2005; 106 (12): 3979-84.
24. De Domenico I, Ward DM, Langelier C, Vaughn MB, Nemeth E, Sundquist WI, *et al.* The molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin down-regulation. *Mol Biol Cell* 2007; 18 (7): 2569-78.
25. Brasse-Lagnel C, Karim Z, Letteron P, Bekri S, Bado A, Beaumont C. Intestinal DMT1 cotransporter is downregulated by hepcidin via proteasome-internalization and degradation. *Gastroenterology* 2011; 140 (4): 1261-71.
26. Ganz T, Nemeth E. Iron metabolism: interactions with normal and disordered erythropoiesis. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2 (5): a011668.
27. Lee P, Peng H, Gelbart T, Lei Wang L, Beutler E. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102 (6): 1906-10.
28. Weizer-Stern O, Adamsky K, Margalit O, Fabian OA, Givol D, Amariglio N, *et al.* Hepcidin, a key regulator of iron metabolism, is transcriptionally activated by p53. *Br J Haematol* 2007; 138 (2): 253-62.
29. Gkouvatso K, Papanikolaou G, Pantopoulos K. Regulation of iron transport and the role of transferrin. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1820 (3): 188-202.
30. Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1823 (9): 1434-43.
31. Oliveira SJ, Pinto JP, Picarote G, Costa VM, Carvalho F, Rangel M, *et al.* ER stress-inducible factor CHOP affects the expression of hepcidin by modulating C/EBP alpha activity. *PLoS One* 2009; 4 (8): e6618.
32. Vecchi C, Montosi G, Zhang K, Lamberti I, Duncan SA, Kaufman RJ, *et al.* ER stress controls iron metabolism through induction of hepcidin. *Science* 2009; 325 (5942): 877-80.
33. Millonig G, Ganzleben I, Peccerella T, Casanovas G, Brodziak-Jarosz L, Breitkopf-Heinlein K, *et al.* Sustained submicromolar H₂O₂ levels induce hepcidin via signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3). *J Biol Chem* 2012; 287 (44): 37472-82.
34. Constante M, Jiang W, Wang D, Raymond VA, Bilo-deau M, Santos M. Distinct requirements for Hfe in basal and induced hepcidin levels in iron overload and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291 (2): G229-37.
35. Guida C, Altamura S, Klein FA, Galy B, Boutros M, Ulmer AJ, *et al.* A novel inflammatory pathway mediating rapid hepcidin-independent hypoferremia. *Blood* 2015; 125 (14): 2265-75.
36. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, Goh SH, Staker P, Lee YT *et al.* High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med* 2007; 13 (9): 1096 - 101.
37. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI, Bogdanos D, Tsimirika K, MacFarlane J, *et al.* Hepcidin in iron overload disorders. *Blood* 2005; 105 (10): 4103-5.
38. Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet* 2014; 46 (7): 678-84.
39. Kautz L, Jung G, Nemeth E, Ganz T. Erythroferrone contributes to recovery from anemia of inflammation. *Blood* 2014; 124 (16): 2569-74.
40. Pinto JP, Ribeiro S, Pontes H, Thowfeequ S, Tosh D, Carvalho F, Porto G. Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBP α . *Blood* 2008; 111 (12): 5727-33.
41. Peyssonnaud C, Zinkernagel AS, Schuepbach RA, Rankin E, Vaulont S, Volker H, *et al.* Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *J Clin Invest* 2007; 117 (7): 1926-32.
42. Fraenkel PG. Understanding anemia of chronic disease. *Am Soc Hematol Educ Program* 2015: 14-18.
43. Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes M A, Strong R, *et al.* Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 2004; 432 (7019): 917-21.
44. Kanwar JR, Roy K, Patel Y, Zhou SF, Singh MR, Singh D, *et al.* Multifunctional iron bound lactoferrin and nanomedicinal approaches to enhance its bioactive functions. *Molecules* 2015; 20(6): 9703-31.
45. Chung B, Matak P, McKie AT, Sharp P. Leptin increases the expression of the iron regulatory hormone hepcidin in HuH7 human hepatoma cells. *J Nutr* 2007; 137 (11): 2366-70.
46. Catalan V, Gomez-Ambros J, Rodriguez A, Ramirez B, Valenti V, Moncada R, *et al.* Peripheral mononuclear blood cells contribute to the obesity-associated inflammatory state independently of glycemic status: involvement of the novel proinflammatory adipokine eschimerin, chitinase-3-like protein 1, lipocalin-2 and osteopontin. *Genes Nutr* 2015; 10 (3): 460.
47. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005; 352 (10): 1011-123.
48. Wrighting DM, Andrews NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood* 2006; 108 (9): 3204-9.
49. Truksa J, Peng H, Lee P, Beutler E. Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of Hfe, transferrin receptor 2 (Tfr2), and IL-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103 (27): 10289-93.
50. Hohaus S, Massini G, Giachelia M, Vannata B, Bozzoli V, Cuccaro A, *et al.* Anemia in Hodgkin's lymphoma: the role of interleukin-6 and hepcidin. *J Clin Oncol* 2010; 28(15): 2538-43.
51. Maes K, Nemeth E, Roodman GD, Huston A, Esteve F, Freytes C, *et al.* In anemia of multiple myeloma, hepcidin is induced by increased bone morphogenetic protein 2. *Blood* 2010; 116 (18): 3635-44.
52. Ferrucci L, Semba RD, Guralnik JM, Ershler WB, Bandinelli S, Patel KV, *et al.* Proinflammatory state, hepcidin and anemia in older persons. *Blood* 2010; 115 (18): 3810-26.

53. Cullis JO. Diagnosis and management of anaemia of chronic disease: current status. *Br J Haematol* 2011; 154 (3): 289-300.
54. Miller CB, Jones RJ, Piantadosi S, Abeloff MD, Spivak JL. Decreased erythropoietin response in patients with the anemia of cancer. *N Eng J Med* 1990; 322 (24): 1689-92.
55. Frede S, Fandrey J, Pagel H, Hellwig T, Jelkmann W. Erythropoietin gene expression is suppressed after lipopolysaccharide or interleukin-1 beta injections in rat. *Am J Physiol* 1997; 273: R 1067-71.
56. Rizzo JD, Brouwers M, Hurley P, Seidenfeld J, Arcasoy MO, Spivak JL, *et al.* American Society of Clinical Oncology/American Society of Hematology clinical practice guideline update on the use of epoetin and darbepoetin in adult patients with cancer. *Blood* 2010; 116 (6): 4045-59.
57. Henry DH. Parenteral iron therapy in cancer-associated anemia hematology. *Am Soc Hematol Educ Program* 2010; 2010: 351-6. doi: 10.1182/asheducation-2010.1.351.
58. McGlave PB, Davies SF, Banisadre M, Kaplan ME, Sarosi GA. *In vitro* suppression of erythropoiesis by bone marrow adherent cells from some patients with fungal infection. *Br J Haematol* 1982; 50: 479-90.
59. Dallalio G, Law E, Means RT Jr. Hepcidin inhibits *in vitro* erythroid colony formation at low erythropoietin concentrations. *Blood* 2006; 107: 2702-4.
60. Papadaki HA, Kritikos HD, Valatas V, Boumpas DT, Eliopoulos GD. Anemia of chronic disease in rheumatoid arthritis is associated with increased apoptosis of bone marrow erythroid cells: improvement following anti-tumor necrosis factor-alpha antibody therapy. *Blood* 2002; 100 (2): 474-82.
61. Manodori AB, Kuypers FA. Altered red cell turnover in diabetic mice. *J Lab Clin Med* 2002; 140 (3): 161-5.
62. Mitlyng BL, Singh JA, Furne JK, Ruddy J, Levitt MD. Use of breath carbon monoxide measurements to assess erythrocyte survival in subjects with chronic diseases. *Am J Hematol* 2006; 81 (6): 432-8.
63. Beaumont C, Canonne-Hergaux F. Erythrophagocytosee recycling du ferhe'miniquedans les conditions normales et pathologiques; regulation parl'hepcidine. *Transfusion Clinique et Biologique* 2005; 12: 123-30.
64. Valent P. Low blood counts: immune mediated, idiopathic, or myelodysplasia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. Hematology 2012: 485-91; doi:10.1182/asheducation-2012.1.485.
65. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem* 2003; 49(10): 1573-8.
66. Fitzsimons EJ, Houston T, Munro R, Sturrock RD, Speekenbrink AB, Brock JH. Erythroblast iron metabolism and serum soluble transferrin receptor values in the anemia of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 47 (2): 166-71.
67. Malope BI, MacPhail AP, Alberts M, Hiss DC. The ratio of serum transferrin receptor and serum ferritin in the diagnosis of iron status. *Br J Haematol* 2001; 115 (1): 84-9.
68. Thomas C, Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem* 2002; 48 (7): 1066-76.
69. Allen LA, Felker GM, Mehra MR, Chiong JR, Dunlap SH, Ghali JK, *et al.* Validation and potential mechanisms of red cell distribution width as a prognostic marker in heart failure. *J Card Fail* 2010; 16 (3): 230-8.
70. Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfson JL, Andrews N. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 2002; 100 (10): 3776-81.
71. Finberg KE, Heeney MM, Campagna DR, Aydinok Y, Pearson HA, Hartman KR, *et al.* Mutations in TM-PRSS6 cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Nat Genet* 2008; 40(5): 569-71.
72. Murphy AT, Witcher DR, Luan P, Wroblewski VJ. Quantitation of hepcidin from human and mouse serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Blood* 2007; 110(3): 1048-54.
73. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human hepcidin. *Blood* 2008; 112 (10): 4292-7.
74. Hohaus S, Massini G, Giachelia M, Vannata B, Bozzoli V, Cuccaro A *et al.* Anemia in Hodgkin's lymphoma: the role of interleukin-6 and hepcidin. *J Clin Oncol* 2010; 28 (15): 2538-43.
75. Gardenghi S, Renaud TM, Meloni A, Casu C, Crielgaard BJ, Bystrom LM, *et al.* Distinct roles for hepcidin and interleukin-6 in the recovery from anemia in mice injected with Heat-Killed *Brucella abortus*. *Blood* 2014; 123 (8): 1137-45.
76. Tang YD, Kats SD. Anemia in chronic heart failure prevalence, etiology, clinical correlates, and treatment options. *Circulation* 2006; 113: 2454-61.
77. Puente D, Colorio C, Ratto R, Descalzo M, Rossi A, Perea F, *et al.* Clinical Implications of Anemia in Heart Failure (HF) Patients (pts). *Blood* 2007; 110: 3776.
78. Caro JJ, Salas M, Ward A, Goss G. Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review. *Cancer* 2001; 91 (12): 2214-22.
79. Corwin HL, Gettinger A, Pearl RG, Fink MP, Levy MM, Abraham E, *et al.* The CRIT Study: anemia and blood transfusion in the critically ill—current clinical practice in the United States. *Crit Care Med* 2004; 32 (1): 39-52.
80. Peeters HR, Jongen-Lavrencic M, Vreugdenhil G, Swaak AJ. Effect of recombinant human erythropoietin on anaemia and disease activity in patients with rheumatoid arthritis and anaemia of chronic disease: a randomized placebo controlled double blind 52 weeks clinical trial. *Ann Rheum Dis* 1996; 55 (10): 739-44.
81. Witzig TE, Silberstein PT, Loprinzi CL, Sloan JA, Novotny PJ, Mailliard JA, *et al.* Phase III, randomized,

- double-blind study of epoetin alfa compared with placebo in anemic patients receiving chemotherapy. *J Clin Oncol* 2005; 23 (12): 2606–17.
82. Singh AK, SzczechL, Tang KL, Barnhart H, Sapp S, Wolfson M, Reddan D, CHOIR Investigators. Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. *N England J Med* 2006; 355 (20): 2085–98.
 83. Go AS, Yang J, Ackerson LM, Lepper K, Robbins S, Massie BM, *et al.* Hemoglobin level, chronic kidney disease, and the risks of death and hospitalization in adults with chronic heart failure: the Anemia in Chronic Heart failure: Outcomes and Resource Utilization (ANCHOR) Study *Circulation* 2006; 113 (23): 2713–23.
 84. Wright JR, Ung YC, Julian JA, Pritchard KI, Whelan TJ, Smith C *et al.* Randomized, doubleblind, placebo-controlled trial of erythropoietin in non-small-cell lung cancer with disease-related anemia. *J Oncol Pract* 2010; 6: 317–20.
 85. Rizzo JD, Brouwers M, Hurley P, Seidenfeld J, Somerfield MR, Ternin S *et al.* American Society of Clinical Oncology; American Society of Hematology. 2010. American Society of Clinical Oncology/American Society of Hematology clinical practice guideline update on the use of epoetin and darbepoetin in adult patients with cancer. *J Oncol Pract* 2010; 6: 317–20ç
 86. Glaspy J, Crawford J, Vansteenkiste J, Henry D, Rao S, Bowers P *et al.* Erythropoiesis stimulating agents in oncology: a study-level meta-analysis of survival and other safety outcomes. *Br J Cancer* 2010; 102 (2): 301–15.
 87. Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation and management of iron restricted erythropoiesis. *Blood* 2010; 116 (23): 4754–61.
 88. Locatelli F, Covic A, Eckardt KU, Wiecek A, Vanholder R. Anaemia management in patients with chronic kidney disease: a position statement by the Anaemia Working Group of European Renal Best Practice (ERBP). *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24 (2): 348–54.
 89. Littlewood TJ, Alikhan R. The use of intravenous iron in patients with cancer-related anaemia. *Br J Haematol* 2008; 141 (6): 751–6.
 90. Auerbach M, Ballard H, Trout JR, McIlwain M, Ackerman A, Bahrain H, *et al.* Intravenous iron optimizes the response to recombinant human erythropoietin in cancer patients with chemotherapy-related anemia: a multi-center, open-label, randomized trial. *J Clin Oncol* 2004; 22 (7): 1301–7.
 91. Feldman HI, Joffe M, Robinson B, Knauss J, Cizman B, Guo W, *et al.* Administration of parenteral iron and mortality among hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(6): 1623–32.
 92. Mayeur C, Kolodziej SA, Wang A, Xu X, Lee A, Yu PB, *et al.* Oral administration of a bone morphogenetic protein type I receptor inhibitor prevents the development of anemia of inflammation. *Haematologica* 2015; 100 (2): e68–e71.
 93. Theurl I, Schroll A, Sonnweber T, Manfred N, Milan TI, Wolfgang W, *et al.* Pharmacologic inhibition of hepcidin expression reverses anemia of chronic inflammation in rats. *Blood* 2011; 118 (18): 4977–84.
 94. Schwoebel F, van Eijk LT, Zboralski D, Sell S, Buchner K, Maasch Ch, *et al.* The effects of the anti-hepcidin Spiegelmer NOX-H94 on inflammation-induced anemia in cynomolgus monkeys. *Blood* 2013; 121 (12): 2311–5.
 95. Van Eijk LT, John AS, Schwoebel F, Summo L, Vauléon S, Zöllner S, *et al.* Effect of the antihepcidin Spiegelmerl exaptedid on inflammation-induced decrease in serum iron in humans. *Blood* 2014; 124 (17): 2643–6.
 96. Rossi JF, Lu ZY, Jourdan M, Klein B. Interleukin-6 as a therapeutic target. *Clin Cancer Res* 2015; 21 (6): 1248–57.
 97. Van Rhee F, Wong RS, Munshi N, Rossi JF, Yan Ke X, Fosså A, *et al.* Siltuximab for multicentric Castleman's disease: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet Oncol* 2014; 15 (9): 966–74.
 98. Song SN, Tomosugi N, Kawabata H, Ishikawa T, Nishikawa T, Yoshizaki K. Down regulation of hepcidin resulting from long-term treatment with an anti-IL-6 receptor antibody (tocilizumab) improves anemia of inflammation in multicentric Castleman disease. *Blood* 2010; 116 (18): 3627–363.
 99. Yu PB, Hong CC, Sachidanandan C, Babitt JL, Deng DY, Hoyng SA, *et al.* Dorsomorphin inhibits BMP signals required for embryogenesis and iron metabolism. *Nat Chem Biol* 2008; 4 (1): 33–41.
 100. Poli M, Girelli D, Campostrini N, Maccarinelli F, Finazzi D, Lusciati S, *et al.* Heparin: a potent inhibitor of hepcidin expression *in vitro* and *in vivo*. *Blood* 2011; 117 (3): 997–1004.
 101. Perlstein TS, Pande R, Berliner R, Vanasse GJ. Prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency in subgroups of elderly persons with anemia: association with anemia of inflammation. *Blood* 2011; 117 (10): 2800–6.
 102. Rostkowska-Nadolska B, Sliupkas-Dyrda E, Potyka J, Kusmierz D, Fraczek M, Krecicki T, *et al.* Vitamin D derivatives: calcitriol and tacalcitol inhibits interleukin-6 and interleukin-8 expression in human nasal polyp fibroblast cultures. *Adv Med Sci* 2010; 55 (1): 86–92.
 103. Cooper A, Mikhail A, Lethbridge MW, Kemeny DM, Maccougall IC. Pentoxifylline improves hemoglobin levels in patients with erythropoietin-resistant anemia in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 (7): 1877–82.

Recibido: 9 de marzo de 2017

Aceptado: 14 de julio de 2017