



Hepcidina - ¿Qué sabemos?

Patrick Wagner Grau – Perú
Médico Internista, Nefrólogo

Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

¿Cuánto sabemos sobre hepcidina, cuánto nos falta saber? nos falta saber bastante. Esta sustancia que ya tiene más o menos 7 a 8 años de ser conocida, ha sido incluso divulgada y en los últimos años realmente ha sido la vedette justamente del metabolismo del hierro. Se trata de una hormona proteica de origen hepático, de ahí su nombre, hep por hepatocito, cidina por actividad antimicrobiana y es la antigua LEAP-1, ustedes saben que la LEAP-1 es la liver expressed antimicrobial proteína, ¿cierto? Aquella proteína antimicrobiana expresada por el hígado, una cosa que clásicamente se conocía y esta relativamente nueva hormona, fue aislada y purificada simultáneamente en el año 2001 por 2 grupos que intentaban separadamente hallar nuevos péptidos con acción antimicrobiana, esto era lo que realmente se quería, obtener nuevos péptidos con acción antimicrobiana innata o sea, que de alguna manera pudieran servir como antibióticos endógenos; y así se conoció la hepcidina, esta hormona de 25 aminoácidos que posea y posee de hecho una actividad antimicrobiana como todos sabemos in Vitro pero esta actividad antimicrobiana de la hepcidina es menor que otros péptidos antimicrobianos de defensa endógena.

Indudablemente, la hepcidina teniendo una actividad antimicrobiana importante, teniendo una actividad antiinflamatoria, su actividad es menor de la de otros péptidos que actúan de una manera parecida. Se cree que en los vertebrados inferiores fundamentalmente desempeña un importante rol en respuesta inmune innata y en cambio, en nosotros, en los vertebrados superiores este rol ha ido evolucionando hacia la regulación de la homeostasis del hierro lo cual sabemos es importante porque el hierro es un buen alimento de las bacterias, las bacterias lo necesitan para diseminarse y la hepcidina desempeña un rol crucial al disminuir o reducir el aporte de hierro justamente a las bacterias que pudieran estar presentes o colonizando un organismo, de tal manera que la idea general sería que esta hormona producida por el hígado va a tener un efecto importante sobre el hierro, también nos protege contra infecciones bacterianas o microbianas.

Estudios recientes de los años 2007 y 2008 han logrado mostrar que la hormona es sintetizada por diversas células, células mieloides por ejemplo, en respuesta a la acción de patógenos bacterianos, es sintetizada por esplenocitos activados y como ayer nos mostró el profesor Muñoz con muchísima claridad, es también producida, sintetizada por los macrófagos aunque mucho menos y por supuesto, en mucho menor proporción

que por el hígado que de alguna manera se lleva la palma de la síntesis de hepcidina porque éste sintetiza más o menos el 90% de la hepcidina que tenemos en nuestro organismo. Como escuchamos esta mañana y vamos a comentar, probablemente sea sintetizada también por células miocárdicas en situaciones especiales; el autor, el profesor Toblli, nos mostró hoy día la evidencia de su laboratorio en este sentido y una de las posibilidades es que estas células miocárdicas que sintetizan la hepcidina lo hacen para defenderse contra la acción bacteriana, contra la agresividad bacteriana o contra el proceso inflamatorio que afecta el corazón o que pudiera, digamos, producir un trastorno inflamatorio del corazón o del miocardio.

Hoy sabemos que el gen de hepcidina es un gen pequeño, comprende 3 exones principalmente, solamente 3 exones, un péptido de 84 aminoácidos incluyendo un "signal peptide" N-terminal y una pro-región con un péptido maduro C terminal de 25 aminoácidos que en esencia es esta hormona purificada principalmente en sangre y sobre todo en orina, o sea, hay todo un programa de codificación y de preparación para la síntesis de hepcidina que resulta ser una síntesis bastante compleja.

Hay fuentes extrarenales de hepcidina. Sabemos que en el riñón las células intersticiales son capaces de producir hepcidina, eso se sabe desde algún tiempo y lo que acabamos de comentar es que los cardiomiocitos son capaces, en ciertas condiciones experimentales de producir también hepcidina.

Aquí voy a decir una barbaridad que por favor me perdone el profesor Muñoz y el profesor Toblli, yo planteo lo siguiente: así como el corazón ha sido durante mucho tiempo considerado una víctima de la hipertensión arterial, así como el corazón ha sido considerado entonces simplemente no un generador, ni un regulador de la hipertensión sino una víctima del proceso hipertensivo crónico y hace unos 20 ó 30 años se pudo demostrar que el corazón regula la presión arterial justamente a través de los péptidos natriuréticos que todos conocemos el corazón, éste dejó de ser víctima y pasó a ser protagonista.

Un actor en la regulación de la presión arterial y por lo tanto en la hipertensión arterial. ¿Será posible que si el corazón produce hepcidina, éste no sea solamente "víctima" de una anemia que produce hipertrofia ventricular izquierda y alteraciones miocárdicas que todos conocemos y entonces no sólo sea víctima sino que a través de la producción de hepcidina en los miocardiocitos participe en la génesis de la anemia, participe como actor y protagonista? Digamos que podría estar produciendo el cras por ejemplo, el síndrome de anemia cardíorenal, donde el problema no solamente es del corazón que sufre los embates de la anemia sino que también se hace participe en la patogénesis de la anemia por medio de la hepcidina, esta es una gran pregunta que me hago y perdonen esta insolencia. Doctor Muñoz, pregunto: ¿qué es lo que realmente hace la hepcidina en el corazón? ¿Qué diablos hace ahí? ¡No debería estar ahí!

El Doctor Ganz es uno de los co-descubridores de la hepcidina en el año 2008 publicó un trabajo y aquí tenemos que poner doble interrogativo donde dice que en el encéfalo

también podría actuar como neurotransmisor en ciertas áreas y actuar como Neuropéptido; esto se ha dicho de miles de sustancias como todos sabemos, de miles de sustancias y actuar como neuropéptido sería como actuar a nivel del sistema nervioso central para defenderse de la anemia para producir anemia ¿ con que fin o qué otras acciones tiene la hepcidina realmente aparte de las que ya conocemos? ¿Actuará como un neuropéptido? Lógicamente en la neurotransmisión encefálica podría decirse de alguna manera que está regulando alguna acción que no conocemos y que no comprendemos bien todavía pero evidentemente esto no ha sido demostrado de ninguna manera.

La expresión de hepcidina se hace o se logra por cuantificación de los niveles del ácido ribonucleico, mensajeros hepáticos en modelos animales o también por ensayo de concentración de hepcidina urinaria, fundamentalmente la orina que todos sabemos hace mucho tiempo. Un grupo hace poco tiempo ha logrado desarrollar anticuerpos antihepcidina y determinar en forma importante, exacta y precisa la concentración de hepcidina en orina. Últimamente se ha descrito en el año 2007 un ensayo por espectrometrías SELDI-Tof para hepcidina que parece ser bastante exacto y sensible.

En todo caso, la dificultad para obtener anticuerpos antihepcidina que ya se conoce y se sabe se debe a la complejidad de su estructura, una estructura tridimensional de la proteína que contiene cisteína como todos sabemos con 8 residuos de cisteína de 25 conectado por 4 puentes disulfuro o sea, una proteína realmente complicada, compleja. Sabemos que existe una correlación directa entre la síntesis hepática de hepcidina 90% de síntesis hepática y la concentración de hepcidina urinaria, la prueba ELISA que también se mencionó esta mañana y actualmente hay una prueba de ELISA comercial para pro-hepcidina sérica. El significado fisiológico del ensayo y uso para estudios clínicos no han sido aún plenamente validados pero se está trabajando mucho en esta dirección.

Efectivamente, todos sabemos y estamos repitiendo cosas que ya nuestros ponentes anteriores, nuestros profesores el Doctor Muñoz, el Doctor Toblli han dicho.

En 2 modelos de ratas transgénicas la deficiencia de hepcidina provoca una sobrecarga tisular del hierro, especialmente en el hígado, en el páncreas, en el corazón con una paradójica depleción del hierro en macrófagos del sistema retículoendotelial porque de hecho el hierro se va acumular principalmente en el tejido, en el parénquima no en el macrófago, en cambio la hiperexpresión de hepcidina, como lo hemos estado escuchando estos dos días, provoca una anemia severa en ratones que al nacer mueren precozmente debido a la típica anemia microcítica hipocrómica ferropénica que todos conocemos porque el exceso de hepcidina lógicamente hace que estos ratones no puedan vivir por tener una anemia muy grave, muy severa.

También sabemos que la hepcidina reduce la cantidad de hierro circulante y este es un elemento crucial. Disminuye la cantidad de hierro según la concentración de hierro en sangre, una hipoferremia importante y esto también lo conocemos bien, previene la salida de hierro de las células tanto enterocitos como macrófagos porque se une

fundamentalmente a la ferroportina, esta famosa proteína de extrusión de hierro hacia el medio celular de exportación de hierro induciendo una internalización y posterior degradación intracelular a nivel del enterocito. Como ayer nos ilustraba el profesor Muñoz, a nivel del macrófago la situación es distinta, es distinta porque la hepcidina lo que hace es inhibir la síntesis de la ferroportina, en cambio el enterocito lo que hace es internalizarla y degradarla a nivel del cambio del macrófago con disminución de la síntesis de ferroportina y por ende esta ferroportina no es capaz de extraer o de exportar el hierro hacia el medio celular.

Una cosa importante, interesante que se dijo ayer, es que se han encontrado dos citoquinas hace poco tiempo que tienen que ver justamente con esta regulación de hepcidina; una de ellas es la GDF15 que es un factor de crecimiento, GDF15 según sus siglas en Inglés con un efecto fundamental porque inhibe la producción de hepcidina y esa GDF15 ¿cuándo se produce? Se produce cuando la eritropoyesis es máxima, cuando la médula ósea produce glóbulos rojos en forma importante o sea, la eritropoyesis activada aumenta la producción de GDF15 que inhibe la producción de hepcidina y por lo tanto, permite justamente que el hierro llegue a la médula ósea y puede producirse una eritropoyesis adecuada.

La otra citoquina que se ha aislado hace poco es la mitoferrina, MTF que tiene una acción sobre el enterocito y promueve la absorción de hierro a través del eritrocito de la célula duodenal con una acción de bloqueo de la actividad de la hepcidina a nivel del duodeno. Se pensó que la ferroportina podría ser diferente en el enterocito y en el macrófago e incluso se habló de una ferroportina 1 una ferroportina 2 en algún momento; hoy día parece ser que la ferroportina es la misma, tanto en el enterocito como el macrófago con las diferencias justamente de localización a nivel de tejido y con lo que acabamos de decir la diferencia en cuanto a la acción sobre ferroportina no es cierto o sea, esta ferroportina que tiene diferente sensibilidad, distinta a la hepcidina tanto en el enterocito como a nivel del macrófago.

La ausencia de hepcidina incrementa la producción intestinal de hierro y provoca la salida masiva de ésta desde el hierro de los macrófagos con sobrecarga parenquimal del metal con una sobrecarga parenquimatosa de hierro; la ferroportina está expresada en forma muy precoz en la células placentarias que son células target, o sea, blanco de la hepcidina del hígado fetal que produce hepcidina muy precozmente y estas células de esta hepcidina actúan sobre las células placentarias afectando de alguna manera la ferroportina.

La inyección directa de hepcidina en ratón produce una caída brusca de los niveles séricos de hierro, una hipoferrinia lo mismo hace la inducción del gen de hepcidina transgénico y de perfusión de interleuquina 6 que produce entonces un efecto muy parecido o igual sobre el hierro sérico con hipoferrinia.

La extensión de hepcidina está esencialmente controlada por el hierro y por la inflamación que es sumamente importante para la clínica por el hierro y por la

inflamación. El gen de hepcidina es pequeño de 3 exones, sensible a estímulos inflamatorios lo cual reflejaría posiblemente las propiedades bactericidas ancestrales de este péptido que comentamos al comienzo y efectivamente la eyección de tipo polisacárido, lipopolisacárido o de turpentina pro-inflamatoria al ratón que provoca una estimulación de la producción de hepcidina muy importante y aguda.

Se han detectado en clínica niveles de hepcidina urinaria en pacientes con anemia en enfermedades, en inflamación o como la llamaron en algún momento enfermedades inflamatorias crónicas con aumento importante de la concentración de hepcidina urinaria. Las citoquinas pro-inflamatorias tienen un rol central esencial en la inducción del gen de hepcidina, ya que la interleuquina 6 estimula la expresión de hepcidina in vivo con la reducción concomitante de hierro sérico por inyección al ratón o por perfusión a voluntarios sanos y también in Vitro en hepatocitos en cultivo primario o sea, tiene acción in vivo e in Vitro lo cual queda completamente demostrado.

La interleuquina 1, el TNF α factor de necrosis tumoral- α , tienen capacidad de activar o a veces reprimir la expresión del gen de hepcidina y esto está por el momento sujeto a debate; indudablemente con la interleuquina 6 no hay problema pero con interleuquina 1 y el factor de necrosis tumoral- α la cosa todavía está en discusión. Los síntomas característicos de la anemia en inflamación, la disminución del hierro sérico, la retención del hierro en el macrófago, el bloqueo de la absorción intestinal de hierro son absolutamente compatibles y con las consecuencias del aumento de la producción de hepcidina y por lo tanto, la hepcidina debe estar implicada o parece estarlo en este tipo de anemia de inflamación crónica.

Y la sobrecarga de hierro aumenta entonces la síntesis de hepcidina para evitar el daño tisular y esto es una cosa sumamente importante cuando hay sobrecarga de hierro lo que hace el organismo es aumentar la síntesis hepática de hepcidina para evitar el daño tisular parenquimal y en cambio, la deficiencia de hierro provoca la disminución de la síntesis de la hormona, lógicamente para evitar la anemia ferropénica con una ferropenia importante.

Se puede postular en algunos casos que algunos cuadros clínicos como la enfermedad renal crónica por ejemplo o el embarazo o ciertos tipos de embarazo, una artritis reumatoidea, están cursando con alto nivel de hepcidina y se podría pensar que el organismo está más vulnerable a infecciones o sepsis ya que produce una mayor cantidad de hepcidina para protegerlo contra infecciones bacterianas, sepsis bacterianas o diseminaciones microbianas; lógicamente estaría defendiendo el organismo contra esto pero el precio a pagar sería posiblemente una anemia ferropénica.

Hoy día sabemos que la anemia y la hipoxia inhiben la síntesis de hepcidina, esto es clarísimo pero paradójicamente en estados diseritropoyéticos por ejemplo, en talasemia, hay ciertas anemias talasémicas con pacientes transfundidos o multitransfundidos con la expresión de hepcidina reprimida a pesar de existir una

sobrecarga de hierro o sea, debería estar no reprimida sino estimulada a pesar de que tiene una sobrecarga reprimida lo cual muestra los complejos mecanismos de regulación del gen de hepcidina aún no clarificados totalmente y se está hablando que los niveles de transferrina diférrica, estos niveles de transferrina circulantes podrían influir sobre el hígado regulando también la expresión del gen de la hepcidina o sea, tenemos otro actor más actuando o que podría estarlo haciendo.

La cosa no termina acá porque la hepcidina está ligada a otras tres proteínas que hoy día se conocen bien, la HFE, la TRF2 o sea, el receptor 2 de transferrina y sobre todo la hemojuvelina, HJV cuya disfunción lleva a la hemocromatosis es decir, lleva a la sobrecarga de hierro y por supuesto a una hemocromatosis hepática con cirrosis, con todo lo que sabemos y una cosa que quería comentarles, un hematólogo me decía que en este momento la hemocromatosis es uno de los problemas de salud mundial, muy grave y algo que no sabía es que hoy día la cirrosis hepática es más importante, no por alcohol sino por hemocromatosis hepática, o sea, esa información de un congreso de hace más o menos 1 año en Santiago.

Evidentemente son desórdenes de carga de hierro, estas tres proteínas son capaces individualmente o en asociación de contribuir a la síntesis de hepcidina por el hierro, desórdenes de sobrecarga de hierro por ejemplo, la hemocromatosis hereditaria, la HH, donde la hiperexpresión del gen de HFE alterado es un gen HFE alterado y puede contribuir a otros genes HJV o hemojuvelina, receptor 2 de transferrina y todos en conjunto van a hacer que la hemocromatosis hereditaria sea una patología bastante heterogénea y compleja pero lo importante es que probablemente el HFE modificado alterado es el más importante. Sería una expresión de gen de hepcidina inapropiada frente a sobrecarga de hierro y la enfermedad se manifiesta principalmente por niveles residuales disminuidos de hepcidina a pesar de haber una sobrecarga de hierro lo cual evidentemente no es normal.

En la hemocromatosis juvenil tenemos mutaciones de genes de hemojuvelina o este gen HAMP la ARNm de hepcidina y los niveles de hepcidina urinarios están suprimidos a pesar de haber una sobrecarga o muy deprimidos, lógicamente por eso hay hemocromatosis. Y en la otra hemocromatosis por estas dos proteínas HFE y TFR2 los niveles de hepcidina no están disminuidos pero no se incrementan a pesar de la sobrecarga de hierro, o sea claramente la sobrecarga de hierro no disminuye la producción de hepcidina, están altos haciendo que la enfermedad se manifieste en esta forma.

¿Qué cosa es la hemojuvelina en dos palabras? Es una proteína repulsiva de la familia de las moléculas repulsivas que se expresa tanto en el sistema nervioso central como en el músculo esquelético y en el hígado; según esto, la hemojuvelina es una proteína que se une por anclaje GPI a nivel de la médula celular, existe también en forma soluble y regularía la síntesis de hepcidina por interacción con el receptor celular y la forma soluble, ya que hay dos formas, la soluble y la de membrana, competiría con la forma de membrana por el receptor induciendo represión que es lo importante o

inhibición de la síntesis de hepcidina. La hemojuvelina interactúa con una proteína de membrana que es la neogenina bien estudiada hoy día con un co-receptor morfogénico del hueso, regulando la expresión de hepcidina que envía una señal intracelular tipo Smad o de molécula Smad.

La proteína HFE es una molécula HLA de clase 1, no clásica que puede interactuar también con el receptor de TRF2 y generalmente interactúan las dos; interactúan juntas la HFE y la TRF2, están expresados en el lado basolateral de las células indiferenciadas de la cripta en la base de las vellosidades intestinales y la interacción de estas dos proteínas facilita la endocitosis del complejo de hierro transferrina y la entrada del hierro a la célula o sea que son realmente proteínas muy importantes para la absorción del hierro.

Y este es un poco el esquema que se maneja donde la hemojuvelina está ligada a la GPI, a la GPI linked o también en forma soluble, esta etapa de la hemojuvelina soluble, esta etapa de clivaje está inhibida por el hierro y entonces tenemos que son antagónicos; están entonces las acciones de hemojuvelina anclada al HJV al GPI aumenta el ARNm de hepcidina y la hemojuvelina soluble que disminuye la expresión de hepcidina o sea el ARNm.

Hoy día sabemos que hay una relación entre la proteína HFE, la hemojuvelina y la hepcidina y esta relación simplemente está expresada con la disminución de la HFE y de la HJV que aumentan la hepcidina, o sea, hay una relación inversa entre estas tres proteínas y esto lleva a la anemia, lógicamente; en cambio, la disminución de hepcidina unida o reunida al aumento de HFE y de hemojuvelina lleva entonces a la hemocromatosis, es decir que ha habido una interrelación entre estas tres sustancias, íntima correlación donde realmente tendríamos la regulación del metabolismo del hierro y la hemocromatosis en un caso o la anemia ferropénica en el otro.

Este esquema es muy complicado porque no vamos a entrar en detalle, tenemos un poco todas las acciones de la hepcidina, el enterocito, el macrófago y todo lo que hemos comentado en forma muy rápida.

Esta es la situación final en la hemocromatosis juvenil. En la anemia de las inflamaciones crónicas tendríamos que la hepcidina está en la hemocromatosis juvenil disminuida con absorción de hierro aumentada; la hemojuvelina está aumentada y la producción de hierro también está aumentada y las otras dos proteínas HFE y TRF2 igualmente están aumentadas en comparación con la hepcidina; por lo tanto, el reciclaje del hierro en el macrófago está aumentado por la hepcidina que está disminuida, en cambio acá puede estar aumentado o normal. En este caso, la sobrecarga del hierro es severa; en el caso que falte hepcidina la sobrecarga de hierro es moderada, en el caso de la activación de estas tres proteínas que acompañan a la hepcidina que permanentemente interactúan con ella.

En la anemia de las inflamaciones crónicas ocurre lo contrario. Hay un aumento de hepcidina, disminución de la absorción de hierro, disminución de la hemojuvelina con disminución o nivel normal a veces de la absorción intestinal del hierro y también lo mismo, disminución del otro complejo HFE TFR2 reducido y esta podría ser una absorción disminuida o normal. No sabemos qué pasa en el macrófago, se unen con estas dos, con estas tres proteínas; sí sabemos que la hepcidina lógicamente con el reciclaje del macrófago disminuido tiene un déficit de hierro por hipoferremia.

Así podemos terminar diciendo que en la hemocromatosis hereditaria hay una mutación de este tipo Cys 282 Tyr, o sea, en el carbono 282 la cisteína está reemplazada por tirosina y entonces en esta mutación evita que la proteína se fije solamente en la membrana produciendo una rápida degradación de la proteína; la hemocromatosis ligada a la HFE modificada, alterada. De esta forma se explicaría por ausencia de la HFE funcional que reduce la cantidad de hierro recibido por la cripta que se percibe como una deficiencia de hierro y al percibirla de este modo, como deficiencia de hierro, hay un alto nivel de producción de proteína de transporte del eritrocito; el enterocito maduro a pesar de tener depósitos de hierro tisulares elevados lógicamente va a producir una sobrecarga de hierro y aumentar la hemocromatosis. La mayor absorción de hierro en la hemocromatosis hereditaria sería por un doble defecto que ya se conoce bastante bien, defecto de las señales a las células crípticas y defecto de la activación de la hepcidina en respuesta a su recarga de hierro, obviamente con una alteración en la activación de esta hormona tan importante.

Como conclusión podemos decir tres o cuatro cosas. Hay muchos puntos aún oscuros en la regulación y la expresión genética de la hepcidina. En segundo lugar, la comprensión total del rol de la hepcidina en el metabolismo del hierro se haya aún en sus etapas iniciales, han pasado solamente 9 años desde que se descubrió en los próximos años el papel de la hepcidina y las implicaciones de su desregulación tendrán con seguridad un gran impacto en la comprensión y la terapéutica de diversas patologías relacionadas con el hierro, anemia ferropénica, hemocromatosis o hemocromatosis en plural y se están investigando activamente como se ha dicho muchas veces acá, inhibidor o inhibidores de la hepcidina y/o de sus metabolitos activos. Esta es una tarea muy importante para el futuro y aquí tenemos hasta 138 referencias actuales.