

RECEPTOR SOLUBLE DE TRANSFERRINA Y ERITROPOYETINA EN LA ANEMIA DE LOS PROCESOS CRONICOS CON Y SIN DEFICIENCIA DE HIERRO

NORMA B. DIAZ DE DOMINGO, MARTA M. LARDO, SILVIA GASPARINI, DIANA GRINSPON, NORMA CANTENYS, CLAUDIO D. CARBIA, AMALIA MERELLI, JULIO C. SANCHEZ AVALOS.

Departamento de Bioquímica Clínica, Cátedra Análisis Clínicos II, Sección Hematología, Facultad de Farmacia y Bioquímica y Servicio de Hematología Clínica, Hospital de Clínicas José de San Martín, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires

Resumen La regulación del receptor de transferrina (RTF) está relacionada con los depósitos de hierro (Fe) intracelular y guarda una relación constante con el receptor soluble presente en plasma. Se ha demostrado que en las anemias por deficiencia de Fe (AF) cuando se produce la disminución de los depósitos de Fe, aumenta la expresión del receptor. En las anemias de los procesos crónicos (APC) establecer el verdadero estado del Fe es complejo, debido a la influencia que tienen los procesos inflamatorios ó infecciosos en el equilibrio del Fe orgánico. Se estudiaron 30 sujetos sanos normales (grupo control) y 42 pacientes anémicos (hemoglobina menor de 120 g/L) que presentaban APC con y sin deficiencia de hierro, a fin de establecer el valor diagnóstico del receptor soluble de transferrina (RTFs). Se correlacionó la eritropoyetina (EPO) como factor estimulador de la eritropoyesis, con los descensos de hemoglobina que se producen en ambos grupos. Los resultados fueron analizados aplicando el test estadístico ANOVA, no encontrándose diferencia significativa en los valores de RTFs entre los grupos de APC con y sin deficiencia de Fe. La relación log EPO versus hemoglobina (Hb) en ambos grupos mostró una correlación inversa estadísticamente significativa. Se concluye que de acuerdo a los resultados obtenidos, los valores de RTFs en estos pacientes se encuentran dentro de los rangos normales y no se relacionan con el estado del hierro orgánico. Por consiguiente, su empleo como parámetro diferencial para establecer deficiencia de hierro en las APC, no tendría aplicación diagnóstica.

Palabras clave: receptor soluble de transferrina, eritropoyetina, anemia, deficiencia de hierro

Abstract *Soluble transferrin receptor and erythropoietin in chronic disease anemia with or without iron deficiency.* The regulation of transferrin receptor (RTF) is related to intracellular iron stores and with the soluble receptor is present in plasma. It has already been demonstrated that in iron deficiency anemia (IDA), receptor expression increases when iron stores decrease. In anemia of chronic diseases (ACD) it is difficult to establish the real iron status because of the influence exerted by inflammatory or infectious diseases on iron metabolism. We studied 30 healthy normal subjects and 42 anemic patients (hemoglobin less than 120 g/L) affected with ACD divided into two groups with and without iron deficiency, in order to establish the diagnostic value of measuring the soluble transferrin receptor (sRTF). We correlated erythropoietin (EPO) (as an erythropoietic stimulating factor) with the decreased hemoglobin values observed in both groups. The results were analysed with an ANOVA statistic test of one way analysis of variance, and there were no significant differences in sRTF values between the ACD groups with or without iron deficiency. The ratio log EPO vs hemoglobin showed a remarkably significant inverse correlation in both groups. We can conclude that sRTF levels are within the normal reference values in these patients and are not related to organic iron. Consequently, sRTF cannot be considered a good parameter for making a diagnosis of iron deficiency in chronic diseases.

Key Words: soluble transferrin receptor, erythropoietin, chronic disease anemia, iron storage

El receptor de transferrina (RTF) es una glicoproteína transmembrana, que se expresa primariamente sobre

la superficie de las células eritroides y en menor grado en otros tejidos. Su función es controlar la incorporación de hierro (Fe) circulante para la síntesis de la hemoglobina (Hb) de acuerdo a los requerimientos intracelulares¹.

En plasma se encuentra una fracción soluble del receptor (RTFs) que representa una fracción monomérica del RTF de membrana, existiendo una relación constante entre la expresión de ambas formas de receptores².

Recibido: 1-XII-2000

Aceptado: 20-VII- 2001

Dirección Postal: Dra. Norma B. Díaz de Domingo, Palpa 3387, 1426 Buenos Aires, Argentina
Fax: (54-11) 4508-3889

e-mail: nbdiaz@dbc.fyb.uba.ar

La regulación de la expresión del RTF está relacionada con los depósitos de Fe presentes en la célula, cuando éstos disminuyen, aumenta la expresión del RTF y de hecho, la fracción soluble en plasma. En las anemias ferropénicas (AF), se ha demostrado que se produce un aumento del RTF a nivel de los elementos inmaduros de la serie eritroide (eritroblastos) y por consiguiente hay un aumento de RTFs a fin de compensar una disminución del hierro plasmático^{3, 4}.

El objeto de este estudio ha sido poder determinar la presencia de una deficiencia de Fe en pacientes anémicos con cuadros inflamatorios o infecciosos asociados, en los cuales se incluyen diferentes patologías caracterizadas fundamentalmente por hipoferrremia, a pesar de la presencia de adecuados depósitos de Fe en médula ósea⁵. Los resultados obtenidos con los "perfiles de rutina" del estado del Fe orgánico como la medida de Fe sérico, capacidad total de transporte de hierro de la transferrina (TIBC), % de saturación de la transferrina (% Sat.) y ferritina sérica (Fs), no resultan concluyentes en estos casos. En las anemias de los procesos crónicos (APC) la ferritina sérica se encuentra aumentada, no por ser índice de los depósitos de hierro presentes sino por comportarse como reactante de fase aguda.^{6, 7, 8, 9, 10}. En estos casos, algunos autores consideran al índice RTFs/log Fs como un indicador más sensible para evaluar la deficiencia de Fe.

La producción de eritropoyetina sérica (EPO) se incrementa como respuesta a los descensos de hemoglobina, favoreciendo de esta manera un aumento de la actividad eritropoyética medular. Asimismo la expresión del RTFs también refleja la intensidad de la eritropoyesis y por lo tanto las variaciones del RTFs y EPO podrían estar relacionados con los mecanismos implicados en las APC¹¹.

Material y métodos

Se estudiaron 72 individuos de ambos sexos con edades comprendidas entre 25 y 65 años recibidos en el Departamento de Bioquímica Clínica, Sección Hematología del Hospital de Clínicas José de San Martín (UBA). Se dividieron en 30 sujetos sanos normales (grupo control) y 2 grupos de 42 pacientes que presentaban anemia de los procesos crónicos (mujeres con hematocrito (Hto) < 36% y Hb < 120.0 g/l y hombres < 40% y < 130.0 g/l, respectivamente) que fueron agrupados de acuerdo a los valores de Fe sérico en 2 subgrupos = 1) Con deficiencia de Fe (n=16) y 2) Sin deficiencia de Fe (n=26).

Se estableció como criterio de exclusión pacientes embarazadas, con deficiencias de vitamina B12 o ácido fólico, con neoplasias hematológicas, trastornos renales y/o endocrínicos.

Las patologías inflamatorias o infecciosas se correspondieron con: Sepsis, hepatopatías, neoplasias de colon, próstata o de mama, enfermedades osteoarticulares, osteomielitis y artritis reumatoidea diagnosticadas bajo criterios clínicos y de laboratorio.

Las determinaciones de Hto y Hb fueron realizados con un contador hematológico Cell-Dyn 1600. El Fe sérico y el TIBC fueron medidos por el método de Ferrozine (*Boehringer-Mannheim*), en un autoanalizador (*Hitachi 717*), utilizando como valores de referencia para Fe 12.6 - 23.4 mmol/l en el hombre y 10.8 - 21.6 mmol/l en la mujer con una media \pm error standard ($\bar{X} \pm ES$) de 15.65 \pm 0.92 mmol/l, y para TIBC 54 - 72 mmol/l y una $\bar{X} \pm ES$ de 62.4 \pm 2.1 mmol/l.

Se midió la Fs por enzoinmunoensayo (ELISA), tomando como rango de referencia 18 - 120 ng/ml en las mujeres y 20 - 300 ng/ml en los hombres con $\bar{X} \pm ES$ de 115 \pm 21.6 ng/ml. Para RTFs se usó enzoinmunoensayo con anticuerpo monoclonal (*R&D System*) y se consideró un valor de referencia de 8.5 - 33.35 nmol/L con una $\bar{X} \pm ES$ de 16.86 \pm 1.28 nmol/L.

Los valores de EPO fueron medidos por ELISA siendo los valores obtenidos de referencia de 3.3 - 16.6 mU/ml con una $\bar{X} \pm ES$ de 10.5 \pm 0.8 mU/ml

Los datos obtenidos fueron analizados aplicando el test estadístico de ANOVA, considerándose diferencia estadísticamente significativa un $p < 0.05$, en cuyo caso se realizó como post-test el test de Scheffe.

Se realizó análisis de regresión lineal, de la transformación logarítmica de EPO y RTFs versus Hb de los pacientes anémicos, considerándose significativa una $p < 0.05$.

Resultados

Teniendo en cuenta la diferencia encontrada en los rangos normales del RTFs entre los diferentes grupos de trabajo debido a la distinta metodología empleada¹², se consideró como valor normal el obtenido en nuestro servicio con un grupo de voluntarios sanos.

En la Figura 1. se puede observar los valores obtenidos de RTFs para nuestro grupo control. La media obtenida \pm ES fue de: 16.86 \pm 1.28 nmol/l con un rango de 8.5 - 33.35 nmol/l.

En la Tabla 1 se presentan los valores obtenidos de medir Fe, TIBC, % de saturación de la transferrina (% Sat.), Fs, EPO y Hb del grupo control y de cada uno de los grupos estudiados. Se puede observar que en los pacientes de APC con deficiencia de hierro los valores

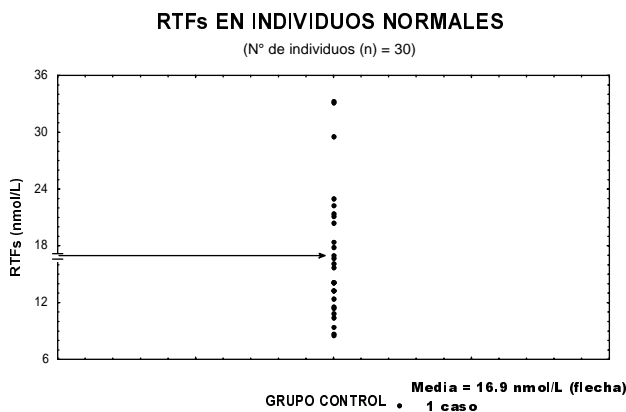


Fig. 1.- Medida del receptor soluble de transferrina (RTFs) en el grupo control.

TABLA 1.- Valores medios (X) ± ES en el grupo control y pacientes anémicos estudiados.

Grupo	Fe (µmol/L)	TIBC (µmol/L)	% Sat.	Ferritina (ng/ml)	EPO (mU/ml)	Hb (g/L)
Grupo control (n=30)	15.6±0.9 (87.0±5.1 µg/dl)	62.4± 2.1 (347±12 µg/dl)	25±1.3	115.0±21.6	10.5±0.8	139.0±5.0
APC con deficiencia de hierro (n=16)	5.0±0.5 (27.9±2.6 µg/dl)	49.6 ± 2.1 (235.6±11.6 µg/dl)	17±1.2	548.2±115.1	59.8±15.4	102.5±5.1
APC sin deficiencia de hierro (n=26)	14.5±3.3 (80.6±8.5 µg/dl)	42.4 ± 2.8 (275.5±5.1 µg/dl)	30±0.5	717.8±108.7	47.1±10.5	101.2±3.2

de Fe y % Sat. se hallan disminuídos y en ambos grupos los niveles de EPO se encuentran elevados respecto al control.

La Tabla 2 muestra los resultados de RTFs, RTFs/ Fs y RTFs/ log Fs en donde no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados.

En la Figura 2 se observa el análisis de regresión lineal entre el logaritmo de EPO versus Hb donde se encontró una correlación inversa estadísticamente significativa ($r = - 0.5393$, $p < 0.001$).

En la Figura 3 cuando se comparó el logaritmo de RTFs versus Hb se encontró una tendencia positiva pero sin significación estadística ($r = 0.27309$, $p = 0.107$).

TABLA 2.- Valores medios ($\bar{X} \pm ES$) del receptor soluble de transferrina (RTFs), RTFs/ferritina sérica (Fs) y RTFs/logFs en el grupo control y pacientes anémicos estudiados.

Grupo	RTFs(nmol/L)	RTFs/Ferritina	RTFs/log Ferritina
Control (n=30)	16.86 ±1.28 (1.26±010 mg/L)	10.96±4.76	9.53 ± 0.88
APC con deficiencia de hierro (n=16)	14.64±1.04 (1.10±0.08 mg/L)	2.10±0.70	5.84 ± 0.54
APC sin deficiencia de hierro (n=26)	14.97±1.51 (1.12±0.11 mg/L)	1.56±1.01	5.84 ±0.60

Log Eritropoyetina(log. EPO) vs. Hemoglobina

$\log EPO = 2,8884 - 0,1604 * Hb$

Correlación: $r = - 0,5393$ ($p < 0.001$)

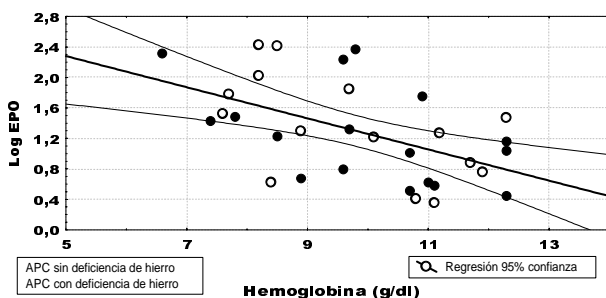


Fig. 2.- Correlación entre el logaritmo de EPO y Hemoglobina en pacientes con anemia de los procesos crónicos (APC) con y sin deficiencia de hierro.

Log RTFs vs. Hemoglobina

$\log RTfs = 0,90023 + 0,02312 * Hb$

Correlación: $r = 0,27309$ ($p = 0.107$, n.s.)

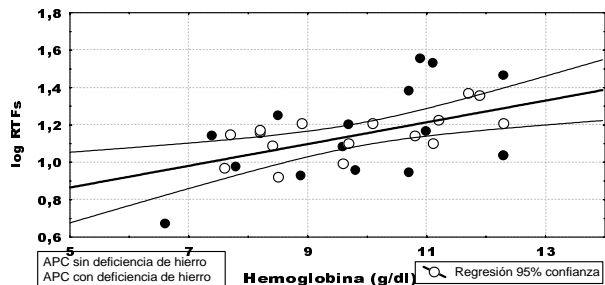


Fig. 3.- Correlación entre el log. de Receptor soluble de transferrina (RTFs) y Hemoglobina en pacientes con anemia de los procesos crónicos (APC) con y sin deficiencia de hierro.

Discusión

En el presente estudio se trató de demostrar si el RTFs podía usarse como marcador diferencial en los pacientes con procesos infecciosos o inflamatorios asociados, que desarrollaban en el curso de la enfermedad una anemia con características similares a la producida por deficiencia de Fe^{13,14}, con la diferencia que en estos casos la ferritina sérica no refleja el estado de los depósitos de hierro sino que aumenta en forma inespecífica como reactante de fase aguda.

De los resultados obtenidos se observa que en estos pacientes, el RTFs no varió con los distintos niveles de hierro presentes. Por lo tanto, su medición en estos casos no tiene el mismo valor que en las anemias deficientes en hierro ni aún usando un índice más sensible como lo es el ratio RTFs/ log Fs¹⁵. Por lo que se deduce, que si bien la medida del RTFs es útil en el diagnóstico de las anemias ferropénicas puras, su valor no puede correlacionarse de la misma manera con el descenso del Fe plasmático que se produce en las APC, debido a la influencia que ejercen distintas citoquinas en el desarrollo de estos procesos. Se ha observado que en los estados inflamatorios e infecciosos se encuentran valores aumentados de factor de necrosis tumoral α (TNF α), interleuquina 1 α (IL-1 α), e interleuquina 6 (IL-6) en el sitio de inflamación y médula ósea especialmente en pacientes con artritis reumatoidea¹⁶. A su vez, la cooperación de las tres citoquinas mencionadas anteriormente, inducen a la formación de reactantes de fase aguda, entre ellos la Fs de síntesis hepática¹⁷. A lo que se agrega el rol de la IL-6 en la transferencia de Fe desde sangre periférica a las células del sistema monocítico macrófago (SMM) con aumento en la síntesis de Fs.

De esta manera podrían relacionarse los efectos inhibitorios del TNF- α y la IL- 6 en la proliferación y/o diferenciación de progenitores eritroides BFU-E y CFU-E^{18,19}, con la modulación en el metabolismo del Fe y la inadecuada síntesis y expresión de receptores de transferrina. De acuerdo al estudio realizado por el grupo de Jongen M, Lavrencic H, Peeters M, et al, el mecanismo propuesto para explicar la acción de estas interleuquinas en la fisiopatología de las APC sería la producción de un disturbio funcional en la proliferación y diferenciación eritroide.

Los resultados de la medida del RTFs obtenidos en los diferentes grupos, coincidiría con este modelo ya que explicaría porque el RTFs permanece dentro de los valores normales y es independiente del estado del Fe presente en la anemia de los procesos inflamatorios o infecciosos. Se ha demostrado que la acción de estas citoquinas inhiben la producción de EPO²⁰; no obstante los valores encontrados están elevados con respecto a los valores normales de referencia, pero más bajos que los que se observan en las deficiencias de Fe puras²¹.

Cómo consecuencia del análisis de los resultados obtenidos en este estudio, se concluye que la medición del RTFs en pacientes con APC no sería de aplicación diagnóstica para establecer si hay o no una deficiencia de hierro en estos casos.

Agradecimientos: Este trabajo fue subsidiado por la Universidad de Buenos Aires (UBA), proyecto UBACyT 01/TB25 período 98-2000.

Bibliografía

- Hoffbrand V, Lewis MS, Tuddenham E. Postgraduate Haematology. 4th ed. London: Butterworth Heinemann International Editions, 1999, p 23-46.
- Ahn J, Johnstone RM. Origin of a soluble truncated transferrin receptor. *Blood* 1993; 81: 2442-5.
- Flowers CH, Skikm BS, Covell AM, Cook JD. The clinical measurement of serum transferrin receptor. *J Lab Clin Med* 1989; 114: 368-77.
- Skikne BS, Flowers CH, Cook JD. Serum transferrin receptor. A quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood* 1990; 75: 1870-6.
- Suominen P, Punnonen K, Rajamäki A, Irljala K. Evaluation of new immunozy-mometric assay for mean suring soluble transferrin receptor to detect iron deficiency in anemic patients. *Clin Chem* 1997; 43: 1641-6.
- Birgegard G, Hellgrän R, Killander A, Strömberg A, Venge P, Wide L. Serum-ferritin during infection. *Scand J Haematol* 1978; 21: 333-40.
- Ferguson BJ, Skikne BS, Simpson KM, Baynes RD, Cook JD. Serum transferrin receptor distinguishes the anemia of chronic disease from iron deficiency anemia. *J Lab Clin Med* 1992; 119: 385-90.
- Noe G, Augustin J, Hausdorf S, Rich IN, Kubanek B. Serum erythropoietin and transferrin receptor levels in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13: 445-51.
- Fleming D, Wood RT. Plasma transferrin receptor helps to predict iron deficiency in the anemia of chronic disease. *Nutrition Reviews* 1995; 53:167-75.
- Mulherin D, Skelly M, Saunders A et al. The diagnosis of iron deficiency in patients with rheumatoid arthritis and anemia: an algorithm using sample laboratory measures. *J Rheumatol* 1996; 23: 237-40.
- Beguín Y, Clemons GK, Pootrakul P, Fillet G. Quantitative assessment of erythro-poiesis and functional classification of anemia based in measurements of serum transferrin receptor and erythropoietin. *Blood* 1993; 81: 1067-76.
- Kuiper-Kramer EP, v Raan J, v Euk HG. A new assay for soluble transferrin receptors in serum: Time for standardization (Coment). *Eur J Clin Chem* 1997; 35: 793.
- Mast AE, Blinder MA, Gronowski AM, Chumley C, Scott MG. Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clin Chem* 1998; 44: 45-51.
- Juncá J, Fernández Avilés F, Oriol A, Navarro JT, Fuensanta Millá JM, Feliu SE. The usefulness of the serum transferrin receptor in detecting iron deficiency in the anemia of chronic disorders. *Haematologica* 1998; 83: 676-80.
- Punnonen K, Irljala K, Rajamäki A. Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 1993; 81: 1067-6.
- Jongen M, Lavrencic H, Peeters M, et al. Elevated levels of inflammatory cytokines in bone marrow of patients with rheumatoid arthritis and anemia of chronic disease.

- Rheumat* 1997; 24: 1504-8.
17. Gallin J, Snyderman R. Inflammation, Basic Principles and Clinical correlates. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1999, p 435.
 18. Smith MA, Knight AM, Maddison PJ, Smith JG. Anaemia of chronic disease in rheumatoid arthritis: effect of the blunted response to erythropoietin and of interleukin 1 production by marrow. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 753-7.
 19. Zhang Y, Harada A, Bluethmann H et al. Tumor Necrosis Factor (TNF) is a physiologic regulator of hemato-poietic progenitor cells: increase hematopoietic progenitor cells in TNF receptor p-55 deficient mice in vivo and potent inhibition of proliferation by TNF alfa in vitro. *Blood* 1995; 86: 2930-7.
 20. Jelkmann WE, Fandrey J, Frede S, Pagel H. Inhibition of erythropoietin production by cytokines. Implications for the anemia involved in inflammatory states. *Ann NY Acad Sci* 1994; 718: 300-9.
 21. Noé G, Augustin J, Hausdorf S, Rich IN, Kubanek B. Serum erythropoietin and transferrin receptor levels in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheum* 1995; 13: 445-51.

- - - -

We have been told intermittently over the past thirty years that the end of the quest to understand the immune system is in sight. A distinguished immunologist was recently quoted in the New York Times as having said that we are within a whisper of understanding the immune system. The current level of understanding is indeed truly impressive. Monumental is not too much of an exaggeration, compared to the level of understanding in evidence at the first meeting of the American Immunologists I attended in 1949: There were about 50 or 60 people in attendance out of the total membership at that time of about 250. Yet, current efforts to engage the immune system to protect against cancers or the AIDS pandemic or malaria or tuberculosis, or to suppress the often devastating effects of autoimmunity, are still glaringly ineffectual. They stand as a stark reminder of how much more remains to be understood and effectively applied.

Durante los últimos treinta años, hemos intermitentemente oído decir que el total esclarecimiento del sistema inmune estaba a la vista. Un distinguido inmunólogo recientemente comentó en el *New York Times* que estábamos a un suspiro de comprender al sistema inmune. El nivel actual de conocimientos es indudablemente impresionante. Aún calificarlo de monumental no sería una exageración, comparado con lo que se sabía en ocasión de la primera reunión de los Inmunólogos Americanos a la que concurrí en 1949. Reunía 50 a 60 personas de un total de 250 inmunólogos. Y sin embargo, siguen siendo notoriamente inefectivos los esfuerzos actuales para conseguir que el sistema inmune proteja contra el cáncer o contra las pandemias de SIDA, malaria y tuberculosis, o para suprimir los efectos a veces devastadores de la autoinmunidad. Todo esto constituye un poderoso recuerdo de cuanto mas queda por comprender y para una eficaz aplicación.

Herman N. Eisen

Especificidad y degeneración del reconocimiento antigénico: el Yin y Yan del sistema inmune.
Annual Review of Immunology 2001; 19: 21 (ver pág. 634)