

Artículo de investigación

Hepcidina y parámetros del hierro en donantes de sangre

Hepcidin and iron parameters on blood donors

Enderson Murillo-Ramos¹ ✉, Luz Hurtado-Florez², Natalia Arciniegas-Yampuezán², Paola Acevedo-Toro³ CvLAC

Fecha correspondencia:

Recibido: octubre 27 de 2015.

Revisado: agosto 22 de 2016.

Aceptado: agosto 29 de 2016.

Forma de citar:

Murillo-Ramos E, Hurtado-Florez L, Arciniegas-Yampuezán N, Acevedo-Toro P. Hepcidina y parámetros del hierro en donantes de sangre. Rev CES Med 2016; 30(2): 158-168.

[Open access](#)

[© Copyright](#)

[Licencia creative commons](#)

[Ética de publicaciones](#)

[Revisión por pares](#)

[Gestión por Open Journal System](#)

ISSN 0120-8705

e-ISSN 2215-9177

Sobre los autores:

1 Microbiólogo y Bioanalista, Tecnólogo en regencia de farmacia, Universidad de Antioquia, Colombia.

2 Microbióloga y Bioanalista. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

[Comparte](#)

Resumen

Introducción: la hepcidina es la principal hormona peptídica reguladora de la absorción y distribución tisular del hierro. Estudios recientes han planteado la posibilidad de utilizarla como un biomarcador para evaluar el metabolismo del hierro y sus posibles alteraciones. Aunque, ante la escasa información sobre las propiedades diagnósticas de la hepcidina sérica, no han sido bien caracterizadas y no se cuenta con estudios suficientes en individuos sanos, e incluso en Colombia hasta el momento no se ha realizado ningún estudio referente al tema. **Objetivo:** estimar las concentraciones de la hepcidina sérica, su rango de normalidad y su correlación con parámetros bioquímicos asociados al metabolismo del hierro en una población de donantes. **Materiales y métodos:** estudio descriptivo transversal que incluyó 85 donantes, a quienes se les realizó hemograma automatizado, se evaluó ferritina, transferrina y hierro total, mediante los métodos de electroquimioluminiscencia, inmunturbidimetría y colorimetría. La determinación de hepcidina en suero se realizó por medio de una ELISA competitiva. Se utilizaron pruebas estadísticas, con un nivel de significancia de $p < 0,05$. **Resultados:** se observaron diferencias significativas en la concentración de hepcidina entre hombres y mujeres. La edad no fue un factor determinante de las concentraciones de hepcidina en los hombres Mediana (Me)=5,73 nM. Solo ferritina se correlacionó fuertemente con la hepcidina. El rango de normalidad de hepcidina encontrado en hombres estuvo entre 1,71 y 13,3 nM y entre 1,67 a 11,3 nM en mujeres. **Conclusión:** el nivel de hepcidina sérica es mayor en hombres y demuestra la fuerte asociación in vivo con los niveles de hepcidina sérica con el hierro de reserva y circulante.

Palabras claves: Metabolismo del hierro, Hepcidina, Ferritina, Transferrina, Hierro total.

Abstract

Introduction: The hepatic peptide hormone hepcidin is the principal regulator of iron absorption and tissue iron distribution. Recent studies have proposed hepcidin as a suitable biomarker to assess iron metabolism and its failures. Although the data were limited to information on the diagnostic properties of serum hepcidin, have not been well characterized and neither have enough studies in healthy individuals, and even in Colombia so far have not been any studies on the topic. **Objective:** quantify the concentra-

3 M.Sc. en ciencias básicas biomédicas e investigadora asociada Grupo de Hematopatología Molecular, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

tions of serum hepcidin, establish a normal range and determine the correlate with biochemical parameters associated with iron metabolism in a population of donors. **Materials and methods:** A cross-wise study was performed on total of 85 donors to whom an automatized blood panel was tested. Ferritin, iron and transferrin were measured through electrochemiluminescence, immunoturbidimetry and colorimetry respectively. Seric hepcidin presence was evidenced by competitive ELISA. Data was statistically analyzed with a significance level of $p < 0,05$. **Results:** Statistically significant differences were noticed in the hepcidin concentration when comparing women and men. Hepcidin concentrations in men were constant over age (median, 5.73nM). Only ferritin is strongly correlated with hepcidin. Normal values for women ranged between 1,67nM -11,3 nM while those for men did slightly higher 1,71 nM - 13,3 nM. **Conclusions:** Serum hepcidin levels are higher in men and demonstrates a strong *in vivo* correlation between seric hepcidin and iron either circulating or storage.

Keywords: Iron metabolism, Hepsidins, Ferritins, Transferrin, Iron.

Introducción

El hierro es un elemento esencial que desempeña funciones muy importantes en el organismo, tales como: la formación de nuevos glóbulos rojos, transporte de oxígeno y de electrones, centro catalítico de proteínas y enzimas, participa en el metabolismo oxidativo y en la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN), entre otros (1-3).

También puede ser un elemento tóxico, pues su exceso es capaz de generar radicales libres que inducen daño oxidativo de importantes componentes celulares (lípidos, proteínas y el ADN), mientras que su disminución causa principalmente anemia ferropénica (1,3,4). Por tanto, sus niveles deben ser adecuados para prevenir alteraciones o enfermedades asociadas tales como hemocromatosis o anemia ferropénica.

La deficiencia de hierro cursa con tres fases. Entre la primera y la segunda fases hay depleción de los depósitos de hierro y disminución del hierro circulante respectivamente, y en la tercera fase (anemia ferropénica), se afecta la síntesis de hemoglobina. Las dos primeras son las más complejas de diagnosticar porque son subclínicas y pueden cursar simultáneamente con enfermedades crónicas, inflamatorias, infecciosas y neoplásicas que de por sí son causantes de anemias (1,5).

En Colombia existen pocos registros de deficiencia subclínica de hierro, entre ellos un estudio realizado con escolares y adolescentes en Medellín (6-8). Por otra parte, las enfermedades crónicas representan más del 40% de las muertes en 19 departamentos (9). Algunas de estas cursan con disminución en los niveles de hierro que en la mayoría de las ocasiones pasan desapercibidas.

Para evaluar los niveles de hierro en el organismo existen diversas metodologías que reflejan las etapas de su metabolismo, cuyo análisis conjunto orienta el diagnóstico. Aunque se cuenta con una gran cantidad de pruebas, las que tradicionalmente se han determinado son *ferritina*, *saturación de la transferrina* y *hemoglobina*, pruebas que son insuficientes para una adecuada evaluación, dada la gran cantidad de moléculas que participan en su metabolismo (1,10,11).

Ganz (2) y otros autores (4,12,13) plantean la posibilidad de utilizar la hepcidina, una hormona peptídica cuya forma biológicamente activa está conformada por 25 aminoácidos, rica en cisteínas y producida principalmente en el hígado, como biomarca-

La deficiencia de hierro cursa con tres fases. Entre la primera y la segunda fases hay depleción de los depósitos de hierro y disminución del hierro circulante respectivamente, y en la tercera fase (anemia ferropénica), se afecta la síntesis de hemoglobina.

dor para reflejar de forma adecuada el estado del hierro en el organismo, especialmente en casos de anemia por enfermedades crónicas (14,15) e inflamación (16-18).

En la práctica clínica es importante, aunque muy difícil diferenciar, la anemia de enfermedades crónicas de la anemia por deficiencia de hierro, debido a que ambas entidades se presentan con una disminución de la concentración de hierro sérico y de la saturación de transferrina. Además, durante la inflamación, se dificulta la interpretación de los niveles de ferritina (prueba de oro), debido a que es un reactante de fase aguda y su expresión es inducida por las citoquinas inflamatorias. Por lo que la medición de la hepcidina podría servir como parámetro complementario para diferenciar estos dos estados patológicos (12,18,19).

Se han realizado otros estudios que informan una elevada asociación de la ferritina con la hepcidina sérica, pero otras asociaciones potencialmente importantes solo se han investigado en animales y en personas enfermas.

A pesar de la importancia de la hepcidina para la homeostasis del hierro y enfermedades relacionadas, las metodologías utilizadas para la medición de las concentraciones fisiológicamente relevantes han sido engorrosas y muy limitada su disponibilidad para la investigación clínica (20-22).

La determinación de la hepcidina se puede realizar mediante algunas técnicas como ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), Dotblot y SELDI-TOF MS (siglas en inglés de espectrometría de masas en tiempo de vuelo mediante desorción-ionización por láser de superficie) (3). No obstante, el costo, el manejo de equipos especializados y la imposibilidad de recuperar las muestras, han limitado la utilización de alguna de estas técnicas.

Actualmente, se encuentra disponible un kit comercial (DRG hepcidin 25) basado en un inmunoensayo ligado a enzimas competitivas (C-ELISA) de alta especificidad, sensibilidad, facilidad de uso y buena correlación con SELDI-TOF-MS, para la medición de la hepcidina sérica.

El conocimiento de cómo hepcidina ejerce su función reguladora se ha basado principalmente en estudios en animales e in vitro (20,23,24). Los escasos estudios realizados en humanos se han orientado a la determinación de hepcidina en pacientes con algún trastorno del metabolismo del hierro (24,25,26) y otros realizados en personas sanas, pero que no hacen una adecuada diferenciación por ciertos grupos (12,27,28).

Igualmente, se han realizado otros estudios que informan una elevada asociación de la ferritina con la hepcidina sérica, pero otras asociaciones potencialmente importantes solo se han investigado en animales y en personas enfermas (24,29,30). Por lo cual esta información podría contribuir a la comprensión de los mecanismos por los que la expresión de hepcidina está influenciada in vivo y conocer los valores de normalidad en América Latina en grupos específicos.

La presente investigación tuvo como objetivos cuantificar las concentraciones de hepcidina sérica, establecer un rango de normalidad y explorar la correlación con la ferritina, transferrina y hierro total en una población de donantes.

Metodología

Se realizó un estudio descriptivo transversal. Se recolectaron entre 2013 y 2014, 85 muestras de donantes de sangre en la IPS universitaria sede Clínica León XIII. El cálculo del tamaño de la muestra se estimó por conveniencia y el muestreo se realizó de forma aleatoria, alcanzando un número similar entre hombres y mujeres. Como criterios de inclusión se definieron: ser donante de sangre, niveles de ferritina den-

tro de los límites normales, ser nativo de Antioquia, no haber recibido suplemento de hierro en la última semana. Se definieron como criterios de exclusión: muestras coaguladas, lipémicas o con hemólisis.

La toma de muestra se realizó mediante venopunción a través de sistema vacutainer, recolectando 5 ml de sangre venosa en tubo seco para la obtención de sueros y en tubo con anticoagulante ácido etildiaminotetraacético (EDTA). Durante el tiempo de recolección las muestras de suero destinadas a la determinación de hepcidina fueron congeladas a $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su análisis.

Para medir la concentración de hepcidina en suero se utilizó una C-ELISA (DRG Instruments GmbH®, Germany) siguiendo las indicaciones del fabricante. Este kit posee registro del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) para uso exclusivo en investigación.

Las muestras para hemograma, ferritina sérica, hierro total sérico y transferrina sérica se procesaron entre las primeras cuatro horas luego de su recolección.

Los procedimientos diagnósticos incluyeron un hemograma (citometría de flujo) (equipo Advia 2120I Siemens®), medición de ferritina sérica (Electrochemiluminescence immunoassay®, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania), hierro total sérico (Colorimetric assay®, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) y transferrina sérica (Immunoturbidometric assays®, Roche Diagnostics, Mannheim, Alemania) usando el equipo Dimension RXL Max Siemens®.

Para medir la concentración de hepcidina en suero se utilizó una C-ELISA (DRG Instruments GmbH®, Germany) siguiendo las indicaciones del fabricante. Este kit posee registro del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) para uso exclusivo en investigación.

La concentración de la hepcidina se expresó en nanomoles por litro (nM/l), donde 1 nM de hepcidina en suero equivale a 2,79 $\mu\text{g/l}$. La sensibilidad analítica de la C-ELISA es menor de 0,9765 nM (31). El coeficiente de variación (CV) intra ensayo es de 2,1 a 9,9 %, el inter ensayo 11,5 a 14,6% e inter lote 5,3 a 7,2 %.

Para la tabulación y análisis de los datos se utilizó el programa SPSS® versión 21 y el programa Epidat® versión 3.1. Antes de aplicar el análisis estadístico se comprobó la existencia de valores atípicos mediante el test de Tukey. Se aplicaron transformaciones logarítmicas para normalizar las distribuciones y se revirtieron para delimitar el rango de normalidad de la concentración de hepcidina (percentiles 2,5% y 97,5%).

Se calcularon medidas de resumen y se utilizaron las pruebas estadísticas t-Student, ANOVA, U de Mann Whitney y se evaluó la correlación mediante el coeficiente de correlación de Spearman. Para la interpretación de las correlaciones se consideró relación *débil* por debajo de 0,4; *buen*a, entre 0,4 y 0,7; y *fuerte*, valores superiores a 0,7. Se utilizó un nivel de significancia estadística $p < 0,05$.

Este estudio fue aprobado por el Comité de bioética para la investigación en humanos, Sede de Investigación Universitaria (SIU) de la Universidad de Antioquia. En todos los casos se obtuvo consentimiento informado de los donantes para ser incluidos en el estudio. El protocolo de estudio se realizó conforme a las normas éticas de la declaración de Helsinki 1975 y a la resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia.

Resultados

El 48,2% de los donantes de sangre fueron hombres con una edad media de 36 ± 11 años y el otro 51,8% restante fueron mujeres entre los 33 ± 13 años en las mujeres. Los

niveles de ferritina, transferrina, hierro total, hemoglobina y hematocrito se encontraban dentro de los índices de variabilidad biológica (IBR) establecidos por el Laboratorio Clínico de la IPS Universitaria sede clínica León XIII.

Se encontraron diferencias entre el género y la concentración de hemoglobina Intervalo de confianza para la diferencia entre medias (1,72-2,58, $p < 0,01$) según prueba de t-student; ferritina ($p = 0,000$) y transferrina ($p = 0,01$) mediante prueba de U Mann Whitney; mientras que la concentración de hierro total no mostró tal diferencia ([cuadro 1](#)).

Cuadro 1. Medición de parámetros de laboratorio clínico

	Masculino (n=41)			Femenino (n=44)			p
	Media	Mediana	Rango intercuartil P 25 – 75	Media	Mediana	Rango intercuartil P 25 – 75	
Hemoglobina (g/dl)	16,0	-----	15,6-16,4	13,8	-----	13,6-14,1	0,01 ^Δ
Hematocrito (%)	-----	45,0	43,4-46,1	-----	40,0	38,6-41,5	0,000†
Ferritina (ng/ml)	-----	167,5	95,7-238,0	-----	41,2	27,3-77,2	0,000†
Transferrina (mg/dl)	-----	244	228-270	-----	274	249-294	0,01 †
Hierro total (μg/dl)	-----	98	79-115	-----	81	63-106	0,64†

n: número de donantes, DE: Desviación estándar. †, significancia estadística obtenida por la prueba U de Mann Whitney.

^Δ significancia estadística obtenida por la prueba t Student.

El estadístico es significativo si $p = 0,01$.

Para evaluar la variabilidad en la concentración de hepcidina sérica en relación a la edad, ésta se categorizó en tres grupos: *adolescentes* (menores de 20 años) *adultos jóvenes* (21-45) y *adultos medio* (46-64). Observándose mediante test de anova que no había diferencias estadísticas en los tres grupos ($p = 0,681$). Por el contrario, al evaluar el género, sí se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas. Se estimó el rango de normalidad de la concentración de hepcidina sérica en la población de estudio según el género. Los valores se muestran en el [cuadro 2](#).

Cuadro 2. Niveles basales de la concentración de hepcidina sérica

	Sexo	n	Mediana hepcidina sérica (nM)	95% IC Rangos de referencia	
				Percentil 2,5	Percentil 97,5
	Masculino	35	5,73	1,71	13,3
	Femenino	43	3,94	1,67	11,3

n: número de donantes

IC 95%: Intervalo de confianza 95 %

Prueba de t-student ($p < 0,01$)

Se encontró que los niveles séricos de ferritina estaban fuertemente asociados con las concentraciones de hepcidina sérica (Spearman's Rho = 0,72), lo que significa que un cambio positivo en la concentración de ferritina sérica (ng/ml) se asocia con un aumento en la concentración sérica de la hepcidina (nM/l). La hemoglobina presentó una asociación débil, mientras que la asociación entre hepcidina y transferrina fue débil con tendencia negativa (Spearman's Rho = -0,301). La correlación entre hepcidina y hierro total no fue significativa ($p < 0,065$) (figura I)

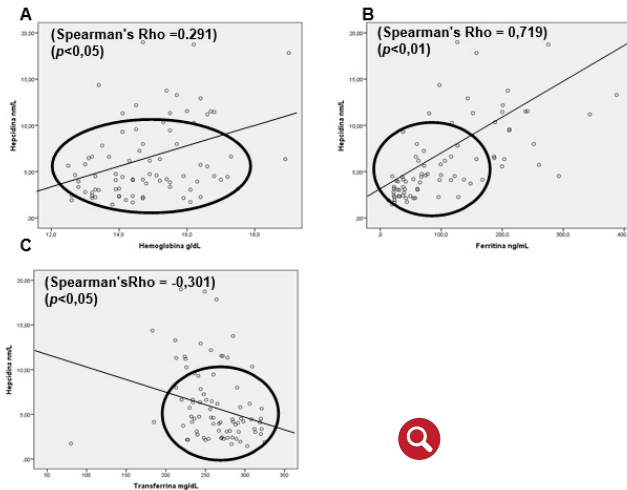


Figura I. Correlación bioquímica de la hepcidina sérica y otros parámetros de laboratorio clínico asociados al metabolismo del hierro (n= 78). (A) Correlación de hepcidina sérica con hemoglobina*, (B) Correlación de hepcidina sérica con ferritina** y (C) Correlación de hepcidina sérica con transferrina*. *Coeficiente de correlación Rho de Spearman ($p < 0,05$) **Coeficiente de correlación Rho de Spearman ($p < 0,01$)

Discusión

Todos los participantes del estudio tenían niveles adecuados de hierro de reserva y circulante, dado que los niveles séricos de ferritina, transferrina y hierro total se encontraban dentro de los rangos de normalidad, al igual que sus niveles de hemoglobina y hematocrito.

Con respecto a los valores de hemoglobina, estos difieren significativamente entre hombres y mujeres, al igual que los niveles de hematocrito y ferritina; siendo la población masculina, quien presentó los valores más altos. Caso contrario mostró la medición de la transferrina, mientras que las concentraciones de hierro total no mostraron ninguna diferencia por sexo.

Adicionalmente, se encontró que los niveles de hepcidina sérica son mayores en hombres que en mujeres, y se confirmó que dichos niveles permanecen estables en los hombres a medida que aumenta su edad; datos que son similares a los obtenidos en otros estudios (28,30,32,33).

En el caso de las mujeres, la concentración de hepcidina sérica tuvo una tendencia al aumento, pero ésta no fue significativa, lo cual contrasta con lo encontrado por Galesloot *et al.* (28), quienes explican que los niveles séricos de hepcidina en mujeres presentan una asociación fuerte con las concentraciones de ferritina y que tiende a aumentar a través de la menopausia. Sin embargo, el diseño del estudio no permite establecer dicha asociación.

Los niveles de hepcidina sérica son mayores en hombres que en mujeres, y se confirmó que dichos niveles permanecen estables en los hombres a medida que aumenta su edad; datos que son similares a los obtenidos en otros estudios.

Con relación a las variaciones observadas en los niveles de hepcidina en los grupos etarios, no se pudo determinar ninguna asociación. Aunque otros autores sí encuentran diferencias en los niveles de hepcidina en mujeres que están en edad reproductiva versus mujeres en que se encuentra en la menopausia (28). Estos últimos explican que las mujeres que están en la menopausia, al no tener el período menstrual, disminuyen sus requerimientos en la absorción de hierro.

Estimamos los valores de normalidad de la hepcidina según el sexo siendo similares a los encontrados en otros estudios, como el de Wolff *et al.* (hombres: 2,1-15,1 nM y mujeres: 1,6-15,6 nM) (32), Itkonen *et al.* (hombres: 1,1-15,6 nM y mujeres: 0,7-16,8 nM) (33), Galesloot *et al.* 2011 (hombres: 7,4-8,2 y mujeres: 7,8-8,8 nM) (28) y en otros estudios aplicando la metodología de cromatografía líquida con espectrometría de masas (34).

Lo anterior permite inferir que los resultados con la C-ELISA son similares a otras metodologías, lo cual la convierte en una técnica de elección para la medición de los niveles de hepcidina, no solo por ser un método de fácil estandarización e implementación, sino que permite procesar grandes cantidades de muestras a un bajo costo.

Los resultados con la C-ELISA son similares a otras metodologías, lo cual la convierte en una técnica de elección para la medición de los niveles de hepcidina, no solo por ser un método de fácil estandarización e implementación, sino que permite procesar grandes cantidades de muestras a un bajo costo.

Se observó gran variación interindividual en la concentración de hepcidina sérica. Esto implica que los valores de normalidad basados en la población pueden tener limitaciones cuando se utilizan para la interpretación de las concentraciones de hepcidina. Tal parece que los valores de hepcidina, como los de otras hormonas, deben interpretarse en el contexto de las pruebas bioquímicas utilizadas para evaluar el metabolismo del hierro.

Se encontró una correlación positiva entre la concentración de hepcidina y ferritina sérica, lo que indica que un aumento en las reservas de hierro se asocia con el aumento de la concentración sérica de hepcidina o viceversa; esto sugiere que la ferritina sérica es un indicador muy importante de la concentración de hepcidina in vivo. Sin embargo, los niveles de esta última puede cambiar en una escala de tiempo mucho más corta que los de la ferritina. Esto ha sido observado en ratones mediante una metodología distinta a la de este trabajo (22) y recientemente en personas enfermas (35) y en mujeres donantes a repetición (36).

El aumento de la transferrina se asocia con niveles bajos de hepcidina. Esto concuerda con lo observado en situaciones donde los niveles del hierro se encuentran bajos y su síntesis varía para compensar los requerimientos y las reservas de hierro (29); así mismo, la hemoglobina se asoció débilmente con la hepcidina sérica. Estos resultados responden a las expectativas, dado que los participantes en este estudio no presentaban alteraciones en la disponibilidad de hierro para poder llevar a cabo los procesos de eritropoyesis (37).

El estudio tuvo algunas limitaciones. En primer lugar, el tamaño muestral se estimó por conveniencia, por lo cual no fue representativo. Por otra parte, no se pudo establecer si el estado hormonal en el caso de las mujeres (pre-menopáusicas o menopáusicas) puede alterar las concentraciones de hepcidina, debido a que en nuestro estudio, el promedio de la edad en el grupo de mujeres fue de 33 años \pm 13, ubicando a nuestra población de mujeres en edad reproductiva.

En conclusión, estos datos proporcionan una visión de la hepcidina en relación con otras moléculas que participan en el metabolismo del hierro, mostrando a la ferritina como el más importante asociado a la hepcidina. Sin embargo, fue imposible establecer si la concentración de ferritina determina la concentración de hepcidina en suero o viceversa.

Adicionalmente, ofrecemos un rango de normalidad de la concentración de hepcidina sérica por género. Este rango pueden servir como punto de comparación frente a estudios futuros y en la práctica médica como la aproximación más clara hacia los valores de referencia propios de la región, permitiendo al clínico comparar las concentraciones de hepcidina y definir colectivamente criterios para su uso junto a otros parámetros tradicionalmente utilizados para el diagnóstico y manejo clínico de los trastornos del hierro.

Agradecimientos

Al grupo de investigación Hemopatología molecular de la Universidad de Antioquia y al personal del Banco de sangre de la IPS Sede Clínica Leon XIII.

Fuente de financiación

Este estudio fue financiado por medio de la convocatoria programática área ciencias biomédicas y de la salud – CODI.

Declaración de conflictos de interés

Los autores no declaran.

Bibliografía

1. Forrellat M, Fernandez N, Hernandez P. Nuevos conocimientos sobre el metabolismo del hierro. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter 2005; 21(3):0-0. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-02892005000300003
2. Ganz T. Heparin and iron regulation, 10 years later. Blood 2011; 117(17): 4425-4433. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3099567/>
3. Esquivia MC, Acevedo PA. Heparin: Interaction with hemojuvelin and its contribution in the diagnosis of diseases related to iron metabolism. Univ. Méd 2012; 53 (4):382-394. <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IscScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=703232&indexSearch=ID>
4. Kemna EHJM, Tjalsma H, Willems NS, Swinkels DW. La hepcidina: desde el descubrimiento hasta el diagnóstico diferencial. Haematologica 2008; 93 (1): 90-97. <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v53n4/Hepcidina.pdf>
5. Battle AN, Gaisán M, Insunza A. Protocolo diagnóstico de las anemias normocíticas. Medicine 2012; 11(20):1238-1241. <http://thirdworld.nl/protocolo-diagnostico-de-las-anemias-normociticas>
6. Agudelo G, Cardona O, Posada M, Montoya M, Ocampo M, Marín C, et al. Prevalencia de anemia ferropénica en escolares y adolescentes, Medellín, Colombia, 1999. Pan Am J Public Health 2003; 13(6):376-386. <http://iris.paho.org/xmlui/handle/123456789/8428>

Ofrecemos un rango de normalidad de la concentración de hepcidina sérica por género.

7. Gracia B, de Plata C, Méndez F, Cruz M, Leiva J, Conde L, *et al.* Evaluación de manifestaciones tempranas de riesgo para enfermedades crónicas no transmisibles en población escolarizada de Cali-Colombia. *Alan* 2005; 55 (3): 0-0. http://www.scielo.org/ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222005000300008
8. Bohórquez M, Bautista A, Valderrama A. Detección de deficiencias subclínicas de hierro a partir del índice receptor soluble de transferrina-ferritina en niños sanos de 1 a 10 años de edad residentes en alturas de 300 y 2600 msnm. *Nova* 2009; 7(11): 0-0. <http://unicolmayor.edu.co/publicaciones/index.php/nova/article/view/127>
9. Mantilla GC, Pérez R, Cardona AJ. Hierro corporal en donantes habituales de un banco de sangre de Medellín-Colombia. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2014; 30(3):233-242 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0864-02892014000300006
10. Forrellat M, Fernandez N. Hepcidina: nueva molécula, nuevos horizontes. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2004; 20(3): 0-0. http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-02892004000300003&script=sci_abstract&tlng=en
11. Villarroel P, Arredondo M, Olivares M. Anemia de las enfermedades crónicas asociada a obesidad: papel de la hepcidina como mediador central. *Rev. méd. Chile* 2013;141 (7):887-894. <http://www.scielo.cl/pdf/rmc/v141n7/art08.pdf>
12. Arosio P. New signaling pathways for hepcidin regulation. *Blood* 2014; 23(10):1433-1434 <http://www.bloodjournal.org/content/123/10/1433?sso-checked=true>
13. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005;352(10):1011-1023 <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra041809>
14. Theurl I, Aigner E, Theurl M, Nairz M, Seifert M, Schroll A, *et al.* Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: diagnostic and therapeutic implications. *Blood* 2009;113(21):5277-5286 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19293425>
15. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, *et al.* The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002; 110 (7):1037-1044. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12370282>
16. Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der Hoeven H, Swinkels D. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 2005;106(5):1864-1866 <http://www.bloodjournal.org/content/106/5/1864>
17. Wessling-Resnick M. Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu Rev Nutr* 2010; 30: 105-122. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20420524>
18. Ferrucci L, Semba RD, Guralnik JM, Ersler WB, Bandinelli S, Patel KV, *et al.* Proinflammatory state, hepcidin, and anemia in older persons. *Blood* 2010; 115 (18):3810-3816. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20081092>

19. 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: 1048-1054. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17435114>
20. Coyne DW. Hepcidin: clinical utility as a diagnostic tool and therapeutic target. *Kidney Int.* 2011; 80(3):240-244. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21677632>
21. Piperno A, Mariani R, Trombini P, Girelli D. Hepcidin modulation in human diseases: from research to clinic. *World J Gastroenterol* 2009;15(5):538-551 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2653344/>
22. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001; 276 (11):7811-7819. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11113132>
23. Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochimica et Biophysica Acta* 2012; 1823(9):1434-1443. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22306005>
24. Peters HPE, Laarakkers CMM, Swinkels DW, Wetzels JFM. Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25 (3):848-853. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19854845>
25. Kroot JJ, Tjalsma H, Fleming RE, Swinkels DW. Hepcidin in human iron disorders: diagnostic implications. *Clin. Chem* 2011; 57(12): 1650-1669. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21989113>
26. Bekri S, Gual P, Anty R, Luciani N, Dahman M, Ramesh B, et al. Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH. *Gastroenterology* 2006; 131 (3):788-796. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16952548>
27. Kroot JJ, Hendriks JC, Laarakkers CM, Klaver SM, Kemna EH, Tjalsma H, et al. (Pre) analytical imprecision, between-subject variability, and daily variations in serum and urine hepcidin: implications for clinical studies. *Anal. Biochem.* 2009; 389(2): 124-129. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19341701>
28. Galesloot TE, Vermeulen SH, Geurts-Moespot AJ, Klaver SM, Kroot JJ, van Tienoven D, et al. Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood* 2011; 117(25): 218-225. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21527524>
29. Bartnikas TB, Andrews NC, Fleming MD. Transferrin is a major determinant of hepcidin expression in hypotransferrinemic mice. *Blood* 2010; 117(2):630-637. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20956801>
30. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008;112(10):4292-4297 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18689548>

31. DRG DIAGNOSTICS. Hepcidin 25 bioactive elisa (EIA-5258): Instructions for Use [sitio en internet]. Hallado en URL: <http://drg-international.com/ifu/eia-5258.pdf>
32. Wolff F, Deleers M, Melot C, Gulbis B, Cotton F. Hepcidin-25: Measurement by LC-MS/MS in serum and urine, reference ranges and urinary fractional excretion. Elsevier Inc 2013; 413: 99-104.
33. Itkonen O, Parkkinen J, Stenman U, Hämäläinen E. Preanalytical factors and reference intervals for serum hepcidin LC-MS/MS method. Elsevier Inc 2012; 423: 696-701.
34. Murphy A, Witcher D, Luan P, Wroblewski V. Quantitation of hepcidin from human and mouse serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry. Blood 2007; 110: 1048-1054. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17435114>
35. Mecklenburg I, Reznik D, Faslter-Kan E, Drewe J, Beglinger C, Hruz P, et al. Serum hepcidin concentrations correlate with ferritin in patients with inflammatory bowel disease. J Crohns Colitis 2014; 8(11): 1392-1397 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24825446>
36. Pasricha SR, McQuilten Z, Westerman M, Keller A, Nemeth E, Ganz T, et al. Serum hepcidin as a diagnostic test of iron deficiency in premenopausal female blood donors. Haematologica. 2011; 96(8):1099-1105. <http://www.haematologica.org/content/96/8/1099>
37. Mast AE, Schlumpf KS, Wright DJ, Johnson B, Glynn SA, Busch MP, et al. Hepcidin level predicts hemoglobin concentration in individuals undergoing repeated phlebotomy. Haematologica 2013; 98 (8):1324-1330. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23445875>