

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**LICENCIATURA DE MEDICO CIRUJANO**  
**DEPARTAMENTO DE EVALUACIÓN PROFESIONAL**



**EMPLEO DE GA<sup>67</sup> COMO BIOSENSOR DE LAS NECESIDADES DE HIERRO  
EN REGIONES DE INTERÉS. ESTUDIO EXPERIMENTAL.**

**TESIS:**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE MÉDICO CIRUJANO**

**PRESENTA:**

**MPSS. JOSÉ AGUSTÍN GUTIÉRREZ RUÍZ**

**DIRECTORA:**

**DRA. EN C. PATRICIA VIEYRA REYES**

**REVISORES**

**M EN C.F. VIRGILIO EDUARDO TRUJILLO CONDES**

**DRA EN ED. CLEMENTINA JIMÉNEZ GARCÉS**

**EMPLEO DE GA<sup>67</sup> COMO BIOSENSOR DE LAS NECESIDADES DE HIERRO  
EN REGIONES DE INTERÉS. ESTUDIO EXPERIMENTAL.**

## Resumen.

El hierro es un elemento traza fundamental para los seres vivos. Participa en procesos vitales para el organismo como el transporte de oxígeno, la respiración celular, la replicación celular, la respuesta inmune y es cofactor de diversas reacciones bioquímicas. La deficiencia de hierro es el tipo de desnutrición con mayor prevalencia a nivel mundial y origen de distintas patologías que afectan a diversos aparatos y sistemas ocasionando una repercusión directa en la calidad de vida de los individuos. Por otra parte, el  $Ga^{67}$ , es un radioisótopo que ha sido empleado como análogo del hierro en sistemas biológicos; sin embargo, su utilidad durante deficiencia de hierro es aún desconocida. El objetivo de este estudio es utilizar  $Ga^{67}$  como biosensor de la distribución de hierro en distintos órganos y tejidos durante condiciones deficientes.

En este estudio se utilizaron Ratas Wistar a las que se alimentó con dieta deficiente de hierro, 10 ppm de  $FeSO_4$ , (Dieta de laboratorio AIN-76W/10), y dieta control, 100 ppm de  $FeSO_4$ , (Dieta de laboratorio AIN-76W/100), 14 días previos a la edad de apareamiento. De su cruce se obtuvieron a los sujetos de estudio quienes continuaron el régimen dietético de sus progenitores hasta el día pos natal, (DPN), 70 donde se les administraron 37mBq, 0.4 ml de  $Ga^{67}$  intraperitoneal. A las 0, 2, 4, 8, y 12 hrs post administración se obtuvieron muestras de distintas regiones de interés (RI's), y se cuantificó su actividad del radioisótopo en un calibrador de dosis Carpinter Inc, CRC-55tR.

Se encontró que independientemente del sexo, los grupos con deficiencia de hierro, DFe, presentan mayor captación del radioisótopo que los grupos control por un 412% siendo las RI's con mayor diferencia globo ocular 18720% y nervio ciático 13082%, además los grupos de machos superan en captación a los de hembras, con mayor diferencia en los grupos deficientes por un 1011%, siendo la RI's más implicada nervio ciático, finalmente se encontró que las gónadas son las RI's con menor actividad radioactiva en ambos sexos en grupos DFe.

Ante estos hallazgos se concluye que el  $Ga^{67}$  puede ser utilizado como biosensor de la distribución de hierro durante deficiencia de hierro.

## Abstract.

Iron is an essential trace element for living beings. It takes part in oxygen transport, cellular respiration, cellular proliferation, immune response and its cofactor of multiple biochemical reactions. Iron deficiency is the most prevalent type of malnutrition among the world and its origin of distinct pathologies affecting several organs deterring individuals life quality. On the other hand,  $Ga^{67}$  is a radioisotope that has been used as an iron analogue in living systems; although, its potential during iron deficiency is yet not known. The aim of this study is to use  $Ga^{67}$  as a biosensor of iron distribution in the organism during iron deficiency.

Wistar Rats were feed with iron deficient, 10 ppm de  $FeSO_4$ , (Laboratory diet AIN-76W/10), and control diet, 100 ppm de  $FeSO_4$ , (Laboratory diet), 14 days before the mating conditions, experimental subjects were obtained from its mating and continue the same diet that its progenitors till de postnatal day 70, DPN, in which 37 MBq , 0.4ml of  $Ga^{67}$  were administrated intraperitoneally, at 0, 2, 4, 8, 12 hrs post administration samples of distinct regions of interest RI's were obtained and its radioactivity was quantified in a dose calibrator Carpinter Inc, CRC-55tR.

It was found that, independent of sex, iron deficiency, DFe, groups presented higher activity of de radioisotope in a 412% with the highest diference in eyeball 18720% and sciatic nerve 13082%. In addition, males groups showed higher uptake that female groups with higher difference in DFe groups by 1011%, sciatic nerve was the RI more implicated. Finally it was found that gonads are the RI's with the lowest uptake when comparing both sex and DFe and control group.

Therefore, it can be conclude that  $Ga^{67}$  can be used an iron distribution biosensor during iron deficiency.

## ÍNDICE

1 HIERRO	1
1.1 HIERRO COMO ELEMENTO QUÍMICO	1
1.2 PROPIEDADES BIOLÓGICAS	1
1.3 DIETA Y REQUERIMIENTOS	2
1.4 FUNCIONES DEL ORGANISMO	3
1.5 METABOLISMO DEL HIERRO	5
1.6 REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL HIERRO	8
1.6.1 REGULACIÓN INTRACELULAR DEL METABOLISMO DEL HIERRO	8
1.6.2 REGULACIÓN SISTÉMICA DEL METABOLISMO DEL HIERRO	9
2 DEFICIENCIA DE HIERRO	14
2.1 EPIDEMIOLOGÍA	14
2.2 ETIOLOGÍA	15
2.3 FISIOPATOLOGÍA	16
2.4 MANIFESTACIONES CLÍNICAS	18
2.5 DIAGNÓSTICO Y PRUEBAS ANALÍTICAS	20
3 GALIO 67	21
3.1 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS	21
3.2 GALIO EN EL ORGANISMO	22
3.3 BIOCINÉTICA Y RELACIÓN CON EL HIERRO	22
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24

JUSTIFICACIONES	25
HIPÓTESIS	25
OBJETIVOS	26
MÉTODO	26
DISEÑO DE ESTUDIO	26
OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	26
UNIVERSO DE TRABAJO Y MUESTRA	28
INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN	30
DESARROLLO DEL PROYECTO	30
LÍMITE TIMEPO ESPACIO	30
IMPLICACIONES ÉTICAS	30
PRESUPUESTO Y FINANCIAMIENTO	31
RESULTADOS	31
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	43
REFERENCIAS	44

## **MARCO TEÓRICO**

### **1. Hierro.**

#### **1.1 Hierro como elemento químico.**

El hierro es un elemento traza u oligoelemento con número atómico de 26, ubicado en el grupo 8 y periodo 4 de la tabla periódica de los elementos químicos, tiene una masa atómica de 55.6 u, por lo que se le considera dentro de la categoría de metales de transición (1).

Se considera el metal más abundante en el universo y el cuarto mineral en la corteza terrestre. En naturaleza no se encuentra en estado libre, ya que la mayoría de las ocasiones tiende a formar compuestos con otros elementos en forma de óxidos, debido a su gran capacidad de aceptar y donar electrones. De acuerdo al número de átomos de oxígeno con los que se asocia, se pueden distinguir los siguientes 3 compuestos: Hierro férrico u óxido férrico,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , Hierro ferroso u óxido ferroso  $\text{FeO}$  y Hierro ferroso férrico:  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  (1).

#### **1.2 Propiedades biológicas**

El hierro es un elemento fundamental para la mayoría de los seres vivos. Participa en el transporte de oxígeno, es un cofactor de reacciones redox, interviene en la replicación celular, tiene un rol importante en la respiración celular y en el sistema de transporte de electrones y cumple con funciones de gran relevancia en la respuesta inmune (2).

Se conoce que existen alrededor de 400 reacciones químicas que ocurren en el organismo que dependen de hierro como catalizador de la formación de sus productos. La mayoría de estas reacciones se verían afectadas al disminuir los niveles de hierro (3).

El contenido corporal total de hierro en un individuo de 1.70 metros y 70 kilogramos de peso se estima en 3.5 a 4 gramos en la mujer y 4 a 5 gramos en el hombre, la mayoría se encuentra formando parte de hemo proteínas como la hemoglobina y de enzimas como la familia del citocromo b (4) (5).

### 1.3 Dieta y requerimientos.

El hierro debe adquirirse a partir de los alimentos donde se encuentra en dos formas químicas, el hierro hémico y el hierro no hémico o hierro orgánico. El hierro hémico o grupo hemo se encuentra formado por un átomo de hierro en estado ferroso,  $Fe^{2+}$ , divalente, asociado a una molécula de protoporfirina compuesta por cuatro pirroles unidos por enlaces metilo formando un anillo tetrapirrólico. Este es el grupo prostético de distintas proteínas y enzimas como la hemoglobina y los citocromos. El hierro hémico se encuentra en carnes rojas y alimentos de origen animal (6) (7). Por otra parte, el hierro no hémico, hierro orgánico o férrico, de carácter trivalente,  $Fe^{3+}$ , se encuentra en la naturaleza formando parte de sales inorgánicas. Existe en altas cantidades en alimentos de origen vegetal, especialmente hojas verdes como la espinaca. Vale la pena mencionar que se utiliza como suplemento farmacológico para distintas patologías (7).

Los requerimientos de hierro fluctúan durante las distintas etapas de la vida de acuerdo al status fisiológico de los individuos en cuanto a crecimiento, desarrollo y pérdidas. El bajo contenido de hierro en la leche materna condiciona la necesidad de suplementar a lactantes hasta los 6 meses de edad. Posteriormente, de 6-12 meses los requerimientos diarios oscilan entre 0.7-0.9 mg. Durante la etapa pre escolar se consideran 0-7 mg de hierro por día (8), tal y como se muestra en la tabla 1.

Los adolescentes en constante crecimiento aumentan sus requerimientos de hierro. Los varones presentan un incremento considerable en la masa eritrocitaria estimulada por la testosterona, mientras que en las mujeres la menarca marca el inicio de una pérdida cíclica importante de hierro en la sangre (9).

En adultos el cese del crecimiento ocasiona que el balance de hierro conste de un equilibrio entre las pérdidas y la ingesta que se calcula en 0.08-0.09 mg de por día. Las pérdidas menstruales de mujeres en edad fértil se aproximan a 2 mg por día, por lo cual es necesario suplir esa cantidad en los requerimientos diarios, como se muestra en la tabla 1 (10).

Edad/Sexo	Mg/Día
<b>6-12 meses</b>	0.96
<b>13-24 meses</b>	0.61
<b>2-5 años</b>	0.7
<b>6-11</b>	1.5
<b>12-16 niñas</b>	2.0*
<b>12-16 niños</b>	1.8
<b>Adultos Hombres</b>	0.86
<b>Embarazadas 1 trimestre</b>	0.8
<b>Embarazadas 2 y 3 trimestre</b>	6.3
<b>Mujeres en Lactancia</b>	1.3
<b>Mujeres en edad reproductiva</b>	2.3
<b>Mujeres post menopaúsicas</b>	0.96

Tabla 1. Requerimientos diarios de hierro por grupo etario. Adaptado de Abbaspour y Hurrell 2014 (8)

\*Los requerimientos por sexo entre 12-16 años pueden variar de acuerdo a la edad de presentación de la menarca, en cuyo caso se contemplarán 2.3 mg por día en mujeres.

#### **1.4 Funciones del hierro en el organismo.**

Como se mencionó previamente, el hierro es un elemento esencial para el desarrollo de diversas funciones vitales en la mayoría de los seres vivos. Una de sus funciones principales en el organismo es el transporte de oxígeno desde los alveolos pulmonares a los tejidos. Lo anterior lo hace formando parte del grupo hemo, grupo prostético de proteínas como la hemoglobina y la mioglobina (3).

La hemoglobina es una proteína contenida en los glóbulos rojos maduros que consta de dos pares de subunidades idénticas, ( $\alpha 2, \beta 2$ ), unidas a un grupo hemo, cuyo átomo de hierro en estado ferroso tiene la capacidad de unirse de manera reversible a un átomo de oxígeno,  $O_2$ , para trasportarlo por el torrente circulatorio e intercambiarlo en los tejidos por dióxido de carbono,  $CO_2$ , contribuyendo al equilibrio

ácido-base. La temperatura, el pH, la  $p\text{CO}_2$ , y fosfatos orgánicos como el 2,3 difosfoglicerato regulan el intercambio de  $\text{O}_2$  y  $\text{CO}_2$  por la hemoglobina (11).

Por otra parte, la mioglobina es una proteína de una sola cadena presente en el citoplasma del músculo esquelético acoplada al grupo hemo, al igual que las cadenas que forman la hemoglobina. Su función principal es facilitar el intercambio de  $\text{O}_2$  entre la hemoglobina y la mitocondria en las células musculares (12).

El hierro tiene un rol importante en el transporte de electrones para la generación de energía en la forma de adenosintrifosfato, ATP. El hierro en estado ferrico acoplado a las unidades estructurales de las diferentes proteínas transportadoras de electrones es reducido a estado ferroso a la vez que acepta electrones provenientes del sistema proteico anterior, para luego cederlos a siguiente sistema volviendo a su estado ferrico (13).

Existen aproximadamente 40 proteínas diferentes que conforman la cadena respiratoria, de las cuales hay 2 tipos que utilizan hierro para el transporte de electrones, las hemo proteínas con actividad enzimática y las proteínas con centros de hierro y sulfuro. Dentro de las primeras destaca la familia de los citocromos que tiene al grupo hemo como sitio activo, mientras que las últimas están conformadas por un átomo de hierro unido a 2 o 4 átomos de sulfuro (3).

Otra función del hierro en el organismo es su papel en la respuesta inmune, ampliamente estudiado. En la actualidad se conoce que el hierro actúa como regulador de la expresión de genes y citosinas que participan en el inicio y mantenimiento del proceso de inflamación, como lo evidencia su acción sobre el factor de transcripción  $\text{NF-}\kappa\text{B}$  crucial para el desarrollo de la respuesta inflamatoria (14).

El hierro también funge como cofactor de las reacciones químicas que se llevan a cabo durante el estallido respiratorio dependiendo NADPH por las células polimorfo nucleares, de tal modo interviene en la actividad antimicrobiana ejercida sobre todo por neutrófilos (15).

Además de lo anterior, el hierro ha mostrado ser un elemento necesario para la proliferación de linfocitos, en especial de células T (16). También se ha vinculado su acción en numerosas vías de señalización inmunológica y dentro de la actividad

de múltiples citosinas (17). La deficiencia de hierro se asocia con bajos niveles de linfocitos, e interleucinas como la IL-6 (18).

Finalmente, se conoce que el hierro interviene en la proliferación celular de casi todos los linajes celulares. Su función como cofactor de enzimas cruciales en los procesos de división y reproducción celular ha sido demostrado en distintos modelos experimentales entre las que destaca la dinucleótido reductasa, enzima requiere hierro en estado ferroso para su actividad catalítica. Esto ha sido evidenciado en experimentos en los cuales una carga excesiva de hierro promueve la proliferación de células neoplásicas que tienen alta actividad de este enzima, suceso que se aminora durante la depleción de hierro (19).

### **1.5 Metabolismo del hierro.**

El hierro que ingresa al organismo por la dieta es absorbido en las vellosidades de las células de la mucosa del duodeno. La absorción del hierro se dicta a partir de la forma química en la que se encuentre en el lumen intestinal, de tal forma que el hierro orgánico en la luz pasa a los enterocitos a partir de un proceso de transporte pasivo mediante una proteína de canal, mientras que el hierro hemo los hace a través de un trasportador específico (20).

La absorción intestinal del hierro orgánico se logra mediante el transportador de metales divalentes 1, DMT-1, una proteína de canal que atraviesa la doble capa fosfolipídica de la membrana citoplasmática y permite el paso al interior de la célula de metales divalentes como el hierro, zinc y cobre entre otros (21). El hierro en estado ferroso ingresa al enterocito a partir del DMT-1; sin embargo, el hierro en estado férrico requiere primero ser reducido a estado ferroso por acción de una reductasa anclada al polo extracelular de la membrana conocida como citocromo b duodenal, Dcytb, de modo que pueda utilizar la vía del DMT-1. Es así como el hierro orgánico es absorbido por las vellosidades intestinales del duodeno en un proceso que no gasta energía (20).

Por otra parte, la absorción intestinal del hierro hemo es un proceso aún no dilucidado para el cual se han postulado distintas teorías, las principales indican que ingresa a

la célula a partir de un transportador específico de membrana, proceso que al parecer se desarrolla de manera dependiente de ATP (22).

Una vez que el hierro ha ingresado en el interior del enterocito, por cualquiera de las vías previamente mencionadas, tiene tres diferentes destinos de acuerdo al status corporal de hierro, ser utilizado para los procesos metabólicos propios de la célula, ser almacenado cuando existen niveles adecuados de hierro en el plasma, o pasar a la circulación para ser distribuido a los tejidos periféricos cuando las necesidades aumentan o sus niveles disminuyen (23).

El almacenamiento intestinal de hierro ocurre cuando el organismo goza de reservas suficientes y no se requiere de un mayor aporte tisular, en tal caso vías endocrinas de comunicación son establecidas para asegurar que el hierro dietético absorbido sea almacenado (24). Este proceso se lleva a cabo mediante la proteína almacenadora ferritina, una proteína de 440 kDa, compuesta por 24 subunidades de dos tipos, H, con actividad de peroxidasa y L, que fija aproximadamente de 3 000 a 4 500 átomos de hierro en estado férrico (25).

De tal forma, cuando el hierro ingresa a la célula intestinal y tiene por destino el ser almacenado, requiere su oxidación a estado férrico por medio de ferroxidasas intracelulares para unirse posteriormente a la ferritina (26). Posteriormente, cuando las necesidades de hierro aumentan, el hierro es liberado de la ferritina mediante la acción de lisosomas y la degradación proteosómica de la ferritina. Existe además una isoforma de la ferritina en el plasma llamada ferritina plasmática, cuya concentración oscila entre 50-200 ng/ml, en condiciones normales, y es representativa de la ferritina intracelular y de las reservas corporales de hierro (27).

El hierro que no es almacenado en la ferritina es exportado a la circulación por medio de una proteína de canal denominada ferroportina o proteína regulada por el hierro 1, IREG1, la cual permanece anclada a la membrana basolateral del enterocito, esta proteína permite el paso del hierro en estado ferroso del espacio intracelular al torrente sanguíneo para ser transportado subsecuentemente a los tejidos periféricos que le necesitan (28).

En el medio fisiológico el hierro tiende a catalizar la formación de radicales mediante la reacción de Fenton, en la cual el  $\text{Fe}^{2+}$  reacciona con peróxido de hidrógeno,  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,

para formar hidroxilo,  $\text{OH}^-$ , la capacidad de provocar daño tisular de los radicales libres producidos otorgan al hierro cierto nivel de toxicidad fisiológica, razón por la cual se encuentra unido a proteínas plasmáticas que también aseguran su transporte por el torrente sanguíneo a los tejidos otorgándole hidrosolubilidad, siendo Transferrina, TF, la principal (29).

La Transferrina es una glicoproteína de síntesis hepática incluida en el grupo de las  $\beta_1$  globulinas con un peso de 76 kDA. Tiene la capacidad de unirse de manera reversible al hierro en estado férrico mediante dos sitios de unión que le permiten transportar dos átomos de hierro en estado férrico en el plasma. La TF se encuentra en tres estados diferentes en el plasma, apotransferrina, cuando se encuentra libre de hierro, transferrina monoférrica cuando solo uno de sus sitios de unión se encuentra ocupado y holotransferrina cuando se encuentra completamente saturada (29).

Una vez que el hierro ha sido exportado del enterocito a través de la ferroportina sufre inmediatamente una oxidación a estado férrico por acción de la enzima hefaestina, Hf, localizada en el polo extracelular de la membrana baso lateral de la célula en un sitio adyacente a la ferroportina (30). De esta manera el hierro en estado férrico puede ocupar los sitios de unión de la TF y ser transportado a los tejidos periféricos (31).

La absorción tisular de hierro se lleva a cabo a partir de un proceso de endocitosis mediada por receptores. En el que participa una proteína receptora de transferrina presente en casi todos los tejidos, el receptor de transferrina tipo 1, TFR-1. El TFR-1 se encuentra anclado al polo extracelular de la porción apical de la membrana citoplasmática de las células y tiene la capacidad de formar complejos con la holotransferrina, TF-TFR-1(32).

Una vez que la holotransferrina circulante entra en contacto con la superficie celular de cualquier tejido se acopla a las moléculas del receptor de transferrina tipo 1, con lo que da inicio un proceso de endocitosis mediada por receptores, impulsado por la proteína clatrina, ubicada en el polo citoplasmático de la membrana celular al adyacente al sitio del TFR-1. La clatrina induce cambios en el cito esqueleto

subyacente para generar una vesícula endocítica que terminará englobando al complejo TF-TFR-1 (32).

Conforme el endosoma profundiza en el citoplasma el pH del medio se vuelve cada vez más ácido debido a la incorporación de hidrogeniones,  $H^+$ , a partir de un transportador impulsado por ATP. La acidificación del medio provoca la disociación del hierro de la transferrina, el cual es reducido a estado ferroso por una reductasa y posteriormente exportado al citoplasma por el DMT-1 (20).

## **1.6 Regulación del metabolismo del hierro.**

La absorción intestinal del hierro, así como su captación por los tejidos son procesos que se encuentran altamente regulados tanto a nivel intracelular como a nivel sistémico, de modo tal que las células pueden controlar intrínsecamente la captación de hierro de acuerdo a sus necesidades mientras que los enterocitos y células del sistema fagocítico mononuclear lo absorben, almacenan o liberan a la circulación dependiendo de su concentración corporal (33).

### **1.6.1 Regulación intracelular del metabolismo de hierro.**

La captación y almacenamiento celular de hierro se encuentran estrechamente regulados por la concentración intracelular de este elemento. La síntesis del TFR-1, principal importador de hierro a la célula, y de ferritina, proteína almacenadora de hierro, se ven influenciadas por los niveles intracelulares de hierro, de tal forma que altas concentraciones provocan la disminución en la síntesis del TFR-1, pues no es necesaria la captación extracelular, y un aumento en la producción de ferritina para el almacenamiento del hierro existente. Situación inversa a la que sucede ante bajos niveles de hierro, caso en el cual la síntesis del TFR-1 está elevada debido a que se requiere captación extracelular y la producción de ferritina está a la baja pues el almacenamiento ha dejado de ser la prioridad (34).

El fenómeno anterior se consigue mediante la regulación de la transcripción del mRNA para el TFR-1 y la ferritina. En el mRNA existen elementos responsivos del hierro que forman asas en horquilla en las regiones no traducidas 5' y 3', estos elementos responsivos del hierro se encuentran regulados mediante proteínas

conocidos como proteínas reguladoras de hierro. Las proteínas reguladoras del hierro son altamente sensibles a su concentración intracelular, de modo que ante bajos niveles de hierro estas proteínas se unen a los elementos responsivos del hierro (35).

Al unirse una proteína reguladora de hierro al elemento responsivo del hierro en la región 3' del mRNA que codifica para el TFR-1 se estabiliza el mRNA y aumenta su síntesis y traslado a la membrana, mientras que si lo hace en la región 5' del mRNA que codifica para ferritina, se inhibe la traducción y síntesis de esta proteína. En este momento, la célula tiene un fenotipo especializado para la captación extracelular de hierro y no para el almacenaje, pues las necesidades son elevadas (35).

En caso contrario, cuando la concentración de hierro es alta, no hay unión entre las proteínas reguladoras de hierro y los elementos responsivos del hierro en el mRNA, lo que condiciona a una mayor síntesis de ferritina que de TFR-1. Ante esta situación la célula adopta un mecanismo mediante el cual se prioriza el almacenamiento de hierro. Es así que la célula ejerce de una regulación autónoma de la captación de hierro de acuerdo a sus propias necesidades (36).

### **1.6.2 Regulación sistémica del metabolismo del hierro.**

La regulación de la absorción intestinal de hierro y su movilización de las células del sistema fagocítico mononuclear son procesos regulados de acuerdo al status corporal de hierro mediante señales endocrinas que tienen como principal efector la hepcidina (37). La Hepcidina es una proteína sintetizada en el hígado y secretada en situaciones en las que las reservas corporales de hierro son adecuadas y no se requiere en gran medida de su absorción intestinal o movilización a partir de macrófagos. Por otra parte, cuando las necesidades de hierro son altas, se ponen en marcha estímulos que detienen la síntesis de esta proteína con fin de incrementar la absorción y movilización de hierro hasta frenar los estímulos desencadenadores (38) (39).

La hepcidina es una hormona proteica que al viajar por el torrente sanguíneo llega a los enterocitos y las células fagocíticas donde desarrolla su acción al

desencadenar la degradación del exportador de hierro divalente ferroportina a través de un proceso de proteólisis mediada por ubiquitina, de modo que el hierro en las almacenado en las células y no puede ser movilizado a la circulación (40).

La transcripción del gen de la hepcidina, (HAMP), está regulada por estímulos extra hepáticos que responden a la concentración de hierro, a las principales necesidades corporales del mismo como la eritropoyesis y a estados fisiológicos como la hipoxia y la inflamación. El eje Hepcidina-ferroportina, previamente descrito, funciona a partir de un grupo de proteínas de membrana sensibles a las concentraciones de hierro en el hepatocito que tienen la cualidad de potenciar la síntesis de la Hepcidina, estas son la hemojuvelina, HJV, la proteína asociada a la hemocromatosis hereditaria, HFE, y el TFR-2, isoforma del receptor de transferrina cuya síntesis no se ve afectada por la concentración intracelular de hierro y con baja afinidad por la transferrina. Estas proteínas se encuentran ancladas a la membrana citoplasmática formando el complejo sensor de hierro hepático (41).

La HFE es una proteína cuya mutación se encuentra con gran frecuencia en la hemocromatosis hereditaria, con una estructura de tipo complejo mayor de histocompatibilidad tipo I unida a la membrana por medio de la B2 microglobulina que compite por el sitio de unión del TFR-2 con la holotransferrina. Normalmente la HFE se encuentra unida al TFR-2 hasta que la concentración de holotransferrina es lo bastante alta como para disociar el complejo TFR-2-HFE y acoplarse a su sitio de unión en el TFR-2, con lo que la HFE libre inicia una cascada de señalización intracelular que da lugar a la transcripción del gen de la hepcidina (42).

Como resultado de lo anteriormente descrito, altas concentraciones de hierro se correlacionan con la degradación de la ferroportina del enterocito y macrófagos cesando la absorción y movilización del hierro al torrente sanguíneo pues existen niveles óptimos para el metabolismo celular, por el contrario, cuando la concentración de hierro es baja, el complejo TFR-2-HFE no sufre cambios y la cascada de señalización promotora de la transcripción de la hepcidina se encuentra inhibida garantizando la función de la ferroportina y el aporte de hierro a la circulación y a los tejidos (43).

Por otra parte, la vía de señalización de la proteína morfogénica ósea tipo 6, BMP-6, ejerce un papel regulador similar al del complejo TFR-2-HFE. Durante concentraciones altas de hierro en el organismo, la BMP-6 se une a la HMJ en la membrana del hepatocito, formando un complejo que activa una cascada de señalización intracelular efectuada por las proteínas SMAD que culmina en la transcripción del gen de la hepcidina (44).

Es conocido que el metabolismo del hierro y las funciones del sistema inmune guardan una estrecha relación. Los procesos inflamatorios han mostrado tener implicaciones en la distribución del hierro en el organismo. Citosinas proinflamatorias como la IL-1B, IL-6 e INF- $\gamma$  actúan como promotores de la producción hepática de hepcidina, con lo que se reduce la absorción y se promueve el almacenamiento de hierro (45).

El hierro interviene como cofactor en las reacciones del estallido respiratorio dependiente de NADPH en neutrófilos, mecanismo bacteriostático que; sin embargo, tiende a causar daño tisular (46). Por otra parte, la acción de la ferroportina en células del sistema fagocito mononuclear es necesaria para disminuir las concentraciones intracelulares de hierro e inhibir de este modo el crecimiento microbiológico en los fagolisosomas de las células del sistema fagocítico mononuclear, ambos sucesos favorecidos por el INF- $\gamma$  citosina secretada durante procesos inflamatorios (47).

Los fenómenos previamente descritos se deben quizás, en primer lugar, a la necesidad de limitar el daño tisular colateral producido por la formación de especies reactivas de oxígeno del estallido respiratorio y en segunda instancia a inhibir el crecimiento microbiológico intracelular dependiente de hierro. Lo anterior se logra mediante la inhibición que ejercen diversas citosinas proinflamatorias antes descritas, sobre la hepcidina (48).

La eritropoyesis es un proceso que regula el metabolismo del hierro, en tanto que este mineral es esencial para el desarrollo adecuado de los hematíes. Se ha demostrado que la eritroferrona una proteína sintetizada en los eritroblastos policromatófilos regulada a la baja la síntesis de hepcidina, promoviendo la

absorción intestinal de hierro y su exportación al torrente sanguíneo para asegurar su disponibilidad en los precursores eritroides en la médula ósea (49) (50).

La hipoxia también influye en el metabolismo del hierro mediante la acción de los factores inducibles de la hipoxia tipo 1 y 2, HIF-1 y 2. El HIF es un factor de transcripción compuesto por dos subunidades proteicas, A y B, con estructura hélice-X-hélice, la subunidad A regula la actividad del HIF al tener capacidad de respuesta al oxígeno y al hierro, mientras que la subunidad B funciona como un receptor de hidrocarburo de arilo. Los HIF 1 y 2 han demostrado reprimir la síntesis de hepcidina en los hepatocitos de manera indirecta mediante la inducción de la eritropoyesis por acción de la eritropoyetina, EPO, y el factor de crecimiento y diferenciación 15, GDF-15, asegurando así un aporte adecuado de hierro para la producción de hematíes maduros y el transporte de oxígeno que busca contrarrestar el estímulo inicial de hipoxia (51) (52).

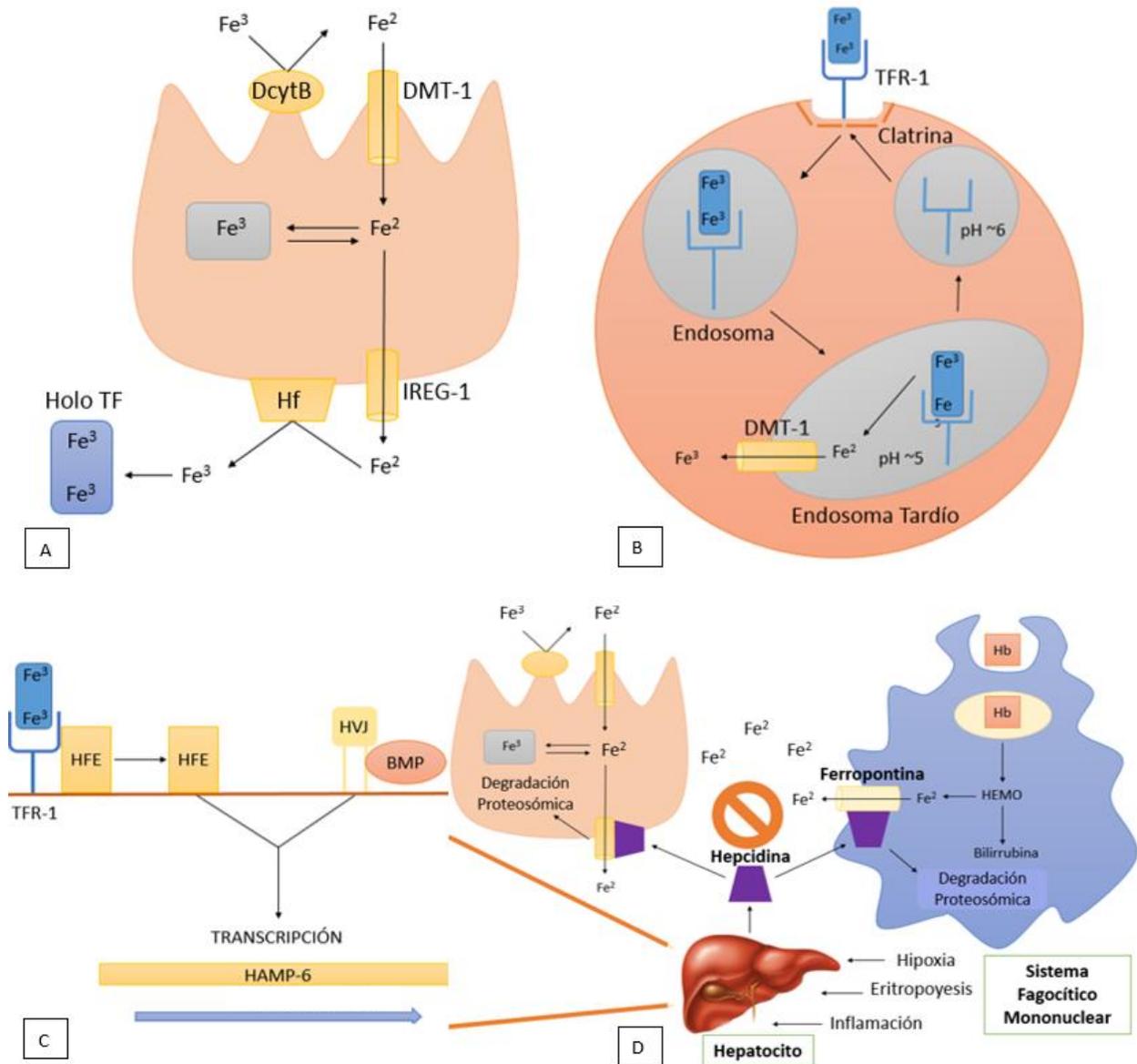


Figura 1. Metabolismo del hierro. A. Muestra la absorción intestinal del hierro. B. muestra el almacenamiento y movilización del hierro por las células del sistema fagocítico mononuclear. C. Muestra el funcionamiento de complejo sensor de hierro para activar la transcripción del gen de la hepcidina. D. Muestra la regulación del metabolismo del hierro por la hepcidina. Dcytb, citocromo B duodenal. DMT-1, transportador de metales divalentes 1. IREG-1, proteína regulada por el hierro 1, ferroportina. Hf, hefaestina. Holo TF, holo transferrina. HVJ, homojuvelina. BMP, proteína morfogénica ósea. HFE, proteína asociada con hemocromatosis hereditaria.

## **2. Deficiencia de hierro.**

### **2.1 Epidemiología.**

La deficiencia de hierro de origen dietético es considerada, como el tipo de desnutrición con mayor prevalencia a nivel mundial de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, OMS. Los grupos etarios más perjudicados están representados por niños y mujeres embarazadas en quienes los requerimientos de hierro corporales se encuentran aumentados (53) (54).

La deficiencia de hierro es la causa directa del 50% de los casos de anemia, causando una variable microcítica e hipocrómica conocida como anemia ferropénica (55). Se estima que 1.6 billones de personas en todo el mundo sufren anemia, de las cuales aproximadamente la mitad tiene como causa a la deficiencia de hierro. Por otra parte, la anemia ferropénica afecta solo a una porción de los individuos que presentan DFe, por lo que esta carencia nutrimental no debe extrapolarse a la prevalencia de anemia (56). Existen regiones en donde más del 50% de los niños menores de 5 años presentan anemia ferropénica, como se muestra en la tabla 2.

La deficiencia de hierro es la causa de 841 000 muertes y 35 057 000 años de vida potencialmente productivos perdidos debido a discapacidad anualmente (55). En México, de acuerdo a la encuesta nacional de salud del 2006, se estima una prevalencia de deficiencia de hierro del 26% y de anemia del 28% en la población general, en niños entre 1 y 6 años de edad, se calcula 13% y 23.7% respectivamente, esta etapa es crítica para el neurodesarrollo y en ella la DFe tiene mayores implicaciones clínicas. Estas cifras concuerdan con la tendencia global, siendo la deficiencia de hierro el tipo de desnutrición más prevalente en México superando a otras carencias nutrimentales como de vitamina B y otros micronutrientes como zinc (57).

Región	Prevalencia (%)
África	64.6
Asia	47.7
Europa	16.7
América del Norte	3.4
Latino América	39.5
Oceanía	28

Tabla 2. Prevalencia de anemia ferropénica en menores de 5 años por región. Adaptado de McLean 2009 (54).

## 2.2 Etiología.

La etiología de la DFe es diversa, en tanto que obedece a múltiples causas que pueden agruparse dentro de dos grandes categorías, la pérdida excesiva y el aporte inadecuado, esta última puede subdividirse a su vez en carencia nutricional o trastornos de la absorción (58).

Las causas de DFe aparecen con diferente frecuencia en distintas poblaciones. Así pues, en países con economía emergente un pobre aporte dietético es la causa principal de DFe, mientras que en países industrializados las principales causas son pérdidas excesivas que afectan de forma diferente a distintos grupos etarios, siendo las pérdidas menstruales la principal causa de DFe en mujeres en edad fértil y el sangrado gastrointestinal en mujeres posmenopáusicas y hombres adultos (59).

Existen demás causas que derivan en deficiencia de hierro, como patologías de carácter urológico, ginecológico u oncológico que provocan sangrado crónico, además de trastornos específicos de malabsorción como enfermedad celíaca, y otros (60). A continuación, la Tabla 3 muestra las principales causas de deficiencia de hierro:

Origen	Trastorno específico
Aporte Inadecuado	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Carencia nutrimental</li> <li>• Enfermedad Celiaca</li> <li>• Enfermedad de Crohn</li> <li>• Enfermedad de Whipple</li> <li>• Gastrectomía/Atrofia Gástrica</li> <li>• Resección intestinal</li> </ul>
Perdida excesiva	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perdidas menstruales</li> <li>• Enfermedad por úlcera péptica</li> <li>• Sangrado Gastrointestinal por AINE'S</li> <li>• Enfermedad de Crohn</li> <li>• Sangrada urológico</li> <li>• Sangrado ginecológico</li> </ul>

Tabla 3. Etiología de la deficiencia de hierro. Adaptada de Bermejo y García López 2009 (58). Muestra las causas principales de la deficiencia de hierro

### 2.3 Fisiopatología.

El desarrollo de deficiencia de hierro, por cualquiera de las causas expuestas en la tabla 3, tiene un curso que evoluciona hacia anemia por deficiencia de hierro, IDA, o anemia ferropénica en caso de no recibir tratamiento efectivo. La patogénesis de la DFe puede estadificarse en 3 etapas, de acuerdo a la severidad y duración del proceso, en la primera existe movilización de las reservas de hierro en el organismo, en la segunda hay agotamiento de las reservas de hierro y finalmente anemia ferropénica, cada una de ellas presenta fenómenos fisiopatológicos distintos que se traducen en diversas alteraciones en parámetros analíticos. (61) (62)

De inicio, un aporte inadecuado de hierro al organismo provoca que se pongan en marcha una serie de mecanismos compensadores para adaptarse a la deficiencia de hierro sin alterar el metabolismo celular ni la eritropoyesis. Como resultado, las reservas de hierro almacenado en la ferritina se movilizan a la circulación, del mismo

modo, la necesidad de absorción de hierro en los tejidos se refleja con un aumento en la incorporación del TFR a la membrana celular, ocasionando un incremento recíproco en la forma soluble del receptor de transferrina, STFR, fracción monomérica producto de la proteólisis del TFR encontrada en el plasma en concentraciones proporcionales a las del TFR en la membrana celular (62) (63) (64).

En este momento, existirá una disminución en los niveles de ferritina sérica, < 30 ng/dl, debido al movimiento del hierro almacenado a la circulación, así como un aumento en la concentración de STFR por encima del límite normal superior, por otra parte, el hierro sérico se encontrará en niveles normales, su aporte a la médula ósea será adecuado y no habrá cambios apreciables en la morfología de los eritrocitos o la citometría hemática (65) (66)

De no ser corregida la deficiencia de hierro, la siguiente etapa consiste en el agotamiento de las reservas corporales, manifestándose con un mayor decremento de la ferritina sérica que en etapas anteriores, en este momento, la concentración de hierro sérico disminuirá por debajo del límite normal inferior, pues las reservas no son suficientes para mantener niveles adecuados, del mismo modo, existirá un descenso en el porcentaje de saturación de transferrina, sTF, <20%, pues el hierro circulante no es suficiente para ocupar en un porcentaje normal los sitios de unión disponibles en las moléculas de transferrina. En esta etapa el bajo aporte de hierro a la médula ósea ocasiona alteraciones en la síntesis de hemoglobina y la eritropoyesis pero aún sin manifestar cambios perceptibles en la morfología eritrocitaria (58) (67).

Finalmente, de no existir un tratamiento adecuado, el bajo aporte de hierro a la médula ósea trae como consecuencia la disminución de la síntesis e incorporación de hemoglobina a los precursores de hematíes, ocasionando alteraciones en el transporte de oxígeno a los tejidos que buscan ser compensadas por una exacerbación en la eritropoyesis obligando a los precursores eritroides a entrar en mitosis acelerada y producir células disminuidas en tamaño y deficientes en función. Lo anterior tiene como resultado anemia ferropénica caracterizada por células microcíticas e hipocrómicas (68) (69)

Los cambios encontrados en parámetros analíticos y en la morfología de los eritrocitos bajo microscopía que se discutieron previamente son de carácter progresivo y acumulativo en el transcurso de la patología, es decir; los niveles de hierro y ferritina en plasma, el %sTF y la concentración de STFR cambiarán hacia valores más alejados de la normalidad al evolucionar la deficiencia de hierro en tiempo y severidad (62). Estas alteraciones se resumen en la tabla 4.

Parámetros	Deficiencia de hierro con movilización de las reservas, leve	Deficiencia de hierro con agotamiento de las reservas, moderada.	Anemia por deficiencia de hierro.
Hierro sérico	N	N/↓	↓
Ferritina Sérica ng/ml	15-30	10-15	<10
% sTF	>20%	15%-20%	<15%
STFR	↑	↑	↑
Citometría hemática y morfología de eritrocitos	N	N	Anemia microcítica hipocrómica, eritrocitos <80 fl. , MCH < 27 pg

Tabla 4. Valores de parámetros analíticos durante deficiencia de hierro. N, corresponde a parámetros con valores dentro del rango normal. Las flechas corresponden a incrementos o decrementos fuera de los límites normales del parámetro evaluado. Fl, femtolitros. MHC, concentración de hemoglobina corpuscular. %sTF, porcentaje de saturación de transferrina. STFR, porción soluble del receptor de transferrina. Adaptado de Haendelman y Levin 2008 (62).

## 2.4 Manifestaciones Clínicas.

Las manifestaciones clínicas resultantes de la deficiencia de hierro en el organismo se encuentran incluidas en un gran espectro que abarca desde la disminución de

los niveles de hierro sérico hasta la aparición de anemia por deficiencia de hierro; es decir, puede existir desde un incremento discreto en la frecuencia cardíaca hasta el síndrome anémico franco (3).

Durante deficiencia de hierro se encuentran lesiones en mucosas como glositis y estomatitis angular, también existe coiloniquia y la esclerótica toma una coloración azul (70) (58). Se han documentado también trastornos de la conducta, como la pica, ingesta de materiales no nutritivos para el organismo, en un afán de satisfacer la carencia de este elemento, la geofagia, ingesta de tierra, y pagofagia, ingesta de hielo, son los desórdenes más comunes que acontecen en la pica causada por deficiencia de hierro (71). También se encuentran manifestaciones en el sistema nervioso central como el síndrome de piernas inquietas que consta de contracciones musculares involuntarias que obedecen a alteraciones en el metabolismo de la dopamina (72). Se ha reportado también que los individuos que sufren deficiencia de hierro tienen mayor susceptibilidad a infecciones de modo que esta patología puede hacerse notar por la aparición de cuadros repetitivos (73). Todo lo anterior en adición a síntomas constitucionales como cansancio y lasitud.

Las principales manifestaciones clínicas producto de la deficiencia de hierro se enlistan en la tabla 5.

<b>Manifestaciones clínicas de la deficiencia de hierro.</b>
<b>Síndrome anémico</b>
<b>Mayor susceptibilidad a infecciones.</b>
<b>Glositis</b>
<b>Coiloniquia</b>
<b>Estomatitis angular</b>
<b>Pica</b>
<b>Esclerótica azul</b>
<b>Fatiga</b>
<b>Alteración en las funciones mentales</b>

Tabla 5. Principales manifestaciones clínicas de la deficiencia de hierro. Adaptado de Beard 2001 (3).

Una vez que la deficiencia de hierro ha evolucionado a anemia ferropénica, como se discutió en el apartado 2.3, las manifestaciones clínicas resultantes conformaran el síndrome anémico caracterizado por palidez de mucosas y tegumentos, taquicardia, con la auscultación de un soplo hiperdinámico, palpitations, disnea, astenia, fatiga muscular, cefalea y amenorrea en mujeres en edad fértil, entre otros (74) (70).

## **2.5 Diagnóstico y pruebas analíticas.**

El diagnóstico de deficiencia de hierro, DFe, ha sido causa de debate en los últimos años pues no existen parámetros clínicos específicos que caractericen esta entidad; sin embargo, es posible integrar el diagnóstico a partir de estudios analíticos disponibles en la actualidad.

La DFe se caracteriza por una disminución en la sideremia, la concentración de ferritina sérica y el porcentaje de saturación de transferrina. La concentración de hierro en el plasma es un indicador poco fiable pues obedece a un ritmo circadiano de incremento nocturno y existen un gran porcentaje de resultados falsos negativos debido a artefactos en la técnica empleada para su determinación (75) (76).

La concentración de ferritina sérica es directamente proporcional a la cantidad de ferritina intracelular, ello la vuelve un indicador de la concentración corporal de hierro, sus valores normales oscilan entre 30 -100 ng/ml, por lo que un resultado < a 30 ng/ml se considera diagnóstico de DFe; sin embargo, en tanto que se trata de una proteína reactante de fase aguda un proceso inflamatorio puede correlacionarse con resultados falsos negativos, como ocurre en la anemia por inflamación crónica en donde los valores de ferritina sérica superan los 100 ng/ml, por tanto esta prueba solo es fiable al corresponder con niveles normales de proteína C reactiva o sin antecedente de procesos inflamatorios (77) (58).

El porcentaje de saturación de transferrina se relaciona con el status corporal de hierro. La saturación de los sitios de unión del hierro en la totalidad de moléculas de transferrina circulantes menor al 20% es producto de una reducción significativa en los niveles de hierro sérico y reflejo del decremento de las reservas tisulares del

mismo, de esta manera, se vuelve un parámetro diagnóstico confiable de DFe (58) (78).

Otro parámetro analítico utilizado en la actualidad para el abordaje diagnóstico de anemia y de deficiencia de hierro es la determinación de la concentración sérica de la forma soluble del receptor de transferrina, STFR, la cual al ser representativa de la cantidad de receptores de transferrina anclados a la membrana celular se encontrará elevada durante DFe ante la necesidad tisular de absorber hierro (79).

El punto de corte en esta prueba es aún tema de discusión, por una parte se contemplaba entre 5-8 mg/L como valores aceptables para individuos sanos; sin embargo, existen diversas variaciones dependiendo del método utilizado para la determinación así como de la población estudiada, por lo que la OMS busca estandarizar la prueba al realizar estudios con tecnología recombinante en cuyos hallazgos se ha establecido un valor de corte de 21.7 mg/dl en condiciones normales, por lo que resultados superiores corresponderían a DFe (80).

De acuerdo a la OMS, el diagnóstico de anemia se realiza con una concentración de hemoglobina, Hb, < 13 mg/dl en hombres, <12 mg/dl en mujeres en edad fértil y < 11 mg/dl en mujeres embarazadas (81), por otra parte, el diagnóstico de DFe en etapas previas al desarrollo de anemia ferropénica puede realizarse con una concentración de ferritina sérica < 30 mg/dl y %sTF < 20% (78), con variaciones de acuerdo a diversos estados patológicos (74), ante un diagnóstico incierto, es posible utilizar la determinación de STFR, o bien, correlacionar este último con la ferritina sérica, utilizando la ecuación: STFR/log ferritina sérica, que con un resultado <1 es indicativa de DFe, con fin de discernir entre deficiencia de hierro u otros procesos fisiopatológicos causantes de anemia, como inflamación crónica (82).

### **3. Galio 67.**

#### **3.1 Características químicas.**

El Galio es un elemento químico cuyo descubrimiento data de 1875 y se atribuye a Paul-Emile Lecoq de Boisbraudan. Es considerado un semi metal trivalente con número atómico 31, incluido en el grupo IIIa de la tabla periódica de los elementos químicos y configuración electrónica 3d<sup>10</sup>. A temperatura ambiente se encuentra

en estado sólido; sin embargo, tiende a derretirse a temperatura de 28.76 ° C por lo que al ser calentado se comporta como un líquido de color blanquecino brillante. En la naturaleza se encuentra en la corteza terrestre en una concentración de 5-15 mg/kg y se obtiene como un bio producto de la extracción de zinc y aluminio (83).

### **3.2 Galio en el organismo.**

En los humanos se ha descubierto que existen concentraciones mínimas de Galio. En un individuo de 1.70 metros de talla y 70 kilogramos de peso se encuentran, como media, 0.7 miligramos de Galio dispersos en el organismo, cantidad que no representa alteraciones a la salud, ya que estas representan únicamente 200 $\mu$ M aproximadamente (83)

En condiciones fisiológicas, pH de 7.4, temperatura corporal de 37 C y en una solución acuosa el Ga tiene carácter ácido fuerte con tendencia a unirse de manera estrecha con bases fuerte, sobre todo con grupos hidroxilo, OH<sup>-</sup>, así pues, el Ga forma quelatos con átomos de O<sub>2</sub> y en menor proporción con NH<sub>3</sub> (83).

En un medio acuoso con pH neutral el Ga<sup>3</sup> se hidroliza casi en su totalidad formando compuestos altamente insolubles. La hidrolisis del Ga<sup>3</sup> es un proceso aún desconocido pues los datos existentes son inconstantes; sin embargo, se propone que reacciona con 6 moléculas de agua que son reemplazadas posteriormente por OH al liberarse iones de hidrógeno H<sup>+</sup>, de este modo se forma el compuesto Ga(OH)<sub>3</sub>, también existen reportes acerca de la formación de Ga(OH)<sub>4</sub><sup>-</sup>, cuyo proceso es desconocido (84) (85)

### **3.3 Biocinética y relación con el Hierro.**

La principal propiedad de interés para los sistemas biológicos del Ga<sup>3</sup> es su parecido estructural con el hierro. El radio atómico tetraédrico del Ga<sup>3</sup> es de 0.47 Å mientras que el del hierro es de 0.49 Å, en adición, el radio iónico octaédrico del Ga<sup>3</sup> es de 0.620 Å similar al radio iónico octaédrico del hierro que consta de 0.645 Å. Lo anterior le otorga al Ga<sup>3</sup> la cualidad de comportarse en sistemas biológicos como un análogo del Fe<sup>3</sup>, con la capacidad de interactuar con ciertas proteínas encargadas del transporte, captación, almacenamiento y funciones bioquímicas del hierro. (86).

En el organismo el Ga se une a la TF en para su transporte en la circulación, suceso que de otro modo sería complicado debido la baja solubilidad del Ga (OH)<sub>3</sub>. Experimentos *in vitro* y en modelos animales han demostrado que el citrato de Ga<sup>67</sup> se une con gran afinidad a la TF (87) (88), concentraciones de 50 μM aseguran la unión de la totalidad de Ga a la TF, mientras que niveles superiores saturan los sitios de unión de la TF y propician que el galio circule como Ga (OH)<sub>4</sub> (89)

La captación de Ga<sup>3</sup> por los tejidos es facilitada por su unión con la TF. Se ha demostrado que el complejo Ga-TF puede competir con el complejo Fe-TF por su sitio de acoplamiento en el TFR (90). De este modo, la captación celular de Ga provoca una disminución en la absorción de hierro dependiente de transferrina, suceso comprobado en experimentos *in vitro* donde la administración de Ga<sup>67</sup> reduce la síntesis de hemoglobina, misma que se normaliza posterior a la administración de hierro (91)

Al igual que con el hierro, existen también mecanismos de captación de galio independientes de la TF. Estos son inciertos hasta el momento y se cree que es difícil que la captación independiente de TF suceda del mismo modo que la del hierro, pues requiere la reducción del Fe<sup>3</sup> a Fe<sup>2</sup> con la producción de especies reactivas de oxígeno, en contraste, el Ga<sup>3</sup> no puede ser reducido a una forma divalente y por ende su transporte a las células debe realizarse como Ga<sup>3</sup> o como un quelato de galio (92)

Dentro de la célula el destino del Ga aún permanece en muchos aspectos incierto. Se ha comprobado que puede acoplarse a la superficie de la proteína almacenadora de hierro ferritina, proceso que requiere ATP y se ve facilitado por la presencia de citrato y lactato (93). El Ga presenta una afinidad 50 veces mayor por la proteína de unión de hierro lactoferrina presente en los neutrófilos y participe del proceso de inflamación, de ahí quizás que el Ga tiende a localizarse en sitios de inflamación activa (84) (94)

A pesar de la analogía estructural entre el hierro y el galio existen grandes diferencias en la cinética de estos elementos, de acuerdo a experimentos realizados tras la administración de citrato de Ga<sup>67</sup> y citrato de Fe<sup>59</sup> en humanos. Se comprobó que la tasa de aclaramiento del galio es 50 veces más lenta que la del hierro. El

volumen de distribución del galio es 6 veces mayor que el del hierro. La captación de citrato de  $\text{Fe}^{59}$  por el tejido óseo, hígado y bazo decrece considerablemente a las 24 horas, mientras que la concentración de citrato de  $\text{Ga}^{67}$  acumulado en estos tejidos tiende a incrementar posterior a 24 horas (95).

Como se ha mencionado previamente, existe una gran similitud en cuanto a las características químicas que comparten el hierro y el galio, ello permite que este último pueda actuar como un elemento análogo del hierro en sistemas biológicos. Lo anterior ha dado pauta a discutir acerca de las aplicaciones clínicas posibles de este elemento, dando lugar a distintas líneas de investigación en el tema, que abarcan desde actualizaciones en métodos de imagenología, hasta la interrupción del crecimiento tumoral dependiente de hierro (96) (97).

### **Planteamiento del problema.**

El hierro es un elemento traza esencial para la mayoría de los seres vivos. Participa activamente en el transporte de oxígeno a las células. Es un catalizador importante de diversas reacciones de óxido-reducción. Interviene en el proceso de división celular. Es cofactor de distintas enzimas que actúan en la respiración celular y tiene un papel fundamental en la respuesta inmune innata y adaptativa.

La deficiencia de hierro es el tipo de desnutrición con mayor prevalencia a nivel mundial de acuerdo a la OMS. Su principal etiología en países con economía emergente continúa siendo la carencia alimentaria.

La deficiencia de hierro causa alteraciones en distintos aparatos y sistemas que obedecen al mal funcionamiento de ciertos órganos teniendo como producto manifestaciones clínicas que la mayoría de las veces son sub diagnosticadas hasta el desarrollo de anemia ferropénica.

Por otra parte, el  $\text{Ga}^{67}$  es un radioisótopo que comparte propiedades fisicoquímicas con el hierro y se conoce que interactúa con diversas proteínas especializadas en el metabolismo del hierro.

Durante deficiencia de hierro es importante conocer las necesidades de este mineral en distintos órganos y tejidos debido a que ello ayudaría a entender las alteraciones

en la salud que esta ocasiona, para lo cual, el uso de Ga<sup>67</sup> podría mostrar un panorama del metabolismo del hierro durante esta patología.

### **Pregunta de investigación.**

¿Es posible conocer cuáles son las necesidades de hierro de distintos órganos y tejidos durante deficiencia de hierro utilizando Ga<sup>67</sup> como biosensor?

### **Justificaciones.**

El justificar de manera integral el presente estudio responde a una serie de aspectos en los ámbitos social, académico y científico en los que el mismo tiene una utilidad potencial. A continuación, se expondrán los aspectos mencionados.

Académico.

La elevada prevalencia de la deficiencia de hierro en el medio aparece como un reto para todo personal de la salud, de ahí que un mayor conocimiento acerca de aspectos celulares que interviene en la génesis de las alteraciones clínicas que esta produce es fundamental para su abordaje clínico correcto.

Científico.

El empleo de Ga<sup>67</sup> como biosensor del metabolismo de hierro durante deficiencia de hierro es un procedimiento en el área de medicina nuclear que jamás antes ha sido realizado, de ahí que los resultados obtenidos en el presente estudio pueden ser cimientos de una serie de investigaciones por venir en el tema.

Social.

La deficiencia de hierro continúa siendo un problema de salud pública. El presente estudio busca generar un mayor entendimiento de los mecanismos mediante los cuales causa daños a la salud, con lo que se pudieran explorar y diagnosticar de manera temprana las alteraciones relacionadas con esta patología que repercuten en la calidad de vida de los individuos.

### **Hipótesis.**

El Ga<sup>67</sup> puede ser empleado como biosensor para determinar las necesidades de hierro en distintos órganos y tejidos durante deficiencia de hierro

## **Objetivos.**

### **General.**

Utilizar Ga<sup>67</sup> como biosensor de las necesidades de hierro de distintos órganos y tejidos en individuos con deficiencia de hierro.

### **Específicos.**

- a) Identificar las necesidades de hierro de distintos órganos y tejidos en condiciones nutrimentales normales utilizando Ga<sup>67</sup> como biosensor.
- b) Identificar las necesidades de hierro de distintos órganos y tejidos durante deficiencia de hierro utilizando Ga<sup>67</sup> como biosensor
- c) Determinar las diferencias entre sexos en cuanto a la captación de hierro por distintos órganos y tejidos utilizando Ga<sup>67</sup> como biosensor.
- d) Establecer posibles implicaciones de la deficiencia de hierro en el funcionamiento de distintos órganos y tejidos de acuerdo al aumento o disminución de sus necesidades durante esta patología.

## **Método.**

### **Diseño de estudio.**

Tipo experimental.

### **Operacionalización de variables.**

Durante el presente estudio se tomaron en cuenta las variables presentadas en la tabla 6. Los parámetros de normalidad serán obtenidos a partir de los resultados de los individuos control en cada prueba.

Variable	Definición conceptual	Definición Operacional	Tipo de variable	Unidad de medida.
<b>Deficiencia de hierro</b>	Depleción en los niveles de hierro sérico, así como en las reservas tisulares evidenciada por la concentración de hemoglobina.	Permitirá estimar de forma objetiva el grado de deficiencia de hierro que presentan los individuos.	Cuantitativa	<b>Fe-Hb, miligramos, mg</b>
<b>Actividad de Ga<sup>67</sup></b>	Concentración del radioisótopo Ga <sup>67</sup> que se encuentra en un tejido específico generando actividad radiactiva en el mismo.	Se utilizara para conocer la cantidad de Ga <sup>67</sup> presente en determinado tejido u órgano mediante la radiactividad que produce.	Cuantitativa	Mili Becquerel, <b>MBq.</b> 1 Bq= 1 desintegración nuclear por segundo.
<b>Sexo</b>	Sexo de los sujetos de estudio.	Permitirá realizar comparaciones de acuerdo a los resultados del estudio.	Cualitativa	Hembra/Macho

Tabla 6. Variables que se utilizaran durante el estudio.

## **UNIVERSO DE TRABAJO Y MUESTRA**

### **Animales y Dieta.**

Ratas de la cepa Wistar. Se mantuvieron bajo condiciones estándar de vivario: ciclo de luz/oscuridad 12:12, (luces encendidas a las 05:00 a.m.), temperatura controlada en  $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$  y libre acceso a comida y agua.

Para la obtención de los sujetos de estudio se utilizó como pie de cría a doce ratas de la cepa Wistar sometidas a distintos regímenes dietéticos iniciados 14 días previos a las condiciones de apareamiento, 3 meses de edad o bien 250 gramos de peso. Diez ratas fueron sometidas a dieta deficiente de hierro, constando de 10 ppm de  $\text{FeSO}_4$ , (Dieta de laboratorio AIN-76W/10). Dos ratas más recibieron dieta con control, 100 ppm de  $\text{FeSO}_4$ , (Dieta de laboratorio AIN-76W/100).

En el día 21 de la gestación se obtuvieron crías producto de la cruce de ratas que compartieron el mismo régimen dietético. Las crías recibieron la misma dieta que sus progenitores hasta el día postnatal 70, (DPN), cuando fueron separadas al azar de acuerdo a sexo y condiciones dietéticas formando los siguientes grupos: machos control, (MC), hembras control, (HC), machos deficientes de hierro, (MDFe), y hembras deficientes de hierro, (HDFe), cada grupo con 7 sujetos de estudio, (n=7).

### **Administración y cuantificación de actividad de $\text{Ga}^{67}$ .**

En el DPN 70, se administró de manera intraperitoneal, (IP), 37 MBq de citrato de  $\text{Ga}^{67}$ , 0.4 ml, a cada uno de los sujetos de estudio. Es necesario mencionar en este punto que la exposición corporal al radio isotopo es inocua debido a que se encuentra en dosis traza. Posteriormente se realizó eutanasia a los sujetos de estudio mediante cámaras de  $\text{CO}_2$ , con salida gradual de  $\text{O}_2$ , a un ritmo de 0.5 L  $\text{CO}_2$ /min/10 min.

El sacrificio de los sujetos de estudio para la obtención de muestras de tejido se realizó al azar, en intervalos de 2, 4, 8 y 12 hrs posterior a la administración del radio isotopo, (Hora 0). Inmediatamente después se extrajeron muestras de los siguientes órganos y tejidos, regiones de interés, (RIs): Sangre, (punción ventricular), hígado, gónadas, (testículos, ovarios), medula ósea, corazón,

glándulas suprarrenales, músculo esquelético, estómago, riñones, globo ocular, nervio ciático, intestino delgado y peritoneo.

Cada una de las RIs obtenidas fue pesada por medio de una balanza analítica, acto seguido, colocadas en un vial de polietileno para su posterior cuantificación de actividad de Ga<sup>67</sup> mediante un calibrador de dosis Carpinter Inc, CRC-55tR. Los resultados obtenidos se normalizaron a partir de la actividad registrada con respecto a la cantidad de Ga<sup>67</sup> administrada, la masa de la muestra y el decaimiento radiactivo. Los resultados obtenidos se compararon entre grupos y son presentados como media ± desviación estándar.

### **Hierro unido a hemoglobina.**

Los niveles de hierro unido a hemoglobina, (Fe-Hb), fueron cuantificados de manera individual en cada grupo de estudio con la finalidad de demostrar la deficiencia de hierro en grupos con dieta deficiente. Para lo anterior, se extrajo 1 ml de sangre de la vena caudal de los sujetos de estudio, se determinó la concentración de hemoglobina, Hb (g) por triplicado con el método de cianometahemoglobina utilizando solución Drabkin, (Randox Mexico Sa de CV).

La siguiente fórmula fue utilizada para la cuantificación de Fe-Hb una vez obtenidos los resultados de concentración de Hb en los sujetos de estudio:

$$Fe - Hb(mg) = \frac{\left[\left(\frac{Hb}{L}\right) * (body\ weight) * 6.7 * 0.35\right]}{10000}$$

Donde Hb, hemoglobina, (g), contiene 0.335% de hierro y el volumen de sangre en ratas Wistar en crecimiento corresponde a 6.7% del peso corporal, (g).

### **Criterios de inclusión**

Ratas Wistar adultas hembras y machos deficientes de hierro y control a las que se administró 37 MBq de citrato de Ga<sup>67</sup> IP.

### **Criterios de exclusión**

Ratas Wistar deficientes de hierro que fallecieron durante el proceso experimental.

**Criterios de eliminación:**

Ratas con que enfermaron durante el proceso experimental o que presentaron alteraciones dentarias que eviten el adecuado consumo de alimento

**INSTRUMENTO DE INVESTIGACIÓN.**

Hoja de programa digital Microsoft Excel para concentración de datos.

**DESARROLLO DEL PROYECTO.**

El nacimiento, crianza, sacrificio y obtención de muestras se realizó en el laboratorio de Neurofisiología de la Conducta de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México, de acuerdo con los principios y procedimientos descritos por los Institutos Nacionales de Salud de Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio.

El procesamiento de muestras se realizó en el departamento de radiología del Centro Oncológico Estatal ISSEMyM del Estado de México, Región 1.

**LÍMITE DE TIEMPO Y ESPACIO.**

El proyecto se realizó del 15 Junio del 2019 al 15 de Enero del 2020 en las instalaciones del Laboratorio de Neurofisiología de la Conducta de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma Del Estado de México y en el departamento de radiología del Centro Oncológico Estatal ISSEMyM del Estado de México, Región 1.

**IMPLICACIONES ÉTICAS.**

Todas las pruebas y procedimientos realizados en el presente estudio se encuentran en acuerdo con protocolos establecidos por el Instituto Nacional de Salud, la Guía para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio y el Comité Local de bioética de la Universidad Autónoma del Estado de México. Con la finalidad de obtener muestras de tejido, se practicó eutanasia a los sujetos de estudio en cámaras de CO<sub>2</sub> para minimizar el sufrimiento.

Los procedimientos realizados en el presente estudio están sujetos a los lineamientos establecidos en la NOM-062-ZOO-1999, de acuerdo a especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales laboratorio. El manejo en cautiverio de los sujetos de estudio se llevó a cabo de acuerdo a la misma norma en su categoría B: Experimentos que causan molestia o estrés mínimo: Se restringió momentáneamente al animal con propósitos de observación clínica; se tomaron muestras de sangre, e inyección de sustancias vía intraperitoneal, los periodos cortos de abstinencia de agua o alimento fueron equivalentes a lo que pudiera darse en forma natural. Se realizaron estudios agudos sin supervivencia del animal. Se usaron de métodos de eutanasia con inconsciencia rápida del sujeto; por ejemplo, cámara de CO<sub>2</sub>.

## **PRESUPUESTO Y FINANCIAMIENTO**

Kellogg Company. Apoyo a Proyectos de Investigación en Nutrición.

## **RESULTADOS.**

### **Hierro unido a hemoglobina.**

Los resultados muestran que los niveles de hierro unido a hemoglobina se encuentran disminuidos en los grupos que fueron sometidos a dieta deficiente de hierro con respecto a los grupos control, de manera independiente del sexo, pero encontrándose una diferencia estadísticamente significativa en los grupos de hembras, como se aprecia en la tabla 7.

En cuanto al sexo, el grupo de hembras control mostró mayores niveles de Fe-Hb al compararse con el grupo de machos control, por otra parte, esta tendencia se invierte al comparar grupos deficientes de hierro, donde los machos DFe registraron mayores niveles que las hembras DFe; sin embargo, las diferencias encontradas no son estadísticamente significativas, estos hallazgos se muestran en la tabla 7.

Hierro unido a Hemoglobina (Fe-Hb)	Grupos (mg/kg PC)	Sexo (mg/kg PC)	
		Machos	Hembras
<b>Control – C</b>	3.68 ± 0.07	3.63 ± 0.10	3.71 ± 0.11
<b>Deficiente de hierro - DFe</b>	3.28 ± 0.12 <sup>1</sup>	3.37 ± 0.10	3.18 ± 0.23 <sup>2</sup>

Tabla 7. Niveles de Fe-Hb en los grupos de estudio. Los valores se muestran mediante desviación estándar, DE. Resultados con diferencia estadísticamente significativa: 1) Grupos DFe vs Grupos Control independiente de sexo. 2) Hembra deficiente vs Hembras Control. PC: Peso corporal expresado en kg.

### Actividad de Ga<sup>67</sup> por RI en grupos con deficiencia de hierro.

Los resultados obtenidos indican que, los grupos con deficiencia de hierro presentan una captación de Ga<sup>67</sup> 412% mayor que los grupos control. Lo anterior debido a que los individuos sometidos a deficiencia de hierro manifestaron niveles actividad del radioisótopo más elevados en la mayoría de las RI's, que aquellos con dieta normal, encontrándose la mayor diferencia en globo ocular y nervio ciático, como puede observarse en la tabla 10 y al comparar las gráficas 1 y 2, y 3 y 4. A continuación se enlistan las RI's y el porcentaje por el cual los grupos DFe superaron a los grupos control en orden descendente:

ROI's	Porcentaje de mayor actividad de Ga <sup>67</sup>
<b>Globo ocular</b>	18720%
<b>Nervio ciático</b>	13082%
<b>Glándulas Suprarrenales</b>	4138%
<b>Hígado</b>	360%
<b>Corazón</b>	198%
<b>Intestino Delgado</b>	159%
<b>Músculo</b>	146%
<b>Estomago</b>	135%
<b>Medula ósea</b>	127%

<b>Gónadas</b>	93%
<b>Riñones</b>	67%
<b>Peritoneo</b>	34%

Tabla 8. Porcentaje de actividad de Ga<sup>67</sup> con el que los individuos DFe superaron a los individuos control en distintas RI's, independientemente del sexo, tomando los resultados obtenidos por los individuos control como el 100%.

### **Actividad de Ga<sup>67</sup> por RI entre sexos.**

De acuerdo a los resultados obtenidos, existe mayor captación de Ga<sup>67</sup> en machos, independientemente del régimen dietético, como se observa en los datos presentados en la tabla 10 y al comparar las gráficas 1 y 3, y 2 y 4. Los machos control presentaron una captación de Ga<sup>67</sup> 832% mayor que las hembras control, mientras que la actividad registrada por los machos DFe resultó ser un 1011% mayor que la de las hembras DFe.

Los grupos con dieta deficiente de hierro presentaron la mayor diferencia en captación de acuerdo al sexo, como se observa en la tabla 12 y al comparar las gráficas 2 y 4. Las RI's donde el grupo de machos DFe supero al grupo de Hembras DFe por mayor porcentaje de actividad de Ga<sup>67</sup> son glándulas suprarrenales y nervio ciático, el resto de RI's, y el porcentaje de diferencia entre estos grupos se enlistan a continuación en orden descendente:

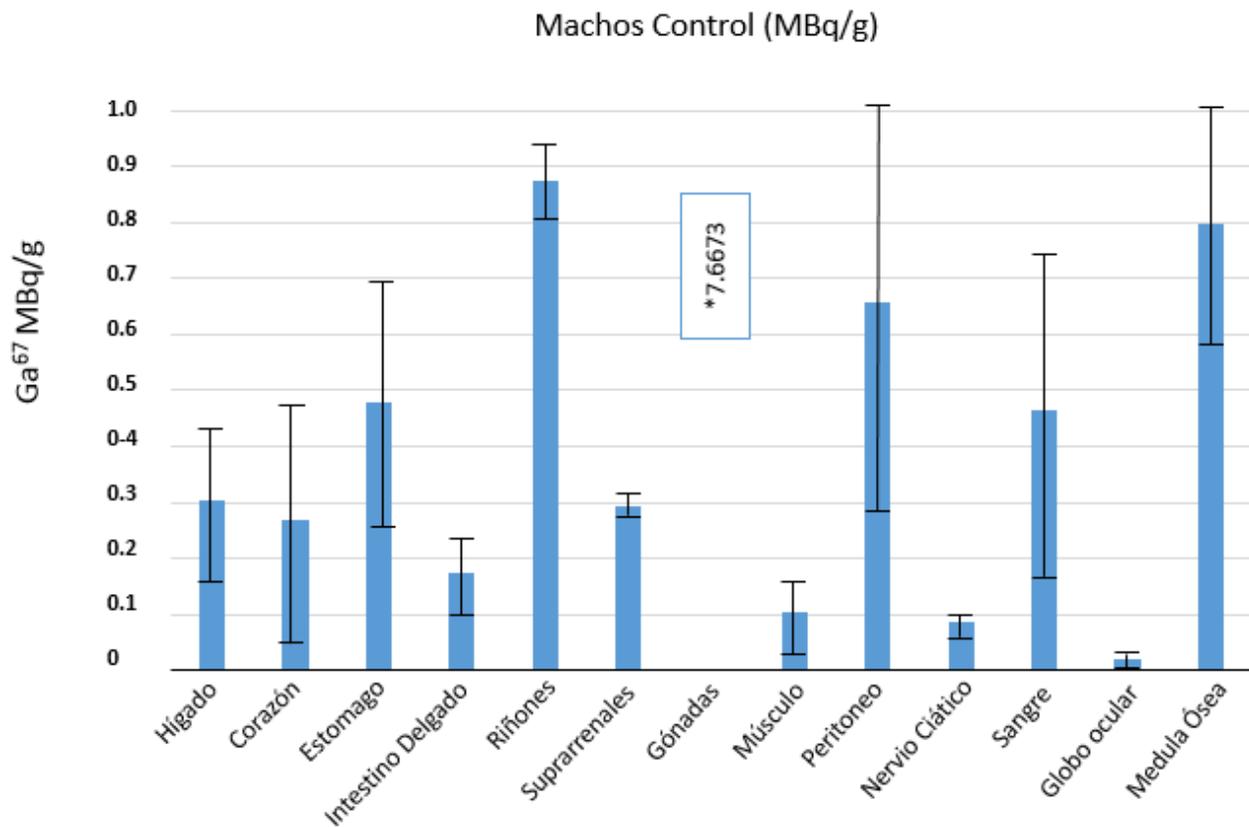
<b>RI's</b>	<b>Porcentaje de mayor actividad de Ga<sup>67</sup></b>
<b>Glándulas Suprarrenales</b>	7630%
<b>Nervio ciático</b>	6604%
<b>Globo Ocular</b>	995%
<b>Corazón</b>	361%
<b>Intestino Delgado</b>	241%
<b>Hígado</b>	217%
<b>Músculo</b>	139%
<b>Sangre</b>	122%
<b>Peritoneo</b>	117%

<b>Gónadas</b>	96%
<b>Riñones</b>	68%
<b>Medula Ósea</b>	16%

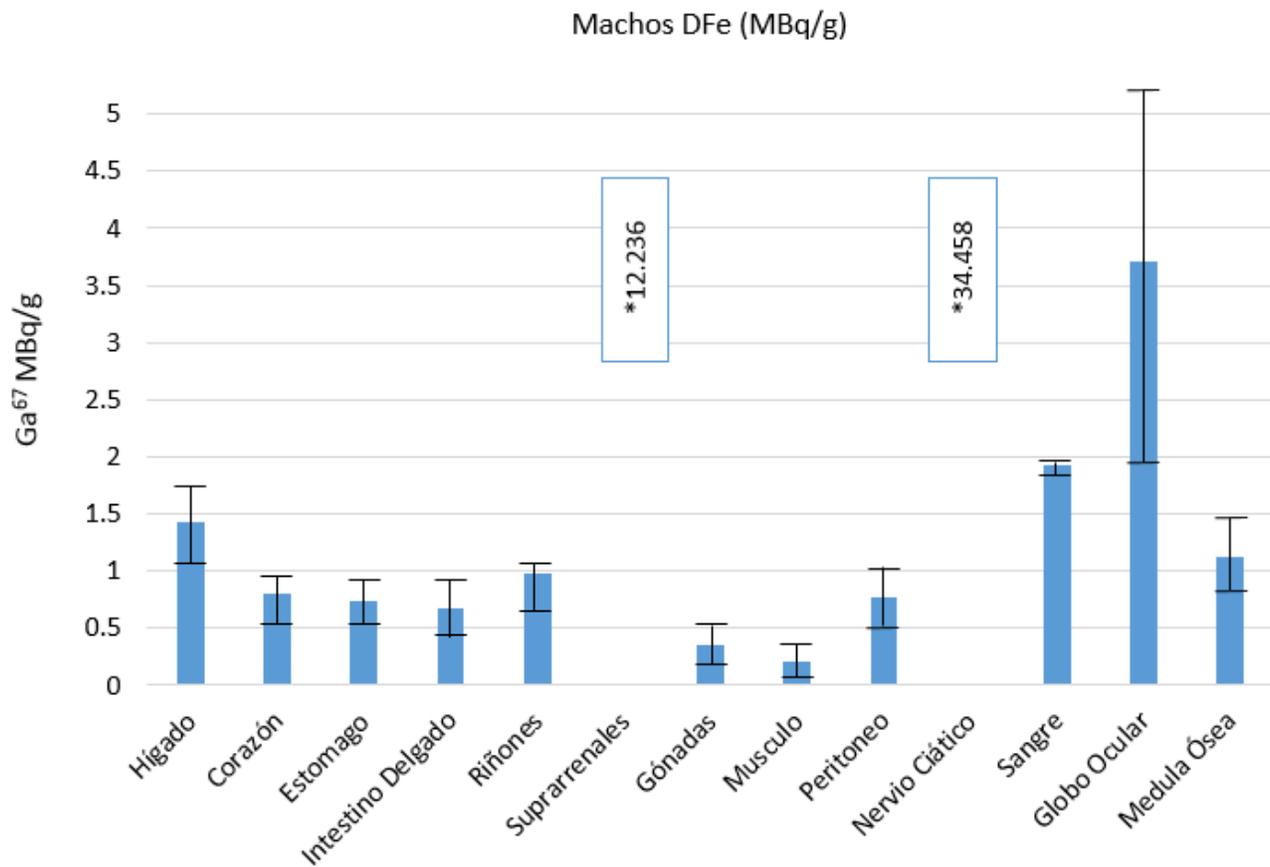
Tabla 9. Porcentaje de actividad de Ga<sup>67</sup> con el que el grupo de machos DFe superó al grupo de hembras DFe en distintas RI's.

Órgano/Tejido	Machos Control (MBq/g)	Machos DFe (MBq/g)	Hembras Control (MBq/g)	Hembras DFe (MBq/g)
Hígado	0.3030±0.1355	1.4320±0.3039*	0.1065±0.0539	0.4522±0.1245*
Corazón	0.2697±0.2251	0.7978±0.1512*	0.0566±0.0197	0.1732±0.0039*
Estomago	0.4795±0.2241	0.7397±0.1394*	0.0414±0.017	0.4842±0.0149*
Intestino Delgado	0.1754±0.0719	0.6676±0.1711*	0.1578±0.0891	0.1957±0.0398*
Riñones	0.8758±0.0560	0.9779±0.2174*	0.0597±0.0265	0.5835±0.0669*
Suprarrenales	0.2924±0.0096	12.236±1.4681*	0.1682±0.0081*	0.1583±0.008
Gónadas	7.6673±2.2515*	0.3543±0.1483	0.2124±0.0424*	0.1804±0.0312
Músculo	0.1047±0.0469	0.2067±0.0836*	0.0146±0.0025	0.0866±0.0011*
Peritoneo	0.6582±0.3538	0.7633±0.2590*	0.1760±0.0575	0.3513±0.3015*
Nervio Ciático	0.0875±0.0165	34.458±18.318*	0.1777±0.0074	0.514±0.4984*
Sangre	0.4633±0.2786	1.9195±0.0639*	0.7011±0.1027	0.8651±0.0321*
Globo Ocular	0.0214±0.0045	3.7043±1.6445*	0.0196±0.0062	0.3383±0.0161*
Medula Ósea	0.7987±0.2160	1.1174±0.3175*	0.1156±0.0746	0.9607±0.2567*

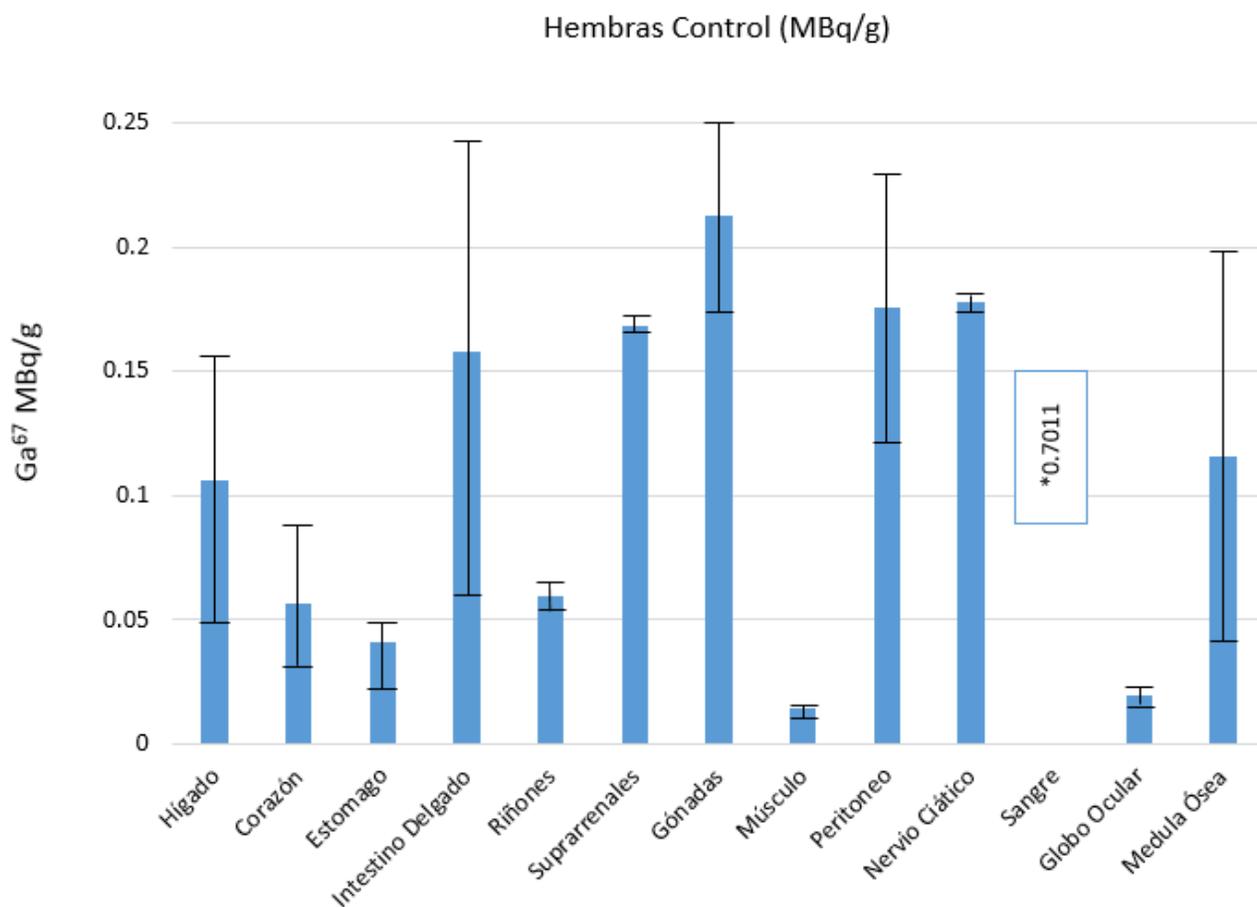
Tabla 10. Actividad de Ga<sup>67</sup> (MBq/g), con relación a la masa en cada RI, 12 hrs post administración. Los resultados se muestran como media ± desviación estándar. Los valores resaltados indican mayor captación de Ga<sup>67</sup> en las RI's entre sexos con misma dieta, (ej: Machos Control vs Hembras Control). Los asteriscos "\*", indican mayor actividad de Ga<sup>67</sup> en grupos con DFe comparados con grupos control del mismo sexo, (ej: Machos DFe vs Machos control). Los valores subrayados indican una inversión en la tendencia de captación de Ga<sup>67</sup> en determinado grupo con respecto a las demás RI's.



Gráfica 1. Actividad de Ga<sup>67</sup> en las RI's del grupo de Machos Control. Los resultados se muestran como media  $\pm$  desviación estándar. Los asteriscos "\*" muestran valores fuera de escala.

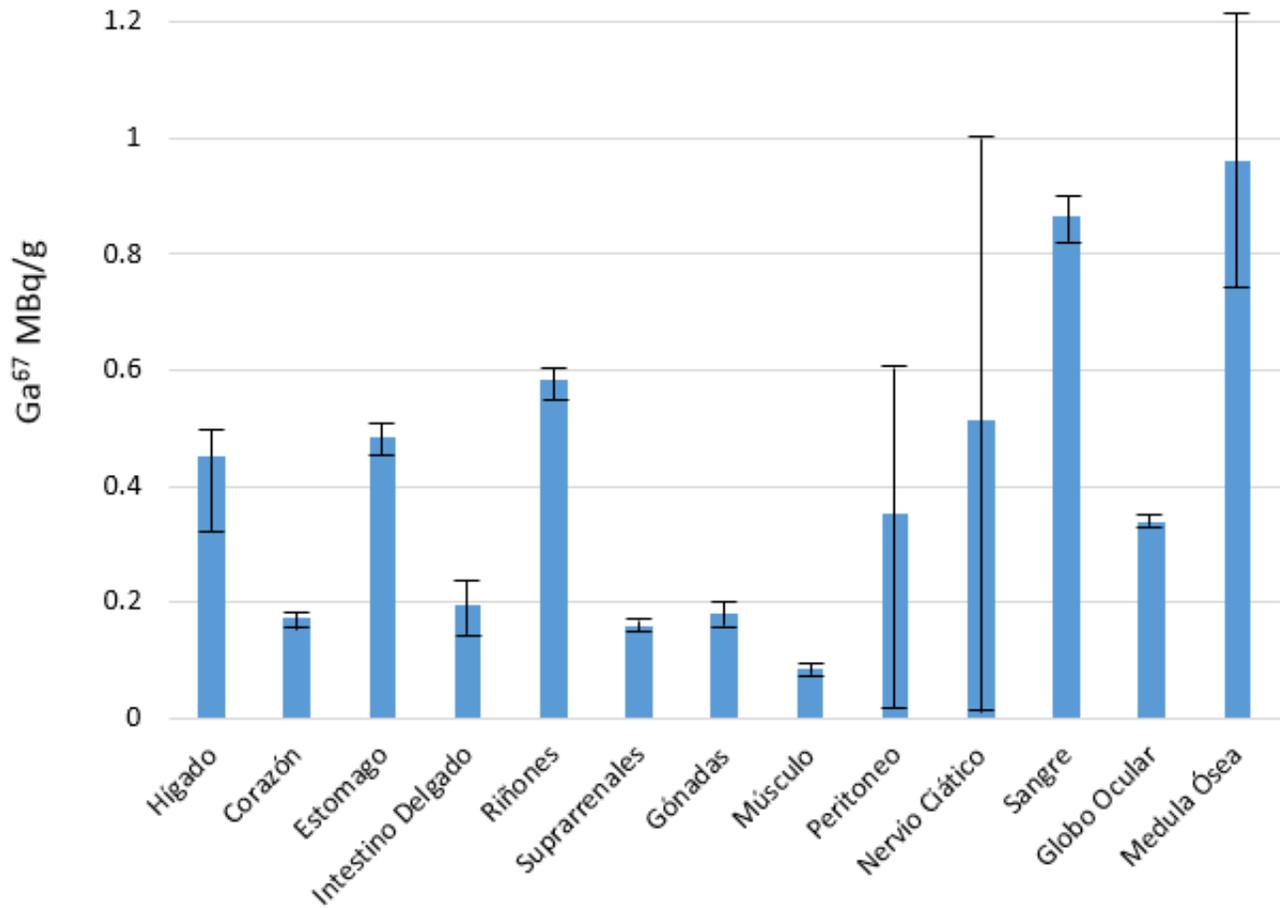


Gráfica 2. Actividad de Ga<sup>67</sup> en las RI's del grupo de Machos DFe. Los resultados se muestran como media  $\pm$  desviación estándar. Los asteriscos "\*" muestran valores fuera de escala.



Gráfica 3. Actividad de Ga<sup>67</sup> en las RI's del grupo de Hembras Control. Los resultados se muestran como media  $\pm$  desviación estándar. Los asteriscos “\*” muestran valores fuera de escala.

### Hembras DFe (MBq/g)



Gráfica 4. Actividad de  $Ga^{67}$  en las RI's del grupo de Hembras deficientes de hierro. Los resultados se muestran como media y desviación estándar,  $\delta$

## **Discusión.**

El radioisotopo citrato de  $Ga^{67}$  es un antagonista parcial de la transferrina, así como un análogo del hierro en estado ferroso,  $Fe^{2+}$ , y al ser administrado al organismo puede participar en los mecanismos involucrados en el metabolismo del hierro. El  $Ga^{67}$  no ha sido utilizado antes como un biosensor de la distribución de hierro en el organismo bajo condiciones de deficiencia de hierro.

Los resultados de este estudio muestran que existe una mayor captación de  $Ga^{67}$  en machos que en hembras en condiciones nutrimentales normales, a pesar de que los grupos de machos control presentan menores niveles de Fe-Hb. Esto puede ser debido a que los machos presentan ciertas variables sexo-dependientes relacionadas con el metabolismo del hierro, como niveles superiores de hemoglobina total y hematocrito, mayor masa muscular y hepática (98), concentraciones más altas de testosterona y una tasa de eritropoyesis elevada, últimas dos circunstancias que aminoran la producción de hepcidina, con lo que se promueve la absorción y movilización corporal del hierro (99) (9).

Además, se encontró que los grupos DFe presentan mayor captación de  $Ga^{67}$  que los grupos control, independientemente del sexo, este fenómeno puede deberse a que niveles reducidos de hierro sérico provocan disminución en la síntesis hepática de hepcidina (100), así como un aumento en la expresión del TFR-1 (101) y su forma soluble, sTFR (102), como un mecanismo que busca promover la absorción y distribución de hierro a los tejidos, de esta manera se forman complejos entre el  $Ga^{67}$  y la transferrina, reflejándose como mayor actividad radiactiva en sangre en sujetos deficientes.

En el grupo de hembras DFe las RI's con la mayor actividad de  $Ga^{67}$  resultaron ser medula ósea, sangre y riñones, (en orden descendente), reflejo de la importancia del hierro en el proceso de eritropoyesis, así como de la prioridad del organismo de mantener una eritropoyesis eficaz. En este mismo grupo se encontró una disminución marcada de la captación de  $Ga^{67}$  en las RI's nervio ciático y ovarios, con respecto a los resultados del grupo control.

Ambos fenómenos anteriormente descritos evidencian que es probable que exista la necesidad del organismo de optimizar la absorción del hierro al torrente

sanguíneo, (alta captación de  $Ga^{67}$  en sangre), y su movilización a tejidos relacionados con eritropoyesis, riñones y medula ósea, a expensas de una disminución en la distribución a sistema nervioso periférico y ovarios, durante deficiencia de hierro.

Aunado a lo anterior, existen reportes acerca de una disminución en la tasa de fertilidad en modelos experimentales con roedores sometidos a deficiencia de hierro, al compararse con individuos en condiciones nutrimentales normales (103). Así mismo, reportes de carácter prospectivo han mostrado una relación inversamente proporcional entre el consumo de suplementos de hierro en mujeres pre menopaúsicas con problemas de infertilidad debido a desórdenes en la ovulación (104). Ello quizás producto de la reducción en la distribución de este mineral a ovarios durante deficiencia de hierro evidenciada en este estudio.

Adicionalmente, la disminución de la disponibilidad de hierro en nervios periféricos durante deficiencia de hierro demostrada en este estudio se correlaciona con reportes que indican que niños con anemia por deficiencia de hierro presentan alteraciones neurofisiológicas en los nervios mediano y tibial posterior tales como reducción de la velocidad de conducción, mismas que revierten una vez empleada la terapia de suplementación dietética. (105).

Por otra parte, en el grupo de machos DFe, las RI's con mayor captación de  $Ga^{67}$  resultaron ser nervio ciático, glándulas suprarrenales y globo ocular, (en orden descendente). Este patrón de actividad de  $Ga^{67}$  puede ser un indicador de las necesidades de absorción de hierro por estos tejidos para su adecuado funcionamiento, y correlacionarse con reportes que indican disfunción en estos órganos y tejidos durante estados carenciales.

Previamente se ha hablado acerca de alteraciones electrofisiológicas en el sistema nervioso periférico encontradas en sujetos con deficiencia de hierro, la deficiencia de hierro es una causa conocida dentro de la génesis de trastornos como es el Síndrome de piernas inquietas (106), de igual manera, ciertas patologías hematológicas que afectan la serie eritrocitaria y el metabolismo del hierro se han relacionado con la aparición de neuropatías. (107).

La relación entre la deficiencia de hierro y alteraciones en las funciones de las glándulas suprarrenales puede verse evidenciada en estudios que demuestran la alta prevalencia de hipertensión arterial y anemia por deficiencia de hierro en adolescentes entre 15 y 18 años de edad, aunque este estudio no fue realizado únicamente en varones (108), se relaciona con la elevada captación de Ga<sup>67</sup> encontrada en glándulas suprarrenales, un fenómeno que podría deberse a la necesidad de absorción de hierro en busca de evitar la disfunción de procesos fisiológicos y la aparición de patologías subsecuentes a este estado carencial.

Así mismo, la actividad registrada en globo ocular podría evidenciar la necesidad de absorción de hierro por el sistema visual para mantener la integridad de sus funciones en estados deficientes pues existen estudios que han corroborado la asociación entre distintos niveles de deficiencia de hierro con anomalías estructurales del globo ocular como una disminución en el grosor central de la retina (110).

Aunado a los anteriores experimentos realizados con ratas Wistar, han demostrado que la deficiencia de hierro de origen dietético se relaciona directamente con cambios citológicos en el nervio óptico, como disminución de la cantidad de oligodendrocitos y vasos sanguíneos paralelos, un estado patológico que no revierte con terapia de suplementación (109).

La distribución de Ga<sup>67</sup> a las RI's previamente mencionadas en el grupo de machos DFe ocurre a expensas de una menor captación en riñones, medula ósea y gónadas, testículos, RI's que disminuyeron sus niveles de actividad de manera considerable con respecto al grupo control, reflejo de las prioridades de la absorción de hierro en distintos órganos y tejidos sobre otros durante deficiencia.

En este punto, se encuentran las implicaciones sexuales en cuanto a la actividad de Ga<sup>67</sup> en las RI's estudiadas. La principal diferencia radica en la mayor captación del radioisótopo en riñones y medula ósea sobre las demás RI's en el grupo de hembras DFe, suceso contrario en el grupo de machos DFe, donde, como ya se comentó, estas RI's tienen una actividad disminuida. Por otra parte, ambos grupos, hembras DFe y machos DFe, mostraron una captación notablemente disminuida en gónadas, con respecto a las demás RI's.

Los bajos niveles de  $Ga^{67}$  en tejidos relacionados con la actividad hematopoyética, riñones y médula ósea, en el grupo de machos DFe, con respecto a las hembras pueden deberse a la reducción significativa de Fe-Hb encontrada en el grupo de hembras DFe comparado con el grupo control, un fenómeno no visto en los grupos de machos.

Lo anterior puede deberse a la influencia hormonal de la testosterona en la eritropoyesis y el metabolismo del hierro, observada en distintos estudios en varones, ya que, promueve la producción de eritropoyetina, mientras que aminora la expresión de hepcidina, teniendo como resultado incremento del hematocrito, hemoglobina y hierro circulante disponible para tejidos periféricos como una posible medida de prevención ante las alteraciones ocasionadas por la deficiencia de hierro antes descritas. (111) (9) (112). Un mecanismo fisiológico hormonal no encontrado en hembras, quienes, como se observa, priorizan la disponibilidad de hierro a órganos eritropoyéticamente activos debido a los niveles más bajos de Fe-Hb, sobre las funciones de otros órganos y tejidos.

Finalmente, la baja captación del biosensor en gónadas, pone de relieve los resultados de múltiples estudios que reportan alteraciones en la función reproductiva durante deficiencia de hierro. Estas implicaciones ya han sido discutidas previamente en el sexo femenino. Del mismo modo, en varones con anemia ferropénica se ha documentado la existencia de parámetros seminales pobres, tales como baja movilidad espermática y baja proporción de espermatozoides morfológicamente normales, que revierten luego de la terapia de suplementación oral (113). Así como una falta del desarrollo puberal normal e infertilidad en individuos con patologías hematológicas que condicionan baja biodisponibilidad de hierro (114).

En el presente estudio se demuestra que el radioisótopo  $Ga^{67}$  puede ser utilizado como un biosensor del metabolismo del hierro durante deficiencia de hierro con fin de evaluar las necesidades de absorción de este mineral en distintos órganos y tejidos para el desarrollo óptimo de sus funciones, así como las diferencias sexuales que existen, e identificar posibles alteraciones o estados patológicos que se desarrollen durante este tipo de desnutrición

## **Conclusiones.**

- El  $\text{Ga}^{67}$  puede ser utilizado como biosensor de las necesidades hierro en distintos órganos y tejidos durante deficiencia de hierro.
- Es posible identificar disfunción o daño en ciertos órganos y tejidos como implicaciones de la deficiencia de hierro al utilizar  $\text{Ga}^{67}$  como biosensor.
- Durante deficiencia de hierro, las hembras muestran mayor necesidad de absorción de este mineral en órganos relacionados con la eritropoyesis, sobre el sistema nervioso periférico, lo que puede explicar neuropatías asociadas a esta patología.
- En machos sometidos a deficiencia de hierro se prioriza la absorción de este mineral a glándulas suprarrenales, sistema nervioso periférico y globo ocular, como un posible mecanismo de defensa ante las alteraciones en estos órganos durante esta patología.
- Sujetos con deficiencia de hierro muestran menor captación del biosensor  $\text{Ga}^{67}$  en gónadas, ovarios y testículos respectivamente, lo que es un reflejo de los trastornos reproductivos que se observan en esta patología.

## Referencias.

1. Jose Boccio, Jimena Salgueiro, Alexis Lysionek, Marcela Zubillaga, Cinthia Goldman, Ricardo Weill RC. Metabolismo del hierro: conceptos actuales sobre un micronutriente esencial. Arch Latinoam Nutr [Internet]. 2003;53(2):119–32. Available from: [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222003000200002&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222003000200002&script=sci_arttext&tlng=pt)
2. Ganz T. Hpcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. Blood [Internet]. 2003 Aug 1 [cited 2019 Oct 10];102(3):783–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12663437>
3. Beard JL. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. J Nutr [Internet]. 2001 [cited 2019 Oct 10];131(2S-2):568S-579S; discussion 580S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11160590>
4. Granados CC. El impacto de los micronutrientes en la inmunidad de los animales. Nutr Anim Trop. 2015;9 (1):1–23.
5. Muñoz M, Villar I, García-Erce JA. An update on iron physiology. Vol. 15, World Journal of Gastroenterology. 2009. p. 4617–26.
6. Naigamwalla DZ, Webb JA, Giger U. Iron deficiency anemia. Can Vet J = La Rev Vet Can [Internet]. 2012 Mar [cited 2019 Oct 10];53(3):250–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22942439>
7. Martínez, C., Ros, G., Periago, M. J., López G. Biodisponibilidad del hierro en los alimentos. Arch Latinoam Nutr. 1999;49(2):106–13.
8. Nazanin Abbaspour, Richard Hurrell RK. Review on iron and its importance for human health. J Res Med Sci. 2014;19(2):164–74.
9. Bachman E, Trivison TG, Basaria S, Davda MN, Guo W, Li M, et al. Testosterone induces erythrocytosis via increased erythropoietin and suppressed hepcidin: Evidence for a new erythropoietin/hemoglobin set point. Journals Gerontol - Ser A Biol Sci Med Sci. 2014;69(6):725–35.
10. Bothwell TH, Charlton RW. A general approach to the problems of iron deficiency and iron overload in the population at large. Semin Hematol

- [Internet]. 1982 Jan [cited 2019 Oct 10];19(1):54–67. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6763339>
11. Medeiros DM, Beard JL. Dietary iron deficiency results in cardiac eccentric hypertrophy in rats. *Proc Soc Exp Biol Med* [Internet]. 1998 Sep [cited 2019 Oct 11];218(4):370–5. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9714082>
  12. Sen S, Bose T, Roy A, Chakraborti AS. Effect of non-enzymatic glycation on esterase activities of hemoglobin and myoglobin. *Mol Cell Biochem* [Internet]. 2007 Jul [cited 2019 Oct 11];301(1–2):251–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17549609>
  13. Mailloux RJ. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species. Vol. 4, *Redox Biology*. Elsevier B.V.; 2015. p. 381–98.
  14. Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and Function of NF- $\kappa$ B Transcription Factors in the Immune System. *Annu Rev Immunol*. 2009 Apr;27(1):693–733.
  15. Collins HL. The role of iron in infections with intracellular bacteria. *Immunol Lett* [Internet]. 2003 Jan 22 [cited 2019 Oct 11];85(2):193–5. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12527227>
  16. Ned RM, Swat W, Andrews NC. Transferrin receptor 1 is differentially required in lymphocyte development. *Blood* [Internet]. 2003 Nov 15 [cited 2019 Oct 11];102(10):3711–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12881306>
  17. Weiss G. Iron and immunity: a double-edged sword. *Eur J Clin Invest* [Internet]. 2002 Mar [cited 2019 Oct 11];32 Suppl 1:70–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11886435>
  18. Hassan TH, Badr MA, Karam NA, Zkaria M, El Saadany HF, Abdel Rahman DM, et al. Impact of iron deficiency anemia on the function of the immune system in children. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 2016 Nov [cited 2019 Oct 11];95(47):e5395. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27893677>

19. Steegmann-Olmedillas JL. The role of iron in tumour cell proliferation. *Clin Transl Oncol* [Internet]. 2011 Feb [cited 2019 Oct 11];13(2):71–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21324793>
20. Gunshin H, Mackenzie B, Berger U V, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* [Internet]. 1997 Jul 31 [cited 2019 Oct 11];388(6641):482–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9242408>
21. McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, Rolfs A, Sager G, Mudaly E, et al. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* [Internet]. 2001 Mar 2 [cited 2019 Oct 11];291(5509):1755–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11230685>
22. Gulec S, Anderson GJ, Collins JF. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* [Internet]. 2014 Aug 15 [cited 2019 Oct 11];307(4):G397-409. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24994858>
23. Galy B, Ferring-Appel D, Becker C, Gretz N, Gröne H-J, Schümann K, et al. Iron regulatory proteins control a mucosal block to intestinal iron absorption. *Cell Rep* [Internet]. 2013 Mar 28 [cited 2019 Oct 11];3(3):844–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23523353>
24. Núñez MT. Regulatory mechanisms of intestinal iron absorption-uncovering of a fast-response mechanism based on DMT1 and ferroportin endocytosis. *Biofactors* [Internet]. 2010 [cited 2019 Oct 11];36(2):88–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20232409>
25. Shi H, Bencze KZ, Stemmler TL, Philpott CC. A cytosolic iron chaperone that delivers iron to ferritin. *Science* [Internet]. 2008 May 30 [cited 2019 Oct 11];320(5880):1207–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18511687>
26. Liu X, Theil EC. Ferritin as an iron concentrator and chelator target. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2005 [cited 2019 Oct 11];1054:136–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16339659>

27. Larson JA, Howie HL, So M. Neisseria meningitidis accelerates ferritin degradation in host epithelial cells to yield an essential iron source. *Mol Microbiol* [Internet]. 2004 Aug [cited 2019 Oct 11];53(3):807–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15255894>
28. Le NTV, Richardson DR. Ferroportin1: A new iron export molecule? Vol. 34, *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. Elsevier Ltd; 2002. p. 103–8.
29. Young S, Bomford A. Transferrin and cellular iron exchange. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 1984 Sep [cited 2019 Oct 14];67(3):273–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6088154>
30. Yeh K-Y, Yeh M, Mims L, Glass J. Iron feeding induces ferroportin 1 and hephaestin migration and interaction in rat duodenal epithelium. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* [Internet]. 2009 Jan [cited 2019 Oct 14];296(1):G55-65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18974313>
31. Waldvogel-Abramowski S, Waeber G, Gassner C, Buser A, Frey BM, Favrat B, et al. Physiology of iron metabolism. Vol. 41, *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. S. Karger AG; 2014. p. 213–21.
32. Brown PJ, Johnson PM. Isolation of a transferrin receptor structure from sodium deoxycholate-solubilized human placental syncytiotrophoblast plasma membrane. *Placenta* [Internet]. 1981 [cited 2019 Oct 14];2(1):1–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6259638>
33. Silva B, Faustino P. An overview of molecular basis of iron metabolism regulation and the associated pathologies. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2015 Jul [cited 2019 Oct 14];1852(7):1347–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25843914>
34. Gunshin H, Allerson CR, Polycarpou-Schwarz M, Rofts A, Rogers JT, Kishi F, et al. Iron-dependent regulation of the divalent metal ion transporter. *FEBS Lett* [Internet]. 2001 Dec 7 [cited 2019 Oct 14];509(2):309–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11741608>
35. Goossen B, Hentze MW. Position is the critical determinant for function of

- iron-responsive elements as translational regulators. *Mol Cell Biol* [Internet]. 1992 May [cited 2019 Oct 14];12(5):1959–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1569933>
36. Sanchez M, Galy B, Dandekar T, Bengert P, Vainshtein Y, Stolte J, et al. Iron regulation and the cell cycle: identification of an iron-responsive element in the 3'-untranslated region of human cell division cycle 14A mRNA by a refined microarray-based screening strategy. *J Biol Chem* [Internet]. 2006 Aug 11 [cited 2019 Oct 14];281(32):22865–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16760464>
  37. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001 Jul 17 [cited 2019 Oct 14];98(15):8780–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11447267>
  38. 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* [Internet]. 2001 Mar 16 [cited 2019 Oct 14];276(11):7811–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11113132>
  39. Zhang A-S, Anderson SA, Wang J, Yang F, DeMaster K, Ahmed R, et al. Suppression of hepatic hepcidin expression in response to acute iron deprivation is associated with an increase of matriptase-2 protein. *Blood* [Internet]. 2011 Feb 3 [cited 2019 Oct 14];117(5):1687–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21115976>
  40. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* [Internet]. 2004 Dec 17 [cited 2019 Oct 14];306(5704):2090–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15514116>
  41. D'Alessio F, Hentze MW, Muckenthaler MU. The hemochromatosis proteins HFE, TfR2, and HJV form a membrane-associated protein complex for

- hepcidin regulation. *J Hepatol* [Internet]. 2012 Nov [cited 2019 Oct 14];57(5):1052–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22728873>
42. Gao J, Chen J, Kramer M, Tsukamoto H, Zhang AS, Enns CA. Interaction of the Hereditary Hemochromatosis Protein HFE with Transferrin Receptor 2 Is Required for Transferrin-Induced Heparin Expression. *Cell Metab*. 2009 Mar 4;9(3):217–27.
  43. Wallace DF, Summerville L, Crampton EM, Frazer DM, Anderson GJ, Subramaniam VN. Combined deletion of Hfe and transferrin receptor 2 in mice leads to marked dysregulation of hepcidin and iron overload. *Hepatology* [Internet]. 2009 Dec [cited 2019 Oct 14];50(6):1992–2000. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19824072>
  44. Kautz L, Meynard D, Monnier A, Darnaud V, Bouvet R, Wang R-H, et al. Iron regulates phosphorylation of Smad1/5/8 and gene expression of Bmp6, Smad7, Id1, and Atoh8 in the mouse liver. *Blood* [Internet]. 2008 Aug 15 [cited 2019 Oct 14];112(4):1503–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18539898>
  45. Lou D-Q, Lesbordes J-C, Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Van Rooijen N, et al. Iron- and inflammation-induced hepcidin gene expression in mice is not mediated by Kupffer cells in vivo. *Hepatology* [Internet]. 2005 May [cited 2019 Oct 14];41(5):1056–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15793843>
  46. Collins HL, Kaufmann SHE, Schaible UE. Iron chelation via deferoxamine exacerbates experimental salmonellosis via inhibition of the nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-dependent respiratory burst. *J Immunol* [Internet]. 2002 Apr 1 [cited 2019 Oct 14];168(7):3458–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11907105>
  47. Chlosta S, Fishman DS, Harrington L, Johnson EE, Knutson MD, Wessling-Resnick M, et al. The iron efflux protein ferroportin regulates the intracellular growth of *Salmonella enterica*. *Infect Immun*. 2006 May;74(5):3065–7.
  48. Choi S-O, Cho Y-S, Kim H-L, Park J-W. ROS mediate the hypoxic repression

of the hepcidin gene by inhibiting C/EBPalpha and STAT-3. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2007 Apr 27 [cited 2019 Oct 14];356(1):312–7. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17349976>

49. Gardenghi S, Grady RW, Rivella S. Anemia, ineffective erythropoiesis, and hepcidin: Interacting factors in abnormal iron metabolism leading to iron overload in  $\beta$ -thalassemia. Vol. 24, *Hematology/Oncology Clinics of North America*. 2010. p. 1089–107.
50. Kautz L, Jung G, Du X, Gabayan V, Chapman J, Nasoff M, et al. Erythroferrone contributes to hepcidin suppression and iron overload in a mouse model of  $\beta$ -thalassemia. *Blood* [Internet]. 2015 Oct 22 [cited 2019 Oct 14];126(17):2031–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26276665>
51. Flamme I, Fröhlich T, von Reutern M, Kappel A, Damert A, Risau W. HRF, a putative basic helix-loop-helix-PAS-domain transcription factor is closely related to hypoxia-inducible factor-1 alpha and developmentally expressed in blood vessels. *Mech Dev* [Internet]. 1997 Apr [cited 2019 Oct 14];63(1):51–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9178256>
52. Shen R-J, Jiang X-Y, Pu J-W, Zou S-M. HIF-1alpha and -2alpha genes in a hypoxia-sensitive teleost species *Megalobrama amblycephala*: cDNA cloning, expression and different responses to hypoxia. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* [Internet]. 2010 Nov [cited 2019 Oct 14];157(3):273–80. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20615476>
53. World Health Organization (2011). The Global Prevalence of Anaemia. *WHO Rep* [Internet]. 2011 [cited 2019 Oct 15];48. Available from:  
[http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/177094/1/9789241564960\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/177094/1/9789241564960_eng.pdf?ua=1)
54. McLean E, Cogswell M, Egli I, Wojdyla D, De Benoist B. Worldwide prevalence of anaemia, WHO Vitamin and Mineral Nutrition Information System, 1993-2005. *Public Health Nutr*. 2009 Apr;12(4):444–54.

55. Stoltzfus RJ. Iron deficiency: global prevalence and consequences. *Food Nutr Bull*. 2003;24(4\_suppl):S99-S103.
56. Viteri FE. A new concept in the control of iron deficiency: community-based preventive supplementation of at-risk groups by the weekly intake of iron supplements. *Biomed Environ Sci [Internet]*. 1998 Mar [cited 2019 Oct 15];11(1):46–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9559102>
57. Rivera Dommarco JÁ. Deficiencias de micronutrientos en México: un problema invisible de salud pública. 2012;101–2.
58. Bermejo F, García-López S. A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases. *World J Gastroenterol [Internet]*. 2009 Oct 7 [cited 2019 Oct 15];15(37):4638–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19787826>
59. McIntyre AS, Long RG. Prospective survey of investigations in outpatients referred with iron deficiency anaemia. *Gut [Internet]*. 1993 Aug [cited 2019 Oct 15];34(8):1102–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8174963>
60. Yates JM, Logan ECM, Stewart RM. Iron deficiency anaemia in general practice: clinical outcomes over three years and factors influencing diagnostic investigations. *Postgrad Med J [Internet]*. 2004 Jul [cited 2019 Oct 15];80(945):405–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15254305>
61. Crichton R. Iron Metabolism: From Molecular Mechanisms to Clinical Consequences. 3rd ed. West Sussex UJW and S, editor. 2009. 141–325 p.
62. Handelman GJ, Levin NW. Iron and anemia in human biology: A review of mechanisms. Vol. 13, *Heart Failure Reviews*. 2008. p. 393–404.
63. Walters GO, Miller FM, Worwood M. Serum ferritin concentration and iron stores in normal subjects. *J Clin Pathol*. 1973;26(10):770–2.
64. Vernet M, Doyen C. Assessment of iron status with a new fully automated assay for transferrin receptor in human serum. *Clin Chem Lab Med*. 2000;38(5):437–42.

65. 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(1):45–51.
66. Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. Vol. 116, *Blood*. 2010. p. 4754–61.
67. Koerper MA, Dallman PR. Serum iron concentration and transferrin saturation in the diagnosis of iron deficiency in children: Normal developmental changes. *J Pediatr*. 1977;91(6):870–4.
68. Greenburg AG. Pathophysiology of anemia. *Am J Med* [Internet]. 1996 Aug [cited 2019 Oct 15];101(2):7S-11S. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002934396001611>
69. Keel SB, Doty RT, Yang Z, Quigley JG, Chen J, Knoblaugh S, et al. A heme export protein is required for red blood cell differentiation and iron homeostasis. *Science* [Internet]. 2008 Feb 8 [cited 2019 Oct 15];319(5864):825–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18258918>
70. Alves RA, Miszputen SJ, Figueiredo MS. Anemia in inflammatory bowel disease: prevalence, differential diagnosis and association with clinical and laboratory variables. *Sao Paulo Med J*. 2014;132(3):140–6.
71. Rector WG. Pica: its frequency and significance in patients with iron-deficiency anemia due to chronic gastrointestinal blood loss. *J Gen Intern Med* [Internet]. 1989 [cited 2019 Oct 16];4(6):512–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2585159>
72. Earley CJ, Connor JR, Beard JL, Malecki EA, Epstein DK, Allen RP. Abnormalities in CSF concentrations of ferritin and transferrin in restless legs syndrome. *Neurology* [Internet]. 2000 Apr 25 [cited 2019 Oct 16];54(8):1698–700. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10762522>
73. Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, Kapaskelis A, Gkegkes I, Falagas ME. Iron deficiency and susceptibility to infections: evaluation of the clinical evidence. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2013 Oct [cited 2019 Oct 16];32(10):1253–8. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23595586>

74. Dignass AU, Gasche C, Bettenworth D, Birgegård G, Danese S, Gisbert JP, et al. European consensus on the diagnosis and management of iron deficiency and anaemia in inflammatory bowel diseases. *J Crohn's Colitis*. 2015;9(3):211–22.
75. Johnson Wimbley TD, Graham DY. Diagnosis and management of iron deficiency anemia in the 21st century. Vol. 4, *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2011. p. 177–84.
76. Xu G, Jiang Z, Wang H, Lin R. The central circadian clock proteins CCA1 and LHY regulate iron homeostasis in Arabidopsis. *J Integr Plant Biol* [Internet]. 2019 Feb [cited 2019 Oct 16];61(2):168–81. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29989313>
77. Ali MA, Luxton AW, Walker WH. Serum ferritin concentration and bone marrow iron stores: a prospective study. *Can Med Assoc J* [Internet]. 1978 Apr 22 [cited 2019 Nov 21];118(8):945–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/647567>
78. Jimenez K, Kulnigg-Dabsch S, Gasche C. Management of iron deficiency Anemia. *Gastroenterol Hepatol*. 2015 Apr 1;11(4):241–50.
79. Skikne BS. Serum transferrin receptor. Vol. 83, *American Journal of Hematology*. 2008. p. 872–5.
80. World Health Organization. Serum transferrin receptor levels for the assessment of iron status and iron deficiency in populations. 2014.
81. World Health Organization & C for DC and P. Assessing the iron status of populations. Geneva: World Health Organization. 2007.
82. Infusino I, Braga F, Dolci A, Panteghini M. Soluble transferrin receptor (sTfR) and sTfR/log ferritin index for the diagnosis of iron-deficiency anemia: A meta-analysis. *Am J Clin Pathol*. 2012 Nov;138(5):642–9.
83. Bernstein LR. Mechanisms of therapeutic activity for gallium. Vol. 50, *Pharmacological Reviews*. 1998. p. 665–82.
84. Harris WR, Pecoraro VL. Thermodynamic binding constants for gallium transferrin. *Biochemistry* [Internet]. 1983 Jan 18 [cited 2019 Oct

- 16];22(2):292–9. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6402006>
85. Hacht B. Gallium(III) ion hydrolysis under physiological conditions. *Bull Korean Chem Soc.* 2008 Feb 20;29(2):372–6.
  86. Chitambar CR. Gallium and its competing roles with iron in biological systems. *Biochim Biophys Acta* [Internet]. 2016 [cited 2019 Oct 16];1863(8):2044–53. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27150508>
  87. Chitambar CR, Zivkovic Z. Uptake of Gallium-67 by Human Leukemic Cells: Demonstration of Transferrin Receptor-dependent and Transferrin-independent Mechanisms. *Cancer Res.* 1987;47(15):3929–34.
  88. Vallabhajosula SR, Harwig JF, Siemsen JK, Wolf W. Radiogallium localization in tumors: blood binding and transport and the role of transferrin. *J Nucl Med* [Internet]. 1980 Jul [cited 2019 Oct 17];21(7):650–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7391839>
  89. Nejmeddine F, Caillat-Vigneron N, Escaig F, Moretti JL, Raphael M, Galle P. Mechanism involved in gallium-67 (Ga-67) uptake by human lymphoid cell lines. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* [Internet]. 1998 Dec [cited 2019 Oct 17];44(8):1215–20. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9874508>
  90. Chitambar CR, Seligman PA. Effects of different transferrin forms on transferrin receptor expression, iron uptake, and cellular proliferation of human leukemic HL60 cells. Mechanisms responsible for the specific cytotoxicity of transferrin-gallium. *J Clin Invest.* 1986;78(6):1538–46.
  91. Chitambar CR, Craig A, Ash RC. Transferrin receptor-mediated suppression of in vitro hematopoiesis by transferrin-gallium. *Exp Hematol* [Internet]. 1989 Jun [cited 2019 Oct 17];17(5):418–22. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2714421>
  92. Chitambar CR, Sax D. Regulatory effects of gallium on transferrin-independent iron uptake by human leukemic HL60 cells. *Blood.* 1992;80(2):505–11.

93. Weiner RE, Schreiber GJ, Hoffer PB. In vitro transfer of Ga-67 from transferrin to ferritin. *J Nucl Med* [Internet]. 1983 Jul [cited 2019 Oct 18];24(7):608–14. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6864313>
94. Palestro CJ. The current role of gallium imaging in infection. *Semin Nucl Med* [Internet]. 1994 Apr [cited 2019 Oct 18];24(2):128–41. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8023169>
95. Logan KJ, Ng PK, Turner CJ, Schmidt PR, Turner UK, Scott JR, et al. Comparative pharmacokinetics of 67 Ga and 59 Fe in humans. *Int J Nucl Med Biol* [Internet]. 1981 [cited 2019 Oct 18];8(4):271–6. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6948783>
96. Sharma V, Beatty A, Wey SP, Dahlheimer J, Pica CM, Crankshaw CL, et al. Novel gallium(III) complexes transported by MDR1 P-glycoprotein: Potential PET imaging agents for probing P-glycoprotein-mediated transport activity in vivo. *Chem Biol*. 2000 May 1;7(5):335–43.
97. Collery P, Lechenault F, Cazabat A, Juvin E, Khassanova L, Evangelou A, et al. Inhibitory effects of gallium chloride and tris (8-quinolinolato) gallium III on A549 human malignant cell line. *Anticancer Res* [Internet]. 2000 [cited 2019 Oct 17];20(2A):955–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10810380>
98. Aulin KP. Gender-specific issues. *J Sports Sci*. 1995;13:S35–9.
99. Kong W-N, Niu Q-M, Ge L, Zhang N, Yan S-F, Chen W-B, et al. Sex differences in iron status and hepcidin expression in rats. *Biol Trace Elem Res* [Internet]. 2014 Aug [cited 2019 Oct 21];160(2):258–67. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24962641>
100. Singh B, Arora S, Agrawal P, Gupta SK. Hepcidin: A novel peptide hormone regulating iron metabolism. Vol. 412, *Clinica Chimica Acta*. 2011. p. 823–30.
101. Lu JP, Hayashi K, Awai M. Transferrin receptor expression in normal, iron-deficient and iron-overloaded rats. *Acta Pathol Jpn* [Internet]. 1989 Dec [cited 2019 Oct 21];39(12):759–64. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2624102>

102. Saboor M, Moinuddin, Naureen A. Soluble transferrin receptor: a differentiating marker between iron deficiency anaemia and anaemia of chronic disorders. *J Ayub Med Coll Abbottabad* [Internet]. 2011 [cited 2019 Oct 21];23(3):115–8. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23272450>
103. Li YQ, Cao XX, Bai B, Zhang JN, Wang MQ, Zhang YH. Severe iron deficiency is associated with a reduced conception rate in female rats. *Gynecol Obstet Invest*. 2014 Jan;77(1):19–23.
104. Siddiqui AM, Siddiqui MM, Siddiqui SM, Fatima SA. Iron intake and risk of ovulatory infertility. *Pakistan J Med Heal Sci*. 2018 Jan 1;12(1):135–7.
105. Kabakus N, Ayar A, Yoldas TK, Ulvi H, Dogan Y, Yilmaz B, et al. Reversal of iron deficiency anemia-induced peripheral neuropathy by iron treatment in children with iron deficiency anemia. *J Trop Pediatr*. 2002;48(4):204–9.
106. Akyol A, Kiylioglu N, Kadikoylu G, Bolaman AZ, Ozgel N. Iron deficiency anemia and restless legs syndrome: is there an electrophysiological abnormality? *Clin Neurol Neurosurg* [Internet]. 2003 Dec [cited 2019 Oct 20];106(1):23–7. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14643912>
107. Stamboulis E, Vlachou N, Drossou-Servou M, Tsaftaridis P, Koutsis G, Katsaros N, et al. Axonal sensorimotor neuropathy in patients with  $\beta$ -thalassaemia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2004 Oct;75(10):1483–6.
108. Barakat-Haddad C. Prevalence of high blood pressure, heart disease, thalassemia, sickle-cell anemia, and iron-deficiency anemia among the UAE adolescent population. *J Environ Public Health* [Internet]. 2013 [cited 2019 Oct 20];2013:680631. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23606864>
109. DeMaman AS, Homem JM, Lachat J-J. Early iron deficiency produces persistent damage to visual tracts in Wistar rats. *Nutr Neurosci* [Internet]. 2008 Dec [cited 2019 Oct 20];11(6):283–9. Available from:  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19000382>
110. Coskun M, Sevencan NO. The evaluation of ophthalmic findings in women

patients with iron and vitamin B12 deficiency anemia. *Transl Vis Sci Technol*. 2018 Jul 1;7(4).

111. Coviello AD, Kaplan B, Lakshman KM, Chen T, Singh AB, Bhasin S. Effects of graded doses of testosterone on erythropoiesis in healthy young and older men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Mar [cited 2019 Oct 20];93(3):914–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18160461>
112. Roy CN, Snyder PJ, Stephens-Shields AJ, Artz AS, Bhasin S, Cohen HJ, et al. Association of testosterone levels with anemia in older men a controlled clinical trial. *JAMA Intern Med*. 2017 Apr 1;177(4):480–90.
113. Soliman A, Yassin M, De Sanctis V. Intravenous iron replacement therapy in eugonadal males with iron-deficiency anemia: Effects on pituitary gonadal axis and sperm parameters; A pilot study. *Indian J Endocrinol Metab*. 2014 May 1;18(3):310–6.
114. Chatterjee R, Katz M, Cox T, Bantock H. Evaluation of growth hormone in thalassaemic boys with failed puberty: spontaneous versus provocative test. *Eur J Pediatr* [Internet]. 1993 Sep [cited 2019 Oct 20];152(9):721–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8223800>