



Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Química



Programa de
Maestría en Ciencias Químicas

**ASOCIACIÓN DE LOS NIVELES DE HIERRO
Y HEPCIDINA CON ESTRÉS OXIDATIVO Y
ALTERACIONES METABÓLICAS
EN MUJERES EMBARAZADAS**

TESIS

**Que para obtener el título de
Maestra en Ciencias Químicas**

Presenta:

Q. F. B. Karla Mariana Ortega López

Comité tutorial:

Dra. en C. Q. B. Araceli Amaya Chávez

Dra. Patricia Vieyra Reyes

Dr. Hugo Mendieta Zerón

Toluca, Estado de México; Noviembre 2020.

ÍNDICE GENERAL.	
ÍNDICE DE FIGURAS	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	4
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	4
GLOSARIO DE ABREVIATURAS	5
1. RESUMEN	7
2. ABSTRACT.....	8
3. ANTECEDENTES	9
ALTERACIONES METABÓLICAS EN EL EMBARAZO	9
<i>Diabetes mellitus gestacional</i>	10
<i>Preeclampsia</i>	10
<i>Dislipidemias</i>	11
HIERRO EN EMBARAZO.....	12
METABOLISMO DE HIERRO	14
<i>Absorción</i>	15
<i>Distribución</i>	17
<i>Reserva</i>	18
<i>Eliminación</i>	19
ESTRÉS OXIDATIVO	19
<i>Radicales libres</i>	19
<i>Efecto nocivo de las especies reactivas de oxígeno en lípidos</i>	21
<i>Mecanismos de defensa antioxidante enzimática</i>	22
SOD.....	22
CAT	23
Sistema glutatión	23
SOBRECARGA DE HIERRO Y ESTRÉS OXIDATIVO	24
FARMACOCINÉTICA DEL SULFATO FERROSO.....	25
<i>Absorción</i>	25
<i>Distribución</i>	26
<i>Biodisponibilidad</i>	26
Estimuladores	26
Inhibidores	27

<i>Eliminación</i>	28
HEPCIDINA.....	28
<i>Hepcidina en el embarazo</i>	30
4. JUSTIFICACIÓN	32
5. HIPÓTESIS	33
6. OBJETIVOS	33
OBJETIVO GENERAL	33
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
7. METODOLOGÍA	34
TIPO DE ESTUDIO.....	34
POBLACIÓN EN ESTUDIO.....	34
<i>Criterios de inclusión</i>	34
<i>Criterios de exclusión</i>	34
<i>Criterios de eliminación</i>	34
ASPECTOS ÉTICOS.....	35
VALORACIÓN DEL ESTADO DE SALUD.....	35
TOMA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS.....	35
BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO	35
<i>Nivel de Lipoperoxidación</i>	35
<i>Actividad enzimática de SOD</i>	36
<i>Actividad enzimática de CAT</i>	36
<i>Actividad enzimática de GPx</i>	37
PERFIL DE HIERRO	37
CUANTIFICACIÓN DE HEPCIDINA.....	37
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	39
8. RESULTADOS	40
CARACTERÍSTICAS POBLACIONALES	40
BIOMARCADORES EN ESTUDIO	41
ARTÍCULO ENVIADO Y PUBLICADO	47
9. DISCUSIÓN	57
10. CONCLUSIONES GENERALES	62
11. REFERENCIAS	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Recambio del hierro en el organismo.....	15
Figura 2. Absorción de hierro en el enterocito	17
Figura 3. Secuencia aminoacídica y modelo tridimensional de la hepcidina humana ...	29

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características poblacionales.	40
Tabla 2. Medias de los resultados de química sanguínea, estrés oxidativo y hepcidina	41
Tabla 3. Medias de los resultados de química sanguínea, estrés oxidativo y hepcidina	44
Tabla 4. Correlación del perfil de hierro y hepcidina con química sanguínea y estrés oxidativo.	46

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparación entre el 2º.y 3er. trimestre de embarazo de colesterol, triglicéridos, SOD, GPx, LPOx y hepcidina	43
Gráfica 2. Comparación entre el 2º.y 3er. trimestre de embarazo de colesterol, triglicéridos, colesterol, GPx y LPOx.....	45

GLOSARIO DE ABREVIATURAS

RI	Resistencia a la Insulina
DMG	Diabetes mellitus gestacional
IMMS	Instituto Mexicano del Seguro Social
PAS	Presión Arterial Sistólica
PAD	Presión Arterial Diastólica
ADN	Ácido desoxirribonucleico
LDL	Lipoproteína de baja densidad (Low Density Lipoprotein)
HDL	Lipoproteína de alta densidad (High Density Lipoprotein)
OMS	Organización Mundial de la Salud
DCytB	Enzima citocromo B reductasa duodenal
DMT1	Transportador de metales divalentes
PTH	Proteína transportadora del hemo
Fpn	Ferroportina
RTf	Receptor de transferrina
Tf	Transferrina
ATP	Adenosín trifosfato
RL	Radical libre
EROs	Especies reactivas de oxígeno
MDA	Malondialdehído
SOD	Superóxido dismutasa
CAT	Catalasa
GPx	Glutación peroxidasa
GR	Glutación reductasa
GST	Glutación-S-transferasa
GSSG	Glutación disulfuro
GSH	Glutación reducido no enzimático
Hpc	Hepcidina
LPOx	Lipoperoxidación
HMPMPS	Hospital Perinatal Materno "Mónica Pretelini Sáenz"
ISEM	Instituto de Salud del Estado de México

MEEN	Mujeres con embarazo evolutivo normal o normogestas
MER	Mujeres con embarazo de riesgo
CEM	Coefficiente de Extracción Molar
IMC	Índice de masa corporal
TIBC	Capacidad total de fijación de hierro (Total Iron-Binding Capacity)
UIBC	Capacidad latente de fijación de hierro (Unsaturated Iron-Binding Capacity)

1. RESUMEN

Entre el 2% y 5% de los embarazos, han sido asociados con alteraciones metabólicas, entre las que se encuentran hipertensión y diabetes gestacional; el 40.1% corresponde a embarazos con déficits nutrimentales asociados a anemia, de estos, el 50% de casos obedecen a carencia de hierro, por lo que la Organización Mundial de la Salud propuso 30 mg de hierro/día como dosis profiláctica durante el embarazo tomando en cuenta que esta cantidad sería lo recomendable para no desarrollar anemia y 60 mg en lugares donde la anemia en mujeres embarazadas es un problema de salud pública. La implicación de hierro en diversas patologías ha avanzado considerablemente desde el descubrimiento de la hepcidina, principal hormona reguladora de la absorción de hierro. El objetivo de éste trabajo fue determinar la relación entre niveles de hierro, producción de hepcidina y estrés oxidativo durante segundo y tercer trimestre de embarazo en mujeres con prescripción profiláctica de hierro para así determinar su injerencia como posible causa de alteraciones metabólicas, conformando dos grupos: mujeres con embarazo evolutivo normal (MEEN) y mujeres con embarazo de riesgo (MER), atendidas en el Hospital Perinatal Materno "Mónica Pretelini Sáenz", cuantificando la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx, así como los niveles de LPOx, perfil de hierro y cuantificación de hepcidina. Los datos sociodemográficos se analizaron mediante estadística descriptiva. Las medias de los biomarcadores en estudio se compararon mediante la prueba según su normalidad de Kolmogorov Smirnov y U de Mann Whitney, para analizar la correlación entre biomarcadores, se realizó una correlación de Spearman para determinar la asociación del perfil de hierro, hepcidina, estrés oxidativo y química sanguínea (glucosa, colesterol y triglicéridos). Encontramos diferencias significativas en los niveles de hepcidina entre MEEN y MER en el segundo trimestre (3.6 ± 4.2 vs 4.69 ± 3.23 $p = 0.005$) y el tercer trimestre (3.65 ± 3.44 frente a 6.84 ± 5.14 $p = 0.02$). La actividad de SOD y GPx aumentó significativamente entre el segundo y el tercer trimestre en ambos grupos. La concentración sérica de hierro tuvo una relación negativa con CAT (-0.599 ; $p = 0.04$) y una relación positiva con GPx (0.729 ; $p = 0.007$). Concluimos que el aumento de los niveles séricos de hierro podría inducir daño oxidativo y ser una de las causas probables de cambios metabólicos en el embarazo. El aumento de hepcidina es un biomarcador útil para determinar la disponibilidad de hierro en el embarazo y su asociación con sistemas antioxidantes.

2. ABSTRACT

Between 2% and 5% of pregnancies have been associated with metabolic disorders, among which are hypertension and gestational diabetes; 40.1% correspond to pregnancies with nutritional deficiencies associated with anemia, of these, 50% of cases are due to iron deficiency, which is why the World Health Organization proposed 30 mg of iron / day as a prophylactic dose during pregnancy, taking into account that this amount would be recommended to avoid developing anemia and 60 mg in places where anemia in pregnant women is a public health problem. The involvement of iron in various pathologies has advanced considerably since the discovery of hepcidin, the main hormone that regulates iron absorption. The objective of this work was to determine the relationship between iron levels, hepcidin production and oxidative stress during the second and third trimesters of pregnancy in women with prophylactic iron prescription in order to determine its interference as a possible cause of metabolic alterations, forming two groups: women with normal evolutionary pregnancy (MEEN) and women with risk pregnancy (ERM), treated at the "Mónica Pretelini Sáenz" Maternal Perinatal Hospital, quantifying the activity of the antioxidant enzymes SOD, CAT and GPx, as well as the levels of LPOx, iron profile and hepcidin quantification. Sociodemographic data were analyzed using descriptive statistics. The means of the biomarkers under study were compared using the Kolmogorov Smirnov and Mann Whitney U test according to their normality, to analyze the correlation between biomarkers, a Spearman correlation was performed to determine the association of the iron profile, hepcidin, oxidative stress and blood chemistry (glucose, cholesterol and triglycerides). We found significant differences in hepcidin levels between MEEN and MER in the second trimester (3.6 ± 4.2 vs 4.69 ± 3.23 $p = 0.005$) and the third trimester (3.65 ± 3.44 vs 6.84 ± 5.14 $p = 0.02$). SOD and GPx activity increased significantly between the second and third trimesters in both groups. The serum iron concentration had a negative relationship with CAT (-0.599 ; $p = 0.04$) and a positive relationship with GPx (0.729 ; $p = 0.007$). We concluded that the increase in serum iron levels could induce oxidative damage and be one of the probable causes of metabolic changes in pregnancy. Increased hepcidin is a useful biomarker to determine iron availability in pregnancy and its association with antioxidant systems.

3. ANTECEDENTES

Alteraciones metabólicas en el embarazo

Muchos procesos pueden alterar el embarazo, entre los más importantes es el nutricional que afecta de manera directa al sistema endócrino y ocasionan en el cuerpo una inadecuada reacción metabólica (Intriago et al, 2017), hay un desbalance de sustancias químicas, provocando reacciones que desestabilizan a órganos vitales tales como hígado y páncreas. En el embarazo se pueden manifestar alteraciones como hipertensión, diabetes o alteraciones tiroideas (Yépez MC et al, 2011). El porcentaje de mujeres embarazadas que padecen alteraciones metabólicas oscila entre el 2% y el 5%, siendo más frecuente en mujeres mayores de treinta años (Zhuang et al, 2014).

Las alteraciones metabólicas están relacionadas con la resistencia a la insulina y la obesidad abdominal. La insulina es una hormona anabólica secretada por las células β del páncreas en respuesta a diversos estímulos, siendo la glucosa el más relevante. Su principal función es mantener la homeostasis glicémica, así como el transporte de aminoácidos en tejido muscular, síntesis de lípidos. De esta forma, posterior a cada comida, la insulina suprime la liberación de ácidos grasos libres y favorece la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo. Por otra parte, la insulina inhibe la producción hepática de glucosa, mientras que promueve la captación de glucosa por el tejido muscular esquelético y adiposo (Galgani JE et al, 2012). La resistencia a la insulina (RI) es la disminución de la sensibilidad a la insulina en la captación y metabolismo de la glucosa en los tejidos periféricos (fundamentalmente tejido graso y músculo), lo que produce, en consecuencia, aumento de la síntesis y secreción de insulina por las células β del páncreas (Scioscia M et al, 2009).

El embarazo es un síndrome metabólico transitorio que predispone la disfunción epitelial, hay un incremento del gasto cardiaco, tendencia a la hipercoagulabilidad, aumento de marcadores de inflamación, después de la semana 20 resistencia a la insulina y dislipemia. Todos estos factores son proaterogénicos y se encuentran más acentuados en la paciente que desarrolla hipertensión, puede persistir en el posparto y se evidencia con un incremento del índice de masa corporal, de la presión arterial y triglicéridos (Gallo JL et al, 2010).

Diabetes mellitus gestacional

La diabetes mellitus gestacional (DMG) se define como la intolerancia a los carbohidratos de gravedad variable con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo, es un trastorno heterogéneo en el que la edad, la obesidad y los antecedentes genéticos contribuyen a la gravedad de la enfermedad (Chatzi L et al, 2009). Afecta del 6 al 8% de las mujeres embarazadas, habiéndose relacionado su presencia con un aumento de la morbimortalidad fetal y neonatal. La hiperinsulinemia es la anomalía más precoz, generando posteriormente un incremento de la producción hepática de glucosa, hiperglucemia que puede predisponer a algunas mujeres a desarrollar diabetes durante la gestación. La insulinoresistencia se favorece por la secreción placentaria de hormonas diabetógenas (hormona del crecimiento, cortisol, lactógeno placentario y progesterona), así como por el aumento de la adiposidad materna (Damm P, 2009).

Después del embarazo, entre el 5 y el 10% de las mujeres que tuvieron diabetes gestacional, tienen hasta un 50% más de posibilidades de presentar diabetes mellitus tipo 2 en los próximos 5 a 10 años. En pacientes con diabetes gestacional, existe un aumento en el desarrollo de preeclampsia, que se sitúa alrededor del 20% en la población total de diabéticas (IMSS, 2010).

Preeclampsia

Entre las mujeres embarazadas con hipertensión crónica, la preeclampsia ocurre cuando, después de 20 semanas de gestación, hay un aumento de presión arterial (PAS > 140 mmHg, PAD > 90 mmHg), proteinuria (300 mg / L / día) y edema, o hay evidencia clínica o de laboratorio de daño orgánico, como trombocitopenia, insuficiencia hepática, edema pulmonar o convulsiones, existen factores de riesgo como la hipertensión crónica, diabetes mellitus y obesidad para el desarrollo de esta enfermedad (Casagrande L, 2020). Afecta del 2 al 7% de las mujeres, y es una de las causas principales de morbilidad y mortalidad perinatal y materna (Mendieta H et al, 2013), se ha asociado con retraso del crecimiento, bajo peso al nacer y parto prematuro, muerte fetal, desprendimiento placentario y muerte materna (Sutton AL et al, 2018).

Los ajustes metabólicos maternos notables y la presencia de componentes del síndrome metabólico (hipertensión, colesterol elevado, hiperglucemia y exceso de grasa corporal alrededor de la cintura), así como el estrés oxidativo debido a la hiperlipidemia se perciben como un factor de riesgo importante para la preeclampsia. Durante el embarazo, las mujeres con preeclampsia tienen más probabilidades de presentar hipertrigliceridemia relativa, hipercolesterolemia y diabetes gestacional. Estas mujeres continúan demostrando factores de riesgo elevado para trastornos cardiovasculares, como función endotelial deteriorada, tolerancia a la glucosa alterada, resistencia a la insulina y diabetes mellitus (Bukhari SA et al, 2011).

A nivel mundial se presentan 50,000 muertes maternas por preeclampsia-eclampsia; en países en vías de desarrollo como México, el Caribe y América Latina, constituyen la principal causa de muerte materna (son responsables de una cuarta parte de ellas). En México, de acuerdo con la Secretaría de Salud, la preeclampsia-eclampsia representa la causa de hasta 34% del total de las muertes maternas, por lo que se trata de la principal causa de muerte asociada a complicaciones del embarazo (Arellano V, 2016).

Dislipidemias

Los cambios hormonales durante el embarazo inducen alteraciones en el metabolismo de los lípidos y se acompañan de variaciones significativas en el balance oxidante/antioxidante. La acumulación de grasa y la hiperlipidemia son los dos cambios principales en el metabolismo de los lípidos asociados con la gestación (Bukhari et al, 2011).

El metabolismo anormal de los lípidos y las altas concentraciones de peróxido lipídico pueden contribuir al estrés oxidativo y a la disfunción vascular (Bhat PV et al, 2019). La dislipidemia asociada al estrés oxidativo con el avance de la edad gestacional se ha evaluado con base a los cambios en la adiposidad materna y al perfil lipídico en mujeres embarazadas sanas, con el daño del ADN y la capacidad antioxidante total, en el tercer trimestre se han reportado niveles altos de grasa corporal total, colesterol, triglicéridos y LDL-C, y un nivel más bajo de HDL-C causado por la disminución de la actividad de la lipoproteína debido al cambio catabólico del tejido adiposo al final del embarazo (Loy SL et al, 2012).

La resistencia a la insulina en el embarazo induce alteraciones en el metabolismo de los lípidos, ya que se ha visto un aumento de los lípidos con el avance de la gestación que refleja una respuesta para satisfacer las necesidades maternas para apoyar el crecimiento fetal (Huang H et al, 2013).

El tejido adiposo es una fuente de producción de estrés oxidativo. Las oxidaciones mitocondriales y peroxisomales de ácidos grasos contribuyen a la generación de especies reactivas de oxígeno. La hipertrigliceridemia materna induce el cambio de LDL a partículas pequeñas y densas que son susceptibles de oxidación. El aumento de la adiposidad y la hiperlipidemia durante la gestación, por lo tanto, podría incrementar la susceptibilidad de las mujeres embarazadas a las lesiones oxidativas, exacerbando los antecedentes patofisiológicos de la obesidad y la aterosclerosis en la vida postnatal (Furness et al, 2011).

Hierro en embarazo

Se calcula que a nivel mundial el 40.1% de mujeres embarazadas padecen anemia, mientras que en México se calcula un 19.6% y se considera que como mínimo la mitad de esta carga de anemia obedece a la carencia de hierro o ferropenia, el resto se debe a problemas como carencia de folatos, vitamina B12 o vitamina A, inflamación crónica, infestaciones parasitarias o trastornos hereditarios (Grupo Banco Mundial, 2016).

La Organización Mundial de la Salud (OMS, 2012) propuso una dosis profiláctica de hierro de 300 µg (0,3 mg) al día durante todo el embarazo. A esta dosis se le agregaron 400 µg (0,4 mg) al día de ácido fólico en 1998, para prevenir defectos del tubo neural. La edad gestacional elegida para recibir suplementación de hierro es desde el inicio hasta el tercer trimestre de gestación. Con respecto a la frecuencia de la suplementación, se ha reportado su variabilidad a lo largo del embarazo, 82% al inicio, hasta 33% al final de la gestación (López et al, 2018).

A nivel mundial hay aproximadamente un total de 2000 millones de personas anémicas, lo que equivale a 1 de cada 3 habitantes. Cerca del 50% de los casos pueden atribuirse a la carencia de hierro, afecta a ambos sexos y a todas las edades, pero su prevalencia es mayor en lactantes y adolescentes, mujeres en edad fértil, embarazadas y ancianos (OMS, 2015).

Aunque hay gran variabilidad en los reportes, cerca de un 30% de las mujeres embarazadas en América Latina tiene o desarrollará anemia o algún grado de deficiencia de hierro asociada al embarazo (Calderón JC, 2007). Por lo general, la anemia es de instauración lenta y progresiva, suele ser bien tolerada, sobre todo en pacientes jóvenes, y muchas veces es un hallazgo casual. El período de ferropenia latente puede ser de años de evolución, pudiendo aparecer únicamente síntomas generales e inespecíficos como astenia, disminución de la concentración y memoria, irritabilidad, trastornos del sueño, cefalea o disnea (IMSS, 2010).

En 1959, a partir de estimaciones de las necesidades de hierro en las mujeres embarazadas, se definió por primera vez una dosis suplementaria normalizada de 60 mg de hierro elemental (por lo general, 200 mg de sulfato ferroso cada 24 horas), dosis que desde entonces ha sido corroborada en varias consultas de expertos (IMSS, 2010). La Norma Oficial Mexicana 007 de Atención de la Mujer durante el Embarazo, Parto y Puerperio y del Recién Nacido recomienda como prescripción profiláctica la administración de hierro y ácido fólico (Lachili B et al, 2001). Esta dosificación ha reportado efectos positivos en el embarazo, entre los que se encuentran: menor bajo peso al nacer y reducción de enfermedades neonatales en la primera semana de vida, mejoría en circunferencias cefálica, braquial, abdominal, y asociación positiva con la longitud del producto (López et al, 2018).

Durante el embarazo se deben absorber entre 4 y 7 mg/día de hierro, para lo cual la ingesta debe ser de al menos 20 mg/día, asumiendo una biodisponibilidad del 20%, valor que depende de las reservas corporales de hierro, del tipo de alimentos ingeridos e incluso de variaciones entre individuos. Pero si una gestante ingiere 10 mg/día en su dieta y además se suplementa con 60 mg/día por 20 semanas (140 días), podría recibir casi 10 g de hierro durante todo el embarazo, pero como la biodisponibilidad es limitada, solo absorbería entre 1 y 2 g, con lo cual cubrirían los requerimientos del embarazo, llenaría sus depósitos, pero se expondría a una gran cantidad de hierro en su sistema gastrointestinal, situación que podría favorecer el estrés oxidativo en este sistema (Calderón, 2007).

La suplementación con hierro a las mujeres embarazadas es una recomendación ampliamente aceptada en la práctica médica, ya que se contempla el beneficio que posee al evitar las complicaciones generadas por la deficiencia de hierro. Sin embargo, las consecuencias

negativas del mineral no son tomadas en cuenta, como las reacciones que puede desencadenar, generando radicales libres causantes de estrés oxidativo.

Metabolismo de Hierro

Para asegurar un suministro de hierro adecuado para las funciones celulares esenciales sin provocar toxicidad por hierro, requiere que sus concentraciones en plasma y fluidos extracelulares se mantengan entre 10 a 30 $\mu\text{mol/L}$. Una dieta regular con carne roja proporciona aproximadamente de 10 a 15 mg de hierro/día, que contiene el hierro hemo en la mioglobina y la hemoglobina, y aproximadamente el 20 a 40% del hemo está disponible para la absorción. El hierro no hemo está presente en los cereales, y aproximadamente del 10 al 20% se absorbe (Forrellat et al, 2012).

En el citoplasma, según las necesidades del nutriente, el hierro puede ser almacenado en la ferritina (proteína reservorio de hierro y que puede contener hasta 4500 átomos de hierro), puede ser utilizado en los procesos metabólicos celulares, transportado a la sangre a través de la membrana basolateral, utilizando para ello al transportador ferroportina. Junto a este transportador se encuentra la proteína hefestina (una óxido-reductasa que reoxida el hierro a Fe^{+3} (esta actividad es realizada por la ceruloplasmina en el hepatocito). En este estado, es captado por la proteína plasmática transferrina que finalmente, transporta el hierro a los tejidos periféricos y es utilizado principalmente para la síntesis de hemoglobina, Figura 1 (58).



Figura 1. Recambio del hierro en el organismo (58).

Absorción

Implica el transporte de hierro a través de los enterocitos de vellosidades maduras del intestino delgado proximal. El intestino puede utilizar al hierro proveniente de una amplia gama de fuentes dietéticas, pero en última instancia, considerados hierro hemo y hierro no hemo (Kim A et al, 2015).

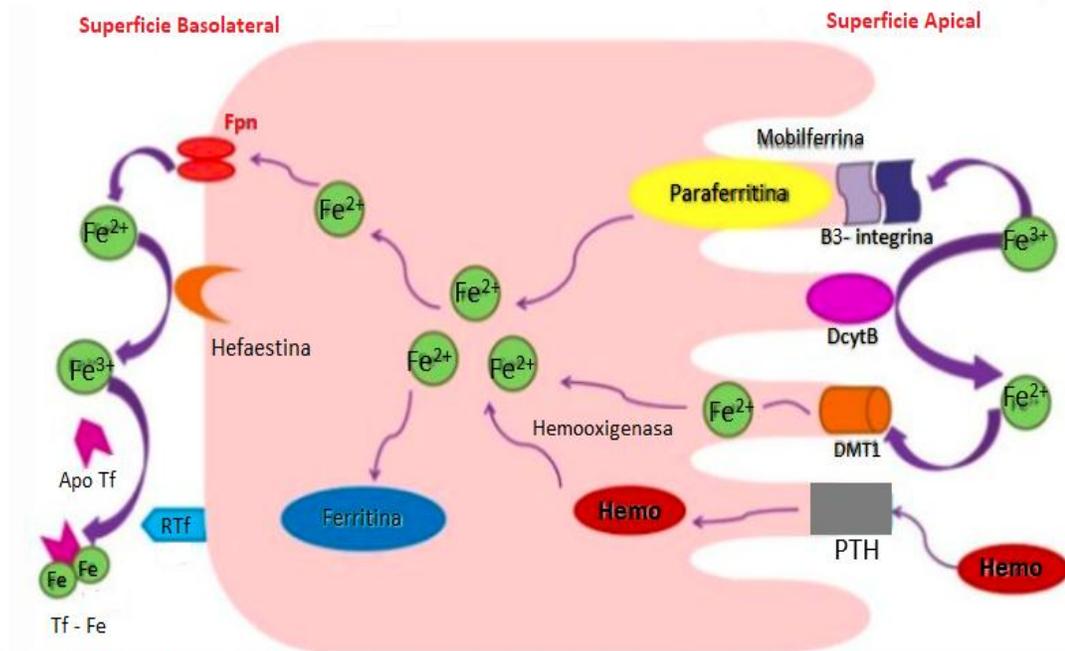
La absorción de hierro en el duodeno se ve influenciada por varios factores, incluyendo la presencia de una dieta rica en polifenoles y ácido fólico, deficiencia de vitamina C, gastritis causada por *Helicobacter pylori* y cirugía bariátrica, entre otros. El mayor flujo de hierro proviene del reciclaje de eritrocitos senescentes por los macrófagos esplénicos, que proporcionan aproximadamente el 90-95% del hierro necesario para las funciones fisiológicas y la eritropoyesis. Además, el mantenimiento de las reservas de hierro se produce a través de la dieta (Reichert et al, 2017).

Absorción de hierro no hemo: el hierro no hemo incluye formas iónicas o elementales de hierro, así como hierro unido a proteínas, como el que se encuentra en la ferritina, requiere de su solubilización y reducción del estado férrico (Fe^{+3}) a ferroso (Fe^{+2}) que comienza en el medio ácido del sistema gastrointestinal debido a que el hierro en estado férrico es muy poco absorbible (Anderson GC et al, 2012). Existen factores dietarios que también tienen la capacidad de reducir al hierro como el ácido ascórbico, la cisteína y la histidina. En el duodeno, la enzima citocromo B reductasa duodenal (DCytB) reduce al hierro en el borde de cepillo, para posteriormente ser ingresado al citoplasma mediante el transportador DMT1 el cual es capaz de transportar hierro y otros metales en su estado reducido, Figura 2 (Srai SK et al, 2012).

Absorción de hierro hemínico: el hierro hemo es particularmente rico en componentes de la dieta como la carne roja. Al encontrarse en la membrana apical del enterocito, es captado por el transportador PTH. Luego, en el citoplasma, la enzima hem oxigenasa degrada al grupo hem, liberando hierro, monóxido de carbono y biliverdina. El hierro liberado pasa a formar parte del pool de hierro lábil, al igual que el hierro no hemínico, y puede ser almacenado de igual manera en la ferritina o transportarse en la sangre a través de la ferroportina (Reichert et al, 2017).

En el citoplasma, según las necesidades del nutriente pueden ocurrir diferentes procesos (García et al, 2010):

- 1) Ser almacenado por la ferritina (proteína reservorio de hierro y que puede contener hasta 4500 átomos de hierro).
- 2) Ser utilizado en los procesos metabólicos celulares.
- 3) Puede ser transportado a la sangre a través de la membrana basolateral, utilizando para ello al transportador ferroportina. Junto a este transportador se encuentra la proteína hefestina (una óxido-reductasa que oxida el hierro Fe^{2+} a Fe^{3+} (esta actividad es realizada por la ceruloplasmina en el hepatocito). En este estado, es captado por la proteína plasmática transferrina que finalmente transporta el hierro a los tejidos periféricos.



DcytB: Citocromo b duodenal.

DMT1: Transportador de Metales Divalentes.

PTH: Proteína Transportadora del HEMO.

Fpn: Ferroportina.

Rtf: Receptor de Transferrina.

Figura 2. Absorción de hierro en el enterocito
(Tomada y modificada de: García et al, 2010).

Distribución

El hierro absorbido es captado por la transferrina, una proteína que lo transporta hacia los diferentes tejidos, por lo que el hierro circulante se puede encontrar de 2 formas: como hierro ligado a transferrina y como hierro libre, aunque este último sólo aparece cuando hay una saturación total de la transferrina circulante (Rajpathak et al, 2008). Una vez que alcanza la circulación, el hierro unido a la transferrina es transportado a sitios de uso y almacenamiento, donde puede entrar en las células diana, principalmente las células eritroides, pero también células del sistema inmune (linfocitos, macrófagos) y hepáticas a través de un proceso altamente específico de endocitosis mediada por receptor (Kim A et al, 2015).

La transferrina puede unir de manera reversible a dos átomos de Fe³⁺, y este puede ser internalizado por las células de los distintos tejidos mediante endocitosis a través del receptor

para transferrina (RTf) (Anderson GJ et al, 2009). La transferrina al unirse a su receptor que se encuentra en la superficie celular, forma el complejo RTf- Tf-Fe que luego es endocitado. En el endosoma, el Fe^{3+} es liberado por el pH ácido (pH 5,5; debido a la bomba de protones dependiente de ATP presente en su membrana, la cual bombea protones desde el citosol al interior del endosoma). Una vez reducido a Fe^{+2} sale al citosol a través del transportador DMT1 para formar parte del pool de hierro lábil. Por otro lado, la transferrina unida aún a su receptor, regresa a la superficie celular y es liberada a la circulación para su reutilización (Sermini CG et al, 2017).

El hierro puede tener varios destinos, dependiendo de las necesidades celulares, como lo son los fines metabólicos (síntesis del grupo hemo), regulación de la homeostasis del hierro celular (por ejemplo, a través de la modulación de las proteínas reguladoras de hierro 1 y 2) o se puede almacenar dentro de la ferritina y hemosiderina, así como en los hepatocitos y macrófagos, ya que están adaptados para el almacenamiento de hierro que se puede utilizar posteriormente por las células (Frydlova et al, 2018).

En condiciones fisiológicas normales, la Tf circulante está saturada aproximadamente con un 30% de hierro, por lo que existe una capacidad de reserva considerable para secuestrar a grandes cantidades de hierro potencialmente tóxico que ingresan al plasma. En ciertas patologías, es excedida la capacidad de Tf para unirse al hierro, puede aparecer hierro libre en la circulación sistémica y entrar rápidamente en las células parcialmente a través del transportador de metales divalente (DMT1), siendo altamente citotóxico (Reichert et al, 2017).

Reserva

En las células epiteliales intestinales, la ferritina parece entrar a través de una vía endocítica, el destino del hierro dentro del enterocito no es claro y en otras células probablemente se encuentra unido por ácidos orgánicos de bajo peso molecular o de forma libre a las proteínas. El hierro es secuestrado por la ferritina dentro del enterocito cuando no pasar a circulación, si el cuerpo tiene una necesidad de hierro, se mueve rápidamente a través de la membrana basolateral hacia la circulación sistémica (Anderson GC et al, 2012).

Eliminación

No existe un sistema fisiológico específico de eliminación para el hierro y se puede acumular en el organismo en cantidades tóxicas; sin embargo, diariamente se pierden pequeñas cantidades en la muda de la piel, cabello, uñas, heces, sudor, leche materna (de 0.5 a 1 mg al día), sangre menstrual y orina (Theil EC, 2011). Los mamíferos no tienen una vía regulada para la excreción de hierro, por lo tanto, el metabolismo del hierro debe ser regulado con precisión en el nivel de absorción de hierro de la dieta. El hígado juega un papel clave en el control de la homeostasis sistémica de hierro, ya que produce el péptido hepcidina, que regula tanto la absorción de hierro en el duodeno, como el reciclaje de hierro a partir de eritrocitos senescentes (Frydlova et al, 2018).

Estrés oxidativo

Cuando se pierde el equilibrio entre los radicales libres y el sistema de defensa antioxidante que poseen los seres vivos, generando así lo que se denomina estrés oxidativo, provocando daño oxidativo a las biomoléculas y posee una estrecha relación con el desarrollo y evolución de una gran variedad de procesos degenerativos, enfermedades y síndromes (Storz P, 2007). Su estudio se ha centrado principalmente en el conocimiento de los mecanismos de su génesis y las formas de atenuar, disminuir o contrarrestarlas, por medio de los sistemas de defensa antioxidante que posee la célula y la forma de controlar los radicales libres que se generan de forma normal y continua en el organismo, resultado de algunos procesos celulares como el relacionado con el metabolismo oxidativo de la mitocondria, proceso necesario para la obtención de ATP (Corrales et al, 2012).

Radicales libres

Los radicales libres son especies químicas que poseen en el último orbital un electrón no apareado, por lo que son capaces de extraer un electrón de las moléculas vecinas para completar su orbital, convirtiéndose en componentes altamente reactivos y oxidantes (Storz P, 2007). Intentan lograr un equilibrio reaccionando con otros átomos o moléculas cercanos. Dentro de la célula, las biomoléculas (proteínas, carbohidratos, lípidos y los ácidos nucleicos)

son los principales compuestos químicos que reaccionan con los radicales libres, lo que resulta en alteraciones en la composición, estructura o función de dichas biomoléculas. Existen al menos cuatro formas principales de reacciones químicas que puede llevar a cabo un radical libre para alterar una biomolécula (Gutiérrez et al, 2014):

1. Oxidación-reducción: En este mecanismo, el radical libre interactúa con otra molécula que sirve como un donador de hidrógeno. Como resultado, el radical libre se une a un átomo de hidrógeno y se hace más estable mientras que la donante del hidrógeno se convierte en un radical libre.
2. Adición: En este caso, el radical libre se une a una molécula más estable, lo que convierte a la molécula receptora en un radical libre.
3. Terminación: En donde dos radicales libres reaccionan entre sí para formar un compuesto más estable.
4. Desproporción: Consiste en que dos radicales libres idénticos reaccionan entre ellos mismos: uno actúa como donador y el otro como receptor de electrones, de esta manera se forman dos moléculas más estables.

El oxígeno (O_2) contenido en el aire que normalmente respiramos es fundamental para la vida, sin embargo, muchas reacciones en las que participa el O_2 originan RL, de ahí que el oxígeno sea una molécula potencialmente tóxica. Durante la respiración oxidativa, las mitocondrias de los organismos aeróbicos reducen univalentemente al oxígeno; en dicho proceso se generan intermediarios reactivos en una serie de reacciones que involucran cuatro electrones, produciendo cuatro compuestos denominados especies reactivas de oxígeno (EROs): anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH^\bullet) y oxígeno singulete (1O_2) (Bogeski I et al, 2011).

El H_2O_2 no es un radical libre, pero cae en la categoría de EROs por ser un compuesto intermediario e importante en la bioquímica de los RL, ya que se descompone fácilmente en presencia de metales de transición (principalmente el Fe^{2+}) para producir el OH^\bullet . A su vez, los radicales OH^\bullet son capaces de reaccionar con las biomoléculas produciendo RL orgánicos menos reactivos, como los peroxilos (ROO^\bullet) y radicales tiol (RS^\bullet), O_2^- y NO^\bullet reaccionan entre sí para formar peroxinitrilo ($ONOO^-$), entre otros (Bathia S et al, 2003).

Efecto nocivo de las especies reactivas de oxígeno en lípidos

Los radicales libres reaccionan con biomoléculas celulares, entre ellas los lípidos poliinsaturados, esenciales para el completo soporte del sistema celular, incluyendo membranas, retículo endoplásmico y mitocondrias, la alteración de las propiedades estructurales de la célula puede generar graves consecuencias para su función (Cruz H et al, 2017).

La peroxidación de lípidos ha sido el principal efecto en las membranas celulares. Como resultado de este proceso, muchos de los métodos de ensayo se basan en establecer el daño inducido por los radicales libres midiendo los productos de reacción de estas moléculas sobre los lípidos de membrana, como lo son el malondialdehído (MDA), el 4-hidroxi-2,3-nonenal (4-HNE) y el 4-hidroxi-2,3-alquenal, en donde la concentración de estos productos de reacción es proporcional al daño oxidativo generado (Galicia et al, 2014).

En un embarazo normal, los niveles séricos de los productos de la peroxidación lipídica se encuentran elevados, en comparación con los valores de las mujeres no embarazadas, fundamentalmente como consecuencia de la actividad mitocondrial y de la síntesis de hormonas que se da en la placenta, la cual tiene como fundamento la oxidación del ácido araquidónico (Calderón, 2007).

Los niveles de hidroperóxidos lipídicos en la sangre dan una idea de los fenómenos de oxidación y daño de lípidos producidos por las especies reactivas de oxígeno, a su vez producidas por la radiación, por reacciones químicas o incluso en forma espontánea y como producto normal del metabolismo celular. También es conocido que, en ciertas patologías del embarazo como la diabetes gestacional y la preeclampsia, se encuentran aumentados los productos de la peroxidación lipídica, por encima de lo que normalmente se encuentran en las gestantes sanas (Galicia et al, 2014).

El aumento de la peroxidación lipídica se considera un factor causal de patogénesis de la preeclampsia. Para apoyar este concepto, se ha informado un aumento en los productos de la peroxidación de lípidos en plasma (MDA) en mujeres preeclámplicas en comparación con

mujeres embarazadas sanas. De hecho, el aumento de la producción de peróxidos lipídicos en mujeres preeclámpticas puede causar disfunción de las células endoteliales vasculares (Taravati A y Tohidi F, 2018).

Para minimizar el daño, la célula cuenta con sistemas de defensa frente a las EROs para neutralizar los radicales libres, mediante sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos (Toxqui L et al., 2010). La primer línea de defensa antioxidante intracelular funciona eliminando $O_2^{\bullet-}$ y H_2O_2 antes de que interactúen para formar el OH^{\bullet} . Los mecanismos de inactivación de las EROs incluyen etapas sucesivas. El proceso se inicia con la dismutación, reacción en la que el mismo elemento actúa como agente oxidante y reductor, donde el anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$) reacciona para formar peróxido de hidrógeno (H_2O_2) bajo la influencia de la enzima superóxido dismutasa (SOD). Posteriormente la enzima catalasa (CAT) o glutatión peroxidasa (GPx) reduce H_2O_2 a O_2 y H_2O (Abilés J. 2007).

Mecanismos de defensa antioxidante enzimática

SOD

Las superóxido dismutasas (SOD) son metaloenzimas que contienen iones metálicos con actividad redox en su centro catalítico y hay tres isoformas 1) CuZn-SOD, citosólica, 2) Mn-SOD, específicamente en las mitocondrias y 3) extracelular-SOD, secretada por muchas células, incluidas las células placentarias (Mendieta H et al., 2013).

Las SOD catalizan la dismutación del anión superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno, de acuerdo a la siguiente reacción 1 (Kabel, 2014). El H_2O_2 generado es transformado a O_2 molecular y agua por la catalasa CAT de los peroxisomas:



La SOD y el NO^{\bullet} compiten por $O_2^{\bullet-}$, la deficiencia de SOD provoca un aumento del $O_2^{\bullet-}$ y las interacciones del NO^{\bullet} , reduciendo la vasodilatación y dando como resultado la generación de $ONOO^{\bullet-}$ que posteriormente conduce a la proteína de nitrosilación de la tirosina. También inicia

una reacción en cadena que afecta a los ácidos grasos poliinsaturados debido a la pérdida de H^+ , formando hidroperóxidos y otros radicales libres, causando daños al endotelio (Perkins AV, 2006).

CAT

La catalasa es un tetrámero de cuatro cadenas polipeptídicas, cada una de más de 500 aminoácidos de longitud, contiene cuatro grupos de porfirina hemo (hierro) que permiten que la enzima reaccione con el peróxido de hidrógeno. La catalasa puede descomponer el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en reacciones catalizadas por dos modos diferentes de actividad enzimática (Tastekin A et al., 2005):

El modo de actividad catalítica: $2H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O$ Reacción 2

El modo de actividad peroxidático: ($H_2O_2 + AH_2 \rightarrow A + 2H_2O$) Reacción 3

La catalasa tiene una de las tasas de rotación más altas de todas las enzimas; una molécula de catalasa puede convertir millones de moléculas de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno por segundo. La descomposición de H_2O_2 por la actividad catalítica de la catalasa sigue una reacción de primer orden y su velocidad depende de la concentración de H_2O_2 (Kabel, 2014).

Sistema glutatión

El sistema de glutatión comprende cuatro componentes principales, tres enzimas: GR, GPx, glutatión-S-transferasa (GST) y un glutatión reducido no enzimático (GSH) (Tastekin A et al., 2005):

Glutatión reductasa (GR) es una enzima crucial que reduce el disulfuro de glutatión (GSSG) a la forma sulfhidrilo (GSH) por el mecanismo dependiente de NADPH, un importante sistema antioxidante celular.

Glutación peroxidasa (GPx) es una enzima que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos.

Glutación S-transferasas son otra clase de enzimas antioxidantes dependientes del glutación que muestran una alta actividad con peróxidos lipídicos. Estas enzimas se encuentran en altos niveles en el hígado y también ayudan en el metabolismo de desintoxicación.

Hay cinco tipos diferentes de GPx que contienen selenocisteína en su sitio activo. Las enzimas GPx4, GPx1 y citosólicas son abundantes en muchos tejidos, GPx2 expresada en el tracto gastrointestinal, GPx3 en el hígado (forma que se encuentra principalmente en el torrente sanguíneo) y GPx5 no dependiente de selenio se expresa específicamente en el epidídimo. Todas estas isoenzimas reducen el H₂O₂ y los hidroperóxidos de alquilo, sin embargo, su especificidad para los sustratos puede ser diferente (Mistry HD et al., 2008).

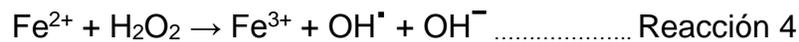
Sobrecarga de hierro y estrés oxidativo

Cuando se presenta una sobrecarga de hierro hay un aumento sostenido de los niveles en los depósitos, el cual daña órganos como el hígado, páncreas y corazón. Su etiología puede ser primaria (afecciones de origen genético) o secundaria (asociadas a hemoglobinopatías, patologías inflamatorias y alteraciones metabólicas como esteatosis hepática no alcohólica). (Meroño et al., 2011)

Se sabe que el hierro en exceso promueve la formación de radicales libres y como consecuencia estrés oxidativo, desencadenando una serie de trastornos neurodegenerativos, incluida las enfermedades de Parkinson, Alzheimer y el síndrome de Hallerorden-Spatz (Gong et al., 2016). La sobrecarga de hierro también está asociada con la disfunción mitocondrial, y que en conjunto pueden causar una gluconeogénesis hepática anormal resultante del estrés oxidativo (Jung et al., 2015).

Numerosas patologías como lo son las gástricas, cardíacas, respiratorias, óseas, multiorgánicas, son resultado de la evolución de alteraciones morfofisiológicas celulares, debido a la excesiva producción por encima de los niveles fisiológicos normales de moléculas de gran inestabilidad, los radicales libres (Koenig et al., 2014).

Para entender cómo es que el hierro origina radicales libres, es necesario saber que, como metal de transición, tiene cinco estados de oxidación (de Fe²⁺ a Fe⁶⁺), siendo los más comunes Fe²⁺ y Fe³⁺. Los electrones desapareados del hierro hacen posibles reacciones redox de un solo electrón. A finales del siglo XIX, Fenton descubrió que el hierro ferroso en presencia de peróxido de hidrógeno producía hierro férrico y radicales OH· altamente reactivos. El trabajo de Haber y Weiss posteriormente mostró que el radical libre hidroxilo es producido por hierro ferroso y peróxido de hidrógeno en una reacción en cadena (Zhuang et al., 2014):



La reacción se suele llamar reacción de Fenton, y todo el conjunto de reacciones (4-7) se denomina reacciones de Haber-Weiss. Como producto de reacciones catalizadas por SOD y reacciones no enzimáticas, el peróxido de hidrógeno se ha encontrado en las mitocondrias, microsomas y cloroplastos de bacterias y también se ha detectado en el cristalino del ojo y el aire exhalado en humanos (Zhuang et al., 2014).

Farmacocinética del sulfato ferroso

Absorción

Aumenta cuando los depósitos de hierro están vacíos o cuando aumenta la producción de glóbulos rojos. Por el contrario, elevadas concentraciones sanguíneas de hierro disminuyen la absorción. Se produce principalmente en el duodeno y yeyuno proximal y es más eficaz cuando el hierro se ingiere en su forma ferrosa que cuando está en forma férrica, con el estómago vacío. Cuando se toma con alimentos, la cantidad de hierro absorbida se puede reducir en 1/2 a 1/3 de la ingerida con el estómago vacío. Unión a proteínas: Muy elevada (90 % o más).

Hemoglobina: Elevada. Mioglobina, enzimas y transferrina: Baja. Ferritina y hemosiderina: Baja. Vida media: 6 horas (Díez et al., 2011).

Distribución

Los iones férricos pasan a la sangre, uniéndose inmediatamente a la transferrina y a la glicoproteína B, globulina que las llevan a la médula ósea donde se incorporan a la hemoglobina. Las pequeñas cantidades de exceso se estacionan en las vellosidades epiteliales donde sufren oxidación. Dado que cada molécula de transferrina puede fijar dos átomos de hierro, en condiciones fisiológicas normales solo se ocupa un 30-40% de la capacidad de unión de la transferrina (índice de saturación de transferrina, IST); así, la cantidad de hierro unido a transferrina es alrededor de 3-4 mg, pero se trata del pool dinámico más importante del hierro, al ser la transferrina su única proteína transportadora en el plasma. El hierro unido a la transferrina entra en las células diana, principalmente las células eritroides, pero también células del sistema inmune (linfocitos, macrófagos) y hepáticas a través de un proceso altamente específico de endocitosis mediada por receptor. La transferrina diférrica se une al receptor de transferrina 1 (RTf1), localizado en la membrana celular. Cada RTf1 puede unir a dos moléculas de transferrina y tiene más afinidad por la Tf-diférrica que por la monoférrica. (Díez M et al., 2011).

Biodisponibilidad.

Dado que el proceso digestivo constituye el principal regulador fisiológico del hierro corporal y que una vez absorbido los mecanismos para excretarlo son ineficaces, los componentes de los alimentos que afectan su solubilidad y transporte intestinal, modificarán su biodisponibilidad. El conocimiento de dichos factores, estimuladores o inhibidores, puede ser muy útil para los pacientes que sufren trastornos del metabolismo del hierro, bien por deficiencia o por sobrecarga (Leary A et al., 2017).

Estimuladores

El medio ácido en el intestino favorece la absorción de los minerales en general, debido a que a pH bajo se mantienen en solución. Así, el hierro en la forma Fe^{2+} , al ser más soluble, es más

disponible que en la forma oxidada Fe^{3+} . Los alimentos de origen animal (carne, pescado, pollo) contienen el denominado “factor carne” que incrementa la absorción de hierro. Dicho factor parece estar constituido por una serie de péptidos que se liberan durante la digestión de estos alimentos proteicos, formando complejos solubles que lo protegen de otros componentes inhibitorios de la dieta permitiendo su absorción más eficazmente. Más recientemente se ha descrito que puede tratarse de fracciones de hidratos de carbono (glucosaminoglucanos) o fosfolípidos, presentes de forma natural en estos alimentos. Se ha documentado muy bien el papel estimulante de la absorción de hierro que ejerce la vitamina C o ácido ascórbico. Este nutriente actúa de varias maneras: reduce el hierro a la forma Fe^{2+} , más soluble; y forma en el medio ácido del estómago un complejo ascorbato férrico muy estable, que permanece soluble al pH más alto del duodeno. Constituye por tanto el mejor potenciador de la biodisponibilidad del hierro no-hemo que se conoce (Toxqui et al., 2010).

Inhibidores

Tradicionalmente se ha considerado que la fibra dietética es un inhibidor de la absorción de minerales. Sin embargo, junto con la fibra dietética se consumen una serie de componentes, como polifenoles y fitatos, cuya acción sobre la absorción del hierro es mucho más importante que la de la fibra en sí misma. Por otro lado, muchos alimentos que aportan una cantidad apreciable de minerales son a su vez ricos en fibra y otros compuestos, con lo que la biodisponibilidad del hierro de estos alimentos puede estar disminuida, pero en valor absoluto la cantidad absorbida puede ser suficiente. El ácido fítico (inositol hexafosfato) es un potente inhibidor de la absorción del hierro no-hemo. No obstante, por determinados tratamientos culinarios o industriales (fermentación, germinación), este ácido pierde grupos fosfatos reduciéndose en consecuencia su capacidad de secuestrar hierro. Respecto a los polifenoles (ácidos fenólicos, flavonoides, polifenoles condensados), aun siendo solubles, como en el caso de los del té, pueden tener la capacidad de secuestrar fuertemente el hierro impidiendo su absorción. Otros minerales (Ca, Zn, Cu, Cd, etc.) interaccionan con el hierro en el tracto gastrointestinal. Así, ingestas excesivas de calcio y zinc pueden reducir la biodisponibilidad del hierro, interaccionando en la propia mucosa (Toxqui et al., 2010).

Eliminación

No existe un sistema fisiológico de eliminación para el hierro y se puede acumular en el organismo en cantidades tóxicas; sin embargo, diariamente se pierden pequeñas cantidades en la muda de la piel, cabello y uñas, y en heces, sudores, leche materna (de 0,5 a 1,0 mg al día), sangre menstrual y orina. La pérdida diaria media de hierro para adultos sanos es: Hombres: 1 mg al día. Mujeres: Postmenopáusicas: 1 mg al día. Mujeres adultas sanas premenopáusicas: 1,5 mg al día. No se debe administrar hierro por más de 6 meses a menos que el paciente presente un sangrado continuo o existan embarazos repetidos (Theil EC. 2011).

Hepcidina

Al igual que el sistema antioxidante, la expresión de hepcidina es activada con un aumento de la concentración de hierro en el organismo, ya que ésta puede ser capaz de prevenir la acumulación del mineral. Una de las funciones centrales de ésta hormona es reducir el estrés oxidativo mediado por hierro (Gong J et al., 2016). La importancia de la hepcidina se centra en la capacidad que posee para la regulación del flujo de hierro al plasma, ya sea a partir de la absorción presente en la dieta (1-2 mg), el reciclaje de los eritrocitos (20 mg/día) o la movilización de las reservas en hígado y macrófagos de acuerdo con las necesidades (Forrellat et al., 2012).

La hepcidina es un péptido que fue aislado de orina humana y que recibió su nombre con base a su lugar de síntesis (hepatocitos) y a su comprobada propiedad antibacterial *in vitro* (-cidina). Fue primeramente nombrada como LEAP-1, por sus siglas en inglés Liver-Expressed Antimicrobial Protein. Su caracterización se realizó cuando un donante de sangre desarrolló una infección sistémica y la concentración de hepcidina se incrementó 100 veces durante el proceso agudo, esto se realizó con la técnica de Espectrometría de Masas, ya que el péptido pudo ser caracterizado como un polipéptido de 25 aminoácidos (Hpc-25) cuya estructura espacial, lo define como una lámina plegada β , con 8 residuos de cisteína cuyos brazos están unidos por 4 puentes disulfuro (Park et al., 2001) (Figura 3).

Al igual que otras hormonas peptídicas, es sintetizada inicialmente como un péptido de mayor peso molecular, la pre-prohepcidina de 84 aminoácidos que luego es transformada en prohepcidina de 60 aminoácidos y finalmente en su forma activa hormonal de 25 aminoácidos. La región N-terminal de la prohormona es la que está involucrada en su función reguladora, por lo que la pérdida de aminoácidos asociada con su transformación de pre-prohepcidina a prohepcidina y finalmente a hepcidina, proviene del extremo carboxilo terminal. (Páez et al., 2014).

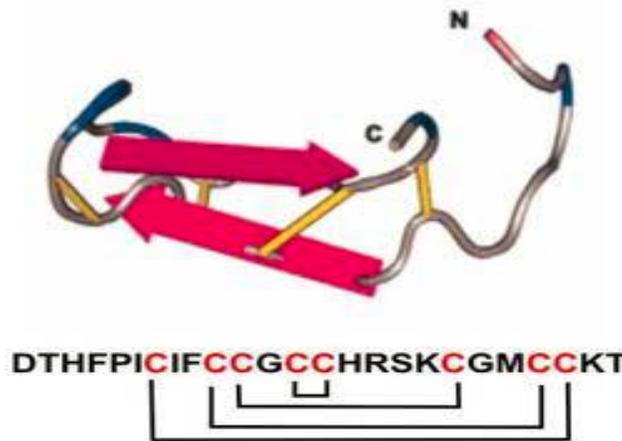


Figura 3. Secuencia aminoacídica y modelo tridimensional de la hepcidina humana
(Tomada de: Paez et al., 2014).

La producción de hepcidina en el hígado aumenta cuando el hierro ingresa a las células hepáticas. Esta proteína interactúa principalmente con otras proteínas en los intestinos, el hígado y glóbulos blancos para ajustar la absorción y el almacenamiento de hierro; de esta forma, se monitorean los suministros de hierro y se ajusta la absorción de hierro para reflejar las necesidades del cuerpo (Ganz et al., 2003).

La hepcidina es el regulador negativo predominante de la absorción de hierro en el intestino delgado, el transporte de hierro a través de la placenta, de la liberación de hierro de los macrófagos y puede ser un nuevo mediador de la inmunidad innata (Meroño et al., 2011). El aumento de la expresión de hepcidina se da en respuesta al exceso de hierro y a la inflamación, mientras que su disminución se asocia a deficiencia de hierro, hipoxia y estimulación de la eritropoyesis (Attia et al., 2015).

Los primeros indicios sobre el papel regulador de la hepcidina en el metabolismo del hierro aparecieron cuando se realizaron diversos estudios en ratones, al probar que la síntesis de la hepcidina era inducida por el consumo de hierro (Park et al., 2001). Nicolás et al., 2002 realizaron un experimento en ratones donde se bloqueaba el gen de la hepcidina, observando que se desarrollaba una hemocromatosis con deposición de hierro en hígado, páncreas y bazo, en contraste. En los ratones donde se inducía una sobreexpresión del gen de la hepcidina, se generaba una anemia severa y la mayoría de las crías morían pocas horas después de nacer, sugiriendo que la hepcidina inhibía la transferencia placentaria de hierro.

La producción inapropiada de hepcidina, ya sea aumentada o suprimida inadecuadamente, resulta en síndromes clínicos con hierro desordenado y homeostasis eritropoyética, el aumento de la producción de hepcidina contribuye a la patogénesis de diversas anemias con restricción de hierro, como es el caso de la anemia de la inflamación, también conocida como anemia de la enfermedad crónica, al ser un factor que complica un amplio espectro de desórdenes inflamatorios, incluyendo insuficiencia crónica, autoinmunes, infecciones y ciertos cánceres (Kim et al., 2015).

Hepcidina en el embarazo

Algunos estudios han revelado que los niveles de hepcidina en el primer trimestre de embarazo son menores que en mujeres sanas no embarazadas y disminuyen a medida que progresa el embarazo, con los niveles más bajos observados en el tercer trimestre. La mayor necesidad de hierro fetal en el tercer trimestre puede ser responsable de la disminución de la hepcidina materna observada, ya que la demanda fetal de hierro es mayor (Koenig et al., 2014).

Se han medido los niveles de hepcidina sérica y la concentración sérica media de hepcidina durante el embarazo, siendo menor a las 30-34 semanas que los valores a las 11-14 y 24-28 semanas; los valores más bajos de hepcidina en el suero materno permiten la transferencia máxima de hierro al feto en rápido crecimiento a costa de un balance de hierro materno negativo (Simavli et al., 2014).

Los niveles séricos de hepcidina en el embarazo son un factor importante, ya que toman el papel de marcador temprano de preeclampsia y anemia severa, lo que enfatiza aún más el papel del estado inflamatorio antes del inicio de los síntomas. Se han encontrado niveles séricos significativamente más altos en las mujeres que desarrollan preeclampsia en comparación con las madres que tienen un embarazo fisiológico normal hasta el término (Cardaropoli et al., 2018). La expresión alterada de hepcidina en las placentas provenientes de mujeres con preeclampsia podría explicarse por estímulos directos de infección/inflamación, incluso en presencia de hierro y ferritina bajos en suero, las concentraciones de hepcidina en sangre materna y del cordón umbilical permanecen altas en anemia severa (Basu et al., 2016).

4. JUSTIFICACIÓN

Los requerimientos de hierro aumentan casi 10 veces durante el embarazo, desde 0.8 mg/día en el primer trimestre hasta 7.5 mg/día en el tercer trimestre, ya que el hierro es esencial para muchos procesos metabólicos, incluido el transporte de oxígeno, la regulación del crecimiento y la diferenciación celular, por lo que a las mujeres embarazadas se les prescribe una dosis profiláctica de hierro, generalmente 60 mg como sulfato ferroso al día durante todo el embarazo. Se ha comprobado que la deficiencia de hierro causa anemia, lo que limita el suministro de oxígeno a las células entre otros daños más. Por otro lado, las cantidades excesivas de hierro en las células provocan toxicidad tisular que debido a su alta reactividad, provoca estrés oxidativo, pudiendo ser causa de diversas alteraciones metabólicas en las gestantes como diabetes gestacional, dislipidemias e hipertensión arterial. El estudio sobre estas alteraciones radica en las incidencias reportadas, ya que el índice a nivel mundial se encuentra entre el 2% y el 5% del total de mujeres gestantes.

En los últimos años ha tomado gran interés el estudio del estrés celular y de los radicales libres, con el fin de conocer a profundidad los mecanismos de autocontrol celular y mejorar la calidad de vida del ser humano. Es por esto que la presente investigación pretende determinar si existe una asociación entre la sobredosificación de hierro con la producción de hepcidina y la actividad de las enzimas antioxidantes y niveles de lipoperoxidación, para determinar si es una de las causas que generan alteraciones metabólicas en mujeres gestantes debido al estrés oxidativo.

Generalmente el hierro se prescribe en las mujeres gestantes sin realizar una evaluación sobre su necesidad, por lo que es necesario indagar el posible daño causado por la sobredosificación, los resultados ayudarían a la regulación de la prescripción de hierro en embarazo.

5. HIPÓTESIS

La sobredosificación de hierro en mujeres embarazadas es una de las causas que provoca alteraciones en la secreción de hepcidina y estrés oxidativo, generando alteraciones metabólicas.

6. OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar la relación entre niveles de hierro, producción de hepcidina y estrés oxidativo durante segundo y tercer trimestre de embarazo en mujeres con prescripción profiláctica de hierro para así determinar su injerencia como posible causa de alteraciones metabólicas.

Objetivos Específicos

- Evaluar la producción de hepcidina en muestras obtenidas de mujeres con embarazo evolutivo normal y mujeres con embarazo de riesgo.
- Determinar el perfil de hierro (niveles de hierro sérico, captación total de transferrina, captación latente de transferrina, % de saturación y ferritina) en muestras obtenidas de mujeres con embarazo evolutivo normal y mujeres con embarazo de riesgo.
- Determinar la actividad de las enzimas antioxidantes SOD, CAT y GPx en muestras obtenidas de mujeres con embarazo evolutivo normal y mujeres con embarazo de riesgo.
- Determinar el nivel de lipoperoxidación en muestras obtenidas de mujeres con embarazo evolutivo normal y mujeres con embarazo de riesgo.
- Realizar un análisis de correlación múltiple para buscar la asociación entre los biomarcadores en estudio (perfil de hierro, hepcidina, SOD, CAT, GPx, niveles de LPOx, glucosa, colesterol y triglicéridos) entre las mujeres con embarazo evolutivo normal y las mujeres con embarazo de riesgo.

7. METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Estudio de cohorte, realizado en el Hospital Materno Perinatal "Mónica Pretelini Sáenz" (HMPMPS), Instituto de Salud del Estado de México (ISEM), Toluca, México, incluyó mujeres embarazadas divididas en dos grupos: A) mujeres con embarazo evolutivo normal o normogestas (MEEN), B) mujeres con embarazo de riesgo (MER): mujeres con alteraciones metabólicas (dislipidemias, diabetes gestacional o hipertensión).

Población en estudio

Criterios de inclusión

Mujeres embarazadas de entre 18 y 40 años que cursaban el segundo trimestre de gestación que tenían prescripción médica de sulfato ferroso (60 mg / día), presencia de alteraciones metabólicas para el grupo de riesgo (previamente diagnosticadas por el médico tratante con base en: hipertensión, PAS \geq 140 mmHg y PAD \geq 90 mmHg; diabetes gestacional, glucosa $>$ 130 mg/dL; dislipidemia, colesterol $>$ 200 mg/dL y triglicéridos $>$ 150 mg/dL) o mujeres con embarazo evolutivo normal para el grupo control.

Criterios de exclusión

Mujeres embarazadas con cardiopatías congénitas, anomalías uterinas, enfermedades crónico degenerativas, embarazos con feto congénitamente anómalo, embarazos con tecnologías de reproducción asistida, antecedentes de tabaquismo, enfermedades infecciosas, enfermedades inflamatorias, enfermedades autoinmunes, diabetes mellitus tipo 2.

Criterios de eliminación

Se descartaron del análisis a las pacientes que abandonaron el estudio o que se perdieron durante el seguimiento.

Aspectos éticos

El protocolo fue revisado y aprobado por el Comité de Ética en Investigación de HMPMPS (número: 2018-10-608) y los voluntarios firmaron una carta de consentimiento informado. Todos los procedimientos se realizaron de conformidad con la Declaración de Helsinki (Fortaleza, Brasil) y la Ley General de Salud de México.

Valoración del estado de salud

Se aplicó a las voluntarias un cuestionario para conocer su estado de salud y reunir datos sociodemográficos que incluían: edad, semanas de gestación, antecedentes obstétricos, antecedentes familiares de diabetes, hipertensión o dislipidemias, peso, altura, presión arterial, ocupación. Se recolectó de los expedientes clínicos datos de química sanguínea (glucosa, colesterol y triglicéridos).

Toma y conservación de muestras

Mediante punción venosa se obtuvieron dos muestras por paciente, en el 2º. trimestre (14-27 semanas de gestación) y en el 3er. trimestre (28-42 semanas de gestación). Se recolectó sangre periférica en dos tubos: 4 mL en un tubo con heparina para determinar la actividad de las enzimas antioxidantes CAT, SOD y GPx, así como los niveles de LPOx, y 6 mL en un tubo seco para obtención de suero (centrifugación a 3000 rpm por 15 minutos, el suero se recuperó y fue almacenado a -80°C hasta el momento de su análisis) con el que se determinó el perfil de hierro (hierro sérico, captación latente y total de fijación de hierro, % de saturación de hierro y ferritina) y la cuantificación de hepcidina.

Biomarcadores de estrés oxidativo

Nivel de Lipoperoxidación

Se determinó mediante el método propuesto por Buege y Aust, se cuantifica la magnitud de la peroxidación lipídica, determinando la concentración de Malondialdehído [MAD], producto final

de la lipoperoxidación entre los aldehídos generados y el ácido tiobarbitúrico. Los cálculos se realizan con la ecuación 1:

$$[\text{MAD}] = A / \text{CEM} \dots\dots\dots \text{Ecuación 1}$$

Donde:

A = Absorbancia

CEM = Coeficiente de Extracción Molar del MAD. $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Los resultados son expresados en μmol de MAD/g de hemoglobina.

Actividad enzimática de SOD

Método Misra y Friedrich modificado. La técnica valora la inhibición de la autooxidación de la adrenalina por la SOD a pH=10.2. Los cálculos se realizan con la ecuación 2:

$$[\text{SOD}] = (A_{30\text{s}} - A_{5\text{min}}) * (A_0 / \text{CEM}) \dots\dots\dots \text{Ecuación 2}$$

Donde:

$A_{30\text{s}} - A_{5\text{min}}$ = Absorbancias obtenidas a los 30 segundos y 5 minutos respectivamente.

CEM = Coeficiente de Extracción Molar de Adrenalina $21 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

Los resultados son expresados en μmol de SOD / g de hemoglobina.

Actividad enzimática de CAT

Método de Radi. Se basa en la desaparición del H_2O_2 por acción de la catalasa. Los cálculos se realizan con la ecuación 3:

$$[\text{H}_2\text{O}_2] = (A_{0\text{s}} - A_{60\text{s}}) / \text{CEM} \dots\dots\dots \text{Ecuación 3}$$

Donde:

$A_{0\text{s}} - A_{60\text{s}}$ = Absorbancias obtenidas a los 0 segundos y 60 segundos respectivamente.

CEM = Coeficiente de Extracción Molar de H_2O_2 $0.043 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Los resultados son expresados en μmol de H_2O_2 / g de hemoglobina.

Actividad enzimática de GPx

Método Paglia y Valentine. Se basa en la oxidación del NADPH a NADP^+ , la reducción de GSSG a GSH por acción de la glutatión reductasa, el cual es empleado por la GPx para detoxificar el H_2O_2 , formando H_2O y O_2 . Los cálculos se realizan con la ecuación 4:

$$[\text{NADPH}] = (A_{0s} - A_{60s}) / \text{CEM} \dots\dots\dots \text{Ecuación 4}$$

Donde:

$A_{0s} - A_{60s}$ = Absorbancias obtenidas a los 0 segundos y 60 segundos respectivamente.

CEM = Coeficiente de Extracción Molar de NADPH $6.22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Los resultados son expresados en nmol de NADPH / g de hemoglobina.

Perfil de hierro

Se realizó mediante quimioluminiscencia, el cual es un ensayo inmunométrico en fase sólida en el que se utiliza un anticuerpo monoclonal específico que recubre la fase sólida. La fase sólida es una microesfera de poliestireno contenida en la unidad de reacción. El anticuerpo monoclonal capta específicamente el analito en análisis contenida en la muestra. Un segundo anticuerpo policlonal y conjugado reconoce al analito unido. El complejo sándwich capturado en la fase sólida es revelado por la enzima sobre el sustrato generando una señal quimioluminiscente en unidades relativas de luz URL, que son directamente proporcionales a la cantidad del analito presente en la muestra. Se realiza en equipos automatizados siguiendo el procedimiento según recomendaciones del fabricante. Las muestras se congelaron a -80°C hasta el momento de su análisis, el cual fue efectuado por un laboratorio clínico externo.

Cuantificación de Hepsidina

Se realizó mediante el ensayo de ELISA sándwich, en el cual cada pocillo de la placa de microtitulación suministrada se recubre previamente con un anticuerpo de captura específico

objetivo. Se añaden patrones o muestras a los pocillos y el antígeno objetivo se une al anticuerpo de captura.

Se realizó una curva estándar para determinar la concentración de antígeno objetivo en las muestras a analizar. Se prepararon volúmenes suficientes para ejecutar la serie de dilución estándar por duplicado, usándose inmediatamente:

Solución madre estándar (100 ng / mL): se reconstituyó 1 tubo de patrón liofilizado con 1 mL de diluyente de muestra y se incubó a temperatura ambiente durante 10 minutos con agitación suave (evitar la formación de espuma), posteriormente se realizaron las siguientes diluciones:

D1 (100 ng / mL): 500 μ L de patrón estándar en 0 μ l de diluyente de muestra.

D2 (50 ng / mL): 250 μ L de D1 en 250 μ l de diluyente de muestra.

D3 (25 ng / mL): 250 μ L de D2 en 250 μ l de diluyente de muestra.

D4 (12,5 ng / mL): 250 μ L de D3 en 250 μ l de diluyente de muestra.

D5 (6.25 ng / mL): 250 μ L de D4 en 250 μ l de diluyente de muestra.

D6 (3.125 ng / mL): 250 μ L de D5 en 250 μ l de diluyente de muestra.

D7 (1.563 ng / mL): 250 μ L de D6 en 250 μ l de estándar de diluyente de muestra.

Cero (0 ng / mL): diluyente de muestra.

El tampón de lavado, el anticuerpo de detección biotinilado, el conjugado HRP, la solución de sustrato TMB y la solución de parada se prepararon conforme a las instrucciones del proveedor dadas en el manual del usuario. Los reactivos y muestras que se encontraban almacenadas a -80°C fueron llevados a temperatura ambiente sin calentamiento adicional, agitando suavemente antes de pipetear evitando la formación de espuma. Las diluciones de la curva estándar, estándar, blanco o muestra se realizaron por duplicado de la siguiente manera:

1. Se agregaron 100 μ L de estándar, blanco o muestra por pocillo, cubriendo con un sellador de placas y se incubaron durante 90 minutos a 37°C .
2. Se aspiró el líquido de cada pocillo sin lavar.

3. Se agregaron 100 μL del anticuerpo de detección biotinilado a cada pocillo, cubriendo con un sellador de placa y se agitó suavemente para asegurar una mezcla completa para posteriormente incubar durante 1 hora a 37°C.
4. Se aspiró el líquido de cada pocillo y se realizaron 3 lavados agregando aproximadamente 350 μL de tampón de lavado permitiendo que cada lavado reposara durante 1-2 minutos antes de aspirar por completo. Después del último lavado, se aspiró para eliminar cualquier tampón de lavado restante, se invirtió la placa golpeando contra papel absorbente limpio.
5. Se agregaron 100 μL del conjugado HRP a cada pocillo, cubriendo con un nuevo sellador de placas y se incubó durante 30 minutos a 37°C.
6. Se aspiró el líquido de cada pocillo y se realizaron 5 lavados como en el paso 4.
7. Se agregaron 90 μL de la solución de sustrato TMB a cada pocillo, cubriendo con un nuevo sellador de placas e incubando durante 15 minutos a 37°C protegiendo de la luz y monitoreando periódicamente hasta lograr un desarrollo óptimo del color.
8. Se agregaron 50 μL de solución de parada a cada pocillo. El color azul cambió a amarillo inmediatamente. La solución de parada se agregó a los pozos en el mismo orden y tiempo que la solución de sustrato TMB.
9. Se determinó la densidad óptica de cada pocillo inmediatamente usando un lector de microplacas ajustado a 450 nm.

Se construyó una curva estándar trazando la absorbancia media para cada estándar en el eje x contra la concentración en el eje y. Los datos se linealizaron trazando el logaritmo de las concentraciones de antígeno diana frente al logaritmo de la densidad óptica y la línea de ajuste se determinó mediante análisis de regresión. Las densidades ópticas de las muestras se extrapolaron para obtener las concentraciones de cada una.

Análisis estadístico

Los datos sociodemográficos se analizaron mediante estadística descriptiva. Las medianas de los biomarcadores en estudio se compararon mediante la prueba según su normalidad de Kolmogorov Smirnov y U de Mann Whitney, para analizar la correlación entre biomarcadores, se realizó una correlación de Spearman. Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 22, estableciendo un valor $P \leq 0.05$ como estadísticamente significativo.

8. RESULTADOS

Características poblacionales

En el estudio participaron 64 pacientes voluntarias que fueron divididas en 2 grupos: 23 mujeres con embarazo normoevolutivo (MEEN) y 41 mujeres con embarazo de riesgo (MER) cursando el 2º y 3er. trimestre de embarazo. La tabla 1 muestra las medias \pm desviación estándar de las características poblacionales.

Tabla 1. Características poblacionales de las voluntarias.

	MENN n = 23		MER n = 41	
	2º. trimestre	3er. trimestre	2º. trimestre	3er. trimestre
Edad (años)	23.8 \pm 4.5	-	27.0 \pm 5.8	-
Altura (m)	1.58 \pm 0.07	-	1.57 \pm 0.07	-
Peso (kg)	66.7 \pm 11.1	70.3 \pm 11.05	72.4 \pm 14.8	75.2 \pm 14.6
IMC	26.4 \pm 3.9	27.8 \pm 3.7	29.2 \pm 5.02	30.4 \pm 4.94
Semanas de Gestación	22.8 \pm 3.9	32.7 \pm 2	23.2 \pm 3.9	32.6 \pm 2.1
PAS (mm / Hg)	103.3 \pm 8.4	106.9 \pm 7.0	111.4 \pm 13.5	111.9 \pm 10.0
PAD (mm Hg)	63.6 \pm 8.2	63.9 \pm 5.8	66.7 \pm 9.6	69.5 \pm 9.5

MEEN: Mujeres con Embarazo Evolutivo Normal o normogestas, MER: Mujeres con Embarazo de Riesgo, IMC: Índice de Masa Corporal, PAS: Presión Arterial Sistólica, PAD: Presión Arterial Diastólica

Como se observa en la tabla 1 la edad de las mujeres embarazadas de ambos grupos fue similar. La edad del grupo MEEN estaba en un intervalo entre 18 a 31 años y las del grupo MER entre 18 a 40 años. A pesar de que no hubo diferencias significativas en el peso promedio de las voluntarias entre ambos grupos, del grupo MER fue menor en el 2º. trimestre (U-Mann Withney; $p > 0.05$). El IMC aumentó del 2º. al 3er. trimestre de embarazo en un 5.5% en el grupo MEEN y 3.81% en el MER.

Los valores de presión arterial sistólica (PAS) y de presión arterial diastólica (PAD) no son mayores al valor de referencia para determinar hipertensión (PAS \geq 140 mmHg, PAD \geq 90 mmHg). Encontramos circunstancias comunes en las pacientes de ambos grupos: prescripción médica de sulfato ferroso y ácido fólico, antecedentes familiares de diabetes mellitus, hipertensión y algún tipo de cáncer, sin antecedentes de alcoholismo ni tabaquismo, ocupación ama de casa, multiparidad.

Biomarcadores en estudio

Se compararon las medias \pm desviación estándar de los biomarcadores en estudio, realizando 4 comparaciones (tablas 2 y 3):

MEEN 2º. trimestre vs MEEN 3er. trimestre.

MEEN 2º. trimestre vs MER 2º. trimestre.

MER 2º. trimestre vs MER 3er. trimestre.

MEEN 3er. trimestre vs MER 3er. trimestre.

Éstas comparaciones fueron realizadas en la población total de voluntarias mediante dos análisis: el primero agrupando las 64 pacientes divididas en MEEN (n = 23) y MER (n = 41) (Tabla 2) y el segundo agrupando solamente 23 pacientes que contaban con todos los parámetros en estudio medidos, divididas en MEEN (n = 23) y MER (n = 41) (Tabla 3).

Tabla 2. Medias de los resultados de química sanguínea, estrés oxidativo y hepcidina (n = 64).

	MENN n = 23		MER n = 41		U Mann Whitney			
	2º. trimestre	3º. trimestre	2º. trimestre	3º. trimestre	p1	p2	p3	p4
Glucosa (mg/dL)	83.78 \pm 10.82	87.13 \pm 11.4	91 \pm 15.9	89.24 \pm 13.56	0.206	0.026*	0.568	0.711
Colesterol (mg/dL)	187.56 \pm 19.67	206.08 \pm 37.98	233.51 \pm 51.65	249.09 \pm 62.37	0.15	<0.001*	0.297	0.002*
Triglicéridos (mg/dL)	144.56 \pm 33.71	193.47 \pm 57.82	242.8 \pm 72.63	318.8 \pm 98.94	0.002*	<0.001*	<0.001*	<0.001*
SOD (μ mol/g Hb)	470.17 \pm 293.63	635.76 \pm 253.45	432.25 \pm 264.57	553.3 \pm 274.27	0.049*	0.68	0.043*	0.26

CAT (nmol/g Hb)	570.08 ± 265.53	580.25 ± 314.18	475.84 ± 262.86	549.36 ± 295.1	0.852	0.177	0.301	0.828
GPx (μmol/g Hb)	14.03 ± 6.2	18.38 ± 7.9	13.26 ± 6.6	17.27 ± 6.25	0.049*	0.45	0.007*	0.506
LPOx (nmol/g Hb)	313.71 ± 185.25	475.55 ± 238.41	375.09 ± 156.71	410.07 ± 159.9	0.024*	0.173	0.537	0.367
Hepcidina (ng/mL) n = 38	3.6 ± 4.2	3.65 ± 3.44	4.69 ± 3.23	6.84 ± 5.14	0.806	0.005*	0.199	0.02*

*Valor significativo p<0.05

p1. MEEN 2º. trimestre vs MEEN 3er. trimestre.

p2. MEEN 2º. trimestre vs MER 2º. trimestre.

p3. MER 2º. trimestre vs MER 3er. trimestre.

p4. MEEN 3er. trimestre vs MER 3er. trimestre.

En relación a los resultados del primer análisis, tabla 2, se observa que los biomarcadores en donde hubo un cambio significativo en los valores promedio fueron glucosa, colesterol, triglicéridos, SOD, GPx, LPOx y hepcidina. Los valores promedio de colesterol obtenidos en el MER fueron mayores significativamente en el 2º. y 3er. trimestre comparados con los obtenidos en el MEEN en un 19.7% y 17.3% respectivamente (gráfica 1b). Al comparar los resultados obtenidos entre el 2º. y 3er. trimestre de gestación, los niveles promedio de triglicéridos se incrementaron en un 25.2% en el MEEN y en MER el 23.8% (gráfica 1c), aun cuando los porcentajes fueron similares, los valores de los triglicéridos en el 2º. y 3er. trimestre del MER fueron 1.67 y 1.65 veces mayores a los del MEEN (gráfica 1d). Los niveles de glucosa fueron mayores significativamente en un 7.93% en el MER comparados con el MEEN solo en el 2º. trimestre (gráfica 1a).

Los resultados de los biomarcadores de estrés oxidativo muestran que la actividad de SOD incrementó significativamente entre el 2º. y 3er. trimestre de gestación, tanto para el MEEN como para el MER (26% y 21.9%, respectivamente) (gráfica 1e), similar a la GPx (23.7% y 23.2% respectivamente) (gráfica 1f). Los niveles de LPOx se incrementan significativamente 34% en el MEEN (gráfica 1g), sin embargo para el MER solo el 8.5 % sin ser significativo. Se obtuvo una concentración mayor de hepcidina en MER comparada con el MEEN tanto para el 2º. como para el 3er. trimestre (23.2 y 46.6% respectivamente) (gráfica 4h). En relación a la cinética de hierro no hubo diferencia significativa entre los grupos de estudio, ni entre los trimestres de embarazo.

Gráfica 1. Comparación entre el 2º.y 3er. trimestre de embarazo de colesterol, triglicéridos, SOD, GPx, LPOx y hepcidina (n = 64).

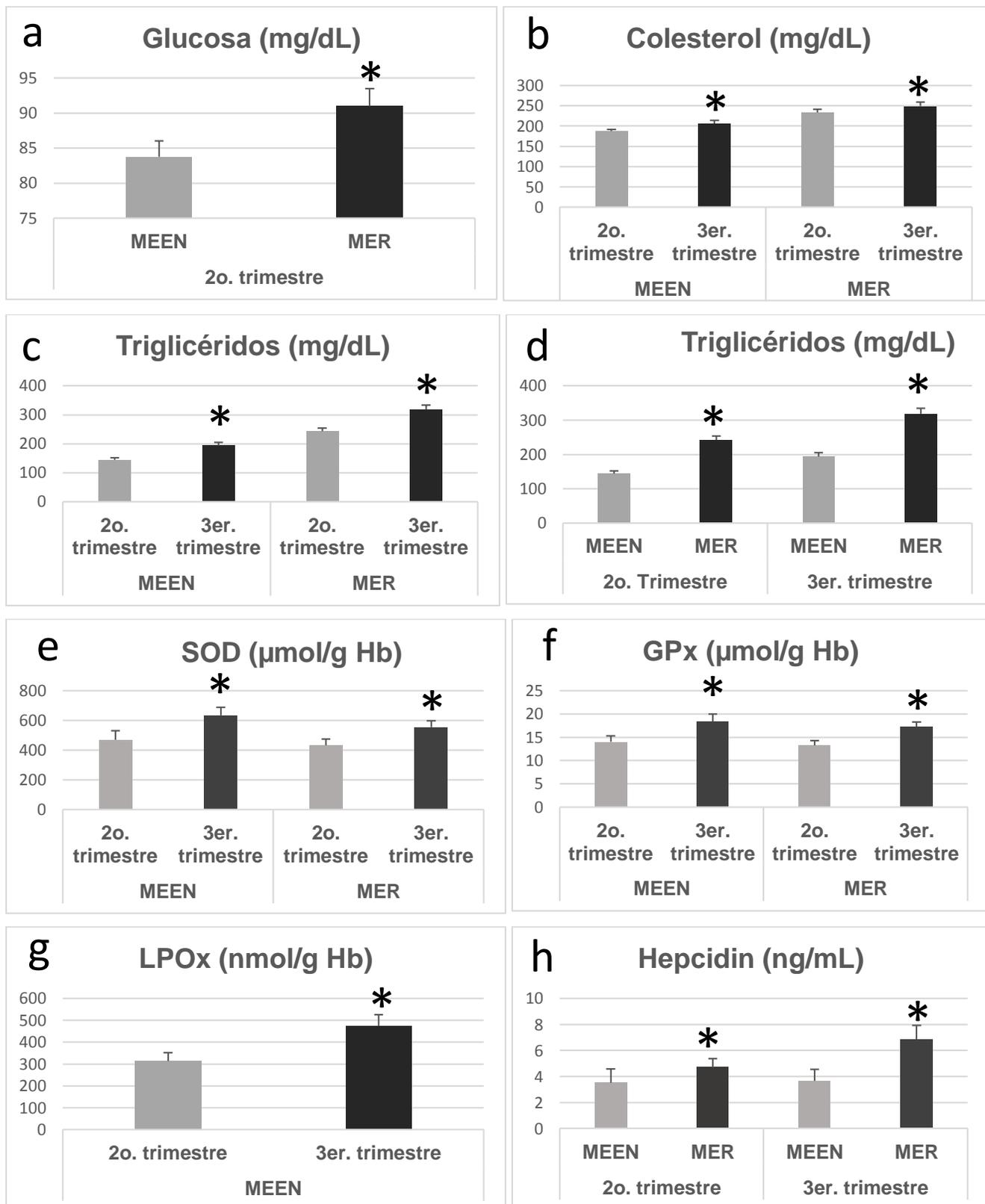


Tabla 3. Medias de los resultados de química sanguínea, estrés oxidativo y hepcidina (n = 23).

	MEEN n = 11		MER n = 12		U Mann Whitney			
	2º. trimestre	3º. trimestre	2º. trimestre	3º. trimestre	p1	p2	p3	p4
Glucosa (mg/dL)	85.9 ± 12.63	93.1 ± 12.5	85.67 ± 8.48	89.33 ± 17.44	0.116	0.608	0.799	0.26
Colesterol (mg/dL)	185.27 ± 22.55	196.55 ± 36.48	243.16 ± 45.04	260.83 ± 27.78	0.652	<0.001*	0.242	<0.001*
Triglicéridos (mg/dL)	157.18 ± 38.87	187.45 ± 64.16	234.58 ± 48.85	303.08 ± 78.9	0.401	<0.001*	0.024*	<0.001*
SOD (µmol/g Hb)	554.82 ± 248.82	611.5 ± 282.1	491.3 ± 239.31	474.05 ± 233.98	0.699	0.608	0.755	0.211
CAT (nmol/g Hb)	645.22 ± 288.87	601.53 ± 330.95	486.66 ± 263.2	458.28 ± 282.65	0.519	0.235	0.59	0.487
GPx (µmol/g Hb)	18.38 ± 2.98	21.9 ± 7.2	15.27 ± 4.3	19.77 ± 5.72	0.171	0.051	0.033*	0.487
LPOx (nmol/g Hb)	279.52 ± 206.7	567.48 ± 272.29	357.84 ± 180.21	441.57 ± 168.65	0.028*	0.26	0.347	0.379
Hierro sérico (µg/dL)	78.53 ± 33.73	86.54 ± 32.38	64.43 ± 18.75	69.6 ± 19.76	0.438	0.487	0.514	0.316
TIBC (µg/dL)	439.35 ± 80.58	437.15 ± 81.58	463.47 ± 98	460.23 ± 97.85	0.949	0.487	0.799	0.525
UIBC (µg/dL)	356.45 ± 94.19	358.54 ± 90.45	397.4 ± 90.73	392.9 ± 92.83	0.898	0.19	0.843	0.288
Saturación de hierro (%)	16.9 ± 7.12	20.35 ± 6.81	14 ± 4.26	15.08 ± 5.33	0.217	0.169	0.478	0.016*
Ferritina (ng/mL)	15.98 ± 12.45	18.92 ± 14.97	9.62 ± 2.94	11.55 ± 3.4	0.519	0.413	0.198	0.288
Hepcidina (ng/mL)	2.61 ± 3.12	3.38 ± 3.72	4.64 ± 3.69	7.17 ± 6.43	0.519	0.104	0.478	0.118

*Valor significativo p<0.05

p1. MEEN 2º. trimestre vs MEEN 3er. trimestre.

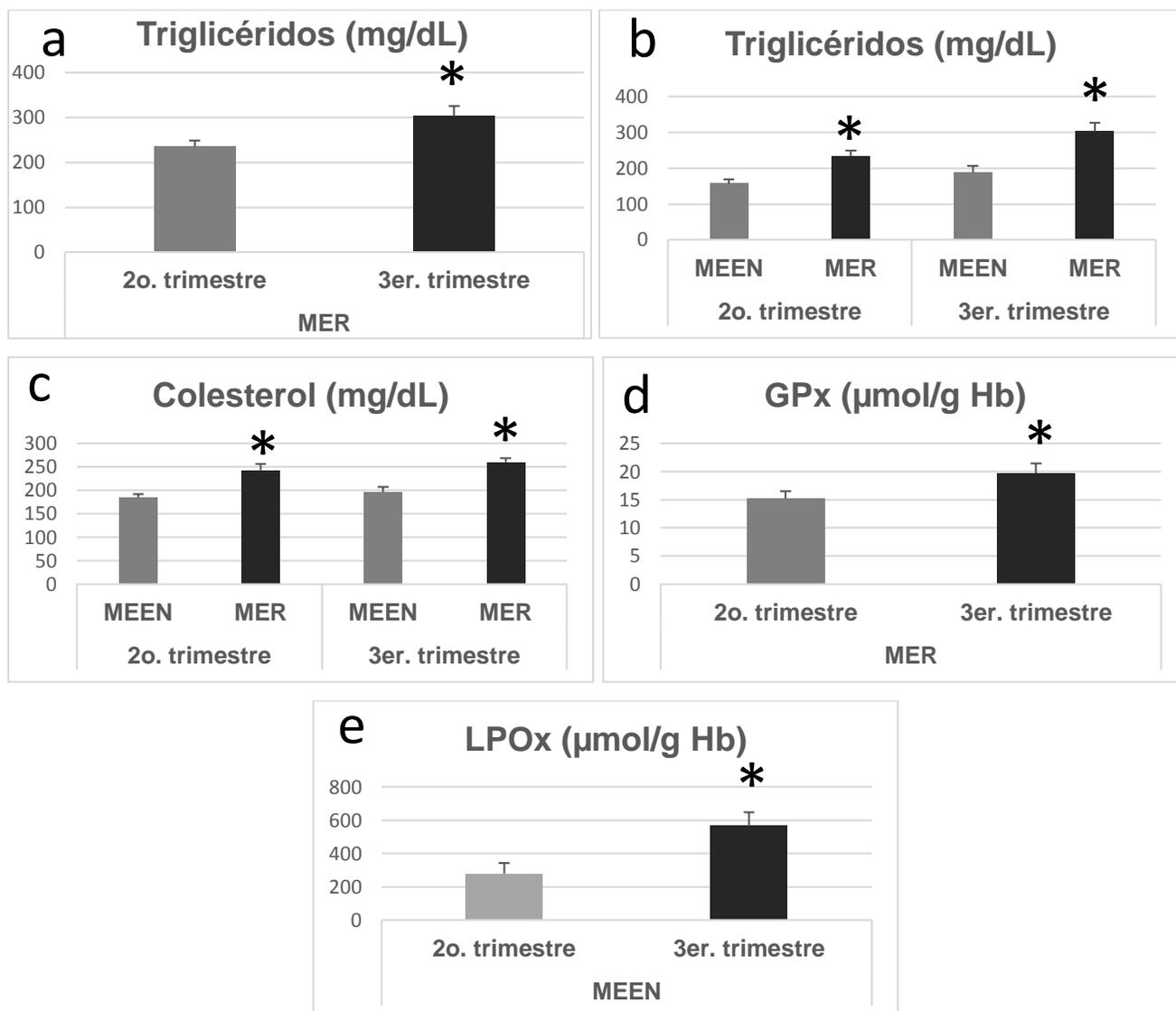
p2. MEEN 2º. trimestre vs MER 2º. trimestre.

p3. MER 2º. trimestre vs MER 3er. trimestre.

p4. MEEN 3er. trimestre vs MER 3er. trimestre.

En relación a los resultados del segundo análisis, tabla 3, se observa que los biomarcadores en donde hubo un cambio significativo en los valores promedio fueron triglicéridos, colesterol, GPx y LPOx. Hubo un incremento significativo al comparar los resultados promedio de triglicéridos entre el 2º y 3er. trimestre de gestación en el MER incrementándose en un 22.6% (gráfica 2a), así como al comparar los valores entre el MEEN y MER, tanto para el 2º. como para el 3er. trimestre (33% y 38.15%, respectivamente) (gráfica 2b). Para los valores de colesterol, el incremento fue del 22.6% en el MER del 2º. al 3er. trimestre y fue 1.6 veces mayor que el colesterol obtenido para el MEEN en el 3er. trimestre (gráfica 2c). Del 2º. al 3er. trimestre la GPx se incrementó 22.8% en el MER (gráfica 2d) y la LPOx en 34% en el MEEN (gráfica 2e).

Gráfica 2. Comparación entre el 2º.y 3er. trimestre de embarazo de colesterol, triglicéridos, colesterol, GPx y LPOx (n = 23).



El análisis de correlación de Spearman (tabla 4), muestra la asociación entre los biomarcadores de EOx, hepcidina y cinética de hierro. La concentración de hierro sérico tuvo una relación negativa significativa con la actividad enzimática de CAT (-0.599; $p= 0.04$) y una relación positiva con GPx (0.729; $p= 0.007$) en el 3er. trimestre de MER. Se obtuvo una asociación positiva entre SOD y niveles de LPOx (0.395; $p= 0.007$) en las 23 voluntarias de esta etapa y para MEEN una correlación positiva (0.481; $p= 0.24$). Se observa que a menor concentración de hepcidina (ng/dL) se incrementa SOD en el 3er. trimestre del MEEN (-0.6; $p= 0.050$), y en el MER el comportamiento es inverso en el 2º. trimestre de embarazo cuando

se incrementa la concentración de hepcidina se incrementa también la actividad de SOD (0.615; p= 0.033), para GPx (-0.636; p= 0.026), resulta una relación inversa.

Tabla 4. Correlación del perfil de hierro y hepcidina con química sanguínea y estrés oxidativo (n = 23).

	MEEN y MER (n = 23)		MEEN* (n = 11)		MER* (n = 12)		MEEN 2º. trimestre (n=11)		MEEN 3º. trimestre (n=11)		MER 2º. trimestre (n=12)		MER 3º. trimestre (n=12)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
Hierro - TIBC					0.513	0.010							0.608	0.036
Hierro - UIBC	-0.325	0.028	-0.516	0.014										
Hierro - %S	0.815	<0.001*	0.918	<0.001	0.664	<0.001	0.918	<0.001	0.900	<0.001	0.760	0.004	0.579	0.049
Hierro - Ferritina			0.767	<0.001			0.818	0.002	0.818	0.002				
Hierro - CAT											-0.599	0.040		
Hierro - GPx											0.729	0.007		
%S - TIBC	-0.407	0.005												
%S - UIBC	-0.646	<0.001*	-0.643	<0.001	-0.483	0.017	-0.683	0.020	-0.691	0.019				
%S - Ferritina			0.695	<0.001	0.587	0.003	0.782	0.004	0.745	0.008				
%S - Glucose									-0.627	0.039				
%S - Triglicéridos											-0.643	0.024		
%S - LPOx			0.465	0.029										
Ferritina - TIBC			-0.489	0.021										
Ferritina - UIBC			-0.677	<0.001			-0.756	0.007	-0.645	0.032				
Ferritina - Colesterol									-0.645	0.032				
Ferritina - Triglicéridos							0.645	0.032						
Ferritina - CAT	-0.332	0.024												
Ferritina - LPOx													-0.632	0.028
TIBC - UIBC	0.92	<0.001*	0.869	<0.001	0.819	<0.001	0.902	<0.001	0.845	0.001	0.839	0.001	0.734	0.007
TIBC - Colesterol			0.445	0.038					0.800	0.003				
TIBC - Triglicéridos					0.478	0.018							0.651	0.022
UIBC - Colesterol									0.673	0.023				
UIBC - Triglicéridos					0.462	0.023					0.580	0.048		
Hepcidina - SOD					0.403	0.05			-0.600	0.050	0.615	0.033		
Hepcidina - CAT	-0.316	0.032												
Hepcidina - GPx													-0.636	0.026

* El análisis se realizó con los datos del 2º. trimestre y 3º. trimestre.

Artículo enviado y publicado



Institute of Medico-Legal Publications

Unit No. 1704, Logix Office Tower, Sector- 32, Noida - 201 301 (Uttar Pradesh) India, Tel. 0120- 429 4015

Mobile: +91-9971888542, E-mail: editor.ijphrd@gmail.com, Website: www.ijphrd.in

No8301/IJPHRD/2020

05-09-2020

To,

Karla Mariana Ortega López

Research Scholar, Faculty of Chemistry, Autonomous University of the State of México(UAEMéx).

Dear author/s

I have pleasure to inform you that your following Original Article has been accepted for publication in Indian Journal of Public Health Research and Development

Iron profile and hepcidin associated with oxidative stress and metabolic disturbances in pregnancy
Karla Mariana Ortega López 1 , Araceli Amaya Chávez 2 , Patricia Vieyra Reyes 3 , Hugo Mendieta Zerón 4 .

1. Research Scholar, Faculty of Chemistry, Autonomous University of the State of México(UAEMéx).
2. Professor, Faculty of Chemistry, Autonomous University of the State of México(UAEMéx).
3. Professor, Faculty of Faculty of Medicine, Autonomous University of the State of México (UAEMéx).
4. Professor, Faculty of Faculty of Medicine, Autonomous University of the State of México (UAEMéx) and "Mónica Pretelini Sáenz" Maternal-Perinatal Hospital (HMPMPS).

Author for correspondence

Hugo Mendieta Zerón, MD, PhD.

Faculty of Medicine, Autonomous University of the State of Mexico (UAEMéx), Paseo Tollocan S/N,
Col. Universidad. 50120 Toluca, Mexico. E-mail: drmendietaz@yahoo.com

It will be published in December 2020. It is further mentioned for your information that our journal is a double-blind peer reviewed indexed international journal. It is covered by Indian Citation index, Google Scholar, CINAHL, EBSCOhost (USA), and many other international databases.

With regards

Yours sincerely

Prof Vidya Surwade

Editor

Iron profile and Heparin Associated with Oxidative Stress and Metabolic Disturbances in Pregnancy

Karla Mariana Ortega López¹, Araceli Amsya Chávez², Patricia Vieyra Reyes³, Hugo Mendieta Zerón⁴

¹Research Scholar, Faculty of Chemistry, Autonomous University of the State of México (UAEMéx), ² Professor, Faculty of Chemistry, Autonomous University of the State of México (UAEMéx), ³Professor, Faculty of Faculty of Medicine, Autonomous University of the State of México (UAEMéx), ⁴Professor, Faculty of Faculty of Medicine, Autonomous University of the State of México (UAEMéx) and "Mónica Pretelini Sáenz" Maternal-Perinatal Hospital (HdPMPS)

Abstract

Background: A common problem during pregnancy is anemia and to reduce its prevalence the WHO and national guidelines recommend a prescription of 30 to 60 mg of iron/day. The aim of this study was to evaluate the association of iron profile, hepcidin and oxidative stress in pregnant women prescribed with iron as a probable cause of metabolic disorders.

Method: In this cohort study two groups were followed: A) women with low-risk pregnancy (WLRP), B) women with high-risk pregnancy (WHRP): women with metabolic disorders (dyslipidemias, GDM and high blood pressure). Oxidative stress enzymes, iron profile and hepcidin were measured in the second and third trimesters.

Results: There were significant differences in hepcidin levels between WLRP and WHRP in 2nd (3.6 ± 4.2 vs 4.69 ± 3.23 $P=0.005$) and 3rd trimester (3.65 ± 3.44 vs 6.84 ± 5.14 $P=0.02$). The serum iron concentration had a negative relationship with catalase (-0.599 ; $P=0.04$) and a positive relationship with glutathione peroxidase (0.729 ; $P=0.007$).

Conclusion: The iron serum levels increase could induce oxidative damage in pregnancy. Increased hepcidin is a useful biomarker for determining iron availability in pregnancy and its association with antioxidant systems.

Key words: hepcidin, iron, oxidative stress, pregnancy

Introduction

Between 2% and 5% of pregnancies in women older than 30 are associated with metabolic disorders¹ and 40.1% are related to anemia-associated nutritional deficits, being 50% of these due to iron deficiency.² Therefore, the prophylactic prescription of iron

supplements has become routine in the gestational period,³ recommending from 30 to 60 mg of iron/day as a prophylactic dose during pregnancy to avoid anemia.⁴

The Mexican Institute of Social Security (IMSS) defined in 1959 a standardized supplemental dose of 60 mg of elemental iron, generally supplied as 200 mg of ferrous sulfate/day based on estimates of pregnancy iron requirements between 3.5 to 4 mg/day. Moreover, the Mexican government recommends the administration of iron and folic acid as prophylactic prescription.²

It is well-known that iron participates in the generation and propagation of reactive oxygen species (ROS) and lipid hydroperoxides, which play an

Author for correspondence

Hugo Mendieta Zerón, MD, PhD.

Faculty of Medicina, Autonomous University of the State of Mexico (UAEMéx), Paseo Tollocan S/N, Col. Universidad, 50120 Toluca, Mexico.

E-mail: drmendieta@yaahoo.com

important role in the pathophysiology of diseases such as gestational diabetes mellitus (GDM) and preeclampsia.⁵

It is recognized that, to guarantee an absorption of between 4 and 7 mg/day of iron, at least 20 mg/day of this element should be consumed in the diet (20% bioavailability), and adding 60 mg/day of supplemented iron, a pregnant woman would receive 80 mg/day of which 16 mg/day would be absorbed, which implies a dose 4 to 8 times higher than the minimum requirement amount, leading possibly to an iron overloading exposition in the gastrointestinal system. Hence, iron overload results in an increase in total body iron stores, a situation that could favor oxidative stress in any system and in the body in general.

Hepcidin peptide plays an important role in iron homeostasis since it regulates both iron absorption in the duodenum and its recycling process from senescent erythrocytes.⁶ The aim of this work was to evaluate the correlations among serum iron levels, hepcidin and oxidative stress in pregnant women with or without metabolic disorders.

Methods

Study design

This cohort study, carried out at the “Mónica Pretelini Sáenz” Maternal Perinatal Hospital (HMPPMS), Health Institute of the State of Mexico (ISEM), Toluca, Mexico, included pregnant women divided into two groups: A) women with low-risk pregnancy (WLRP), B) women with high-risk pregnancy (WHRP): women with metabolic disorders (dyslipidemias, GDM and high blood pressure).

Accepting an alpha risk of 0.05 and a beta risk of 0.2 in a two-sided test, 22 subjects per group were necessary to recognize as statistically significant a difference greater than or equal to 3 units for hepcidin levels with a common standard deviation of 3.5.

The protocol was reviewed and approved by the HMPPMS Ethics in Research Committee (number: 2018-10-608) and the volunteers signed an informed consent letter. All the procedures were conducted in accordance with the Declaration of Helsinki (Fortaleza, Brazil) and the General Health Law of Mexico.

Inclusion and exclusion criteria

The inclusion criteria were pregnant women between 18 and 40 years old in the 2nd trimester of gestation prescribed with ferrous sulfate (60 mg/day), presence of metabolic alterations for the risk group pregnancy (previously diagnosed by the treating physician based on: hypertension: systolic blood pressure (SBP) \geq 140 mmHg and/or diastolic blood pressure (DBP) \geq 90 mmHg); GDM; glucose $>$ 130 mg/dL; dyslipidemia: cholesterol $>$ 200 mg/dL and triglycerides $>$ 150 mg/dL) or women with Low-Risk for control group. Pregnant women with congenital heart defects, uterine abnormalities, chronic degenerative diseases, pregnancies with congenitally abnormal fetuses, pregnancies with assisted reproductive technologies, history of smoking, type 2 diabetes mellitus (T2DM) and infectious, inflammatory or autoimmune diseases were excluded. Volunteers who abandoned the study or who were lost to follow-up were discarded from the final analysis.

Data Source

A questionnaire completed by all the patients gathered their health status and sociodemographic data including information of weight, height, blood pressure, blood chemistry (glucose, cholesterol and triglycerides) and blood biochemistry.

Blood samples were obtained in the 2nd (14-27 weeks of gestation) and 3rd trimester (28-42 weeks of gestation). The antioxidant activity was evaluated through the enzymatic quantification of catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx) using the methods of Radis et al.⁷ Miura, et al.⁸ Paglia et al.⁹ respectively, as well as lipid peroxidation (LPOx) levels (Buege method).¹⁰ The iron profile included serum iron, total iron-binding capacity (TIBC), unsaturated iron-binding capacity (UIBC) and iron saturation (%S). Ferritin was also measured by chemiluminescence and hepcidin quantification was done by sandwich ELISA (LifeSpan BioSciences, Inc.)

Sociodemographic data was analyzed by descriptive statistics. The medians of the biomarkers under study were compared using the Mann Whitney U test and in order to analyze the correlation among biomarkers, a Spearman correlation was performed. The IBM SPSS Statistics 22 program was used, setting a P value \leq 0.05

as statistically significant.

Results

Of 106 patients who met the inclusion criteria in the 2nd trimester of gestation, 42 were discarded, 20 did not want to sign the informed consent and 22 had inconsistent information. 64 volunteer patients, 23 in the WLRP group (mean age 23.8 ± 4.5 years, range: 18-31) and 41 in the WHRP group (27.0 ± 5.8 years, range: 18 to 31) participated in the study. Table 1 shows the population characteristics.

In relation to blood chemistry (Table 2), glucose levels were significantly higher by 7.93% in the WHRG group compared with the WLRP group only in the 2nd trimester. Cholesterol values in the WHRP group were significantly higher in the 2nd and 3rd trimester compared with those obtained in the WLRP group, by 19.7% and 17.3%, respectively.

The triglyceride values in the 2nd and 3rd trimester of the WHRP group were 1.67 and 1.65 times higher than those of the WLRP group. In the WLRP group, 26% exceeded the reference values for cholesterol in the 2nd trimester and 47.8% in the 3rd trimester. The triglyceride levels of 26% of the WLRP group were higher than 200 mg/dL in the 2nd trimester and 73.9% in the 3rd trimester. The WHRP group exceeded the 73.2% reference value for cholesterol in the 2nd trimester and 78.0% in the 3rd trimester. Likewise, for triglyceride, these percentages were 87.8% and 97.46%.

The results of the oxidative stress biomarkers show that SOD activity increased significantly between the 2nd and 3rd trimester in both groups (WLRP 26% and WHRP 21.9%); the increments for GPx in the same order

were 23.7% and 23.2%. Finally, LPOx levels increased 34% in the WLRP group, but only 8.5% in the WHRP group without being significant.

Regarding iron profile, there was no significant difference between the study groups, nor between the trimesters of pregnancy. Notwithstanding, a higher hepcidin concentration was obtained in the WHRP group compared with the WLRP group for both the 2nd and 3rd trimester (23.2 and 46.6%, respectively). TIBC in the 3rd trimester of the WLRP group and in the 2nd and 3rd trimester of the WHRP group were higher than the reference values (240 to 450 $\mu\text{g/dL}$).

To analyze the results of the iron profile, the groups were formed as follows: WLRP (n = 11) and WHRP (n = 12) (since only these volunteers had all the determined parameters). A significant difference between the groups was observed only for iron saturation in the 3rd trimester (Table 3).

Finally, Spearman's correlation (Table 4) showed as main results that serum iron concentration had a significant negative relationship with CAT (-0.599; $P=0.04$) and positive with GPx (0.729; $P=0.007$). A positive correlation was obtained between SOD and LPOx (0.395; $P=0.007$), being lower for the WLRP group (0.481; $P=0.24$). It was also observed that at a lower hepcidin concentration, the SOD activity in the 3rd trimester of the WLRP group was higher (-0.6; $P=0.050$), and in the WHRP group the behavior was the opposite in the 2nd trimester of pregnancy. Interestingly, when the hepcidin concentration increased, the SOD activity also increased (0.615; $P=0.033$). For GPx activity, the correlation was negative with hepcidin (-0.636; $P=0.026$).

Table 1. Population characteristics

Variable	WLRP (N = 23) Mean \pm SD		WHRP (N = 41) Mean \pm SD	
	2nd trimester	3rd trimester	2nd trimester	3rd trimester
Age (years)	23.8 \pm 4.5	-	27.0 \pm 5.8	-
Height (m)	1.58 \pm 0.07	-	1.57 \pm 0.07	-
Weight (kg)	66.7 \pm 11.1	70.3 \pm 11.05	72.4 \pm 14.8	75.2 \pm 14.6
BMI (kg/m ²)	26.4 \pm 3.9	27.8 \pm 3.7	29.2 \pm 5.02	30.4 \pm 4.94
Gestation (weeks)	22.8 \pm 3.9	32.7 \pm 2	23.2 \pm 3.9	32.6 \pm 2.1
Systolic Blood Pressure (mm Hg)	103.3 \pm 8.4	106.9 \pm 7.0	111.4 \pm 13.5	111.9 \pm 10.0
Diastolic Blood Pressure (mm Hg)	63.6 \pm 8.2	63.9 \pm 5.8	66.7 \pm 9.6	69.5 \pm 9.5

Abbreviations: BMI: Body Mass Index, WLRP: Women with Low-Risk, WHRP: Women with High-Risk Pregnancy.

Table 2. Means of the results of blood chemistry, oxidative stress and hepcidin (N = 64)

Variable	WLRP (N = 23)		WHRP (N = 41)		Mann Whitney U test			
	2nd trimester	3rd trimester	2nd trimester	3rd trimester	*	†	‡	§
Glucose (mg/dL)	83.7 ± 10.8	87.1 ± 11.4	91 ± 15.9	89.2 ± 13.5	0.206	0.026	0.568	0.711
Cholesterol (mg/dL)	187.5 ± 19.67	206.1 ± 37.9	233.5 ± 51.6	249.1 ± 62.4	0.15	<0.001	0.297	0.002
Triglycerides (mg/dL)	144.5 ± 33.71	193.5 ± 57.8	242.8 ± 72.6	318.8 ± 98.9	0.002	<0.001	<0.001	<0.001
SOD (µmol/g Hb)	470.2 ± 293.63	635.7 ± 253.4	432.2 ± 264.6	553.3 ± 274.3	0.049	0.68	0.043	0.26
CAT (nmol/g Hb)	570.1 ± 265.53	580.2 ± 314.2	475.8 ± 262.9	549.4 ± 295.1	0.852	0.177	0.301	0.828
GPx (µmol/g Hb)	14.0 ± 6.2	18.4 ± 7.9	13.3 ± 6.6	17.3 ± 6.2	0.049	0.45	0.007	0.506
LPOx (nmol/g Hb)	313.7 ± 185.25	475.5 ± 238.4	375.1 ± 156.7	410.1 ± 159.9	0.024	0.173	0.537	0.367
Hepcidin (ng/mL) n = 38	3.6 ± 4.2	3.6 ± 3.4	4.7 ± 3.2	6.8 ± 5.1	0.806	0.005	0.199	0.02

Abbreviations: CAT: catalase, GPx: glutathione peroxidase, LPOx: lipid peroxidation, SOD: superoxide dismutase, WLRP: Women with Low-Risk, WHRP: Women with High-Risk Pregnancy.

* WLRP 2nd trimester vs. WLRP 3rd trimester.

† WLRP 2nd trimester vs. WHRP 2nd trimester.

‡ WHRP 2nd trimester vs. WHRP 3rd trimester.

§ WLRP 3rd trimester vs. WHRP 3rd trimester.

Table 3. Means of the results of iron profile and hepcidin (n = 23).

Variable	WLRP (N = 11)		WHRP (N = 12)		Mann Whitney U test			
	2nd trimester	3rd trimester	2nd trimester	3rd trimester	*	†	‡	§
Iron (µg/dL)	78.53 ± 33.73	86.54 ± 32.38	64.43 ± 18.75	69.6 ± 19.76	0.438	0.487	0.514	0.316
TIBC (µg/dL)	439.35 ± 80.58	437.15 ± 81.58	463.47 ± 98	460.23 ± 97.85	0.949	0.487	0.799	0.525
UIBC (µg/dL)	356.45 ± 94.19	358.54 ± 90.45	397.4 ± 90.73	392.9 ± 92.83	0.898	0.19	0.843	0.288
Iron saturation (%)	16.9 ± 7.12	20.35 ± 6.81	14 ± 4.26	15.08 ± 5.33	0.217	0.169	0.478	0.016
Ferritin (ng/mL)	15.98 ± 12.45	18.92 ± 14.97	9.62 ± 2.94	11.55 ± 3.4	0.519	0.413	0.198	0.288
Hepcidin (ng/mL)	2.61 ± 3.12	3.38 ± 3.72	4.64 ± 3.69	7.17 ± 6.43	0.519	0.104	0.478	0.118

Abbreviations: TIBC: total iron-binding capacity, UIBC: unsaturated iron-binding capacity, WLRP: Women with Low-Risk pregnancy, WHRP: Women with High-Risk Pregnancy.

* WLRP 2nd trimester vs. WLRP 3rd trimester.

† WLRP 2nd trimester vs. WHRP 2nd trimester.

‡ WHRP 2nd trimester vs. WHRP 3rd trimester.

§ WLRP 3rd trimester vs. WHRP 3rd trimester.

Table 4. Correlation of biomarkers of iron profile and hepcidin with blood chemistry and oxidative stress

Variables	WLRP and WHRP (N = 23)		WLRP 2nd trimester (N=11)		WLRP 3rd trimester (N=11)		WHRP 2nd trimester (N=12)		WHRP 3rd trimester (N=12)	
	r	P value	r	P value	r	P value	r	P value	r	P value
Iron - TIBC									0.608	0.036
Iron - UIBC	-0.325	0.028								
Iron - %S	0.815	<0.001	0.918	<0.001	0.9	<0.001	0.76	0.004	0.579	0.049
Iron - Ferritin			0.818	0.002	0.818	0.002				

Cont... Table 4. Correlation of biomarkers of iron profile and hepcidin with blood chemistry and oxidative stress

Iron - CAT							-0.599	0.04		
Iron - GPx							0.729	0.007		
%S - TIBC	-0.407	0.005								
%S - UIBC	-0.646	<0.001	-0.683	0.02	-0.691	0.019				
%S - Ferritin			0.782	0.004	0.745	0.008				
%S - Glucose					-0.627	0.039				
%S - Triglycerides							-0.643	0.024		
Ferritin - UIBC			-0.756	0.007	-0.645	0.032				
Ferritin - Cholesterol					-0.645	0.032				
Ferritin - Triglycerides			0.645	0.032						
Ferritin - CAT	-0.332	0.024								
Ferritin - LPOx									-0.632	0.028
TIBC - UIBC	0.92	<0.001	0.902	<0.001	0.845	0.001	0.839	0.001	0.734	0.007
TIBC - Cholesterol					0.8	0.003				
TIBC - Triglycerides									0.651	0.022
UIBC - Cholesterol					0.673	0.023				
UIBC - Triglycerides							0.58	0.048		
Hepcidin - SOD					-0.6	0.05	0.615	0.033		
Hepcidin - CAT	-0.316	0.032								
Hepcidin - GPx									-0.636	0.026

Abbreviations: CAT: catalase, GPx: glutathione peroxidase, LPOx: lipid peroxidation, SOD: superoxide dismutase, TIBC: total iron-binding capacity, UIBC: unsaturated iron-binding capacity, %S: iron percentage saturation, WLRP: Women with Low-Risk pregnancy, WHRP: Women with High-Risk Pregnancy.

Discussion

The results of this study showed a similar increase in cholesterol and triglycerides in both groups of volunteers from the 2nd to the 3rd trimester of pregnancy. Similar results to previous published information.^{11,12,13} In this survey, 34.1% of pregnant women in the WHRP group

were hypertensive and 51.2% were dyslipidemic.

On the other hand, SOD and GPx levels increased significantly from the 2nd to the 3rd trimester of pregnancy, in both groups, probably to offset the effect of lipid peroxides and other free radicals produced by abnormal lipid metabolism and inflammation processes

present when metabolic disturbances occur during pregnancy.¹²

Regarding the iron profile, it was found that the volunteers of both groups presented normal serum iron levels (60 to 170 µg/dL). However, the TIBC in the 3rd trimester of the WLRP group and in the 2nd and 3rd trimester of the WHRP group were higher than the reference values (240 to 450 µg/dL),¹⁴ which would indicate the absence of iron deficiency in both groups, and that by increasing the serum iron concentration, it also increases the binding capacity of transferrin and binding sites. This hypothesis is reaffirmed by the positive relationship between serum iron and iron saturation values,¹⁵ as well as a negative relationship between UIBS and iron saturation.

Overall, the positive relationship between iron levels and TIBC in the 3rd trimester in the WHRP group would indicate a probable iron overload when the binding capacity with transferrin saturates, leading to non-transferrin-bound iron being internalized in tissues,¹⁶ where the ROS would increase, unbalancing the antioxidant systems, reflected in the negative relationship between serum iron with CAT and the positive relationship with GPx, as well as the formerly described increase in GPx, affecting insulin secretion and lipid oxidation, resulting in increased sensitivity to insulin and predisposition to GDM.¹⁷

It is worth noting that excess free iron can accept and donate electrons not only to catalyze the Fenton and Haber-Weiss reaction, but also to propagate free radical chain reactions, acting as an oxidative substance with a role in endothelial destruction, and thus participating in the pathogenesis of preeclampsia or GDM,¹⁸ pathologies present in the WHRP group. Usually, efficient iron mobilization of reserves is reflected by lower concentrations of ferritin in the 3rd trimester of pregnancy,¹⁹ contrary to our results in both groups, in which we found an increase, although not significant.

When analyzing hepcidin levels, a significant increase from the 2nd to the 3rd trimester, in both groups, was found, data consistent with those reported early in high-risk pregnancies associated with inflammatory conditions (GDM or preeclampsia), in which hepcidin rises compared with healthy pregnancies, suggesting a probable iron accumulation as a result of the sulfate

ferrous prescription, since when finding a state of poor iron in pregnancy low levels of hepcidin have been found,²⁰ being the lowest during the 3rd trimester compared with the 1st and 2nd trimester, allowing maximum iron transfer to the fetus.²¹

The previous result points to the relevance of measuring hepcidin during pregnancy. For example, finding low levels of it could identify pregnant women who need iron supplementation before other iron status parameters, like hemoglobin change.¹⁹ Conversely, in this cohort, the two patients with the highest values of hepcidin developed preeclampsia.¹⁹

In support of the notion of the importance of hepcidin is the finding of a negative relationship between this hormone and SOD in the WLRP group, reflecting the increase in hepcidin expression due to the increment in systemic iron, which in turn helps to reduce iron-mediated oxidative stress by increasing SOD activity,¹⁴ causing an increase of LPOx levels, without implying metabolic damage when negatively related to glucose.

In the WHRP group, antioxidant activity was affected by iron, a situation reflected by the positive relationship of hepcidin with SOD, causing greater metabolic damage in the 3rd trimester of pregnancy when presenting an increase in the levels of GPx described before, a positive relationship between cholesterol with GPx and LPOx, as well as glucose levels with triglycerides, coinciding in part with a previously reported relationship between triglycerides and SOD in patients with preeclampsia where it would increase the risk of vascular disorders that trigger endothelial dysfunction, atherosclerosis and thrombosis,¹² so that oxidative stress and insufficiency in antioxidant defense systems could be factors that lead to an increase in lipid peroxidation in metabolic diseases such as preeclampsia and GDM,²² in addition to previously described elevated serum concentrations of ferritin and hepcidin, which lead to insulin resistance due to sensitization of peripheral glucose receptors.²³

A previous study in Mexico evaluated the intake of 60 mg of iron, finding that it caused elevations in hemoglobin, serum ferritin, iron, and LPOx, demonstrating that excessive iron intake during pregnancy could be one of the causes of cellular damage.²⁴ Iron overload has also been evaluated in mouse studies, demonstrating that it can generate a pathology similar to that observed in

T2DM, leading to hyperglycemia, hyperinsulinemia, lipid synthesis induction and insulin resistance, as well as increased production of proinflammatory cytokines, such as interleukin (IL)-6, which induces the hepcidin gene transcription.²⁵

It can be concluded from this study that in both circumstances, High-Risk and Low-Risk pregnancies, an increase in systemic iron levels can occur due to an overload induced by iron supplements without a confirmed diagnosis of anemia. The possibility exists that in women with Low-Risk, despite the fact that the antioxidant enzyme systems are responding to the presence of ROS, they are not totally effective since there is a significant increase in LPOx of the 2nd to the 3rd trimester of pregnancy.

A limitation of this study is the small number of patients. Notwithstanding, a final important message is that hepcidin measurement in pregnancy is important as it is the regulating hormone of iron homeostasis, and may be a useful biomarker to determine the availability of iron in pregnancy and its association with antioxidant systems could establish whether the increase in serum iron is one of the factors that lead to the development of metabolic disorders such as preeclampsia, GDM and dyslipidemia.

Acknowledgement: This project was partially funded by the Autonomous University of the State of Mexico (UAEMéx) and by Ciprés Grupo Médico.

Conflicts of Interest: All authors have disclosed no conflicts of interest.

References

1. Zhuang T, Han H, Yang Z. Iron, Oxidative Stress and Gestational Diabetes. *Nutrients*. 2014;6:3968-80.
2. Lopez JD, Blazquez MS, Blazquez CR, et al. Comparative study of ferrocenic in patients with chronic disease and pregnant women with hypochromic microcytic anemia. *Rev Med UV*. 2007;7:22-6.
3. Lachili B, Hininger I, Faure H, et al. Increased lipid peroxidation in pregnant women after iron and vitamin C supplementation. *Biol Trace Elem Res*. 2001;83:103-10.
4. World Health Organization. WHO Guideline: Daily

- Iron and Folic Acid Supplementation in Pregnant Women. Geneva: World Health Organization; 2012 [archived] http://www.who.int/nutrition/publications/micronutrients/guidelines/daily_ifa_supp_pregnant_women/en/ Accessed November 21, 2019.
5. Siddique A, Kowdley KV. Review article: the iron overload syndromes. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;35:876-93.
6. Jung L, Sun C, Hye Ja L, et al. Effect of excess iron on oxidative stress and gluconeogenesis through hepcidin during mitochondrial dysfunction. *J Nutr Biochem*. 2015;26:1414-23.
7. Radi R, Turrens JF, Chang LY, et al. Detection of catalase in rat heart mitochondria. *J Biol Chem*. 1991;266:22028-34.
8. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972;247:3170-5.
9. Paglia DE, Vientime WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med*. 1967;70:158-69.
10. Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 1978;52:302-10.
11. Keshavarz P, Nobakht M, Mirhafez SR, et al. Alterations in Lipid Profile, Zinc and Copper Levels and Superoxide Dismutase Activities in Normal Pregnancy and Preeclampsia. *Am J Med Sci*. 2017;353:552-8.
12. Loy SL, KNS S, JM HJ. Increase in maternal adiposity and poor lipid profile is associated with oxidative stress markers during pregnancy. *Pren Med*. 2012;57:S41-S44.
13. Diagnosis and Treatment of Diabetes in Pregnancy. Mexico: Ministry of Health. 2016. Available from: <http://fmsa.gob.mx/profesionales-salud/gpc> Accessed November 15, 2019.
14. Sarmini CG, Acevedo MI, Arredondo M. Biomarkers of metabolism and iron nutrition. *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica*. 2017;34:690-8.
15. Raza N, Sarwar I, Munazza B, et al. Assessment of iron deficiency in pregnant women by determining iron status. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2014;23:36-40.
16. Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism

- and toxicity. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2005;202:199-211.
17. Moore TA, Ahmad IM, Schmid KK, et al. Oxidative Stress Levels Throughout Pregnancy, at Birth, and in the Neonate. *Biol Res Nurs.* 2019;21:485-94.
 18. Kosha M. Oxidative Stress in Iron Toxicity of the Liver. *The Liver. Institute of Hepatology, London, United Kingdom.* 2018;43-54.
 19. Kahu M, Punnonen K, Ostlund V, et al. Maternal serum hepcidin is low at term and independent of cord blood iron status. *Eur J Haematol.* 2010;85:343-52.
 20. Koenig M, Tussing-Humphreys L, Day J, et al. Hepcidin and Iron Homeostasis during Pregnancy. *Nutrients.* 2014;6:3062-83.
 21. Simavli S, Uysal Derbent A, Uysal S, et al. Hepcidin, iron status, and inflammation variables among healthy pregnant women in the Turkish population. *Matern Fetal Neonatal Med.* 2014;27:75-9.
 22. Taravati A, Tohidi F. Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2018;57:779-90.
 23. Reichert C, da Cunha J, Levy D, et al. Hepcidin: Homeostasis and Diseases Related to Iron Metabolism. *Acta Haematologica.* 2017;137:220-36.
 24. Viteri FE, Casanueva E, Tolentino MC, et al. Antenatal iron supplements consumed daily produce oxidative stress in contrast to weekly supplementation in Mexican non-anemic women. *Reprod Toxicol.* 2012;34:125-32.
 25. Choi JS, Koh IU, Lee HJ, et al. Effects of excess dietary iron and fat on glucose and lipid metabolism. *J Nutr Biochem.* 2013;24:1634-44.

9. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio mostraron un incremento similar de colesterol y triglicéridos en ambos grupos de voluntarias, MEEN y MER, del 2º. al 3er. trimestre de gestación. Se debe resaltar que en ambos grupos, los valores de colesterol y triglicéridos resultaron por arriba de los valores de referencia (<150 mg/dL y <200 mg/dL) (Keshavarz P et al., 2017), ya que en el MEEN, el 26% rebasó los valores de referencia para colesterol en el 2º. trimestre y el 47.82% en el 3er. trimestre, así como para los niveles de triglicéridos del 26% en el 2º. trimestre y del 73.91% en el 3er. trimestre; mientras que en el MER, el 73.17% rebasó los valores de referencia para colesterol en el 2º. trimestre y el 78.04% en el 3er. trimestre, así como para los niveles de triglicéridos del 87.8% en el 2º. trimestre y del 97.46% en el 3er. trimestre, lo que reafirma que los cambios hormonales durante el embarazo inducen alteraciones en el metabolismo de los lípidos, ya que la acumulación de grasa y la hiperlipidemia son los dos cambios principales en el metabolismo de los lípidos asociados con la gestación (Bukhari et al., 2011). El aumento de los lípidos con el avance de la gestación refleja una respuesta de la adaptación metabólica materna para apoyar el crecimiento fetal (Huang H et al, 2013), esto ha sido corroborado en mujeres con embarazos normoevolutivos al evaluar los cambios en la adiposidad materna y el perfil lipídico, donde han sido encontrados niveles significativamente más altos de grasa corporal total, colesterol total, triglicéridos y LDL comparando mujeres que cursan en el 2º. trimestre (15–22 semanas de gestación) y seguidas hasta el 3er. trimestre (32–39 semanas de gestación) (Loy SL et al., 2012).

En mujeres con embarazos normoevolutivos han sido encontrados niveles significativamente más altos de grasa corporal total, colesterol total, triglicéridos y LDL comparando mujeres que cursan en el 2º y 3er. trimestre de embarazo (Loy SL et al., 2012). Sin embargo los valores del MER, en donde se encuentran mujeres hipertensas (34.15%) y dislipidémicas (51.22%), fueron mayores significativamente en ambos periodos comparados con el grupo MEEN. Cabe destacar que en ambos grupos los valores de presión arterial sistólica y diastólica no son mayores al valor de referencia para determinar hipertensión, esto puede ser debido a que aquellas diagnosticadas con la enfermedad tenían control por parte de su

médico tratante (PAS \geq 140 mmHg, PAD \geq 90 mmHg) (Keshavarz P et al., 2017), similar a lo que se obtuvo con los valores de glucosa (<130 mg/dL) (Secretaría de Salud, 2016).

Los niveles de SOD y GPx aumentaron significativamente del 2º. al 3er. trimestre del embarazo, en ambos grupos de estudio, probablemente para compensar el efecto de los peróxidos lipídicos y otros radicales libres que son producidos por el metabolismo anormal de los lípidos y a los procesos de inflamación presentes cuando se presentan alteraciones metabólicas durante el embarazo (Loy SL et al., 2012).

En el análisis de los resultados de la cinética de hierro, se encuentra que las voluntarias de ambos grupos presentan niveles séricos de hierro normales (60 a 170 μ g/dL). Sin embargo la TIBC en el 3er. trimestre de MEEN y en el 2º. y 3er. trimestre de MER fue mayor a los valores de referencia (240 a 450 μ g/dL) (Sermini et al., 2017), lo que indicaría que no hay una deficiencia de hierro al aumentar aunque no significativamente en ambos grupos los niveles de hierro desde el 2º. al 3er. trimestre, ya que cuando el hierro sérico es bajo y la TIBC es alta se debe en parte a la deficiencia de hierro, indicando que al aumentar la concentración de hierro en sangre aumenta la capacidad de fijación de la transferrina y los sitios de unión al relacionarse positivamente los valores de hierro sérico y %S (Raza N et al., 2014), así como la relación negativa entre UIBC y %S. Cuando hay un agotamiento del hierro en los tejidos, la movilización del hierro aumenta a partir de las reservas de ferritina, por lo que se produce un aumento de la transferrina sérica que puede estar directa o indirectamente relacionada con esta inducción (Massey AC, 1992). Si existe una saturación aparente de más del 100% de transferrina (que pudiera evaluarse con la medición de TIBC), habría un indicio de hierro no unido a transferrina presente en el suero en pacientes con sobrecarga de hierro en forma de ferritina tisular si existe un daño hepático significativo que libera ferritina en la sangre, así como formas de hierro de bajo peso molecular; el hierro no unido a transferrina es hierro no hemo que no está unido a transferrina en plasma y se presenta cuando la capacidad de unión al hierro con transferrina está saturada, es potencialmente tóxico y lleva a la generación de radicales libres (Worwood M, 2012).

Encontramos correlaciones positivas en el 3er. trimestre de embarazo del MEEN entre el colesterol con TIBC, UIBC y ferritina, lo que pudiera reafirmar que en el embarazo

normoevolutivo existe un incremento de hierro sistémico que junto con el aumento de colesterol, aumenta las EROs dando lugar a un aumento de los niveles de LPOx previamente descrito. En embarazos sanos, ha sido reportada una correlación positiva entre la actividad antioxidante y los niveles de colesterol total, por lo que un aumento en los niveles de colesterol conducen a la peroxidación lipídica aumentada y la formación de radicales libres (Bhat PV et al., 2019).

La terapia con hierro previamente ha sido evaluada al medir el estatus de hierro en mujeres embarazadas y mujeres no embarazadas, haciendo evidente que cuando el hierro sérico es bajo y la TIBC es alta se debe en parte a la deficiencia de hierro, por lo que la suplementación con hierro es útil para mantener el hierro sérico y el TIBC más cerca de los valores de mujeres normales no embarazadas (Wahed F et al., 2007). Caso contrario con nuestros resultados, donde encontramos una relación positiva en el 3er. trimestre de embarazo en el MER entre los niveles de hierro sérico y TIBC, demostrando que en las pacientes con alteraciones metabólicas no hay una deficiencia si no una sobrecarga de hierro al saturarse la capacidad de unión con la transferrina, dando lugar a que el hierro no ligado a transferrina se internalice en tejidos (Papanikolaou G y Pantopoulos K. 2005), aumentarían las EROs, desequilibrando los sistemas antioxidantes (reflejados con la relación negativa entre el hierro sérico con CAT y la relación positiva con GPx, así como el aumento anteriormente descrito de GPx), afectando la secreción de insulina y la oxidación de lípidos, resultando en una mayor sensibilidad a la insulina y predisposición a la diabetes mellitus gestacional (Moore TA et al., 2019). La prescripción médica con suplementos de hierro en embarazo ha contemplado principalmente el beneficio que posee al evitar complicaciones generadas por la deficiencia de hierro con y sin anemia, lo que por otro lado podría llevar a un exceso de hierro en el organismo (Calderón, 2007). El exceso de hierro libre puede aceptar y donar electrones no solo para catalizar la reacción de Fenton y Haber-Weiss, sino también propagar reacciones en cadena de radicales libres, actuando como una sustancia oxidativa teniendo un papel en la destrucción endotelial y así participar en la patogénesis de preeclampsia o diabetes gestacional (Kosha M. 2018), patologías presentes en el MER.

Una movilización de hierro eficiente de las reservas se ve reflejado por las concentraciones más bajas en el 3er. trimestre de ferritina en el embarazo (Rehu M et al., 2010), contrario a

nuestros resultados en ambos grupos, al encontrar un aumento aunque no significativo en los niveles de ferritina desde el 2º. hasta el 3er. trimestre en ambos grupos (los niveles se encontraron dentro de los valores de referencia: 7-159 ng/mL) (Raza N et al., 2014).

Al analizar los niveles de hepcidina, encontramos un aumento significativo entre el MER y MEEN tanto en el 2º. como 3er. trimestre, datos que concuerdan con los reportados previamente en embarazos de alto riesgo asociados con afecciones inflamatorias (diabetes gestacional o preeclampsia) donde la hepcidina se eleva en comparación con los embarazos sanos, sugiriendo una probable acumulación de hierro a consecuencia de la prescripción médica con sulfato ferroso, ya que al encontrarse un estado de hierro pobre en el embarazo, se han encontrado niveles bajos de hepcidina, debido a la regulación de la hepcidina por el hierro y la eritropoyesis al asociarse con hemoglobina materna, ferritina y hierro (Koenig D et al., 2014), siendo los más bajos durante el 3er. trimestre en comparación con el 1º. y 2º. trimestre, permitiendo la transferencia máxima de hierro al feto (Simavli S et al., 2014). Podría haber una aplicación clínica para la medición de hepcidina durante el embarazo, ya que al medirla y encontrar niveles bajos se podrían identificar a las mujeres embarazadas que necesitan suplementos de hierro, antes de que cambien otros parámetros del estado del hierro como el valor de hemoglobina (Rehu M et al., 2010).

La regulación de la disponibilidad de hierro durante el embarazo depende, al menos en gran parte de las concentraciones maternas de hepcidina, ya que actúa inhibiendo los flujos principales de hierro al plasma: absorción intestinal de hierro, liberación de macrófagos que reciclan el hierro de los eritrocitos viejos y movilización del hierro almacenado desde el hígado (Ganz T et al., 2012).

La relación negativa entre hepcidina y SOD en el MEEN refleja el aumento en la expresión de hepcidina por el aumento de hierro sistémico que a su vez ayuda a reducir el estrés oxidativo mediado por hierro al aumentar la actividad de SOD (Sermini CG et a., 2017), provocando un aumento de los niveles de LPOx previamente descritos, sin implicar un daño metabólico al relacionarse negativamente con la glucosa. En el MER, la actividad antioxidante se vería afectada por el hierro, situación reflejada por la relación positiva de hepcidina con SOD, provocando un daño metabólico mayor en el 3er. trimestre de embarazo

al presentarse un aumento en los niveles de GPx previamente descritos, una relación positiva entre el colesterol con GPx y LPOx, así como los niveles de glucosa con triglicéridos, coincidiendo en parte a una relación previamente reportada entre triglicéridos y SOD en pacientes con preeclampsia donde aumentaría el riesgo de trastornos vasculares que desencadenan disfunción endotelial, aterosclerosis y trombosis (Sermini CG et al., 2017), por lo que el estrés oxidativo e insuficiencia en los sistemas de defensa antioxidante podrían ser un factor que conduzca a un incremento de la peroxidación lipídica en enfermedades metabólicas como la preeclampsia y diabetes gestacional (Taravati A y Tohidi F. 2018), sumado a las concentraciones séricas elevadas de ferritina y hepcidina previamente descritas, que conducen a la resistencia a la insulina debido a la sensibilización de los receptores periféricos de glucosa (Reichert C et al., 2017).

Un estudio en nuestro país evaluó la ingesta de 60 mg de hierro, encontrando que provocaba elevaciones de hemoglobina, ferritina sérica, hierro y LPOx, demostrando que una ingesta de hierro excesiva durante la gestación pudiera ser una de las causas de daño celular (Viteri FE et al., 2012), mientras que en estudios con ratones, ha sido evaluada la sobrecarga de hierro, demostrando que puede generar una patología similar a la observada en la diabetes tipo 2, dando lugar a la hiperglucemia, hiperinsulinemia, inducción de la síntesis de lípidos y resistencia a la insulina, así como un aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias, como la IL-6, que induce la transcripción del gen de la hepcidina (Choi JS et al., 2013). El hierro extracelular normalmente se encuentra ligado a la transferrina, que lo transporta, lo mantiene soluble y prácticamente no-tóxico pero en situaciones de sobrecarga de hierro, se satura la capacidad de unión con la transferrina dando lugar a que el hierro no ligado a transferrina se internalice en tejidos (Papanikolaou G et al., 2005), aumentando la actividad enzimática antioxidante a lo largo del embarazo para inactivar las EROs (Yuksel S et al., 2015) como es el caso de la actividad de la SOD y GPx (Moore TA et al., 2019) así como de CAT, en embarazos donde existe un mayor riesgo metabólico como en la preeclampsia (Taravati A y Tohidi F. 2018).

10. CONCLUSIONES GENERALES

Tanto en el embarazo normoevolutivo como en el que presenta alteraciones metabólicas se puede presentar un aumento en los niveles de hierro sistémico a causa de una sobrecarga inducida por los suplementos de hierro, que en las normogestas a pesar de los niveles altos de EROs, hay una actividad antioxidante efectiva que minimiza los daños celulares a comparación de las embarazadas con alteraciones metabólicas, ya que el aumento de hierro continúa con el daño oxidativo y sería una de las probables causas de alteraciones metabólicas en embarazo.

La medición de hepcidina en embarazo ha cobrado importancia al ser la hormona reguladora de la homeostasis del hierro, pudiendo ser un biomarcador útil para determinar la disponibilidad del hierro en el embarazo y su asociación con los sistemas antioxidantes podrían establecer si el aumento de hierro sérico es uno de los factores que conllevan al desarrollo de alteraciones metabólicas como la preeclampsia, diabetes gestacional y dislipidemias.

11. REFERENCIAS

1. Abilés J. (2007). Estrés oxidativo y su relación con el aporte de antioxidantes nutricionales en el paciente crítico. Tesis de Doctorado. Universidad de Granada.
2. Anderson GJ, McLaren GD. (2012) Iron physiology and pathophysiology in humans. Humana Press, New York.
3. Anderson GJ, Vulpe CD. (2009). Mammalian iron transport. *Cell Mol Life Sci.* 66: 3241–3261.
4. Arellano V, Garay G. (2016). Perfil de lípidos en pacientes con embarazo de término normotensas y aquellas con preeclampsia. *Arch Inv Mat Inf.* 8 (2): 55-61.
5. Attia A, Mohammed T, Abd Al Aziz U. (2015). The relationship between serum hepcidin level and hypoxemia in the COPD patients. *Egypt J of Chest Dis and Tub.* 64, 57–61.
6. Basu S, Kumar N, Srivastava R, Kumar A. (2016). Maternal and cord blood hepcidin concentrations in severe iron deficiency anemia. *Pediatr Neonatol.* 57(5):413-419.
7. Bathia S, Shukla R, Madhu VS, Gambhir KJ, Prabhu MK. (2003). Antioxidant status, lipid peroxidation and nitric oxide end products in patients of type 2 diabetes mellitus with nephropathy. *Clin Biochem.* 36: 557-562.
8. Bhat PV, Vinod V, Priyanka AN, Kamath A. (2019). Maternal serum lipid levels, oxidative stress and antioxidant activity in preeclampsia patients from Southwest India. *Pregn Hyper.* 15: 130–133.
9. Bogeski I, Kappl R, Kummerow C, Gulaboski R, Hoth M, Niemeyer BA. (2011). Redox regulation of calcium ion channels: Chemical and physiological aspects. *Cell C.* 50: 407-423.
10. Buege JA, Aust SD. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 52: 302-310.
11. Bukhari SA, Rajoka MI, Ibrahim Z, Jalal F, Rana SM, Nagra SA. (2011). Oxidative stress elevated DNA damage and homocysteine level in normal pregnant women in a segment of Pakistani population. *Mol. Biol. Rep.* 38, 2703–2710.
12. Calderón JC. (2007). La suplementación con hierro y el aumento del estrés oxidativo en el embarazo: una paradoja poco discutida. *Rev Colom Obs y Gin.* 58 (4): 304-308.
13. Cardaropoli S, Todros T, Nuzzo A, Rolfo A. (2018). Maternal serum levels and placental expression of hepcidin in preeclampsia. *Preg Hyp.* 11 47–53.

14. Casagrande L, Rezende GP, Guida JP, Costa RS, Paarpinelli MA, Surita FG, Costa ML. (2020). Maternal and perinatal outcomes related to superimposed pre-eclampsia in a Brazilian cohort of women with chronic hypertension. *Int J Gynaecol Obstet.* 149 (2):148-153.
15. Chatzi L, Plana E, Daraki V, Karakosta P, Alegkakis D, Tsatsanis C. (2009). Metabolic syndrome in early pregnancy and risk of preterm birth. *Am J Epidemiol.* 170: 829–836.
16. Choi JS, Koh IU, Lee HJ, Kim WH, Song J. (2013). Effects of excess dietary iron and fat on glucose and lipid metabolism. *J Nutr Biochem.* 24(9): 1634-1644.
17. Corrales L, Muñoz M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *NOVA, Univ Col May Cund, Col.* 10 (18): 213-225.
18. Cruz H, León M, Cáceres A, López R, Álvarez E. (2017). Multivariate Analysis from the Redox State Associated with Preeclampsia. *Rev Cub Ginec y Obs.* 43(3): 107-118.
19. Daily iron and folic acid supplementation in pregnant women. (2012). Organización Mundial de la Salud. WHO, guideline: Geneva.
20. Damm P. (2009). Future risk of diabetes in mother and child after gestational diabetes mellitus. *Int J Gynaecol Obstet.* 104: S25-S26.
21. Diagnóstico y tratamiento de diabetes en embarazo. 2016. Mexico: Secretaría de Salud. Disponible en: <http://imss.gob.mx/profesionales-salud/gpc>
22. Díez M, Muñoz M. (2011). Parámetros hematimétricos y bioquímicos para valorar el status férrico. Disponible en: <http://www.deficitdehierro.com>
23. Drakesmith, H, Nemeth E, Ganz T. (2015). Ironing out Ferroportin. *Cell Met.* 22 (5). 777-787.
24. Forrellat M, Fernández N, Hernández P. (2012). Regulación de la hepcidina y homeostasia del hierro: avances y perspectivas. *Rev Cub Hem, Inm y Hem,* 28 (4).
25. Frydlova J, Rogalsky DW, Truksa J, Traeger L, Steinbicker AU, Vokurka M, Krijt J. (2018). Liver HFE protein content is posttranscriptionally decreased in iron-deficient mice and rats. *Am J Physiol Gast Liver Physiol.* 21.
26. Furness DL, Dekker GA, Roberts CT. (2011). DNA damage and health in pregnancy. *J. Rep Immunol.* 89, 153–162.
27. Galgani JE, Ravussin E. (2012). Postprandial whole-body glycolysis is similar in insulin-resistant and insulin-sensitive non-diabetic humans. *Diab.* 55:737-42.
28. Galicia M, Gutiérrez G. (2014). Papel del estrés oxidativo en el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica. *Rev de Gast Méx.* 79 (2): 135-144.

29. Gallo JL, Díaz MA, Gómez J, Hurtado F, Presa JC, Valverde M. (2010). Síndrome metabólico en obstetricia. *Clin Invest Gin Obst.* 37(6): 239 – 245.
30. Ganz T. (2003). Hpcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood.* 102:783-788.
31. García R, Eandi E, Feliú A, Musso AM. (2010). Conceptos actuales sobre fisiología y patología del hierro. *Hema.* 14 (2): 48-57.
32. Gong J, Du F, Ming Qian Z, Luo Q, Sheng Y, Yung W, Xin Xu Y, Ke Y. (2016). Pre-treatment of rats with ad-hepcidin prevents iron-induced oxidative stress in the brain. *Free Radic Biol Med.* 90: 126-32.
33. Gutiérrez J, Mondragón P, García L, Hernández S, Ramírez S, Núñez NR. (2014). Breve descripción de los mecanismos moleculares de daño celular provocado por los radicales libres derivados de oxígeno y nitrógeno. *Rev Esp Med Quir.* 19: 446-454.
34. Huang H, Jain A, Baumann M, Körner M, Surbek D, Bütikofer P, Albrecht C. (2013). Increased placental phospholipid levels in pre-eclamptic pregnancies. *Int. J. Mol. Sci* 14, 3487-3499.
35. Intriago A, Chávez J, Kelvin B, Gómez S. (2017). Metabolic disorders that complicate pregnancy. *Dom. Cien., ISSN.* 3 (4). 462-475.
36. Jung L, Sun C, Hye Ja L, Won-Ho K, Ick P, Jihyun S.(2015). Effect of excess iron on oxidative stress and gluconeogenesis through hepcidin during mitochondrial dysfunction. *J Nutr Bioch.* 26 (12):1414-23.
37. Kabel AM. (2014). Free radicals and antioxidants: Role of Enzymes and Nutrition. *World J of Nut and Health.* 2 (3):35-38.
38. Keshavarz P, Nobakht M, Mirhafez SR, Nematy M, Azimi-Nezhad M, Afin SA, Ferns GA. (2017). Alterations in lipid profile, zinc and copper levels and superoxide dismutase activities in normal pregnancy and preeclampsia. *The Am J of the Med Sc.* 353(6): 552–558.
39. Kim A, Nemeth E. (2015). New insights into iron regulation and erythropoiesis. *Curr Opin Hematol.* 22(3): 199–205.
40. Koenig D, Tussing-Humphreys L, Day J, Cadwell B, Nemeth E. (2014). Hpcidin and Iron Homeostasis during Pregnancy. *Nutr.* 6 (8). 3062-3083.
41. Kosha M. (2018). Oxidative stress in iron toxicity of the liver. *En: The Liver. Institute of Hepatology, London, United Kingdom.* 43-54.

42. Lachili B, Hininger I, Faure H, Arnaud J, Richard MJ, Favier A, Roussel AM (2001). Increased lipid peroxidation in pregnant women after iron and vitamin C supplementation. *Biol Trace Elem Res.* 83(2):103-10.
43. Leary A, Barthe L, Clavel T, Sanchez C, Issiakhem Z, Paillard B, Edmond J. (2017). Iron pharmacokinetics in women with iron deficiency anaemia following a single oral dose of a novel formulation of tardyferon (Prolonged Release Ferrous Sulphate). *Drug R (Stuttg).* 67(11): 647-652.
44. López AE, Romero I, Leyva AG, Zamorano AE. (2018). Consumo de suplementos, hierro y ácido fólico en la etapa pre-gestacional y durante el embarazo en mujeres mexicanas. *Arch Med Fam.* 20: (1) 23-33.
45. Loy SL, KNS S, JM HJ. (2012). Increase in maternal adiposity and poor lipid profile is associated with oxidative stress markers during pregnancy. *Prev Med.* 57: S41-S44.
46. Massey AC. (1992). Microcytic anemia. Differential diagnosis and management of iron deficiency anemia. *Med Clin North Am.* 76 (3): 549-566.
47. Moore TA, Ahmad IM, Schmid K K, Berger AM, Ruiz RJ, Pickler RH, Zimmerman MC. Kosha. Oxidative stress levels throughout pregnancy, at birth, and in the neonate. *Biol Res For Nurs.* 21(5): 485-494.
48. Mendieta H, Parada A, Amaya A, Domínguez M. (2013). Oxidative stress in preeclampsia, more than enzymes. *Rev Latin Hip.* 8 (2): 25-28.
49. Meroño T, Sorroche P, Brites D. (2011). Aumento de los depósitos de hierro y su relación con la enfermedad cardiovascular. *Med B Aires, Arg.* 71 (6), 566-572.
50. Misra HP, Fridovich I. (1972). The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem.* 247: 3170- 3175.
51. Mistry HD, Wilson V, Ramsay MM. (2008). Reduced selenium concentrations and glutathione peroxidase activity in preeclamptic pregnancies. *Hyp.* 52: 881-888.
52. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Sirito M, Sawadogo M, Kahn A, Vaulont S. (2002). Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 99 (7): 4596-4601.
53. Paez M, Cioccia A., Hevia, P. (2014). Papel de la hepcidina y la ferroportina en la regulación hormonal de la homeostasis del hierro. *Vitae.* 59. 1-12.
54. Paglia DE, Vlentine WN. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 70: 158-169.

55. Perkins AV. (2006). Endogenous anti-oxidants in pregnancy and preeclampsia. *Aust NZ J Obstet Gynaecol.* 46:77-83.
56. Papanikolaou G, Pantopoulos K. (2005). Iron metabolism and toxicity. *Tox and App Pharm.* 202: 199 – 211.
57. Park, C., Valore, E., Waring, S., Ganz, T. (2001). Hcpidin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver. *J. Biol. Chem.* 276 (11), 7806-7810.
58. Prevalencia de anemia entre embarazadas (%). (2016). Grupo Banco Mundial. Tomado de <https://datos.bancomundial.org/indicador/SH.PRG.ANEM>.
59. Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de la Anemia por Deficiencia de Hierro en Niños y Adultos. (2010). México: Instituto Mexicano del Seguro Social.
60. Radi R, Turrens JF, Chang LY, Bush KM, Crapo JD, Freeman BA. (1991). Detection of catalase in rat heart mitochondria. *J Biol Chem.* 266: 22028-22034.
61. Rajpathak S, Crandall J, Wylie-Rosett J, Kabat G, Rohan T, Hu F. (2008). The role of iron in type 2 diabetes in humans. *Biochim Biophys Acta.* 1790: 671-681.
62. Raza N, Sarwar I, Munazza B, Muhammad & Suleman, Ayub M. (2014). Assessment of iron deficiency in pregnant women by determining iron status. *J of Ayub Med College, Abbottabad.* 23. 36-40.
63. Recambio del hierro en el organismo. (2016). Tomado de <http://www.cardioteca.com/metabolismo-del-hierro.html>
64. Rehu M, Punnonen K, Ostland V, Heinonen S, Westerman M, Pulkki K, Sankilampi U. (2010). Maternal serum hepcidin is low at term and independent of cord blood iron status. *Eur J Haematol.* 85: 345–352.
65. Reichert C, Cunha J, Levy D, Ferreira L, Bydlowski S, Spada C. (2017). Hcpidin: Homeostasis and Diseases Related to Iron Metabolism. *Acta Haematol.* 137: 220–236.
66. Scioscia M, Gumaa K, Rademacher TW. (2009). The link between insulin resistance and preeclampsia: new perspectives. *J Reprod Inmunol.* 82: 100-105.
67. Sermini CG, Acevedo MJ, Arredondo M. (2017). Biomarcadores del metabolismo y nutrición de hierro. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 34(4):690-698.
68. Simavli S, Uysal Derbent A, Uysal S, Ö ztü rk Turhan N. (2014). Hcpidin, iron status, and inflammation variables among healthy pregnant women in the Turkish population. *Mat Fetal Neon Med.* 27(1): 75–79.

69. Srai SK, Sharp P. (2012). Proteins of Iron Homeostasis. En: Anderson G., McLaren G. (eds) Iron Physiology and Pathophysiology in Humans. *Nut and Health*. Humana Press.
70. Storz P. (2007). Mitochondrial ROS-radical detoxification, mediated by protein kinase D. *Trends Cell Biol.* 17: 13-18.
71. Sutton AL, Harper LM, Tita ATN. (2018). Hypertensive Disorders in Pregnancy. *Obstet Gynecol Clin North Am.* 45(2):333-47.
72. Taravati A, Tohidi F. (2018). Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia. *Taiw J of Obst & Gynec.* 57: 779-790.
73. Tastekin A, Ors R, Demircan B. (2005). Oxidative stress in placenta and umbilical cord, a matter of weight. *Pediatr Int.* 47: 658-662.
74. Theil EC. (2011). Iron Homeostasis and Nutritional Iron Deficiency. *J Nutr.* 141(4): 724S-728S.
75. Toxqui A, De Piero V, Courtois S, Bastida FJ, Sánchez M, Vaquero MP. (2010). Iron deficiency and overload. Implications in oxidative stress and cardiovascular health. *Nutr Hosp.* 25(3): 350-365.
76. Viteri FE, Casanueva E, Tolentino MC, Díaz-Francés J, Erazo AB. (2012). Antenatal iron supplements consumed daily produce oxidative stress in contrast to weekly supplementation in Mexican non-anemic women. *Rep Tox.* 34 (1): 125–132.
77. Wahed F, Latif SA, Uddin MM, Mahamud MM, Sarker D, Hossain MZ. (2007). Persistence of low serum iron and high total iron binding capacity in pregnant women. *Mymensingh Med J.* 16(2):132-136.
78. Worwood M. (2012). Estimation of Body Iron Stores. In: Anderson GJ, McLaren GD, editors. Iron physiology and pathophysiology in humans. *New York: Humana Press.* p. 499-528.
79. Yépez MC, Zeppenfel ME, Colón JA, Zimmer E. (2011). Síndrome metabólico durante el embarazo. Complicaciones materno-fetales. *Rev de Obst y Ginec de Venezuela.* 71(22).
80. Zhuang T, Han H, Yang Z. (2014). Iron, Oxidative Stress and Gestational Diabetes. *Nut.* 6 (9). 3968-3980.