



Programa de Doctorado en Medicina (RD 778/1998)

**ALTERACIONES DEL METABOLISMO
DEL HIERRO:
HOMOCIGOSIS H63D**

Tesis Doctoral presentada por

ROSA M. MARTÍN MATEOS

Madrid 2015



Programa de Doctorado en Medicina (RD 778/1998)

**ALTERACIONES DEL METABOLISMO
DEL HIERRO:
HOMOCIGOSIS H63D**

Tesis Doctoral presentada por

ROSA M. MARTÍN MATEOS

Director:

DR. DANIEL BOIXEDA DE MIQUEL.

Jefe de Sección, Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Ramón y Cajal

Profesor Asociado, Departamento de Medicina y Especialidades Médicas. Universidad de Alcalá

Codirector:

DR. JAVIER GRAUS MORALES

Facultativo especialista de área, Servicio de Gastroenterología, Hospital Universitario Ramón y Cajal

Profesor Clínico, Departamento de Medicina y Especialidades Médicas. Universidad de Alcalá

Madrid, 2015

*“...Mientras
el corazón suena y atrae
la partitura de la mandolina,
allí adentro
tú filtras
y repartes,
separas
y divides,
multiplicas
y engrasas,
subes
y recoges
los hilos y los gramos
de la vida, los últimos
licores,
las íntimas esencias.*

*Viscera
submarina,
medidor
de la sangre,
midiendo y trasvasando
en tu escondida
cámara
de alquimista.
Amarillo
es tu sistema
de hidrografía roja,
buzo
de la más peligrosa
profundidad del hombre,
allí escondido
siempre,
sempiterno,
en la usina,
silencioso...”*

Oda al hígado. Pablo Neruda, 1956

AGRADECIMIENTOS

-En primer lugar, al Dr. Daniel Boixeda de Miquel por brindarme la oportunidad de realizar esta tesis, por la confianza que siempre ha depositado en mí y por su infinita paciencia a lo largo de todo el proyecto. Gracias por enseñarme y transmitirme su conocimiento y experiencia sobre el tema que hoy nos une, y que descubrí a su lado durante mis primeros años de residencia.

-Al Dr. Javier Graus Morales por su inquebrantable sonrisa llena de afecto y cordialidad. Gracias por tus consejos, apoyo y supervisión.

-Al Dr. Víctor Moreira de Vicente, por su cariño e inestimable amistad. Por su constante ayuda, y por transmitirme cada día el valor del estudio constante y el trabajo bien hecho.

-A la Dra. Dolores Rey Zamora, del servicio de Genética del Ramón y Cajal, porque gracias a su trabajo durante estos años, ha sido posible la realización de esta tesis.

-A todo el Servicio de Gastroenterología del Hospital Ramón y Cajal: médicos, enfermeras, auxiliares y secretarías; en especial al Dr. Agustín Albillos, por confiar en mí y darme la oportunidad de “volver a casa”.

-A mis compañeros de residencia y grandes amigos; por lo que aprendí de cada uno de ellos y por compartir conmigo 4 años intensos y maravillosos.

-A los pacientes que han participado en este estudio, ya que sin ellos este proyecto no hubiera sido posible.

-A mis padres y a mi hermana, por su paciencia y apoyo incondicional.

ÍNDICE

I. ABREVIATURAS	1
II. RESUMEN EN INGLÉS.....	4
III. RESUMEN EN ESPAÑOL.....	8
IV. INTRODUCCIÓN.....	12
1. INTRODUCCIÓN	13
2. METABOLISMO DEL HIERRO	15
2.1.Absorción	15
2.2.Transporte	17
2.3.Almacenamiento	17
2.4.Regulación del metabolismo del hierro	17
3. HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA	20
3.1.Precedentes históricos.....	20
3.2.Clasificación de los principales síndromes de sobrecarga férrica.....	20
3.2.1.Hemocromatosis hereditaria o primaria	22
3.2.2.Hemocromatosis secundarias.....	27
3.2.3.Miscelánea.....	34
4. PREVALENCIA DE LAS DISTINTAS MUTACIONES ASOCIADAS A LA HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA EN LA POBLACIÓN GENERAL	38
5. EXPRESIVIDAD GENÉTICA O PENETRANCIA DE LAS PRINCIPALES MUTACIONES ASOCIADAS A HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA.....	40
6. MANIFESTACIONES CLÍNICAS	41
6.1.Afectación hepática	41
6.2.Trastornos endocrinos	42
6.3.Afectación cardiaca	43
6.4.Afectación articular.....	43
6.5.Afectación cutánea	43
7. DIAGNÓSTICO	45
7.1.Test genéticos	45
7.2.Determinaciones Bioquímicas	45
7.3.Biopsia hepática.....	46
7.4.Test diagnósticos no invasivos	47

8. PRUEBAS DE CRIBADO.....	48
8.1.Screening poblacional.....	48
8.2.Screening en sujetos de alto riesgo.....	48
9. TRATAMIENTO.....	49
9.1.Flebotomías.....	49
9.2.Quelantes del hierro.....	50
9.3.Eritrocitoaféresis.....	51
9.4.Terapias futuras.....	51
10. MUTACIÓN H63D.....	53
10.1.Frecuencia alélica de la mutación H63D y prevalencia de la homocigosis H63D.....	53
10.2.Expresión fenotípica de la mutación H63D.....	56
11. RESUMEN.....	58
V. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS.....	59
VI. OBJETIVOS.....	61
VII. MATERIAL Y MÉTODOS.....	63
1- Diseño del estudio.....	65
2- Variables.....	65
3- Población de estudio.....	73
4- Análisis estadístico.....	74
5- Consideraciones éticas.....	75
VIII. RESULTADOS.....	76
GRUPO HOMOCIGOTOS H63D.....	78
1. Datos epidemiológicos y características basales.....	78
2.- Signos y síntomas clínicos.....	88
3.- Resultados analíticos.....	90
4.-Estudio de factores asociados a hiperferritinemia.....	93
5.- Sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa.....	105

GRUPO HOMOCIGOTOS C282Y	114
1. Datos epidemiológicos y estudio comparativo	114
2.- Signos y síntomas clínicos	122
3.- Resultados analíticos	124
4.- Sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa	127
GRUPO SIN MUTACIONES GENÉTICAS	131
1. Datos epidemiológicos y estudio comparativo	131
2.- Signos y síntomas clínicos	140
3.- Resultados analíticos	141
4.- Sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa	143
RESULTADOS GLOBALES	148
1. Datos epidemiológicos y características basales	148
2. Signos y síntomas clínicos	151
3. Parámetros relacionados con el metabolismo del hierro	152
4.- Resultados analíticos	156
5.- Sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa	156
6. Análisis multivariante	157
7. Cálculo del poder estadístico	158
IX. DISCUSIÓN	159
1. Sobrecarga férrica basada en parámetros bioquímicos	162
2. Sobrecarga férrica parenquimatosa: biopsia hepática y magnética	167
3. Estudio de otros factores asociados a sobrecarga férrica	169
4. Signos y síntomas	179
5. Limitaciones del estudio	180
6. Consideraciones finales.....	183
X. CONCLUSIONES	184
XI. BIBLIOGRAFÍA	186
ANEXO I. Conformidad de la Dirección del Centro	216
ANEXO II Aprobación del Estudio por el Comité Ético de Investigaciones Clínicas	218
ANEXO III Consentimiento informado Estudio Genético	220
ANEXO IV Rangos de referencia	223

I. ABREVIATURAS

- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- **ANOE:** Anticuerpos no órgano específicos
- **ARN:** Ácido ribonucleico
- **ALT:** Alanina aminotransferasa
- **AST:** Aspartato aminotransferasa
- **CHC:** Carcinoma hepatocelular
- **CHH:** Concentración de hierro hepático
- **DM:** Diabetes Mellitus
- **DMT 1:** Divalent Metal Transporter 1 (Transportador de metales divalente tipo 1)
- **EASL:** European Association for the study of the liver (Asociación Europea para el estudio del hígado)
- **EHNA:** Esteatohepatitis no alcohólica
- **FA:** Fosfatasa alcalina
- **FSH:** Hormona foliculo estimulante
- **FPT:** Ferropotina
- **FRCV:** Factores de riesgo cardiovascular
- **GGT:** Gamma-glutamiltanspeptidasa
- **HAMP:** Hecidine antimicrobial gen (Gen de la Hecidina antimicrobiana)
- **HBcAc:** Anticuerpo del core del virus de la hepatitis B
- **HBeAc:** Anticuerpo e del virus de la hepatitis B
- **HBeAg:** Antígeno e del virus de la hepatitis B
- **HBsAc:** Anticuerpo de superficie del virus de la hepatitis B
- **HBsAg:** Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B
- **HDL:** High density lipoprotein (Lipoproteína de alta densidad)
- **HFE:** Gen situado en el brazo corto del cromosoma 6, que codifica la proteína humana de la hemocromatosis.
- **HGNA:** Hígado graso no alcohólico
- **HH:** Hemocromatosis hereditaria
- **HJ:** Hemocromatosis juvenil
- **HJV:** Hemojuvelina
- **HTA:** Hipertensión arterial
- **HTP:** Hipertensión portal
- **IC:** Intervalo de confianza

- **Ig:** Inmunoglobulina
- **IMC:** Índice de masa corporal
- **INR:** International normalized ratio (Ratio Internacional Normalizado)
- **IST:** Índice de saturación de la transferrina
- **LDL:** Low density lipoproteína (Lipoproteína de baja densidad)
- **OMIM :** Online Mendelian Inheritance in Man (Catálogo de Enfermedades con componente de Herencia Mendeliana que afectan al Hombre)
- **PCR:** Proteína C reactiva
- **PCT:** Porfiria cutánea tarda
- **RNM:** Resonancia nuclear magnética
- **SD:** Standard deviation (Desviación estándar)
- **SLC40A1:** Solute carrier family 40 A1 (Transportador de solutos de la Familia 40 A1)
- **TC:** Tomografía computerizada
- **Tf:** Transferrina
- **TfR1:** Receptor de la transferrina tipo 1
- **TfR2:** Receptor de la transferrina tipo 2
- **TNF- alfa:** Factor de necrosis tumoral alfa
- **TSH:** Hormona estimulante del tiroides
- **VIH:** Virus de la inmunodeficiencia humana adquirida
- **VHB:** Virus de la hepatitis B
- **VHC:** Virus de la hepatitis C

II. RESUMEN EN INGLÉS

HEREDITARY IRON OVERLOAD: IMPLICATIONS OF H63D HOMOZYGOSITY

BACKGROUND

Hereditary hemochromatosis is the leading genetic cause of iron overload. The C282Y mutation in the *HFE* gene is the most common polymorphism associated with this disorder; however, the substitution of a histidine for aspartate at amino acid 63 (H63D) may also play an important role in the disease. The methodological differences between studies of patients carrying the H63D mutation preclude generalization of the results. The current data argue both for and against an association between the H63D mutation and hemosiderosis.

Given the high value of early diagnosis in preventing iron overload–related damage, identifying the role of the H63D mutation in disease pathogenesis is highly important. We therefore tested the hypothesis that individuals who are homozygous for the H63D *HFE* mutation have an increased risk of developing iron overload compared to individuals with the wild-type allele.

AIMS

Main objective:

To analyze the effect of homozygous H63D polymorphism on iron metabolism. In particular, we investigated the extent to which this mutation predisposes carriers to develop significant liver disease secondary to iron overload.

Secondary objectives:

- To compare iron metabolism-related data between homozygous H63D, homozygous C282Y, and wild-type subjects

-To evaluate the effect of other hyperferritinemia-related factors on the results.

METHODS

This observational analytical study included 445 subjects who were referred from 1994 through 2012 for suspicion of iron overload or due to a family history of hemochromatosis. The study was approved by our hospital's Clinical Research Ethics Committee, and data were obtained from the medical records and laboratory database.

Genetic analyses were performed using allele-specific polymerase chain reaction amplification, and statistical analyses were performed using SPSS version 20.0.

RESULTS

Genetic testing revealed that 192 of the 445 subjects were homozygous for the H63D allele, 109 were homozygous for the C282Y allele, and the remaining 144 were wild-type.

Among homozygous H63D patients, the mean \pm standard deviation ferritin concentrations and IST values were 372.1 ± 385 mg/dl and 42.4 ± 19.1 %, respectively. Older patients, had higher ferritin concentrations, indicating a trend towards gradual increase over time. Serum iron, AST, ALT, bilirubin, and GGT values were all within normal ranges. Twenty-one patients had increased parenchymal iron levels (estimated by biopsy or magnetic resonance), and seven presented signs of cirrhosis with portal hypertension.

Compared to the homozygous C282Y patients, H63D group presented lower ferritin levels, lower IST values, and a lower prevalence of parenchymal iron overload.

The subjects with wild-type alleles had higher ferritin levels than the homozygous H63D patients, but similar IST values, iron deposition, and portal hypertension prevalence.

With respect to possible confounding variables, the wild-type subjects had the highest prevalence of non-inherited hyperferritinemia-related factors, confirming a secondary origin of iron overload in this group.

CONCLUSIONS

H63D homozygosity is related to increased levels of ferritin.

In the absence of other clinical conditions related to secondary hemosiderosis, the presence of H63D *HFE* homozygosity is not sufficient for determining clinically significant iron overload in most of the cases.

When assessing patients who are homozygous for the H63D allele and present with analytical and/or histological evidence of iron overload, other hyperferritinemia-related factors should be investigated first.

Key Words:

Hemochromatosis, H63D, iron overload, *HFE* gene, C282Y

III. RESUMEN EN ESPAÑOL

ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL HIERRO: HOMOCIGOSIS H63D

INTRODUCCIÓN

La hemocromatosis hereditaria es el principal trastorno genético relacionado con el metabolismo del hierro. La mutación C282Y del gen HFE es el polimorfismo implicado más frecuentemente, si bien, otras alteraciones como la sustitución de histidina por aspartato en el aminoácido 63 (mutación H63D) pueden contribuir a la sobrecarga férrica.

La existencia de diferencias metodológicas entre los estudios publicados con pacientes homocigotos H63D limita la generalización de los resultados. En la actualidad existen evidencias tanto a favor como en contra de su asociación con un depósito patológico de hierro.

Dada la importancia de un diagnóstico precoz para prevenir el desarrollo de lesiones asociadas a la hemosiderosis y la elevada frecuencia de la mutación H63D en nuestra población, es fundamental determinar con mayor exactitud las implicaciones derivadas de la presencia de este polimorfismo.

La hipótesis de nuestro estudio plantea que los pacientes homocigotos H63D presentan un mayor riesgo de desarrollar sobrecarga férrica significativa en comparación con los sujetos sin mutaciones del gen HFE.

OBJETIVOS

Objetivo general: Analizar las implicaciones del polimorfismo H63D/H63D sobre el metabolismo del hierro.

Objetivos específicos:

-Analizar las diferencias en la prevalencia de sobrecarga férrica entre los homocigotos H63D, los homocigotos C282Y y un grupo de sujetos no portadores de ninguna de estas 2 mutaciones, así como valorar la influencia de otros factores asociados a hiperferritinemia en los resultados de los tres grupos.

PACIENTES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio observacional analítico que incluye 445 sujetos valorados en una consulta específica del Hospital Ramón y Cajal desde 1994 hasta Diciembre de 2013. Los pacientes fueron estudiados por presentar antecedentes familiares de hemocromatosis hereditaria, o personales de sobrecarga férrica. El proyecto fue aprobado por el Comité Ético de Investigaciones Clínicas del hospital (nº ref 293/11), y la información recogida en la consulta se incluyó en una base de datos específica para su posterior análisis.

El estudio genético se realizó mediante técnicas de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) en tiempo real. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS versión 20.0.

RESULTADOS

Se identificaron 192 pacientes homocigotos H63D, 109 homocigotos C282Y y 144 sujetos sin ninguna de las dos mutaciones.

Los valores medios de ferritina e índice de saturación de la transferrina en los homocigotos H63D fueron 372.1 ± 385 mg/dl y 42.4 ± 19.1 %, respectivamente. Los sujetos de mayor edad presentaron concentraciones de ferritina más elevadas, lo que sugiere una tendencia a su incremento gradual con el tiempo. La concentración media de AST, ALT, bilirrubina, GGT y hierro fueron normales. Treinta pacientes (15.62%) presentaban datos histológicos de sobrecarga férrica (medida mediante resonancia o biopsia), y 7 de estos, signos de cirrosis con hipertensión portal.

En comparación con el grupo de homocigotos C282Y, el grupo H63D mostró menor concentración de ferritina, IST y menor porcentaje de sobrecarga parenquimatosa de hierro.

Los sujetos sin mutaciones presentaban mayor concentración de ferritina que los homocigotos H63D, si bien, los porcentajes de IST, exceso parenquimatoso de hierro e hipertensión portal fueron similares.

En relación con las posibles variables de confusión, en el grupo sin mutaciones, se identificó una prevalencia significativamente mayor de factores asociados a hiperferritinemia secundaria, confirmando el origen no genético de la sobrecarga férrica en este grupo.

CONCLUSIONES

Tras el análisis de los datos obtenidos, nuestro estudio sugiere que los sujetos homocigotos H63D presentan concentraciones de ferritina elevadas, si bien, en ausencia de otros factores asociados a hiperferritinemia secundaria, este polimorfismo no determina un sobrecarga de hierro clínicamente significativa.

En los pacientes homocigotos H63D que presentan datos analíticos o histológicos de sobrecarga férrica, debe descartarse en primer lugar la existencia de otros factores asociados a hiperferritinemia.

Palabras clave:

Hemocromatosis hereditaria, mutación H63D, sobrecarga férrica, gen HFE, mutación C282Y

IV. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La hemocromatosis hereditaria (HH), es un trastorno genético caracterizado por la predisposición a una absorción excesiva de hierro. Su depósito en el hígado y otros tejidos puede condicionar a largo plazo el desarrollo de lesiones clínicamente significativas.

La sustitución de la base nitrogenada guanina por adenosina en la posición 282 del gen HFE situado en el cromosoma 6, da lugar a la mutación más frecuente y mejor estudiada en los pacientes con HH. Este cambio de bases altera la codificación de la proteína HFE impidiendo su expresión en la superficie celular y su adecuada participación en el metabolismo del hierro.

Los pacientes homocigotos para esta mutación (C282Y/C282Y) constituyen el 80-85% de los casos de HH (Bacon *et al.*, 2011), si bien se han identificado otras alteraciones genéticas relacionadas con esta entidad. Entre ellas encontramos otras dos mutaciones localizadas en el gen HFE:

- a) En la posición 63, la sustitución de aspartato por histidina da lugar a la mutación H63D
- b) El cambio de cisteína por serina en el aminoácido 65 genera el polimorfismo S65C (Jakson *et al.*, 2001).

Los sujetos que presentan tanto la mutación H63D como la C282Y (dobles heterocigotos) suponen aproximadamente el 5,3% de los pacientes con hemocromatosis (EASL practice guidelines, 2010), mientras que la combinación C282Y/S65C está presente en menos del 1% de los casos.

Por tanto, aproximadamente un 10% de los pacientes con HH, no presenta ninguno de los genotipos anteriormente descritos. En este grupo se consideran mutaciones infrecuentes, localizadas en genes que codifican otras proteínas implicadas en el metabolismo del hierro, como la hepcidina, la ferroportina, la hemojuvelina o el receptor de la transferrina tipo 2. Estas alteraciones dan lugar a las denominadas “hemocromatosis hereditarias no asociadas al gen HFE”, que en muchos casos cursan con un espectro clínico superponible al de la HH clásica.

Según las guías actuales de práctica clínica, la presencia de la mutación H63D en ambos alelos del gen HFE (homocigosis H63D), no es causa suficiente para condicionar una sobrecarga patológica de hierro (Bacon *et al.*, 2011; EASL Clinical Practice Guidelines for HFE Hemochromatosis, 2010). Cuando este polimorfismo se asocia a hiperferritinemia, se recomienda descartar en primer lugar la existencia de otros factores relacionados con hemosiderosis secundaria (Sebastiani *et al.*, 2006). No obstante, diversos autores han demostrado que esta mutación se relaciona tanto con un aumento de los niveles de ferritina y saturación de la transferrina (Jackson *et al.*, 2001), como con el incremento de los depósitos parenquimatosos de hierro (Aguilar-Martínez *et al.*, 2001). Por consiguiente, en la actualidad existen discrepancias sobre el papel de la mutación H63D que impiden establecer conclusiones definitivas.

Por otra parte, estudios de prevalencia realizados en la población española, confirman que la frecuencia alélica de la mutación H63D en nuestro país es una de las más altas de Europa (Sánchez *et al.*, 1998; Baiget *et al.*, 1998; Guix *et al.*, 2002; Altes *et al.*, 2004) y por este motivo, su estudio se hace si cabe más relevante en nuestro entorno.

Dado que la identificación genética precoz es fundamental para prevenir la aparición de lesiones orgánicas significativas, y que a día de hoy no se conocen con exactitud las consecuencias derivadas de la homocigosis H63D, creemos que el estudio pormenorizado de las características de estos pacientes puede contribuir a establecer protocolos específicos de actuación más eficaces.

2. METABOLISMO DEL HIERRO

El hierro es un elemento vital para la mayoría de los organismos debido a su capacidad para captar y donar electrones. Esta propiedad le posibilita actuar como cofactor en múltiples reacciones enzimáticas necesarias para el metabolismo celular y otros procesos esenciales (Pantopoulos *et al.*, 2012).

El contenido normal de hierro en el organismo es de aproximadamente 4 gr. De estos, 3 gr forman parte de la hemoglobina, la mioglobina, las catalasas y otras enzimas respiratorias. El hierro almacenado supone únicamente 0.5 gr, y en su mayor parte se encuentra depositado a nivel hepático.

A pesar de su innegable valor en el metabolismo celular, el exceso de hierro se relaciona con una morbilidad y mortalidad significativas. Por este motivo, una adecuada regulación de su concentración, tanto a nivel sérico como parenquimatoso, resulta fundamental para evitar el desarrollo de lesiones potencialmente graves.

2.1. Absorción

Los humanos y otros vertebrados son capaces de reutilizar el hierro procedente de la destrucción de eritrocitos senescentes gracias a la acción de los macrófagos del sistema retículo endotelial (Pietrangelo *et al.*, 2004). De esta forma en condiciones fisiológicas, sólo es necesario un aporte externo diario relativamente pequeño para reponer las pérdidas que se producen.

La dieta normal contiene aproximadamente 10-20 mg de hierro (90% en su forma libre y 10% unido al grupo hemo) (Adams, 2011). Del total ingerido, únicamente se absorben entre 1-2 mg al día, pudiendo variar esta cantidad en función de las necesidades. Los procesos que determinan la tasa de absorción del hierro de la dieta son fundamentalmente, la actividad de la médula ósea, el nivel de sus reservas, la concentración de hemoglobina, la concentración de oxígeno en sangre y las situaciones de inflamación sistémica (Hentze *et al.*, 2004; Miret *et al.*, 2003).

La absorción del hierro se lleva a cabo mayoritariamente en la superficie de las células intestinales situadas en el duodeno y yeyuno proximal, en cuya membrana apical se encuentra el citocromo b ferri-reductor denominado **Dcytb**. Esta enzima cataliza la transformación del hierro

ingerido en forma férrica (Fe^{3+}) a ferrosa (Fe^{2+}) (Siddique *et al.*, 2012). Esta conversión es necesaria para su introducción en el citoplasma de los enterocitos a través del transportador de membrana **DMT-1**, cuya expresión también es regulada en función de los requerimientos. (Figura 1).

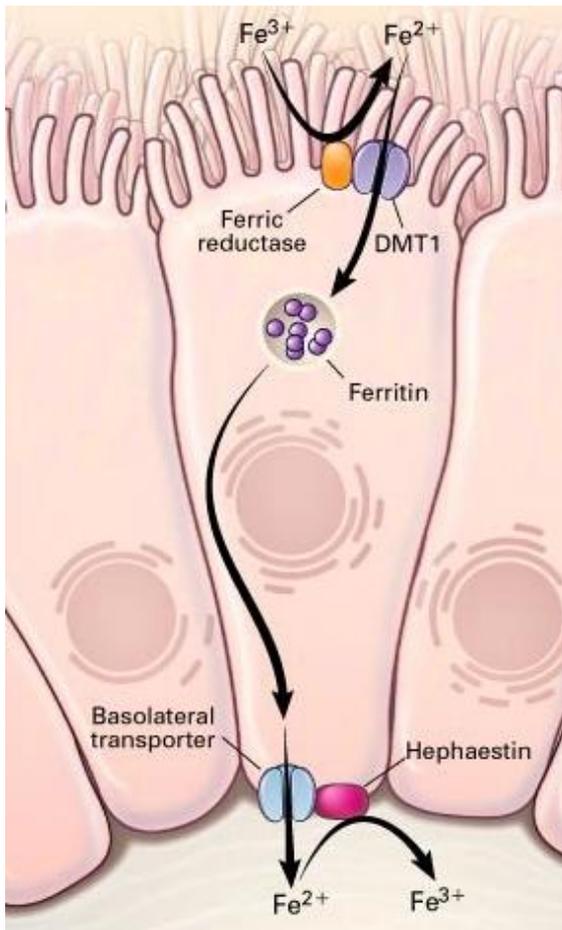


Figura 1: Enterocito duodenal. El transportador de membrana **DMT-1** introduce los iones de hierro en el interior de la célula una vez reducidos por el citocromo Dcytb. (Adaptado de Andrews NC. *Disorders of iron metabolism*. N Engl J Med. 1999)

Una vez en el interior de la célula, los iones pueden almacenarse en forma de ferritina, o ser liberados gracias a la **ferroportina** (FPT). Esta proteína transportadora se encuentra situada tanto en la membrana basolateral del enterocito, como en la superficie celular de los macrófagos del sistema retículo-endotelial, los hepatocitos y la placenta.

Antes de ser exportado a la circulación, se lleva a cabo una reacción de oxidación que transforma los iones ferrosos en férricos. Este proceso es catalizado por una molécula análoga a la ceruloplasmina denominada Hephaestina.

2.2. Transporte

En el plasma, el hierro circula unido a la **transferrina** (Tf). Esta molécula es una glicoproteína de síntesis hepática capaz de transportar dos iones férricos.

En situaciones fisiológicas la transferrina está saturada entre un 20 y un 40%, si bien este porcentaje varía en función de la cantidad de hierro que sea necesario transportar.

La transferrina conduce la mayor parte del hierro hacia la médula ósea, donde se incorpora a los precursores eritroides. El resto, se almacena principalmente en el interior de los hepatocitos. Una vez en su lugar de destino, pasa al interior de las células uniéndose al **receptor de la transferrina** (TfR) situado en su superficie. El complejo ligando-receptor se internaliza y una vez en el citoplasma el hierro se libera.

2.3. Almacenamiento

El hierro se almacena en el interior de las células en forma de ferritina. Esta molécula está compuesta por la proteína apoferritina (formada por las subunidades H y L) y el hierro. El aumento de la concentración sérica de hierro estimula la síntesis de apoferritina para su almacenamiento.

Por otra parte, los agregados resultantes de la degradación de la ferritina conforman la hemosiderina. El hierro contenido tanto en la ferritina como en la hemosiderina está disponible para su movilización.

2.4. Regulación del metabolismo del hierro

Proteína HFE

Esta proteína es codificada por el gen HFE, situado en las proximidades del complejo mayor de histocompatibilidad tipo 1 del cromosoma 6. Se localiza en la membrana plasmática de los enterocitos del duodeno y yeyuno proximal donde ejerce un papel esencial en el metabolismo del hierro.

La proteína HFE necesita unirse a la beta-2-microglobulina, para expresarse en la superficie celular e interactuar con el receptor de la transferrina tipo 1 (TfR1) (Pietrangelo *et al.*, 1998 b).

En condiciones fisiológicas, la transferrina ligada al hierro se une al receptor TfR1, y de esta forma se introduce en el interior de las células.

El mecanismo de acción principal de la proteína HFE es competir con la transferrina por la unión al TfR1, modulando de esta forma la cantidad de hierro que se introduce en las células (Sidiqque *et al.*, 2012). Según esta teoría, el aumento de la expresión del gen HFE provoca la disminución de la absorción del hierro de la dieta, y de forma inversa, las mutaciones que afecten a este gen impidiendo su unión con la beta-2-microglobulina, darán lugar al depósito patológico del mismo (Waheed *et al.*, 1999; Roy *et al.*, 1999).

Hepcidina

La hepcidina, es un polipéptido de síntesis hepática que en la actualidad se considera clave en el proceso de regulación del metabolismo del hierro.

Las primeras evidencias aparecieron en 2001 cuando Pigeon y colaboradores objetivaron que la expresión del RNAm de esta proteína era mayor en los ratones con un exceso patológico de hierro (Pigeon *et al.*, 2001).

Posteriormente, diversos estudios han confirmado su implicación en el metabolismo férrico, si bien el mecanismo por el cual ejerce su función no se conoce con exactitud (Lòreal *et al.*, 2005).

Sabemos que su actividad está condicionada por diversos estímulos, aumentando en respuesta a la sobrecarga férrica y a la inflamación, y disminuyendo en situaciones de deficiencia de hierro, hipoxia o eritropoyesis ineficaz. En la regulación de su expresión intervienen además otras moléculas como la proteína HFE, el receptor de la transferrina tipo 2 (TfR2), la hemojuvelina (HJV), la proteína morfogénica ósea 6, la matriptasa-2 o la transferrina (Ganz *et al.*, 2003, Fleming *et al.*, 2005 a).

Se postula que la unión de la hepcidina a la ferroportina provoca su internalización y degradación. Esto da lugar a una disminución de la exportación del hierro desde los enterocitos, macrófagos y hepatocitos hacia el torrente sanguíneo, disminuyendo así los niveles plasmáticos y aumentando su concentración intracelular (Fleming et al., 2005 b) (Figura 2). De forma inversa, cuando la expresión de la hepcidina disminuye, la absorción intestinal, exportación y concentración sérica de hierro aumenta.

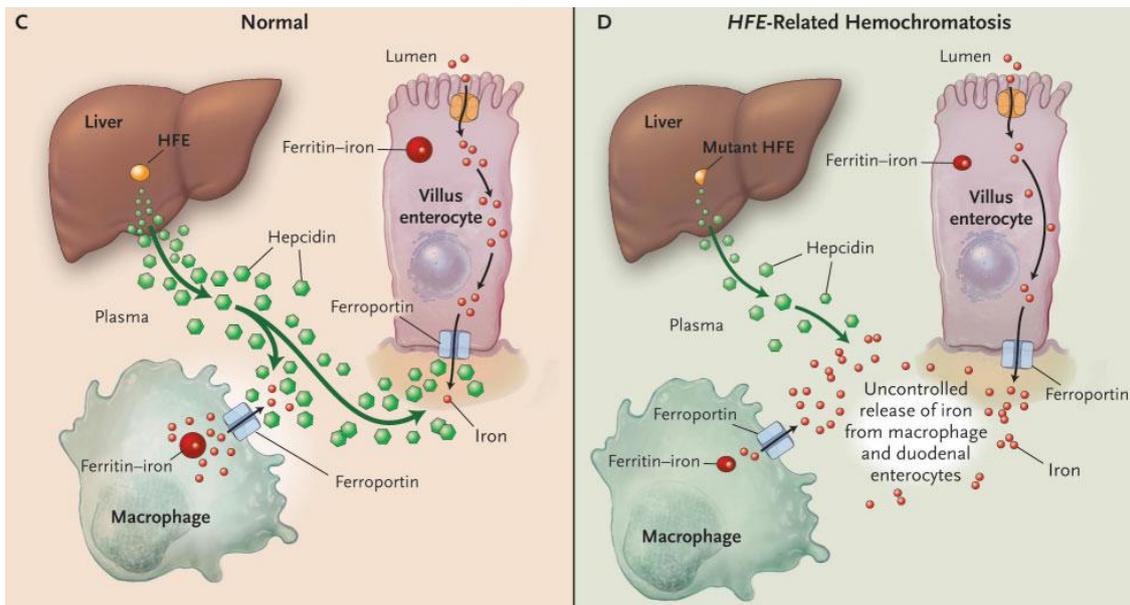


Figura 2.A

Figura 2.B

Figura 2: A: En condiciones fisiológicas, la hepcidina se une a la ferroportina impidiendo la exportación del hierro absorbido por los enterocitos hacia la circulación general. B: En la hemocromatosis hereditaria, no existe limitación sobre la absorción del hierro procedente de la dieta, que pasa sin control al compartimento intravascular para su posterior distribución y almacenamiento. Adaptado de Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis--a new look at an old disease. *N Engl J Med.* 2004

La respuesta normal al incremento de la concentración de hierro consiste en aumentar la expresión hepática de la hepcidina. La deficiencia de esta molécula, por tanto, está implicada en la patogenia de las diversas formas hereditarias de hemocromatosis. Incluso, se ha identificado una variante especialmente grave de HH juvenil relacionada con una mutación específica de esta proteína en el cromosoma 19 (Roetto et al., 2001).

3. HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA

3.1. Precedentes históricos

La primera descripción clínica de un paciente con “diabetes bronceada y cirrosis” la realizó Armand Trousseau en 1865 (Trousseau, 1865). Posteriormente, en 1889, Von Ricklinghausen acuñó el término de “hemocromatosis” al objetivar la presencia de un pigmento que contenía hierro en el hígado de estos sujetos (Von Ricklinghausen, 1889) .

En 1935, Sheldon estableció la naturaleza hereditaria de este trastorno y su asociación con la alteración del metabolismo férrico (Sheldon, 1935). Finalmente en 1996, Feder y colaboradores identificaron en el gen HFE las principales mutaciones asociadas a la HH (C282Y y H63D) (Feder *et al.*, 1996).

Una vez descubierto el gen HFE, varios estudios mostraron que no todos los pacientes con el fenotipo característico de HH, presentaban mutaciones en dicho gen (Borot *et al.*,1997; Piperno *et al.*,1998; Camaschella *et al.*, 1999). Al mismo tiempo, se identificaron nuevas moléculas implicadas en el metabolismo del hierro cuya alteración podía generar un exceso patológico del mismo. Por este motivo, en 1998 se acuñó el término “Hemocromatosis hereditaria no asociada al gen HFE” para designar al conjunto de enfermedades en cuya patogenia subyacen alteraciones genéticas no ligadas al cromosoma 6 (Pietrangelo, 1998 a).

3.2. Clasificación de los principales síndromes de sobrecarga férrica

Las actuales guías de consenso clasifican estos trastornos en 3 categorías basadas en la naturaleza hereditaria o adquirida de la sobrecarga férrica (Tabla 1):

1. Trastornos primarios o hereditarios de sobrecarga de hierro
2. Sobrecarga de hierro secundaria a otras patologías (hemocromatosis secundarias)
3. Miscelánea

Tabla 1: Clasificación de los síndromes que cursan con un exceso patológico de hierro.
 * Adaptado de: Bacon B. *et al*, Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 Practice Guideline by the American Association for the study of liver diseases. Hepatology. 2011;54:328-43

HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA	<i>Relacionada con el gen HFE</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Homocigotos C282Y -Heterocigotos C282Y/H63D <li style="padding-left: 20px;">C282Y/S65C -Otras mutaciones
	<i>No asociada al gen HFE</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Hemocromatosis hereditaria juvenil -Hemocromatosis asociada al receptor de transferrina tipo 2 (TfR2) -Enfermedad de la Ferroportina (SLC40A1) -Sobrecarga de hierro africana
HEMOCROMATOSIS SECUNDARIAS	<i>Trastornos hematológicos</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Talasemia Mayor -Anemia sideroblástica -Anemia hemolítica crónica -Anemia aplásica -Deficiencia de piruvato kinasa -Anemia con respuesta a piridoxina
	<ul style="list-style-type: none"> -<i>Sobrecarga de hierro parenteral</i> -<i>Enfermedades hepáticas crónicas</i> 	<ul style="list-style-type: none"> -Trasfusión de concentrados de hematíes -Hierro dextrano parenteral -Hemodiálisis de larga evolución -Porfiria cutánea tarda -Hepatitis C -Hepatitis B -Hepatopatía alcohólica -Hígado graso no alcohólico -Post-shunt porto-cava
MISCELÁNEA		<ul style="list-style-type: none"> -<i>Síndrome dismetabólico de sobrecarga de hierro</i>
		<ul style="list-style-type: none"> -<i>Hemocromatosis neonatal</i> -<i>Aceruloplasminemia</i> -<i>Atrasferrinemia congénita</i>

3.2.1. HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA O PRIMARIA

3.2.1.1. Asociada a Mutaciones en el gen HFE

La hemocromatosis hereditaria clásica, es el trastorno genético más frecuentemente diagnosticado en la raza caucásica. Se trata de una alteración autosómica recesiva que cursa con un aumento progresivo de la concentración de hierro. Este, se deposita en el parénquima hepático y otros tejidos, donde eventualmente puede dar lugar al desarrollo de lesiones orgánicas significativas.

Aproximadamente el 85-90% de estos pacientes son homocigotos para la mutación C282Y del gen HFE, existiendo una minoría de heterocigotos compuestos (C282Y/H63D o C282Y/C65C).

Según la clasificación de la OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), la hemocromatosis clásica asociada al gen HFE constituye el tipo 1 de los cuatro que se establecen. Es la variante más frecuente y se suele manifestar en la cuarta-quinta década de la vida con una expresividad clínica variable. La penetrancia es mayor en varones que en mujeres.

3.2.1.2. No ligada al gen HFE

El 10-15% de los pacientes que presentan una sobrecarga de hierro de causa genética pero no asociada a mutaciones en el gen HFE, pueden ser portadores de alteraciones en otras moléculas implicadas en el metabolismo del hierro. A este conjunto de trastornos se le conoce como Hemocromatosis no-HFE (Pietrangelo, 2005; Pietrangelo, 2011).

3.2.1.2.1. *Hemocromatosis Hereditaria Juvenil*

La hemocromatosis juvenil (HJ) es una forma especialmente grave de HH caracterizada por el depósito masivo de hierro a nivel hepático. En la mayoría de los casos, también se almacena en otros órganos como el corazón, las glándulas suprarrenales y el páncreas entre otros. Se trata de una variante rápidamente progresiva que conlleva un elevado riesgo de desarrollar lesiones irreversibles a medio-largo plazo.

Se manifiesta en la segunda o tercera década de la vida y afecta por igual a ambos sexos.

El primer paciente con HJ fue descrito por Bezaçon y colaboradores en 1932. Estos autores publicaron el caso de un joven de 20 años, fallecido a causa de un cuadro caracterizado por cirrosis hepática pigmentaria, infantilismo, insuficiencia cardíaca y aplasia endocrina múltiple (Bezaçon *et al.*, 1932). Más tarde se describieron otros casos similares (Goossens *et al.*, 1975; Lamon *et al.*, 1979; Cazzola *et al.*, 1983; Case records of Massachusetts General Hospital, 1994), y finalmente fue reconocida como una entidad propia al margen de la HH clásica.

Esta variante grave e infrecuente, se caracteriza por la presencia de hipogonadismo hipogonadotropo, cardiomiopatía, hepatomegalia, cirrosis hepática y pigmentación melánica de la piel (Kelly *et al.*, 1998; Kaltwasser, 2000). También se han descrito otras alteraciones como hipotiroidismo, insuficiencia suprarrenal y niveles bajos de prolactina u hormona de crecimiento (Varconyi *et al.*, 2000).

La OMIM la clasifica como hemocromatosis hereditaria tipo 2. Se trata de un trastorno autosómico recesivo en el que se diferencian dos subtipos A o B en función de la alteración genética implicada.

La más frecuente, da lugar a la HH tipo 2A, y consiste en la mutación del gen de la Hemojuvelina, localizado en el brazo corto del cromosoma 1. Este gen fue inicialmente denominado HFE2 (Papanikolaou *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2004).

Su producto, la hemojuvelina, se expresa en el hígado adulto y fetal, en el corazón y en el músculo esquelético. Su función y la forma en que la lleva a cabo no se conocen con exactitud, pero la hipótesis más aceptada es que se trata de un regulador de la transcripción de la hepcidina. Como se señaló anteriormente, la hepcidina es un péptido de síntesis hepática compuesto por 25 aminoácidos, que en la actualidad se considera clave en la regulación del metabolismo del hierro. Es capaz de disminuir su concentración, induciendo la internalización y degradación del principal exportador de hierro a la circulación, la ferroportina.

La mutación que da lugar al subtipo 2B, afecta directamente al gen que codifica la hepcidina (HAMP), el cual está localizado en el brazo corto del cromosoma 19. Constituye una causa muy infrecuente de HJ (Roetto *et al.*, 2003).

Al tratarse en ambos casos de variantes graves y rápidamente progresivas, es fundamental diagnosticar y tratar a los pacientes en estadios precoces. Si no se detecta a tiempo, los enfermos suelen fallecer a causa de un fallo cardiaco congestivo antes de alcanzar la cuarta década de la vida.

Al igual que en la hemocromatosis tipo 1, el tratamiento se basa en la realización de sangrías periódicas. A pesar de la presencia de una miocardiopatía establecida, es posible la recuperación de los pacientes con el tratamiento. La combinación de sangrías y deferoxamina se ha utilizado en situaciones especialmente graves, y en algunos casos puede ser necesario recurrir a un trasplante cardiaco (Jensen *et al.*, 1993; Kelly *et al.*, 1998).

3.2.1.2.2. Hemocromatosis hereditaria asociada al receptor de transferrina tipo 2

También conocida como HH tipo 3 de la clasificación de la OMIM, constituye un trastorno infrecuente asociado a la mutación del gen TfR2 (Roetto *et al.*, 2001). Este gen se localiza en el brazo corto del cromosoma 7 (7q22) y codifica la expresión del receptor tipo 2 de la transferrina, descubierto en 1999 por Kawataba y colaboradores (Kawabata *et al.*, 1999). Aunque presenta un patrón de distribución mundial (Le Gac *et al.*, 2004; Koyama *et al.*, 2005; Hsiao *et al.*, 2007; Mendes *et al.*, 2009) la mayoría de los casos han sido identificados en Italia (Mattman *et al.*, 2002).

Estructuralmente, el TfR2 contiene una proteína transmembrana que presenta un dominio extracelular de gran tamaño, capaz de unirse a la transferrina ligada al hierro para su posterior internalización (Worthen *et al.*, 2014). El receptor tipo 2 tiene menos afinidad por la transferrina que el tipo 1, pero podría ejercer un papel más relevante a nivel hepático donde se expresa en mayor proporción (West *et al.*, 2000; Roetto *et al.*, 2002).

Este tipo de hemocromatosis se caracteriza por un aumento de la absorción intestinal de hierro, lo que da lugar a su depósito excesivo en el hígado, el corazón, el páncreas y otros órganos endocrinos. Clínicamente se manifiesta a una edad algo más temprana que la HH clásica, pudiendo aparecer los primeros síntomas en la segunda década de la vida. A pesar de ello, se han descrito casos en los que sujetos portadores de la mutación no llegan a desarrollar ningún síntoma (Camaschella *et al.*, 2005).

Las manifestaciones más frecuentes son astenia, artralgias y las derivadas de la afectación orgánica en forma de cirrosis, diabetes mellitus o artropatía (Girelli *et al.*, 2002).

El diagnóstico se basa en la presencia de síntomas clínicos, la evidencia bioquímica de sobrecarga de hierro y el hallazgo de la mutación. Los pacientes generalmente presentan siderosis hepática, así como elevación del IST y la concentración de ferritina (IST >45% tanto en hombres como en mujeres, y ferritina > 200 µg/L en mujeres y >300 µg/L en hombres) (Camaschella *et al.*, 2000). El test genético para la mutación del TfR 2 solo está disponible en centros de referencia.

El tratamiento consiste, al igual que en la HH tipo 1, en la realización de flebotomías periódicas para mantener la concentración de ferritina y la saturación de la transferrina por debajo de 50 µg/L y del 50% respectivamente. Los individuos con afectación endocrina pueden requerir tratamiento sustitutivo hormonal de por vida, y en los casos de artropatía severa puede ser necesario la cirugía de reemplazo articular.

3.2.1.2.3. Enfermedad de la ferroportina

Se trata de una alteración autosómica dominante, que resulta de la mutación del gen SLC40A1 situado en el brazo corto del cromosoma 2. Da lugar a la HH de tipo 4 y es el segundo trastorno más frecuente tras la hemocromatosis hereditaria clásica.

La primera descripción de esta enfermedad se realizó en 1999 cuando se descubrió una variante de HH con patrón de transmisión autosómico dominante y no asociado al cromosoma 6 (Pietrangelo *et al.*, 1999; Pietrangelo, 2004). Más tarde se identificó el gen SLC40A1 (inicialmente denominado SLC11A3), cuya función principal es codificar las moléculas de ferroportina (Montosi *et al.*, 2001; Rivard *et al.*, 2003).

Como ya se ha comentado, la ferroportina es una proteína transportadora situada en la membrana basolateral de los enterocitos, encargada de exportar el hierro procedente de la dieta hacia el torrente sanguíneo. También se expresa en la superficie de los macrófagos, los hepatocitos y la placenta.

La enfermedad de la ferroportina presenta una variante “clásica” y otra “no clásica” en función del mecanismo patogénico implicado.

-Variante clásica de la enfermedad de la ferroportina: Es la más frecuente y se asocia con distintas mutaciones (A77D, V162del, D157G, N174I, Q182H, Q248H y G323V), cualquiera de las cuales determina una disminución de la expresión de la proteína en la superficie celular.

Ello conduce al almacenamiento del hierro en el interior de las células, y de forma predominante en los macrófagos hepáticos (Njajou *et al.*, 2001, Wallace *et al.*, 2002; Hetet *et al.*, 2003).

Este subtipo cursa con hiperferritinemia de instauración temprana (ya desde la primera década de la vida) y niveles normales o bajos de saturación de la transferrina. La disminución de la disponibilidad del hierro circulante que queda “atrapado” en el interior de las células puede dar lugar a anemia. Esto determina que muchos de los pacientes no toleren el tratamiento con flebotomías.

-*Enfermedad de la ferroportina no clásica*: Se asocia a diversas mutaciones del gen SLC40A1 (N144H, Y64N, C326Y, S338R y Y501C) que condicionan la abolición de la acción de la hepcidina sobre la ferroportina (concretamente su internalización y degradación). La distribución del hierro acumulado es similar a la HH clásica, concentrándose preferentemente en el interior de los hepatocitos (Olynyk *et al.*, 2008). Los pacientes presentan hiperferritinemia, y en este caso, aumento de los niveles de saturación de la transferrina.

Aunque las manifestaciones clínicas de la enfermedad de la ferroportina son superponibles a la hemocromatosis tipo 1, el grado de afectación orgánica es muy leve en la mayoría de los casos.

El tratamiento se basa en la realización de flebotomías si es necesario, pero siempre teniendo en cuenta la tendencia a la anemización y rápido descenso del IST que presentan estos pacientes. Si esto ocurre y los niveles de ferritina se mantienen persistentemente altos, la terapia adyuvante con eritropoyetina puede ser beneficiosa (Pietrangelo, 2004).

3.2.1.2.4. Sobrecarga de hierro Africana (siderosis Bantú)

Se trata de un trastorno descrito en el África sub-Sahariana, que se caracteriza por hiperferritinemia y sobrecarga de hierro a nivel de los hepatocitos y los macrófagos del sistema retículo endotelial (Gordeuk *et al.*, 2002).

Inicialmente se relacionó con la ingesta de una bebida tradicional fermentada en recipientes de hierro no galvanizado (Gordeuk *et al.*, 1992, Moyo *et al.*, 1998, Beutler *et al.*, 2003), sin embargo, se han descrito casos en pacientes que no ingieren este tipo de brebaje. En la actualidad se considera una enfermedad genética no asociada al gen HFE, que puede exacerbarse por factores ambientales relacionados con la dieta (Kasvose *et al.*, 2000).

3.2.2. HEMOCROMATOSIS SECUNDARIAS

Diversas enfermedades cursan con un aumento patológico de los depósitos de hierro de causa no genética. Constituyen un grupo heterogéneo de trastornos cuyo pronóstico suele estar condicionado por la enfermedad subyacente.

Las principales entidades asociadas a hiperferritinemia secundaria se muestran en la **Tabla 2**.

Tabla 2: Enfermedades relacionadas con sobrecarga de hierro de causa no genética.

Anemia	<ul style="list-style-type: none"> -Talasemia Mayor -Anemia sideroblástica -Anemia hemolítica crónica -Anemia aplásica -Deficiencia de piruvato kinasa -Anemia con respuesta a piridoxina
Sobrecarga de hierro parenteral	<ul style="list-style-type: none"> -Trasfusión de concentrados de hematíes -Hierro dextrano parenteral -Hemodiálisis de larga evolución
Enfermedades hepáticas crónicas	<ul style="list-style-type: none"> -Porfiria cutánea tarda -Hepatitis C -Hepatitis B -Hepatopatía alcohólica -Hígado graso no alcohólico -Post-shunt porto-cava
Sd. Dismetabólico de sobrecarga de hierro	

3.2.2.1. Anemias con sobrecarga de hierro

Los trastornos hematológicos asociados a eritropoyesis ineficaz, hemólisis crónica o requerimientos transfusionales periódicos pueden dar lugar al desarrollo de un depósito patológico de hierro.

3.2.2.1.1. Síndromes Talasémicos

Los síndromes talasémicos, y en particular la Beta talasemia Mayor, constituyen una de las causas más frecuentes de sobrecarga de hierro secundaria (Pippard, 1997). La etiopatogenia de este trastorno es multifactorial. Por una parte, la eritropoyesis ineficaz conduce a una hiperplasia de la médula ósea y al aumento de la absorción de hierro a nivel intestinal. En segundo lugar, se ha demostrado que en situaciones de hipoxia y anemia, se inhibe la síntesis hepatocitaria de hepcidina (Nicolás et al., 2002), lo que incrementa aún más la absorción intestinal de hierro y su exportación al torrente sanguíneo. Por último, la siderosis puede verse agravada por las múltiples transfusiones que requieren algunos de los pacientes como tratamiento de la anemia.

En estos casos, el exceso de hierro se deposita inicialmente en los macrófagos del sistema retículo endotelial, y más tarde en los hepatocitos y las células parenquimatosas de otros órganos.

La hemosiderosis clínica se reconoce por la aparición de hiperpigmentación cutánea y hepatomegalia. En la infancia se manifiesta como retraso del crecimiento y/o del desarrollo de los caracteres sexuales secundarios. El fallo hepático y la hipertensión portal son poco frecuentes.

Como consecuencia de la anemia, la mayoría de los pacientes no toleran el tratamiento con flebotomías, por lo que el uso de quelantes de hierro (deferroxamina, deferiprona o deferasirox) constituye la única opción terapéutica para evitar la aparición de lesiones a largo plazo (Barton, 2007).

Un reciente meta-análisis ha comparado el uso de deferasirox frente a otros quelantes en pacientes con Talasemia y sobrecarga de hierro secundaria. Los resultados concluyen que todos los fármacos muestran una eficacia similar, si bien, en opinión de los autores, la experiencia con deferasirox hasta la fecha es limitada, lo que impide recomendar su uso de forma generalizada (Meerpohl et al., 2012).

3.2.2.1.2. Otros trastornos hematológicos crónicos asociados a sobrecarga de hierro

La hemólisis crónica y la eritropoyesis ineficaz, también son los mecanismos patogénicos responsables de la hemosiderosis secundaria que acompaña a algunas

enfermedades hematológicas como la **anemia de células falciformes**, la **esferocitosis hereditaria**, las **anemias diseritropoyéticas congénitas** (como la deficiencia de piruvato-kinasa) o las **anemias sideroblásticas** hereditarias o adquiridas.

En la **anemia aplásica**, el exceso de hierro es secundario a la necesidad de transfusiones periódicas.

3.2.2.2. Siderosis post-transfusional

Los pacientes con anemias graves refractarias o que reciben tratamientos oncológicos agresivos, precisan la administración periódica de transfusiones de sangre para mantener unos niveles aceptables de hemoglobina. Sin embargo, al no existir un mecanismo fisiológico que elimine el exceso de hierro parenteral, esta terapia puede dar lugar al fenómeno conocido como siderosis post-transfusional. Se calcula que es necesario recibir más de 100 concentrados de hematíes para desarrollar una siderosis clínicamente significativa.

Cada unidad de sangre transfundida contiene entre 200 y 250 mg de hierro incluidos en el interior de los eritrocitos. Al degradarse los hematíes, el hierro se almacena inicialmente en los macrófagos del sistema retículo endotelial y a largo plazo, termina depositándose en otras localizaciones como los hepatocitos, el miocardio o las glándulas endocrinas (Andrews, 1999).

Hay que destacar, que la miocardiopatía es más grave en los pacientes con siderosis post-transfusional que en los sujetos con hemocromatosis hereditaria clásica. Esto es debido a que el hierro se almacena a un ritmo mucho más rápido en el primer caso.

El tratamiento con flebotomías no suele ser posible debido a la patología subyacente, de forma que la única alternativa es la utilización de quelantes de hierro. El objetivo de la quelación es mantener unos niveles de hierro por debajo de 15 mg/gr de tejido hepático.

3.2.2.3. Hepatopatías crónicas

Aproximadamente en el 10% de los hígados explantados, se objetiva un grado de siderosis similar al que presentan los pacientes con hemocromatosis hereditaria. Este fenómeno es más llamativo en los trasplantes por cirrosis de origen criptogénico y alcohólico. El

mecanismo fisiopatológico exacto no se conoce, si bien la disminución de los niveles de hepcidina y el aumento de la absorción intestinal de hierro, participan en la sobrecarga férrica independientemente del origen de la hepatopatía. El exceso de hierro contribuye a la lesión de los hepatocitos y acelera la progresión de la fibrosis (Pietrangelo, 1996), lo que debe tenerse en cuenta a la hora de estimar el pronóstico y predecir la evolución de la enfermedad.

3.2.2.3.1. Hepatitis crónica B y C

Los pacientes con hepatopatías crónicas virales, y principalmente, aquellos con infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC), pueden presentar niveles anormalmente elevados de hierro, saturación de la transferrina y/o ferritina (Di Bisceglie *et al.*, 1992; Barbaro *et al.*, 1999; Sherrington *et al.*, 2002; Adams, 2011).

Se postula que el exceso de hierro es secundario a una combinación de factores entre los que destacan su liberación procedente de la necrosis hepatocitaria, el efecto directo del virus C sobre su metabolismo, la presencia de mutaciones del gen HFE y la alteración de la función reguladora de la hepcidina.

Diversos estudios han demostrado que la presencia de mutaciones del gen HFE en pacientes con hepatopatía crónica C, se asocia de forma independiente a sobrecarga de hierro y fibrosis avanzada (Tung *et al.*, 2001, Eisenbach *et al.*, 2004). No obstante, también se objetivan mayores tasas de respuesta al tratamiento en los pacientes portadores de estas mutaciones (Distante *et al.*, 2002; Bonkovsky *et al.*, 2006).

Por otra parte, una elevada concentración de hierro a nivel hepático puede interferir en la respuesta al tratamiento con interferón y ribavirina. Concretamente, parece existir una relación inversamente proporcional entre los niveles de hierro y las probabilidades de éxito terapéutico, de tal forma, que para algunos autores la concentración parenquimatosa de hierro previa al inicio del tratamiento, podría constituir un factor predictivo de respuesta (Van Thiel *et al.*, 1994; Distante *et al.*, 2002; Fujita *et al.*, 2007).

Sin embargo, no todos los estudios coinciden en este punto. Así, Hofer y colaboradores, no encontraron una relación estadísticamente significativa entre el grado de siderosis hepática y la tasa de respuesta viral sostenida. Tampoco pudieron demostrar diferencias significativas entre los pacientes respondedores y no respondedores en función de la presencia o no de mutaciones

en el gen HFE. Únicamente, los niveles de ferritina elevados antes de iniciar el tratamiento, predijeron de forma independiente un mayor riesgo de fracaso terapéutico (Hofer *et al.*, 2004).

3.2.2.3.2. Porfiria cutánea tarda

Las porfirias son un grupo de enfermedades metabólicas producidas por el déficit de enzimas relacionadas con la síntesis del grupo hemo. Se clasifican según sus manifestaciones en: *agudas*, con predominio de síntomas neurológicos, y *cutáneas*, en las que el exceso de porfirinas se deposita en los capilares de la dermis superficial.

La porfiria cutánea tarda (PCT) es la más frecuente en España. Existe una reducción de al menos el 50% de la actividad de la enzima uroporfirinógeno descarboxilasa. Su patogenia es compleja, y se considera que es necesaria la participación de ciertos factores externos como el consumo de alcohol, el VHC, la sobrecarga de hierro, los estrógenos o el tabaquismo entre otros, para inactivar la enzima en individuos predispuestos.

La frecuencia de alteraciones del gen HFE es mayor en los pacientes con PCT (Martinelli *et al.*, 2000; Tannapfel *et al.*, 2001; Toll *et al.*, 2006; Kratka *et al.*, 2008), de tal forma que estas mutaciones se consideran un factor de susceptibilidad para la expresión clínica de la porfiria (Roberts *et al.*, 1997; Stuart *et al.*, 1998). La sobrecarga de hierro hepático leve o moderada es habitual, objetivándose siderosis significativa hasta en un 80% de las biopsias (Elder, 1998).

El tratamiento inicial consiste en la supresión de los factores desencadenantes, la protección solar y la realización de flebotomías con el objetivo de reducir el exceso de hierro (Ryan Caballes *et al.*, 2012). En algunos casos se emplea Cloroquina para facilitar la excreción de las uroporfirinas, pero esta es ineficaz en los pacientes homocigotos C282Y en los que el tratamiento se basa en la realización de sangrías (Stölzel *et al.*, 2003).

3.2.2.3.3. Hepatopatía alcohólica

El consumo excesivo de alcohol, se asocia con un aumento de la concentración sérica de hierro y su depósito a nivel hepático.

Tanto el alcohol como el hierro, generan un estrés oxidativo que desencadena la peroxidación lipídica y la activación de células estrelladas. Estas, son responsables de la producción de colágeno y la fibrogénesis hepática, fenómeno que con el tiempo conduce a la pérdida irreversible de tejido hepático funcional (Harrison-Findik *et al.*, 2006).

Por otra parte, se ha demostrado que el alcohol es capaz de inhibir la expresión de la hepcidina, lo que también contribuye a aumentar la sideremia (Bridle *et al.*, 2006; Harrison-Findik *et al.*, 2007; Ohtake *et al.*, 2007).

La acción sinérgica de todos estos factores, determina un mayor grado de lesión y acelera la progresión del daño parenquimatoso (Harrison-Findik, 2007). Este hecho fue confirmado por Fletcher y colaboradores quienes demostraron que los pacientes con HH que consumían más de 60 gr de alcohol al día, tenían 9 veces más riesgo de desarrollar cirrosis que aquellos que ingerían cantidades menores (Fletcher *et al.*, 2002).

3.2.2.3.4. Hígado graso no alcohólico (HGNA)

Los pacientes con el diagnóstico de hígado graso no alcohólico, pueden presentar un amplio espectro de afectación, que incluye desde situaciones benignas y no progresivas como la esteatosis hepática, hasta la cirrosis y sus complicaciones. La definición de HGNA, requiere la evidencia histológica o por pruebas de imagen de esteatosis hepática, y la ausencia de otros factores relacionados con la presencia de celularidad grasa en el hígado. Entre ellos destaca el consumo de alcohol, determinados fármacos, la hepatitis crónica C o la enfermedad de Wilson entre otros. La mayoría de los pacientes, presentan además uno o varios factores de riesgo cardiovascular tales como hipertensión, obesidad, diabetes o dislipemia. Actualmente su incidencia está aumentando significativamente en los países desarrollados, y se considera que en un futuro puede llegar a ser la principal causa de hepatopatía crónica en el mundo occidental (Siddique *et al.*, 2012). Su prevalencia es variable según los estudios y oscila entre el 6,3 y el 33% a nivel mundial (Chalasani *et al.*, 2012).

Histológicamente pueden categorizarse diferentes estadios de afectación, que incluyen desde la esteatosis simple hasta la esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) con o sin cirrosis (Angulo, 2002). El estrés oxidativo, la sobrecarga férrica y la resistencia insulínica actúan de forma sinérgica en la etiopatogenia de la lesión hepática (Fujita *et al.*, 2009).

Se ha objetivado una elevación de los parámetros séricos relacionados con el hierro y su depósito a nivel parenquimatoso en los pacientes con HGNA (George *et al.*, 1998). Estos sujetos, presentan a menudo concentraciones de ferritina elevadas, sin que ello signifique necesariamente que exista una sobrecarga férrica patológica. No obstante, si esta elevación se acompaña de un aumento de la saturación de la transferrina, se recomienda descartar la

presencia de mutaciones asociadas a hemocromatosis hereditaria mediante la realización de test genéticos.

El hallazgo de mutaciones del gen HFE, en los pacientes con HGNA tiene un significado clínico incierto. Algunos estudios muestran una mayor prevalencia de genotipos asociados a HH en estos individuos, así como mayor probabilidad de presentar fibrosis avanzada (Bonkovsky *et al.*, 1999; Nelson *et al.*, 2007). Sin embargo, datos procedentes de poblaciones donde estas mutaciones tienen una baja prevalencia, no confirman dicha asociación (Yamauchi *et al.*, 2004; Deguti *et al.*, 2003; Chitturi *et al.*, 2002). Se debe considerar la realización de biopsia hepática, en los homocigotos C282Y o dobles heterocigotos con sospecha de HGNA, con la finalidad de estimar con exactitud la concentración de hierro hepático y excluir la presencia de fibrosis avanzada o cirrosis.

Por otra parte, la ferroportina y la hemojuvelina son inhibidas por la acción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa). La producción de esta citoquina, es mayor en los pacientes con HGNA, por lo que este hecho puede tener cierto papel en la etiopatogenia de la siderosis (Aigner *et al.*, 2008).

La hepcidina también podría estar implicada en el proceso, aunque existen discrepancias con respecto a la función que desempeña en estos casos. La expresión de esta proteína es mayor en el tejido adiposo, lo que conllevaría un aumento de su actividad en los pacientes con HGNA, pero por otra parte, algunos estudios apuntan que los niveles elevados de insulina, hecho frecuente en este contexto, podrían provocar el efecto contrario (Bekri *et al.*, 2006).

3.2.2.3.5. Post-shunt porto-cava

La anastomosis quirúrgica entre la vena porta y la cava inferior para disminuir la presión portal, constituye en la actualidad una opción terapéutica en desuso para los pacientes cirróticos (Adams, 2011). Esta técnica se relaciona con una elevada incidencia de encefalopatía y deterioro de la función hepática, debido a la reducción del flujo portal. Además aumenta la complejidad técnica de un eventual trasplante, por lo que hoy en día se considera una causa excepcional de sobrecarga férrica en nuestro medio (Baker *et al.*, 1972).

3.2.2.3.6. Síndrome dismetabólico de sobrecarga de hierro

Este síndrome fue descrito por primera vez en 1997 por Moirand y colaboradores en un grupo de pacientes que presentaba siderosis hepática, saturación de transferrina normal y uno o más componentes del síndrome metabólico (obesidad, hiperlipemia, alteración del metabolismo de la glucosa o hipertensión arterial) (Moirand *et al.*, 1997 b). También es conocido como síndrome de resistencia insulínica asociado a sobrecarga férrica (Mendler *et al.*, 1999), y aunque se reconoce como una entidad propia (Chen *et al.*, 2011; Lainè *et al.*, 2008; Deugnier, 2014), en los pacientes con esteatosis hepática, podría superponerse al diagnóstico de HGNA (Fargion, 1999; Riva *et al.*, 2008).

Se ha investigado la presencia de mutaciones del gen HFE en el síndrome dismetabólico, objetivándose una mayor prevalencia con respecto a la población general (Mendler *et al.*, 1998; Rovati *et al.*, 1999). El tratamiento con sangrías ha demostrado mejorar la resistencia insulínica, y pueden ser necesarias de forma periódica para evitar recurrencias (Bardou-Jacquet *et al.*, 2014).

3.2.3. MISCELÁNEA

3.2.3.1. Aceruloplasminemia

La aceruloplasminemia, es un trastorno genético infrecuente con patrón de herencia autosómico recesivo, descrito por Miyajima y colaboradores en 1987 (Miyajima *et al.*, 1987, Yosida *et al.*, 2005).

La ceruloplasmina sintetizada en el hígado, es el principal transportador de cobre en sangre. También participa activamente en el metabolismo del hierro, transformando los iones ferrosos en férricos gracias a su capacidad oxidativa (Osaki *et al.*, 1966).

Una vez oxidado, el hierro se une a la transferrina para su transporte hacia la médula ósea e incorporación a los precursores eritroides; el resto se almacena en forma de ferritina. La deficiencia congénita de ceruloplasmina, impide la distribución del hierro, que queda atrapado en el interior de los hepatocitos, las células pancreáticas, los ganglios basales y la sustancia negra cerebral (Xu *et al.*, 2004; Harris *et al.*, 1998).

La presentación clínica clásica, se caracteriza por degeneración retiniana, síntomas neurológicos (ataxia cerebelosa, demencia y alteraciones extrapiramidales) y diabetes mellitus

(McNeil *et al.*, 2008). La concentración parenquimatosa de hierro es elevada, mientras que los niveles de cobre son normales (Miyajima *et al.*, 2003; Morita *et al.*, 1995). Existe hiperferritinemia, si bien el hierro sérico y la saturación de la transferrina son bajos. Por este motivo, los pacientes no suelen tolerar el tratamiento con flebotomías, y los fármacos quelantes como la deferoxamina son la principal opción terapéutica (Miyajima *et al.*, 1997, Loréal *et al.*, 2002).

3.2.3.2. Atransferrinemia congénita

Se trata de una entidad muy infrecuente. El primer caso fue publicado en Alemania por Heilmeyer y colaboradores (Heilmeyer *et al.*, 1961), quienes describieron un cuadro caracterizado por anemia hipocrómica grave, asociada a un depósito tisular generalizado de hierro. Posteriormente aparecieron nuevas evidencias que permitieron caracterizar las manifestaciones clínicas, y definir el curso de la enfermedad (Hromec *et al.*, 1994; Goya *et al.*, 1972; Loperana *et al.*, 1974; Dorantes 1986, Walbaum, 1971; Hamil *et al.*, 1991; Beutler *et al.*, 2000).

Su etiología es desconocida, aunque se considera la participación de un factor genético no identificado en el origen de la enfermedad. Esta hipótesis parte de la identificación de mutaciones que afectan al gen de la transferrina en estos pacientes (Asassa *et al.*, 2002; Knisely *et al.*, 2004).

Analíticamente se caracteriza por la ausencia de transferrina sérica y saturación indetectable, junto con ferropenia e hiperferritinemia marcada (2000-8000 µg/L).

La biopsia hepática, muestra siderosis intensa que afecta tanto a los hepatocitos como a las células de Kupffer. En algunos casos se objetiva un grado variable de fibrosis y puede existir afectación de otros órganos como páncreas, tiroides, parénquima renal o miocardio.

El tratamiento se basa en la infusión de transferrina humana purificada o plasma, y la administración de quelantes de hierro.

3.2.3.3. Hemocromatosis neonatal o hepatitis aloinmune congénita

La hemocromatosis neonatal, es la causa identificable más frecuente de fallo hepático grave en el recién nacido (Sundaram *et al.*, 2011). Se caracteriza por la presencia de un extenso depósito de hierro a nivel hepático, asociado a siderosis extrahepática de distribución similar a la hemocromatosis hereditaria clásica (Kelly *et al.*, 2001).

Debido a su origen congénito y a la distribución de los depósitos, inicialmente se denominó hemocromatosis congénita o enfermedad por depósito de hierro neonatal (Cottier, 1957). Sin embargo, recientes estudios han demostrado que en su fisiopatología subyace un proceso de aloinmunidad materna dirigida contra el hígado fetal, por lo que la denominación más aceptada en la actualidad es la de Hepatitis Aloinmune Congénita (Whittington 2005; Whittington *et al.*, 2007; Costaguta *et al.*, 2012). Este nuevo concepto ha hecho posible grandes avances en el pronóstico y tratamiento de la enfermedad.

El cuadro clínico puede ser evidente ya en el periodo de vida intrauterino, manifestándose como edema placentario, oligoamnios, retraso del crecimiento e incluso muerte fetal (Whittington *et al.*, 2011). El riesgo de recidiva en posteriores embarazos alcanza el 80%.

En el recién nacido, la clínica predominante es la insuficiencia hepática aguda grave con hipoglucemia, coagulopatía, ictericia colestásica y hepatomegalia.

Las pruebas de laboratorio muestran una prolongación de los tiempos de hemostasia, hiperbilirrubinemia e hipoalbuminemia. Los valores de aminotransferasas (GOT y GPT) son normales o están discretamente elevados. La transferrina es baja pero está hipersaturada (>70%) y la ferritina y la alfa-feto proteína son llamativamente altas (>1000 microg/L).

Estos hallazgos bioquímicos, pueden evidenciarse en otras causas de fallo hepático agudo, por lo que para confirmar el diagnóstico es necesario demostrar el depósito parenquimatoso de hierro.

Debido a la coagulopatía, la biopsia hepática no suele considerarse en estos pacientes, puesto que además, es posible demostrar la sobrecarga de hierro mediante la señal característica obtenida en las secuencias T2 de la resonancia magnética.

La siderosis extrahepática, puede evidenciarse mediante biopsia de las glándulas salivales del labio inferior (Chan *et al.*, 2008; Magliocca *et al.*, 2012). Este procedimiento es seguro y sencillo de realizar, aunque hasta en un 30% de los casos, las muestras obtenidas no logran demostrar el depósito de hierro (Smith *et al.*, 2004).

Los hallazgos anatomopatológicos hepáticos característicos, muestran fibrosis pericelular, transformación giganto-celular, proliferación ductular y nódulos de regeneración.

El pronóstico en estos pacientes es grave sin tratamiento, aunque se han publicado casos aislados de remisión espontánea (Inui *et al.*, 2005). Previamente a la aparición de la hipótesis aloinmunitaria, el manejo se basaba en medidas de soporte para el fallo hepático agudo y la combinación de antioxidantes y deferoxamina. El porcentaje de respuesta a este tratamiento únicamente alcanzaba el 10-20%, por lo que en muchos casos el trasplante hepático constituía la única alternativa de supervivencia (Rand *et al.*, 1992; Rodrigues *et al.*, 2005).

La aparición determinante de una nueva teoría etiopatogénica, llevaron a replantear el manejo terapéutico de esta enfermedad. Así pues, en 2004 fue publicada la primera experiencia con el uso de inmunoglobulinas intravenosas en un grupo de 15 embarazadas con antecedentes de hemocromatosis neonatal en gestaciones previas. Se administró una dosis estándar de 1g/Kg cada 7 días a partir de la semana 18 hasta el final de la gestación. En todos los casos se logró el parto a término de los recién nacidos, que a los 6 meses de seguimiento se encontraban asintomáticos (Whittington *et al.*, 2004).

Estos resultados fueron reproducidos y ampliados posteriormente (Whittington *et al.*, 2008), lo que condujo a la utilización de este mismo enfoque terapéutico en los recién nacidos afectados. De esta forma, las exanguinotransfusiones asociadas a la administración intravenosa de inmunoglobulinas consiguen actualmente una supervivencia sin trasplante próxima al 75% (Rand *et al.*, 2007).

4. PREVALENCIA DE LAS DISTINTAS MUTACIONES ASOCIADAS A LA HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA EN LA POBLACIÓN GENERAL

Aunque la HH presenta un patrón de distribución mundial, es mucho más frecuente en las poblaciones del Norte de Europa, y en particular en los países Nórdicos de origen Celta. En estas regiones, su prevalencia asciende a 1 por cada 220-250 habitantes (Bacon *et al.*, 2011).

La frecuencia alélica en la población general, de la mutación C282Y alcanza el 6,2% según los datos que se desprenden de un meta-análisis que incluye 36 estudios de screening poblacional, con un total de 127613 sujetos (EASL Clinical Practice Guidelines for HFE Hemochromatosis, 2010). Sin embargo, la frecuencia de esta mutación, varía en función del área geográfica estudiada, oscilando entre el 12,5% de Irlanda al 0% en ciertas regiones del sureste europeo (Merryweather-Clarke, 1997) (Figura 3).

Los homocigotos C282Y, suponen el 80,6% de los pacientes con HH, mientras que en individuos sanos, este polimorfismo solo está presente en el 0,6% de la población (EASL Clinical Practice Guidelines for HFE Hemochromatosis, 2010).

Existen otras dos mutaciones del gen HFE implicadas en la patogenia de la HH. En primer lugar, la sustitución de aspartato por histidina (H63D) muestra una menor variabilidad geográfica y una frecuencia alélica global próxima al 14% (Figura 4). Los pacientes heterocigotos compuestos (C282Y/H63D) suponen el 5,3% de los casos de hemocromatosis clínicamente significativa, mientras que en los estudios con grupos control, este polimorfismo solo se objetiva en el 1,3%.

Por otra parte, la mutación S65C, también se relaciona con el desarrollo de una sobrecarga patológica de hierro, siempre y cuando se asocie en un mismo individuo a la mutación C282Y. Presenta una frecuencia alélica menor que las anteriores (un 0,5%), y es más prevalente en la región francesa de la Bretaña.



Figura 3: Frecuencia alélica de la mutación C282Y en Europa. Adaptado de European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. J Hepatol. 2010



Figura 4: Frecuencia alélica de la mutación H63D en Europa. Adaptado de European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. J Hepatol. 2010

5. EXPRESIVIDAD GENÉTICA O PENETRANCIA DE LAS PRINCIPALES MUTACIONES ASOCIADAS A HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA

Desde la aparición de los test genéticos a finales de los años '90, las principales mutaciones relacionadas con la HH, se identifican frecuentemente en sujetos asintomáticos. Sin embargo, ser portador de dichas mutaciones no condiciona en todos los casos el desarrollo de una sobrecarga patológica de hierro.

Allen y colaboradores, en un estudio prospectivo que incluía 203 sujetos homocigotos C282Y seguidos durante 12 años, demostraron afectación orgánica secundaria a la sobrecarga de hierro en el 28,4% de los hombres (95% IC intervalo de confianza, 18.8-40.2) y el 1.2% de las mujeres (95% IC, 0.03-6.5) (Allen *et al.*, 2008). Otros estudios confirmaron estos resultados (Beutler *et al.*, 2002), constatando que la expresión fenotípica de la principal mutación asociada a la HH era menor de lo que inicialmente se pensaba.

Entre los distintos trabajos realizados con el fin de determinar la penetrancia del polimorfismo C282Y/C282Y, existen diferencias metodológicas y conceptuales que han dado lugar a un amplio abanico de estimaciones. El valor más aceptado es la que se desprende del meta-análisis llevado a cabo en 2010 por la Asociación Europea para el Estudio del Hígado que incluyó 19 estudios y que obtuvo una penetrancia global del 13,5% (95% IC, 13.4-13.6) (EASL Clinical Practice Guidelines for HFE Hemochromatosis, 2010).

Esta misma sociedad, teniendo en cuenta los distintos grados de expresividad genética que pueden presentarse, ha establecido 4 niveles de afectación en la HH (Adams *et al.*, 2000):

- Estadio 1: sin evidencia de sobrecarga de hierro bioquímica ni histológica.
- Estadio 2: evidencia bioquímica de sobrecarga férrica sin síntomas clínicos ni lesiones parenquimatosas.
- Estadio 3: sobrecarga férrica asociada a síntomas no específicos (astenia, mal estar general o artralgias)
- Estadio 4: sobrecarga férrica asociada lesiones órgano-específicas.

6. MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Gracias al screening genético, la mayoría de los pacientes se encuentran asintomáticos en el momento del diagnóstico (Adams *et al.*, 1991). La triada clásica de cirrosis, hiperpigmentación cutánea y diabetes, es excepcional en la actualidad.

Por tanto, solo un pequeño porcentaje de pacientes con HH presentan o desarrollan síntomas clínicos derivados del exceso de hierro (Allen *et al.*, 2008). Lo más frecuente son las manifestaciones inespecíficas tales como fatiga, mal estar general, dolor en hipocondrio derecho y artralgias.

Con menor frecuencia se identifican signos de hepatopatía crónica, diabetes o insuficiencia cardiaca congestiva.

Por otra parte, en las mujeres, la aparición de síntomas es hasta 10 veces menos frecuente, gracias a las pérdidas fisiológicas de hierro asociadas a las menstruaciones y los embarazos (Moirand *et al.*, 1997 a).

6.1. Afectación hepática

El hígado es el órgano diana de la HH al ser la localización principal de los depósitos de hierro.

El hierro almacenado, induce la peroxidación lipídica de los hepatocitos y la alteración de la función mitocondrial, lisosómica y de los procesos de degradación proteica (Lunova *et al.*, 2014).

Estudios realizados en los años '90, evidenciaron que sólo el 10-25% de los pacientes con HH desarrollan fibrosis y el 4-6%, cirrosis (Olynyk *et al.*, 1999 b).

La progresión hacia la cirrosis depende, por una parte, de la duración de la sobrecarga de hierro y, por otra, de la participación de otros factores como el consumo de alcohol, las hepatitis crónicas virales o la esteatohepatitis (Fargion *et al.*, 1994).

Los pacientes con HH, tienen mayor riesgo que la población general de presentar carcinoma hepatocelular (CHC). En la mayoría de los casos ocurre en presencia de cirrosis avanzada, siendo excepcional en sujetos no cirróticos (Bralet *et al.*, 2000; Kowdly *et al.*, 2004). Algunos

autores señalan, que el riesgo de CHC en los pacientes con cirrosis y HH es mayor que en la cirrosis secundaria a otras etiologías (Fracanzani *et al.*, 2001).

El CHC es el responsable de hasta el 30% de las muertes relacionadas con la HH. El aumento de riesgo persiste a pesar de un adecuado tratamiento, por lo que estos pacientes deben seguir programas de detección precoz de forma indefinida.

6.2. Trastornos endocrinos

-Las alteraciones del metabolismo de la glucosa son frecuentes en los sujetos con HH. El 70% de los pacientes cirróticos presentan **Diabetes Mellitus** en el momento del diagnóstico, aunque esta cifra disminuye al 17% en los sujetos no cirróticos (Hramiak *et al.*, 1997). Este hecho, se debe por una parte, al aumento de resistencia a la acción de la insulina y por otra, a una disminución de su secreción secundaria al almacenamiento de hierro en las células Beta pancreáticas (Mendler *et al.*, 1999).

También pueden aparecer complicaciones asociadas a la Diabetes como nefropatía, neuropatía, enfermedad vascular periférica y retinopatía proliferativa.

-El **hipogonadismo** es secundario al depósito de hierro a nivel hipotalámico, pituitario o gonadal. Se manifiesta como impotencia, disminución de la libido, atrofia testicular, pérdida del vello en los caracteres sexuales secundarios o amenorrea en las mujeres (Siminoski *et al.*, 1990).

Los niveles plasmáticos de testosterona suelen estar disminuidos, y la incidencia de osteoporosis es mayor (Valentii *et al.*, 2009).

-La afectación **tiroidea** es menos frecuente, y se ha descrito tanto en forma de hipotiroidismo como de hiperfunción (Edwards *et al.*, 1983). Algunos autores cuestionan su asociación con la HH, y sostienen que la incidencia de estas alteraciones en los homocigotos C282Y es similar a la de la población general (Barton *et al.*, 2008 a). Por ello, no consideran necesario medir los niveles de TSH o T4 de forma rutinaria en estos pacientes.

6.3. Afectación cardíaca

El depósito de hierro en el miocardio y el sistema de conducción puede generar arritmias, insuficiencia cardíaca o miocardiopatía (tanto restrictiva como dilatada) (Demant *et al.*, 2007). Los cambios electrocardiográficos se objetivan hasta en un 35% de los pacientes.

Las afectación cardíaca es más grave en la hemocromatosis juvenil y la hemocromatosis asociada al receptor de la transferrina tipo II, debido a que el hierro se deposita más rápidamente que en los demás subtipos.

6.4. Afectación articular

Es frecuente y puede aparecer hasta en el 25-50% de los pacientes. Es característica la afectación de la articulación metacarpofalángica del segundo y tercer dedo (Valenti *et al.*, 2008). Las muñecas, los codos, los hombros y las caderas también pueden verse afectadas (Hamilton *et al.*, 1981). Todo ello hace que los pacientes precisen cirugía de reemplazo articular más frecuentemente que la población general (Elmberg *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2012).

La distribución de la artropatía suele ser simétrica y poliarticular. Radiológicamente se presenta como osteoartritis hipertrófica (Faraawi *et al.*, 1993). No es infrecuente el depósito de cristales de pirofosfato cálcico en los meniscos y el cartilago de las rodillas (condrocalcinosis) lo que da lugar a una fina línea de calcificación paralela al hueso visible en las radiografías (Hirsch *et al.*, 1976; Carrol *et al.*, 2011).

6.5. Afectación cutánea

Clásicamente la HH se asocia a hiperpigmentación cutánea de aspecto “bronceado” o grisáceo. Esto es debido al depósito de melanina y/o hierro en la capa basal de la epidermis y alrededor de las glándulas sudoríparas.

La hiperpigmentación suele atenuarse con las flebotomías y es más evidente en las áreas fotoexpuestas (cara, cuello y dorso de las manos), así como en axilas, ingles, genitales externos y cicatrices (Chevrant-Breton *et al.*, 1977).

En la tabla 3 se muestran los principales signos y síntomas clínicos de la hemocromatosis hereditaria.

Tabla 3: Signos y síntomas frecuentes en los pacientes con HH

<i>Síntomas inespecíficos</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Cansancio -Mal estar general -Dolor en hipocondrio derecho -Artralgias
<i>Síntomas órgano-específicos</i>	<ul style="list-style-type: none"> -Dolor abdominal (Hepatomegalia) -Trastornos endocrinos (alteración del metabolismo de la glucosa, hipogonadismo, alteraciones tiroideas) -Alteraciones cardíacas (miocardiopatía, arritmias, insuficiencia cardíaca) -Afectación articular (osteoartritis, condrocalcinosis) -Hiperpigmentación cutánea

7. DIAGNÓSTICO

7.1. Test genéticos

En base a lo establecido por las Guías internacionales de práctica clínica, el diagnóstico de HH se realiza en aquellos pacientes homocigotos C282Y en los que se demuestra un aumento de los depósitos de hierro, independientemente de la presencia o no de síntomas (EASL Clinical Practice Guidelines for HFE Hemochromatosis, 2010) (Algoritmo 1).

El hallazgo de otros genotipos, debe interpretarse con cautela, de forma que en los sujetos homocigotos **H63D** con hiperferritinemia, debe descartarse en primer lugar la contribución a la sobrecarga de hierro de otros factores no hereditarios (Jackson *et al.*, 2001).

La mutación S65C se objetiva en menos del 1% de los casos de HH clínicamente significativa (Mura *et al.*, 1999). Por este motivo, está dejando de ser investigada de forma rutinaria en los pacientes con sobrecarga férrica.

En aquellos casos en los que se evidencia un aumento de la concentración hepática de hierro, y no se detectan las mutaciones C282Y o H63D, se debe considerar la participación de otras alteraciones genéticas no relacionadas con el gen HFE u otros factores adquiridos de hemosiderosis secundaria.

7.2. Determinaciones Bioquímicas

Clásicamente, se ha recomendado realizar las determinaciones de ferritina e IST estrictamente en ayunas, ya que algunos estudios han mostrado que más de un 50% de los sujetos sanos pueden presentar elevaciones transitorias de hierro sérico tras la ingesta. Sin embargo, publicaciones más recientes, concluyen que el ayuno no mejora la sensibilidad ni la especificidad de los test diagnósticos basados en el IST, por lo que esta recomendación en la actualidad no se sigue de forma sistemática (Adams *et al.*, 2007) .

Un índice de saturación de la transferrina superior al 45%, se asocia a HH de forma más sensible y específica que la elevación aislada de ferritina. Por este motivo el aumento del IST con ferritina normal no descarta la presencia de HH.

7.3. Biopsia hepática

En la actualidad, gracias a la disponibilidad de los test genéticos y los métodos no invasivos de cuantificación de hierro, no es preciso realizar una biopsia hepática para diagnosticar HH. Este procedimiento se reserva para valorar la presencia de fibrosis y/o cirrosis, en los sujetos con mayor riesgo de presentarla, puesto que este hallazgo condicionaría su pronóstico y seguimiento a largo plazo.

Diversos estudios han tratado de establecer qué subgrupo de pacientes presenta un riesgo aumentado de lesión histológica en base a parámetros no invasivos. En este sentido, se ha demostrado que el 20-45% de los homocigotos C282Y con una ferritina superior a 1000 $\mu\text{g/L}$ presentan cirrosis, mientras que cuando los niveles son inferiores, la prevalencia disminuye hasta el 2 % (Guyader *et al.*, 1998; Beaton *et al.*, 2002; Morrison *et al.*, 2003).

En base a estos resultados, se recomienda realizar una biopsia hepática para descartar cirrosis en aquellos sujetos con niveles de ferritina superiores a 1000 $\mu\text{g/L}$. También debe considerarse su realización en los pacientes con una ingesta de alcohol mayor de 60 mg/día y/o elevación de las transaminasas, ya que en estos casos, el riesgo de cirrosis es superior al resto.

Una vez realizada la biopsia, el estudio anatomopatológico debe incluir las tinciones estándar de Hematoxilina-eosina, Tricrómica de Masson y Azul de Prusia de Perls. Con esta última es posible localizar los depósitos parenquimatosos de hierro y establecer los distintos grados de afectación. El más leve (grado 1) se limita a los hepatocitos periportales con nula o escasa afectación de las células de Kupffer y los conductos biliares. El grado 4 supone una sobrecarga férrica generalizada de distribución panlobular (Brunt *et al.*, 2000).

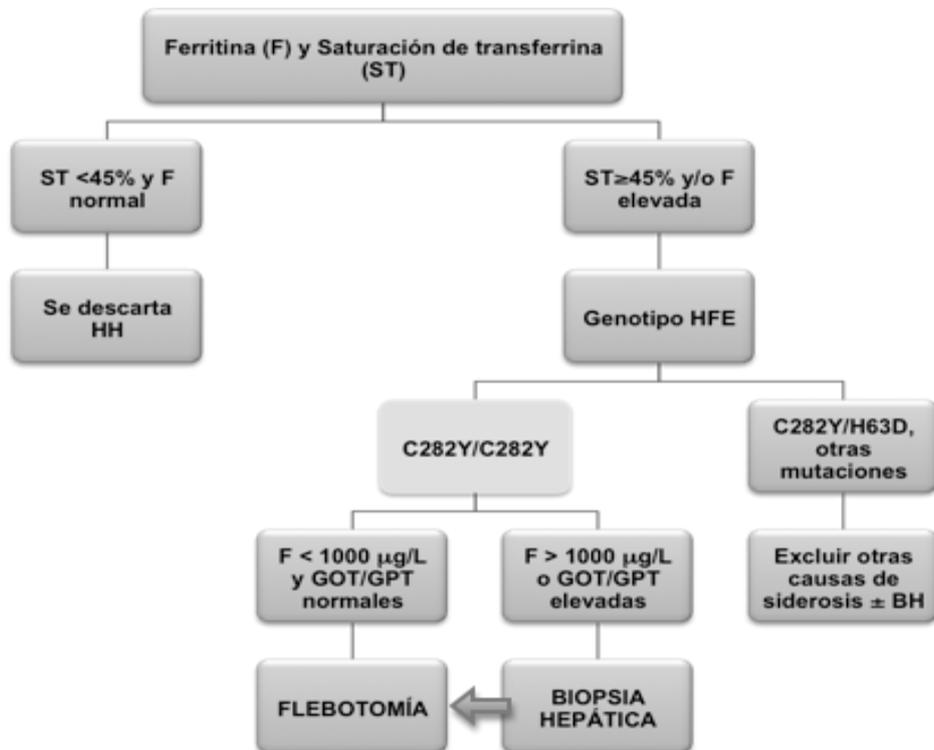
Además del análisis histoquímico, la **concentración del hierro hepático** (CHH) aporta importante información pronóstica. La CHH normal es inferior a 32 $\mu\text{g/g}$ (1800 mg/g en peso seco). Los pacientes con HH sintomáticos suelen presentar concentraciones superiores a 10000 $\mu\text{g/g}$. Cuando los valores sobrepasan los 20000 $\mu\text{g/g}$, en general, suele existir fibrosis o cirrosis hepática.

7.4. Test diagnósticos no invasivos

La concentración de hierro hepático, también puede ser determinada mediante técnicas no invasivas como la **resonancia magnética** (St. Pierre *et al.*, 2005; Gandon *et al.*, 2004). La pérdida o distorsión de la señal provocada por el depósito de hierro en las secuencias ponderadas en T2 es proporcional a su concentración (Wood *et al.*, 2007). Esto permite detectar concentraciones de hierro superiores a 60 $\mu\text{mol/g}$, valor a partir del cual se incluyen la mayoría de los pacientes con sobrecarga férrica clínicamente significativa (Olthof *et al.*, 2009).

-La elastografía o **Fibroscan**, es un método diagnóstico no invasivo que permite valorar el grado de fibrosis hepática. La utilidad de esta técnica en los pacientes con hepatopatía crónica (especialmente infección por el VHC) cobra cada día mayor relevancia, y de esta forma se va incluyendo progresivamente en las distintas guías de práctica clínica. En el caso de la HH, aún no existe un nivel de evidencia suficiente que permita incorporar el fibroscan a los algoritmos de decisión diagnóstico-terapéuticos. No obstante, la rapidez, inocuidad y disponibilidad de esta prueba hacen que probablemente en un futuro pueda tener un papel relevante en la valoración de los pacientes con sobrecarga de hierro (Adhoute *et al.*, 2008).

Algoritmo 1: Algoritmo de manejo de la sobrecarga de hierro. Adaptado de AASLD guidelines 2011



8. PRUEBAS DE CRIBADO

8.1. Screening poblacional

Aunque la HH es una patología con elevada prevalencia, existen test genéticos sencillos y accesibles, y un tratamiento efectivo que mejora la supervivencia de los pacientes, la baja penetrancia de la mutación C282Y y las potenciales consecuencias del diagnóstico en sujetos que nunca llegarán a desarrollar síntomas, han supuesto una evidencia suficiente para no recomendar el cribado poblacional de forma generalizada (Bacon *et al.*, 1997; Burke *et al.*, 1998; Cassanelli *et al.*, 2001; Bacon *et al.*, 2011; EASL clinical practice guidelines 2010, Nadakkavukaran *et al.*, 2012).

8.2. Screening en sujetos de alto riesgo

Una vez diagnosticado un paciente con HH, se deben realizar pruebas de cribado a todos los familiares de primer grado con el fin de detectar nuevos casos en estadios precoces (Bacon *et al.*, 2011; EASL clinical practice guidelines 2010).

Los test de cribado recomendados en estas situaciones, son tanto la medición de los niveles de ferritina y saturación de transferrina, como el análisis de mutaciones del gen HFE. Los hermanos de un sujeto homocigoto C282Y tienen un 25% de probabilidades de serlo también, mientras que los hijos del mismo paciente presentan un riesgo significativamente menor (aproximadamente del 5%). En el caso de hijos menores de edad de un paciente afecto, el estudio de las mutaciones C282Y y H63D en el otro progenitor podría ser recomendable, puesto que si el resultado es normal, el hijo es obligatoriamente heterocigoto y no requeriría más investigaciones (Adams *et al.*, 1998).

El consenso europeo de 2010 recomienda hacer extensivo o al menos considerar el cribado no solo a los familiares en primer grado de pacientes hemocromatósicos, sino también a las siguientes poblaciones (EASL clinical practice guidelines 2010):

- Pacientes con hepatopatía crónica de origen desconocido que presenten niveles elevados de ST.

- Pacientes diagnosticados de porfiria cutánea tarda, condrocalcinosis, carcinoma hepatocelular o diabetes tipo I.

9. TRATAMIENTO

9.1. Flebotomías

Las **flebotomías** son el pilar fundamental del tratamiento. El objetivo principal es prevenir la aparición de cirrosis y el desarrollo de complicaciones, lo que conlleva una mejoría de la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes.

Con la generalización de los test genéticos, se ha objetivado que hasta el 50% de las mujeres y el 20% de los hombres homocigotos C282Y, presentan niveles normales de ferritina a lo largo de su evolución y nunca llegan a requerir tratamiento (Yamashita *et al.*, 2003; Adams *et al.*, 2005; Adams *et al.*, 2009). Otros estudios muestran que los niveles de ferritina en el momento del diagnóstico, constituyen un factor predictivo de progresión de la enfermedad y pueden ser utilizados para predecir las necesidades terapéuticas en cada caso (Gurrin *et al.*, 2008).

Puesto que no todos los sujetos diagnosticados de HH requieren tratamiento, es necesario establecer en base a parámetros objetivos qué subgrupo de pacientes hay que tratar y cuál es el momento más adecuado para empezar a hacerlo.

Según las guías clínicas vigentes, los pacientes con una concentración de ferritina superior a 1000 $\mu\text{g/L}$, deben realizar sin duda alguna flebotomías periódicas para intentar disminuir la concentración sérica y parenquimatosa de hierro (Barton *et al.*, 2008 b). En estos casos, como se señaló anteriormente, existe mayor riesgo de evolución a cirrosis, e incluso, un riesgo relativo de muerte relacionada con el exceso de hierro hasta cinco veces mayor que el resto de los pacientes a pesar del tratamiento (Barton *et al.*, 2012).

En los sujetos asintomáticos con elevaciones moderadas de ferritina (por debajo de 1000 $\mu\text{g/L}$) y valores normales de transaminasas, no existe un claro consenso a cerca de la necesidad de establecer un régimen terapéutico con flebotomías. Las evidencias actuales muestran que el riesgo de desarrollar lesiones orgánicas y/o síntomas en estos casos es muy bajo (Allen *et al.*, 2010), por lo que se plantea un seguimiento estrecho de los pacientes, y se recomienda realizar donaciones voluntarias de sangre de forma periódica. En determinadas situaciones, se puede considerar la realización de flebotomías “profilácticas” si son bien toleradas y aceptadas por el paciente.

Las flebotomías consisten en la extracción de 400-500 ml de sangre durante un período de tiempo no inferior a 15-30 minutos. Se recomienda una reposición hídrica adecuada para evitar la disminución significativa del volumen circulante.

Las sangrías se suelen realizar semanalmente durante la llamada **fase de “inducción”** o depleción de hierro, hasta alcanzar unas cifras de ferritina $< 50 \mu\text{g/L}$. Posteriormente, se continúa con la **fase de mantenimiento**, en la que se pretende evitar la formación de nuevos depósitos. La periodicidad de las sangrías va disminuyendo de forma individualizada con el objetivo de mantener unas cifras de ferritina en torno a 50-100 $\mu\text{g/L}$. Estos niveles suelen lograrse mediante flebotomías trimestrales o cada 6 meses, si bien hay pacientes que, por causas que aún se desconocen, no vuelven a precisar la realización de sangrías.

Varios estudios han demostrado, mediante la realización de biopsia hepática antes y después del tratamiento, que es posible revertir la fibrosis a través de las flebotomías (Falize *et al.*, 2006; Powell *et al.*, 2001). Incluso, manifestaciones cardíacas como la disnea, la ortopnea o las arritmias, así como la hiperpigmentación cutánea o la sensación de fatiga, mejoran después de la depleción de hierro.

La artropatía no suele mejorar significativamente debido a que el hierro persiste en el cartílago y la membrana sinovial (Von Képis *et al.*, 2001) a pesar de un correcto tratamiento.

Cuando las flebotomías no son toleradas o están contraindicadas (fundamentalmente por la presencia de anemia) los fármacos quelantes de hierro o la eritrocitoaféresis son otras opciones a considerar.

9.2. Quelantes del hierro

Deferoxamina: es un quelante de hierro parenteral que se administra en infusión continua subcutánea a dosis de 40 mg/kg/día durante 8-12 horas 5-7 noches por semana. Existen evidencias de que el tratamiento con deferoxamina es igual de efectivo que la realización de flebotomías semanales para eliminar el exceso de hierro depositado en el hígado (Nielsen *et al.*, 2003). Sin embargo, la experiencia en pacientes con hemocromatosis primaria es limitada, de forma que este tratamiento se reserva específicamente para trastornos que cursan con sobrecarga férrica y eritropoyesis ineficaz (Barton *et al.*, 2007; Bring *et al.*, 2008).

Deferasirox: al igual que en el caso anterior, existe amplia experiencia en la utilización de deferasirox en patologías que cursan con depósito de hierro secundario a enfermedades hematológicas, como los síndromes mielodisplásicos, las talasemias, la anemia aplásica, o la anemia de células falciformes (Merphol *et al.*, 2010; Vichinsky *et al.*, 2011; Capellini *et al.*, 2011; Merphol *et al.*, 2012). Con respecto a la HH, la experiencia es cada día mayor, si bien, en la actualidad, su uso se limita a los pacientes en los que las flebotomías son mal toleradas o están contraindicadas. Phatak y colaboradores publicaron un estudio en fase 2 con 49 pacientes homocigotos para la mutación C282Y, en el que analizaron la seguridad y eficacia de este fármaco de administración oral. Los resultados mostraron que probablemente una dosis de 10 mg/Kg/día es la más apropiada para disminuir el exceso de hierro con una baja tasa de efectos secundarios (Phatak *et al.*, 2010).

Deferipona: es otro quelante de hierro de administración oral, si bien su utilización en pacientes con HH todavía no ha sido evaluada. Únicamente se ha descrito el caso de un paciente con hemocromatosis juvenil e insuficiencia cardiaca grave que fue tratado con éxito mediante la administración simultánea de Deferipona y Deferasirox (Fabio *et al.*, 2007).

9.3. Eritrocitoaféresis

consiste en la extracción de sangre a través de un dispositivo que separa y elimina selectivamente los eritrocitos del resto de proteínas plasmáticas, factores de coagulación, y células sanguíneas. Varios estudios indican que con esta técnica la depleción de hierro es más rápida que con las flebotomías, y que aunque el coste individual de cada sesión es mayor, el gasto total es similar al del tratamiento estándar (Kellner *et al.*, 1992; Fernández-Mosteirín *et al.*, 2006; Poullin *et al.*, 2011; Rombout *et al.*, 2012). A pesar de estas afirmaciones, la escasa experiencia y la necesidad de un equipamiento y personal especializado limitan el uso de esta técnica en la HH.

9.4. Terapias futuras

En los últimos años, se han producido importantes avances en el campo de la biología molecular, que permiten plantear nuevas posibilidades de tratamiento en los pacientes con sobrecarga férrica.

Las “minihepcidinas” son moléculas compuestas por cadenas cortas de aminoácidos, que son capaces de mimetizar la acción de la hepcidina. En modelos animales han demostrado disminuir la concentración de hierro sérico y parenquimatoso a nivel hepático (Preza *et al.*, 2011; Ramos *et al.*, 2012; Schmidt *et al.*, 2014). Su utilización en humanos podría constituir en un futuro una alternativa prometedora, tanto para el tratamiento como para la prevención de los trastornos asociados a sobrecarga férrica.

10. MUTACIÓN H63D

Aunque inicialmente fue considerada un polimorfismo sin significación patológica del gen HFE, la mutación H63D constituye en la actualidad una posible causa genética de sobrecarga férrica. Esto ocurre fundamentalmente cuando se asocia en un mismo individuo a la mutación C282Y, si bien la contribución de este genotipo (H63D/C282Y) a la HH es únicamente del 5%.

Actualmente, el significado clínico de esta mutación cuando se presenta en ambos alelos del gen HFE, es controvertido. Este hecho se debe a la publicación de evidencias tanto a favor como en contra de su asociación con un riesgo de siderosis significativo.

10.1. Frecuencia alélica de la mutación H63D y prevalencia de la homocigosis H63D

Varios trabajos han determinado la prevalencia de la mutación H63D en diferentes regiones de España, tanto en población no seleccionada como en pacientes diagnosticados de HH (Tabla 4).

-El área que presenta una frecuencia alélica mayor es el **País Vasco** donde se estima que puede alcanzar el 29,31%. Este porcentaje se objetivó en un grupo de 116 controles asintomáticos, mientras que en 33 pacientes diagnosticados de HH la prevalencia disminuyó hasta el 12,8% (De Juan *et al.*, 2001). Resultados muy similares se obtuvieron en el estudio realizado por Baiget y colaboradores, quienes determinaron la frecuencia de esta mutación en una muestra de 51 controles sanos procedentes de la misma región. La frecuencia alélica en este caso fue del $27,4\% \pm 8,7$. En este mismo trabajo, se analizaron también otros dos grupos: 58 sujetos de etnia gitana que mostraron una frecuencia del $8,6\% \pm 5,1$ y 108 donantes de sangre procedentes de Cataluña en los que se objetivó una frecuencia del $15,7\% \pm 4,9$ (Baiget *et al.*, 1998).

-En segundo lugar, Muro y colaboradores llevaron a cabo un estudio con el objetivo de estimar la prevalencia de las distintas mutación asociadas a HH en la región de **Murcia**. Estos autores analizaron un grupo de 370 donantes de sangre, y demostraron que el polimorfismo H63D en esta población era mas frecuente que en el resto de Europa (frecuencia alélica del 27,02%) (Muro *et al.*, 2007).

Sánchez y colaboradores también examinaron la frecuencia de las mutaciones C282Y y H63D en un grupo de 31 pacientes diagnosticados de HH y 485 controles sanos. Obtuvieron que el 87,1% de los pacientes eran homocigotos para la mutación C282Y, y el 6,5% heterocigotos compuestos (C282Y/H63D). En este caso, ningún sujeto del grupo de estudio resultó homocigoto H63D, sin embargo, sí lo fueron el 4,1% de los controles (Sánchez *et al.*, 1998).

-En la misma línea, otro trabajo realizado en las **Islas Baleares**, mostró una prevalencia del genotipo H63D/H63D próxima al 3.3% en los pacientes diagnosticados de HH, mientras que en el grupo control este porcentaje se redujo a la mitad (1,6%). La frecuencia alélica de esta mutación resultó del $21.3\% \pm 2.5$ en la muestra de pacientes y del $19.5\% \pm 2.0$ en el grupo control. Los mayores porcentajes se obtuvieron en el subgrupo de descendientes de judíos Mallorquines (Guix *et al.*, 2002).

-En **Cataluña**, se estimó una frecuencia alélica del 20% (IC 95% 0.19-0.22) en una muestra de 1043 recién nacidos. De todos ellos, el 31% eran heterocigotos simples y el 4% homocigotos (Altes *et al.*, 2004). Los mismos resultados obtuvieron Sánchez y colaboradores en donantes de sangre de la misma región (frecuencia alélica 20.8%, homocigotos H63D/H63D 4,6%) (Sánchez *et al.*, 2003).

-Otro trabajo realizado en un grupo de recién nacidos, pero en esta ocasión en la comunidad de **Madrid**, estimó una frecuencia alélica similar (21,05%) y un porcentaje de homocigotos H63D del 4,2% (Ropero-Gradilla *et al.*, 2010). Estos resultados concuerdan con los publicados en la misma región por Álvarez (frecuencia alélica 23%, homocigotos H63D/H63D 4%) (Álvarez *et al.*, 2001) y Moreno (frecuencia alélica en sujetos sanos del 2,3%, en pacientes con HH: 19,8%, y proporción de homocigotos H63D: 4,5%) (Moreno *et al.*, 1999).

-Por último, en **Galicia**, la prevalencia de esta mutación en controles sanos también es elevada (frecuencia alélica: 23%, [15.2–32.5] intervalo de confianza al 95%) (Soto *et al.*, 2000).

Como podemos comprobar, existe gran cantidad de información acerca de la prevalencia de la mutación H63D en España. Si tomamos como referencia el estudio publicado por Merryweather-Clarke en el año 2000, vemos que en casi todas las regiones la frecuencia alélica de esta mutación es superior a la del resto de Europa ($12 \pm 15\%$). En 2010 la Asociación Europea para el estudio del Hígado, llevó a cabo su propio metanálisis, sin objetivar grandes variaciones a

este respecto (frecuencia alélica global de la mutación H63D en Europa: 14,0%) (EASL Clinical Practice Guidelines for HFE Hemochromatosis, 2010).

Tabla 4: Frecuencia de la mutación H63D en diferentes regiones españolas

<i>Autores</i>	<i>Año</i>	<i>Región</i>	<i>Tamaño muestral</i>	<i>Prevalencia H63D/H63D</i>	<i>Frecuencia alélica</i>
1.Sánchez <i>et al</i>	1998		31 pacientes 485 controles	0% pacientes 4,1% controles	
2.Vega <i>et al</i>	2000	Galicia	50 controles		23 ± 9,5
3. Guix <i>et al</i>	2002	Baleares	30 pacientes 192 controles	3,3% pacientes 1,6% controles	21.3 ± 2.5 19.5 ± 2.0
4. Altes <i>et al</i>	2004	Cataluña	1043 recién nacidos	4%	20 ± 2.0
5.Sánchez <i>et al</i>	2003	Cataluña	5370 donantes de sangre	4,62%	20,80
6.Baiget <i>et al</i>	1998	País Vasco Cataluña	51 origen Vasco 58 etnia gitana 108 grupo catalán		27,4 ± 8,7 8,6 ± 5,1 15,7 ± 4,9
7.Castiella <i>et al</i>	2010	País Vasco	40 pacientes 116 controles	7,5% pacientes 7,76% controles	
8.De Juan <i>et al</i>	2001	País Vasco	33 pacientes 116 controles	0% 7,76%	12,85 29,31
8. Muro <i>et al</i>	2007	Murcia	370 donantes de sangre	–	27,02
9.Ropero-Gradilla <i>et al</i>	2005	Madrid	551 recién nacidos	4,5%	21,05
10.Álvarez <i>et al</i>	2001	Madrid	125 donantes de sangre	4%	23
11.Moreno <i>et al</i>	1999	Madrid	22 pacientes controles	4,5% pacientes	19,8 2,3

10.2. Expresión fenotípica de la mutación H63D

La evidencia científica publicada hasta la fecha con respecto a las implicaciones clínicas de la mutación H63D no permite establecer conclusiones definitivas.

Investigaciones en modelos murinos han demostrado que diversas alteraciones genéticas que afectan al gen H67D (análogo al H63D en humanos) provocan sobrecarga de hierro hepática en ratones (Tomatsu *et al.*, 2003), si bien el grado de afectación es menor que en el caso de la mutación C282Y.

Por otra parte, Remacha y colaboradores publicaron un estudio prospectivo en un grupo de 54 homocigotos H63D. Observaron que el 85% de los pacientes presentaba datos bioquímicos de sobrecarga de hierro. Estos autores analizaron además la presencia de otros factores relacionados con hiperferritinemia secundaria, y vieron que estos estaban presentes en el 65% de los sujetos. Por tanto, su trabajo concluye que el genotipo H63D/H63D puede condicionar la aparición de un depósito patológico de hierro, aunque posiblemente en la mayoría de los casos, es necesario que concurren circunstancias adicionales para el desarrollo de manifestaciones clínicas o lesiones orgánicas significativas (Remacha *et al.*, 2006).

Aguilar-Martínez y colaboradores, también con el objetivo de analizar la expresión clínica de la homocigosis H63D, llevaron a cabo un análisis de las características de un grupo de 56 sujetos portadores de este genotipo. Los pacientes habían sido remitidos a su unidad por presentar una historia personal o familiar de sobrecarga de hierro. En 50 de los 56 casos, se confirmó mediante la estimación de parámetros bioquímicos dicha sobrecarga. El 32%, presentaban además de la mutación objeto de estudio, otra causa adquirida de sobrecarga férrica (síndrome dismetabólico, consumo excesivo de alcohol, hepatopatía por VHB, VHC o porfiria cutánea tarda). Con respecto al 68% restante, 12 pacientes fueron diagnosticados de HH, mientras que los otros 22 presentaban sobrecarga de hierro con expresión fenotípica variable y no relacionada con ninguna otra patología definida. La proporción de varones y la edad media resultó significativamente menor en el grupo sin alteraciones. Por todo ello, los autores concluyen que la presencia del genotipo H63D/H63D puede condicionar un espectro clínico variable, que incluye desde sujetos completamente asintomáticos a la presencia de signos y síntomas compatibles con HH (Aguilar-Martínez *et al.*, 2001).

Esta variabilidad en la penetrancia de la mutación, y los diferentes resultados publicados hasta la fecha hacen necesaria la realización de nuevos estudios que determinen con mayor precisión las implicaciones de la mutación H63D cuando se presenta en ambos alelos del gen HFE.

11. RESUMEN

El hierro es un elemento esencial en el metabolismo humano, sin embargo, en concentraciones excesivas, puede depositarse en los tejidos y ocasionar lesiones potencialmente graves que condicionen la supervivencia de los pacientes y su calidad de vida.

La regulación de su concentración a nivel sérico y parenquimatoso depende de un complejo entramado de relaciones mediante las que se intenta alcanzar un equilibrio entre los requerimientos y su absorción a nivel intestinal. Todo ello teniendo en cuenta que no existe ningún mecanismo fisiológico para eliminar el exceso de hierro si este llega a producirse.

En los últimos años se han descubierto nuevas proteínas que participan en este proceso de regulación, cuya alteración puede condicionar la aparición de una sobrecarga férrica. De entre todas ellas, la hepcidina, cobra cada día mayor relevancia.

Existen por tanto diversas situaciones, tanto hereditarias como adquiridas, que conducen a la absorción excesiva y depósito patológico de hierro en el organismo. De entre todas ellas, la hemocromatosis hereditaria es sin duda la más relevante.

Las vigentes guías de consenso establecen claros algoritmos diagnósticos y terapéuticos para el manejo de los pacientes con HH, si bien todavía existen ciertas situaciones que se presentan en la práctica clínica habitual, cuyas implicaciones se conocen parcialmente y sobre las que no se han establecido protocolos de actuación específicos. Una de ellas, es la presencia de la mutación H63D en ambos alelos del gen HFE. Según las evidencias actuales, se considera que este polimorfismo, no es causa suficiente de sobrecarga férrica en ausencia de otros factores predisponentes. Sin embargo, existen datos que lo relacionan con valores elevados de ferritina, saturación de la transferrina y depósito parenquimatoso de hierro. Por otra parte, la prevalencia de esta mutación en España es una de las más elevadas de Europa, lo que hace si cabe más necesario analizar su papel en nuestro entorno. Mediante el estudio pormenorizado de las características de estos individuos, será posible desarrollar estrategias de actuación eficaces que permitan detectar precozmente los casos con mayor riesgo de desarrollar lesiones orgánicas significativas.

V. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

La hemocromatosis hereditaria es la principal causa genética de sobrecarga férrica. La mayoría de los pacientes son homocigotos C282Y, mientras que solo un 5,3% son heterocigotos compuestos (C282Y/H63D). Este hecho, no obstante, podría indicar que la mutación H63D contribuye de forma independiente al depósito de hierro, y en consecuencia, los homocigotos H63D presentarían mayor riesgo que la población general de desarrollar una sobrecarga férrica significativa.

La heterogeneidad metodológica de los estudios con pacientes homocigotos H63D limita la generalización de los resultados, de forma que, actualmente, encontramos evidencias tanto a favor como en contra de su asociación con el riesgo de siderosis.

Dada la importancia de un diagnóstico precoz para prevenir la aparición de lesiones secundarias al depósito de hierro, sería conveniente establecer con mayor precisión las implicaciones de este polimorfismo.

Nuestra **hipótesis** establece que los homocigotos H63D presentan mayor riesgo de desarrollar sobrecarga férrica significativa en comparación con los individuos no portadores de esta mutación.

VI. OBJETIVOS

Objetivo general:

Estudiar el efecto del polimorfismo H63D/H63D sobre el metabolismo del hierro.

Se pretende analizar en qué medida esta alteración genética predispone al desarrollo de una enfermedad hepática significativa secundaria al depósito de hierro.

Objetivos específicos:

-Analizar las características demográficas, clínicas y analíticas de los individuos homocigotos H63D.

-Determinar qué proporción de sujetos presenta un exceso patológico de hierro, tanto a nivel sérico como parenquimatoso.

-Investigar la presencia de otros factores que pudieran contribuir a la sobrecarga férrica en estos pacientes.

-Estudiar las implicaciones clínicas y relacionadas con la función hepática secundarias al depósito de hierro.

- Analizar las diferencias en la prevalencia de sobrecarga férrica entre los homocigotos H63D, los homocigotos C282Y y un grupo de sujetos no portadores de ninguna de estas 2 mutaciones.

-Valorar la influencia de otros factores asociados a hiperferritinemia en los resultados de los tres grupos.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

1-Diseño del estudio

2-VARIABLES

- Datos de filiación
- Antecedentes personales
- Historia clínica
- Parámetros analíticos
- Estudio genético
- Cuantificación de la concentración de hierro hepático
- Pruebas de imagen
- Otros

3-Población de estudio

- Criterios de inclusión
- Criterios de exclusión

4-Análisis estadístico

- Descripción de las variables
- Determinación de la normalidad de las distribuciones
- Contraste de hipótesis
- Cálculo del tamaño muestral

5-Consideraciones éticas

1- DISEÑO DEL ESTUDIO

Se llevó a cabo un estudio observacional analítico transversal.

Inicialmente se analizaron las características del grupo de individuos homocigotos H63D, estimando la prevalencia de sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa, así como la sintomatología clínica asociada. Además, se evaluó la presencia de otros factores asociados a hiperrferritinemia secundaria por su posible implicación en los resultados.

Posteriormente se valoró la existencia de diferencias significativas entre los resultados obtenidos en los pacientes homocigotos H63D y los grupos de comparación.

2- VARIABLES

2.1- Datos de filiación

- Número de identificación
- Número de historia clínica
- Sexo
- Fecha de nacimiento
- Fecha de la primera visita
- Edad en la primera visita
- Grupo de procedencia:
 - Antecedentes familiares de hemocromatosis hereditaria
 - Antecedentes personales de sobrecarga de hierro

2.2-Antecedentes personales

- Factores de riesgo cardiovascular:
 - Hipertensión arterial: si/no
 - Alteración del metabolismo de los hidratos de carbono:
 - Diabetes Mellitus: tipo I/tipo II/no
 - Intolerancia a la glucosa
 - Glucemia alterada en ayunas
 - Dislipemia: Hipercolesterolemia/hipertrigliceridemia/mixta/no
 - Índice de masa corporal (peso/altura²)

- Antecedentes personales relacionados con enfermedad hepática:
 - Contactos de riesgo percutáneos: si/no (Tatuajes, piercings, transfusiones, acupuntura, adicción a drogas por vía parenteral, intervenciones quirúrgicas)
 - Fármacos hepatotóxicos: si/no; tipo de fármaco si procede
 - Ingesta de alcohol (gr/día): <60 / 60-80 / 80-120 / >120 gr
 - Enfermedad del hígado graso no alcohólico:
 - Esteatosis hepática simple/esteatohepatitis no alcohólica/no
 - Virus de la hepatitis C: si/no
 - Virus de la hepatitis B: Portador crónico inactivo/hepatitis crónica activa/hepatitis B curada/no
 - Porfiria cutánea tarda: si/no

- Otras hepatopatías crónicas (hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, enfermedad de Wilson, déficit de alfa-1- antitripsina, hepatopatía alcohólica).

- Otros antecedentes:
 - Alteraciones cardiacas: Miocardiopatía/arritmias/insuficiencia cardiaca/otras/no
 - Alteraciones endocrinas: tiroideas/hipogonadismo/otras/no
 - Alteraciones reumatológicas: condrocalcinosis/artropatía/otras/no
 - Otros antecedentes significativos

- **2.3-Historia clínica** (anamnesis y exploración física)
 - Manifestaciones clínicas. Se valoró específicamente la presencia de los siguientes signos y síntomas:
 - Ascitis
 - Edemas
 - Diátesis hemorrágica
 - Ictericia
 - Coluria
 - Prurito
 - Hepatomegalia
 - Eritrosis palmar
 - Hiperpigmentación cutánea
 - Heridas secundarias a microtraumatismos
 - Astenia
 - Artralgias
 - Impotencia
 - Disminución de la libido
 - Trastornos menstruales
 - Hipotrofia-atrofia testicular
 - Hipertricosis
 - Ampollas
 - Cicatrices

2.4-Estudios analíticos

-Hemograma

- Hematíes (/mm³)
- Hemoglobina (g/dl)
- Hematocrito (%)
- Volumen corpuscular medio (fl)
- Leucocitos totales (/mm³)
- Neutrófilos (/mm³)
- Linfocitos (/mm³)
- Monocitos (/mm³)
- Plaquetas (/mm³)

-Parámetros relacionados con el hierro:

- Concentración de hierro plasmático (μg/ml)
- Ferritina (ng/dl)
- Índice de saturación de la transferrina (IST) (%)
- Transferrina (mg/dl)

-Parámetros relacionados con la función y el perfil hepático:

- Estudio de coagulación:
- Actividad de protrombina (%), INR y fibrinógeno (mg/dl)
- Bilirrubina total (mg/dl)
- Aspartato aminotransferasa (AST) (UI/l)
- Alanina aminotrasferasa (ALT) (UI/l)
- Fosfatasa alcalina (FA) (UI/l)
- Gamma-glutamiltanspeptidasa (GGT) (UI/l)
- Albumina (g/dl)

-Serologías virales:

- Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) (UI/ml)
- ADN del virus de la hepatitis B (UI/ml)
- Ac frente al virus de la hepatitis C (UI/ml)
- ARN del virus de la hepatitis C (UI/ml)

-Otros anticuerpos:

- Anticuerpos anti-mitocondriales (UI/ml)
- Anticuerpos anti-nucleares (UI/ml)
- Anticuerpos anti-músculo liso (UI/ml)
- Anticuerpos anti-microsomales de hígado y riñón (anti-LKM) (UI/ml)

-Determinaciones hormonales:

- TSH (UI/ml)
- T4 libre (UI/ml)
- Hormona folículo estimulante (FSH) (*mUI/ml*)
- Hormona luteinizante (UI/l)
- 17-Beta-estradiol (pg/ml)
- Testosterona (ng/dl)

-Otras determinaciones:

- Creatinina (mg/dL)
- Urea (mg/dL)
- Colesterol total (mg/dL)
- HDL colesterol (mg/dL)
- LDL colesterol (mg/dL)
- Triglicéridos (mg/dL)
- Proteinograma (g/dL)
- Proteína C reactiva (mg/L)
- Inmunoglobulinas (mg/dL)
- Alfa-1-antitripsina (mg/dL)
- Alfa-fetoproteína (UI/mL)
- Pofirinas (totales, uropofirinas, copropofirinas) ($\mu\text{g}/24$ horas)
- Ceruloplasmina (mg/dl)
- Cobre sérico ($\mu\text{g}/\text{dl}$)

2.5-Estudio genético

-Resultado de la determinación de las mutaciones H63D y C282Y en muestras de sangre periférica. El análisis se realizó en el Laboratorio de Genética del Hospital Ramón y Cajal mediante técnicas de Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR) en tiempo real.

2.6-Cuantificación de la concentración hepática de hierro

Se llevó a cabo mediante *resonancia nuclear magnética* o *biopsia hepática* en aquellos casos en los que según el criterio facultativo se consideró necesaria para determinar el grado de fibrosis o cirrosis, o para descartar otras patologías.

Biopsia hepática:

Se realizó por vía percutánea y con anestesia local, localizando previamente el punto de punción mediante ecografía. En el estudio anatomopatológico se utilizaron tanto tinciones estándar (Hematoxilina-eosina), como específicas para la detección de hierro parenquimatoso (Tinción de Perls).

Resonancia magnética:

Se utilizó el protocolo de la Universidad de Rennes para la cuantificación de la concentración de hierro mediante resonancia. El cálculo se basa el ratio hígado/músculo obtenido en dos secuencias de eco gradiente: la secuencia de densidad protónica (DP) y la secuencia T2.

Según las estimaciones obtenidas con este protocolo, se estableció como clínicamente relevante una concentración de hierro mayor de 60 micromol/gr, y se consideró normal todos resultado inferior a 36 micromol/gr.

2.7-Pruebas de imagen

-Ecografía abdominal: Se valoró específicamente la presencia de:

- Signos de hepatopatía crónica
- Signos de hipertensión portal
- Esteatosis hepática
- Lesiones ocupantes de espacio

-Radiografía simple anteroposterior de manos y rodillas

-Tomografía computerizada abdominal (TC): se solicitó únicamente en determinados pacientes en los que fue necesario confirmar o caracterizar con mayor precisión hallazgos obtenidos previamente.

2.8-Otros

-Electrocardiograma estándar de 12 derivaciones

Todas las variables se recogieron a través de las historias clínicas y de la base informática de datos analíticos (Openlab) del Hospital Ramón y Cajal.

3- POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se incluyeron 445 pacientes valorados en la consulta de “Patología hepática asociada al depósito de metales y trastornos metabólicos” del Hospital Ramón y Cajal desde 1994 hasta Diciembre de 2012.

Se establecieron los siguientes grupos:

-Homocigotos H63D: 192 pacientes

-Homocigotos C282Y: 109 pacientes

-Estudio negativo para ambas mutaciones: 144 pacientes

Criterios de inclusión:

Se invitó a participar en el estudio a todos los pacientes valorados en la consulta que cumplieran los siguientes requisitos:

-Antecedentes familiares de hemocromatosis hereditaria o personales de sobrecarga férrica.

-Ser portador homocigoto de las mutaciones H63D o C282Y. En el caso del grupo control, presentar un estudio genético negativo para ambas mutaciones.

-Firmar libre y voluntariamente, por el paciente o su tutor legal, el consentimiento informado que autoriza a la recogida y análisis de los datos.

-Ser mayor de 16 años.

Criterios de exclusión:

-No firmar el consentimiento para participar en el estudio o tener una edad inferior a 16 años al comienzo del mismo.

-Presentar polimorfismos heterocigotos simples para las mutaciones C282Y y H63D.

4- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico y la representación gráfica de los resultados se utilizó el programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences) (Chicago, IL) versión 20.0 para Macintosh.

Descripción de las variables:

Las variables cuantitativas de distribución simétrica se representaron con la media y la desviación estándar. En el caso de que la distribución fuera asimétrica, se utilizó la mediana y el rango o recorrido.

Las variables cualitativas se representaron mediante porcentajes y el intervalo de confianza.

Determinación de la normalidad de las distribuciones:

La normalidad de las variables cuantitativas del estudio se verificó mediante los test de Kolmogorov-Smirnov y Saphiro-Wilk, así como con la construcción de histogramas y curvas de normalidad.

Contraste de hipótesis:

Se evaluó la asociación entre variables cualitativas mediante el test de χ^2 (Chi cuadrado) o con la prueba exacta de Fisher, en el caso de que más de un 20% de los valores esperados fueran menores de 5.

Se analizó el comportamiento de las variables cuantitativas por cada una de las variables independientes categorizadas mediante el test de la T de Student (variables cualitativas dicotómicas) o el análisis de la variancia (ANOVA) (variables con más de dos categorías).

En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I menor de 0.05 ($p < 0,05$).

Cálculo del tamaño muestral:

No existe un cálculo explícito del tamaño muestral dado que se incluyó al máximo número de pacientes posible. No obstante, se analizó posteriormente la potencia estadística del estudio con el tamaño muestral alcanzado.

5- CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones establecidas para estudios científicos de investigación en seres humanos, basadas en las Normas de Buena Práctica Clínica internacionales que garantizan los principios de la Declaración de Helsinki, así como en la actual Legislación Española en materia de proyectos de investigación (ley 14/2007 que regula la investigación biomédica).

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito para la realización del estudio genético en todos los participantes (Anexo I) tras una clara explicación del proceso, los riesgos, beneficios y alternativas, así como de los derechos referentes a la libertad de decisión y privacidad.

El proyecto fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Ramón y Cajal de Madrid con fecha 20 de Marzo de 2012 (n/ref: 293/11) (Anexo II).

Confidencialidad de datos

La información difundida y obtenida por la puesta en marcha del presente estudio se considera confidencial y ha sido tratada en todo momento como tal.

Tanto los investigadores responsables del estudio como el CEIC, tuvieron acceso a la información registrada a lo largo del proceso.

El tratamiento de los datos se realizó de forma anónima asignando a cada paciente una clave para evitar su identificación. El proceso se llevó a cabo de acuerdo con las medidas de seguridad establecidas en el cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal, y, si los datos fueron transmitidos a terceros, el proceso cumplió con lo establecido en la mencionada Normativa y el R.D. 994/99.

Sólo aquellos datos de la historia clínica relacionados con el estudio fueron objeto de comprobación. La información recogida fue también identificada mediante un código y solo el investigador principal, colaboradores, el director y codirector de la tesis pudieron relacionar los datos con los pacientes y su historia clínica.

En caso de publicación de los resultados, no se revelará, bajo ninguna circunstancia, la identidad de los participantes.

VIII. RESULTADOS

GRUPO DE HOMOCIGOTOS H63D

1. Datos epidemiológicos y características basales
2. Signos y síntomas clínicos
3. Resultados analíticos
4. Estudio de factores asociados a hiperferritinemia
5. Sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa

GRUPO DE HOMOCIGOTOS C282Y

1. Datos epidemiológicos y características basales
2. Signos y síntomas clínicos
3. Resultados analíticos
4. Sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa

GRUPO DE PACIENTES SIN MUTACIONES

1. Datos epidemiológicos y características basales
2. Signos y síntomas clínicos
3. Resultados analíticos
4. Sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa

RESULTADOS GLOBALES

1. Datos epidemiológicos y características basales
2. Signos y síntomas clínicos
3. Parámetros relacionados con el metabolismo del hierro y otros valores analíticos
4. Resultados Analíticos
5. Sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa
6. Análisis Multivariante
7. Cálculo del poder estadístico

GRUPO HOMOCIGOTOS H63D

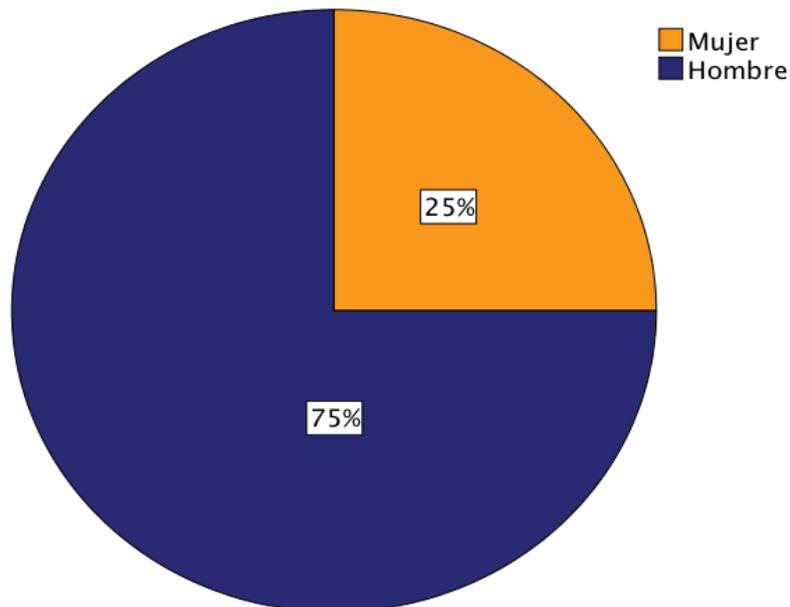
1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y CARÁCTERÍSTICAS BASALES

1.1.- Número total de pacientes

Se incluyeron 192 pacientes homocigotos H63D.

1.2.- Sexo

El porcentaje de hombres fue significativamente superior al de mujeres (144 hombres vs 48 mujeres; $p < 0.000$)

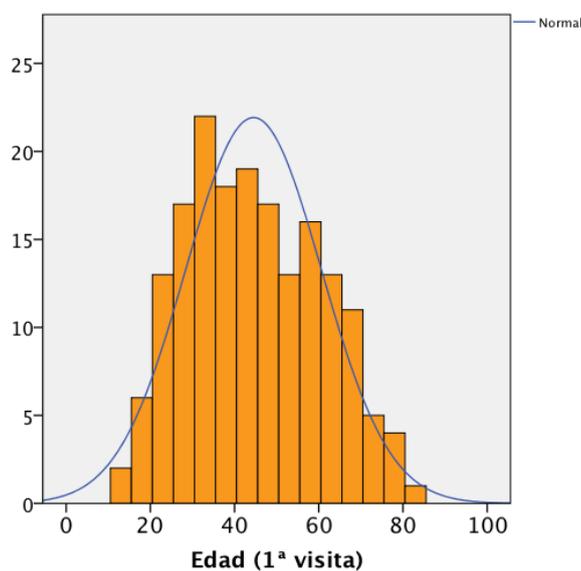


1.3.-Grupo de procedencia

La mayoría de los pacientes fueron remitidos para estudio por presentar datos clínicos o analíticos de sobrecarga férrica (138 pacientes, 71,9%), y en menor medida, por antecedentes familiares de hemocromatosis hereditaria (54 pacientes, 28,1%).

1.4.-Edad media

La edad media de los pacientes en su primera visita fue $44,95 \pm 16,41$ años (rango: 16-82)



Se objetivaron diferencias significativas entre la edad media de los pacientes derivados por antecedentes personales de sobrecarga férrica y aquellos con antecedentes familiares de hemocromatosis.

	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	
A. personales	138	48,51	15,34	<i>p=0,000</i>
A. familiares	54	35,87	15,66	

1.5.-Factores de riesgo cardiovascular

Se estimó la prevalencia de los principales factores de riesgo cardiovascular (obesidad, hipertensión arterial, diabetes mellitus y dislipemia). Posteriormente se calculó el porcentaje de pacientes que cumplían criterios diagnósticos de síndrome metabólico, según el consenso establecido por la Federación internacional de Diabetes en 2006.

1.5.1.-Índice de masa corporal (IMC)

Se calculó el índice de masa corporal mediante la fórmula:

$$\text{peso (kg)} / (\text{talla})^2 (\text{m})$$

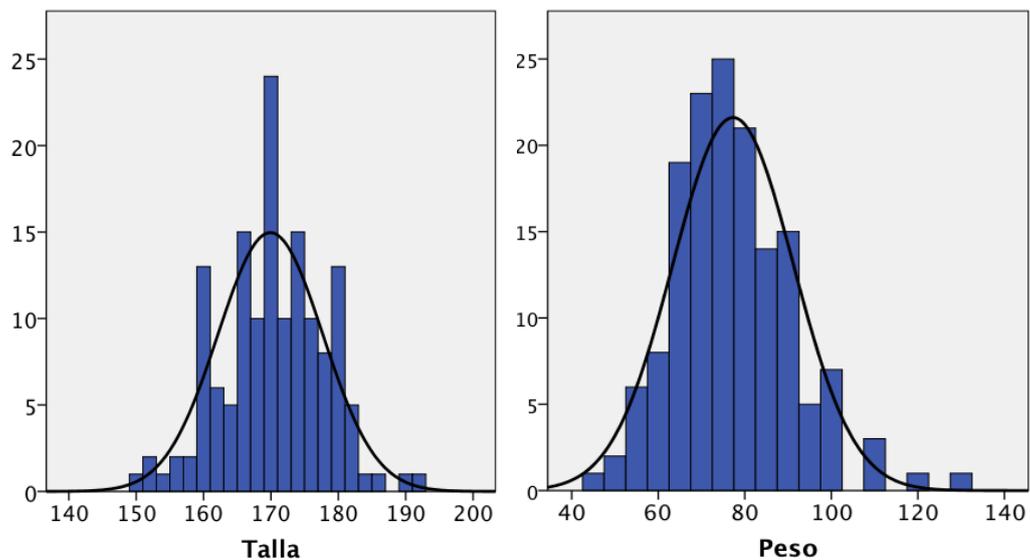
-Altura media: 168,24 ± 20,50 cm.

	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	
A. personales	116	171,16	7,91	p=0,04
A. familiares	46	160,87	35,59	

-Peso medio: 76,93 ± 16,81 Kg

	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	
A. personales	119	79,72	14,55	p=0,001
A. familiares	47	69,87	19,99	

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

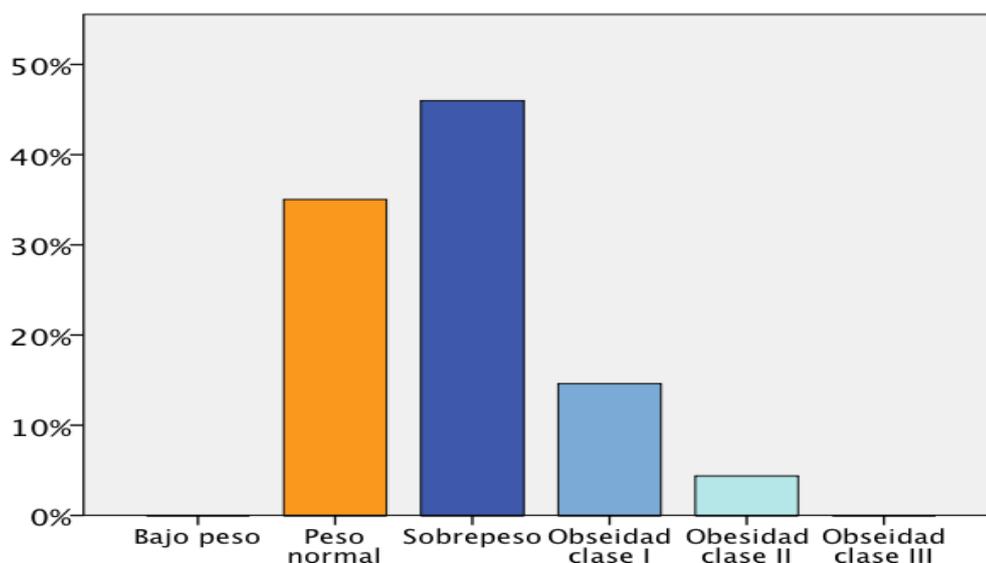


-**IMC:** 26,75 Kg/m² (sobrepeso).

Ningún paciente presentó obesidad de grado III (IMC >40) ni bajo peso (IMC < 18,5).

	<i>N</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>
IMC (kg/m²)	159	18,69	39,85	26,75	4,10
Talla (m)	162	150	192	168,24	20,50
Peso (Kg)	166	45	132	76,93	16,81

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Peso normal (IMC =18,5-24,9)	58	36,5%
Sobrepeso (IMC =25-29,9)	72	45,3%
Obesidad clase I (IMC = 30-34,9)	22	13,8%
Obesidad clase II (IMC =35-39,9)	7	4,4%



Se objetivaron diferencias estadísticamente significativas al comparar el IMC medio entre los distintos grupos de derivación, si bien la relevancia clínica de este resultado es limitada ya que ambos grupos presentaron un IMC compatible con sobrepeso.

	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	
A. personales	115	27,18	4,22	<i>p=0,031</i>
A. familiares	44	25,61	3,57	

1.5.2- Hipertensión arterial

El 17,7% (34 pacientes) de los sujetos eran hipertensos.

1.5.3- Dislipemia

-El 37,2% de los pacientes presentaba alteraciones del metabolismo lipídico.

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Hipercolesterolemia	39	20,7%
Hipertrigliceridemia	22	11,7%
Mixta	9	4,8%
Sin alteraciones	118	61,8%

1.5.4-Diabetes Mellitus

La clasificación de las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono se estableció en base a los siguientes criterios:

-Diagnóstico previo de Diabetes Mellitus (DM) tipo I o II

-Cumplir los criterios establecidos para el diagnóstico de DM:

Glucemia \geq 200 mg/dL y presencia de clínica cardinal

Glucemia \geq 126 mg/dL en ayunas

Glucemia \geq 200 mg/dL a las 2 horas en un test de sobrecarga oral de glucosa.

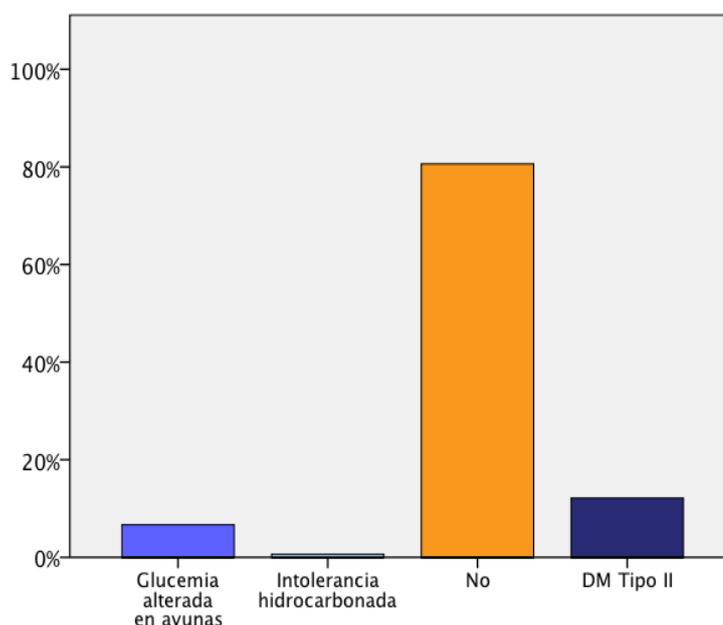
(Todo ello en ausencia de una descompensación metabólica aguda)

-Intolerancia a los hidratos de carbono: Glucemia 140-200 mg/dL a las 2 horas en un test de sobrecarga oral de glucosa

-Glucemia alterada en ayunas: Glucemia entre 100-126 mg/dL medida en ayunas

La mayoría de los pacientes no cumplían ninguno de estos criterios (71,4%). No se detectaron casos de Diabetes Mellitus tipo I.

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Intolerancia hidrocarbonada	2	1,1%
Glucemia alterada en ayunas	23	12,4%
Sin alteraciones	137	73,7%
DM Tipo II	24	13,0%



1.5.5- Síndrome metabólico

Se definió el síndrome metabólico según los criterios establecidos por la Federación Internacional de la Diabetes en 2006:

Obesidad central* más al menos 2 de los siguientes criterios:

1-Triglicéridos ≥ 150 mg/dl o recibir tratamiento específico por diagnóstico previo de hipertrigliceridemia.

2-HDL-colesterol

< 40 mg/dl en varones

< 50 mg/dl en mujeres

o recibir tratamiento específico por diagnóstico previo de hipercolesterolemia.

3-Hipertensión arterial:

Tensión sistólica ≥ 130 mmHg o diastólica ≥ 85 mmHg

o recibir tratamiento por HTA diagnosticada previamente

4-Glucemia alterada en ayunas >100 mg/dl **

o diagnóstico previo de diabetes tipo II

*Si el índice de masa corporal es > 30 kg/m² se puede asumir obesidad central y no es necesario medir la circunferencia abdominal.

		<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Sd. metabólico	Si	18	11,7%
	No	136	88,3%

El porcentaje de pacientes con síndrome metabólico fue significativamente superior en los pacientes derivados por antecedentes personales de sobrecarga férrica.

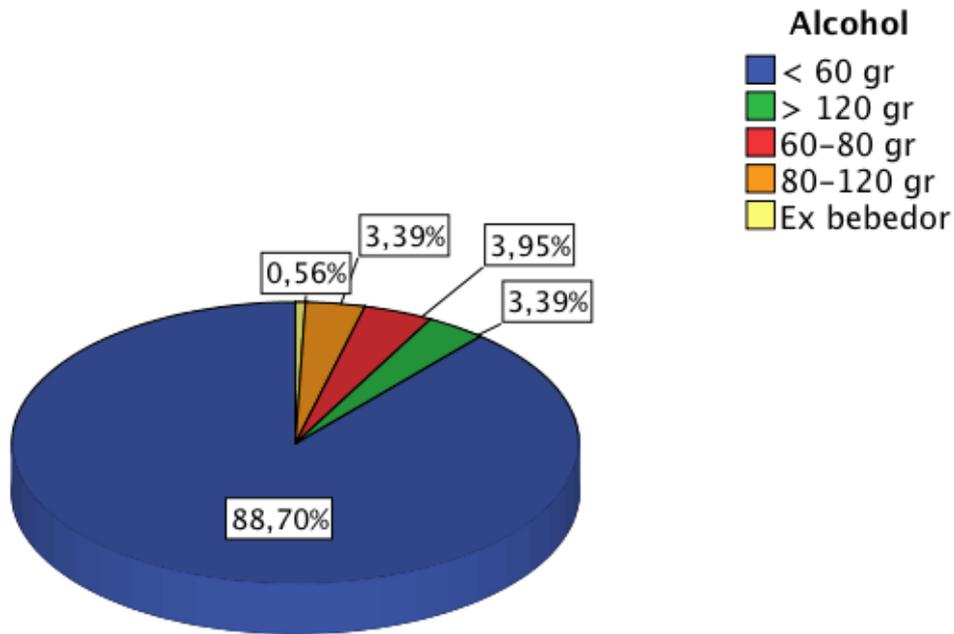
		<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>	
A. personales		17	15,7%	$p=0,014$
A. familiares		1	2,2%	

1.6. Factores relacionados con hiperferritinemia secundaria

1.6.1. Consumo de alcohol

Dada la relación entre el consumo excesivo de alcohol y el aumento de los valores de ferritina, se clasificó a cada uno de los pacientes en 5 categorías en función de la ingesta enólica diaria.

El 88,7% (150 pacientes), eran abstemios o consumían menos de 60 gr de alcohol al día.



Al agrupar a los pacientes en función de un consumo mayor o menor de 60 gr/día, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los resultados del grupo de hombres y el de mujeres.

		Mujer	Varón	
Consumo Alcohol	< 60 gr	48	123	p=0,002
	> 60 gr	0	21	

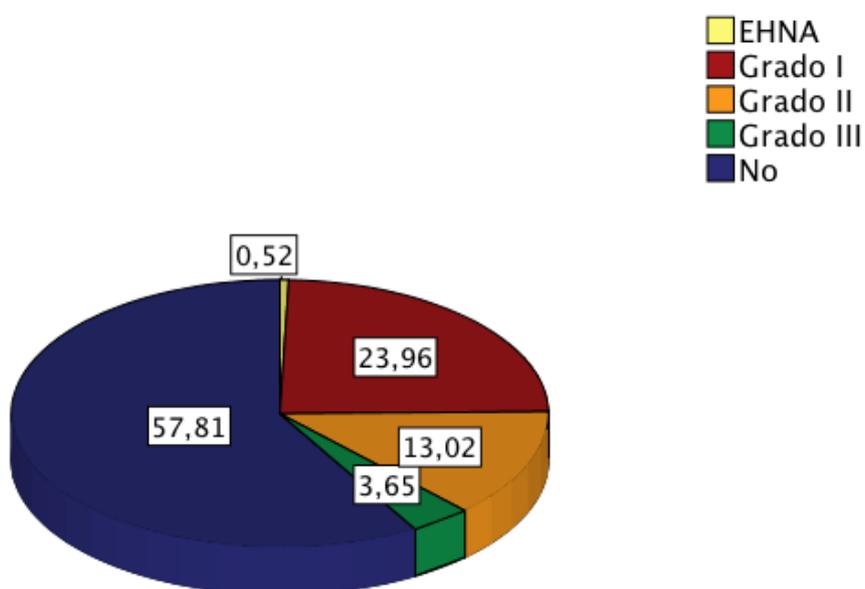
1.6.2. Esteatosis hepática

En función del resultado de las pruebas de imagen (fundamentalmente de la ecografía abdominal) y/o la biopsia en el caso de que se realizara, se valoró el grado de infiltración grasa hepática.

El 25% de los pacientes presentaban esteatosis leve (grado I). Se diagnosticó un caso histológicamente compatible con esteatohepatitis no alcohólica.

	<i>Nº</i>	<i>Porcentaje</i>
<i>EHNA*</i>	<i>1</i>	<i>0,5%</i>
<i>Esteatosis grado I</i>	<i>46</i>	<i>24,0%</i>
<i>Esteatosis grado II</i>	<i>25</i>	<i>13,0%</i>
<i>Esteatosis grado III</i>	<i>7</i>	<i>3,6%</i>
<i>Sin esteatosis</i>	<i>11</i>	<i>57,8%</i>

*EHNA: esteatohepatitis no alcohólica



1.6.3. Hepatopatías crónicas: Virus de la hepatitis B y C, porfiria cutánea tarda y otras

a) Hepatitis crónica B:

En ninguno de los casos analizados el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B resultó positivo ni el ADN detectable. En 17 pacientes se objetivaron anticuerpos frente al antígeno del core (hepatitis B pasada), y en 27, anticuerpos frente al antígeno de superficie.

b) Hepatitis crónica C:

Nueve pacientes (4,6%) fueron diagnosticados de infección crónica por el virus C. El genotipo más frecuente fue el 1b (7 casos) seguido del genotipo 4 (2 pacientes).

c) Porfiria hepatocutánea:

Se detectaron 6 casos de porfiria hepatocutánea en el grupo de homocigotos del H63D. Tres pacientes, además presentaban infección crónica por el virus de la hepatitis C.

d) Otras hepatopatías crónicas:

Se identificó un caso de déficit de alfa-1- antitripsina y 5 de hepatopatía crónica alcohólica. En este último grupo, se objetivaron datos de hipertensión portal en 4 pacientes, 2 de los cuales fallecieron posteriormente durante el seguimiento.

	<i>H63D</i>	
Hepatitis VHB	0	(0%)
Hepatitis VHC	9	(4,6%)
Porfiria hepatocutánea	6	(3,1%)
Déficit de alfa-1-antitripsina	1	(0,5%)
Hepatopatía alcohólica	5	(2,6%)

2.- SIGNOS Y SÍNTOMAS CLÍNICOS

Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron interrogados específicamente por la presencia de signos y síntomas relacionados con enfermedades hepáticas crónicas. Los datos reflejados se refieren a la información obtenida durante la primera visita clínica.

Los síntomas más frecuentemente referidos fueron artralgias (35,4%), *astenia* (25,0%), *diátesis hemorrágica* en forma de epistaxis o gingivorragia (22,4%), disminución de la libido (19,1%) e impotencia (16,9%).

Solo 2 pacientes presentaron *hiperpigmentación* cutánea significativa, ambos con valores de ferritina superiores a 500 ng/dL y saturación de ferritina de 65,3% y 99,7% respectivamente. En ambos casos, la edad superaba los 65 años la primera vez que acudieron a la consulta (67 y 70).

A pesar de que hasta un 22,4% de los pacientes refería epistaxis o gingivorragia, en ninguno de estos casos se objetivó trombopenia, y solo en 2, la actividad de protrombina era menor del 70%.

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

Un paciente refería *ictericia* y presentaba una bilirrubina de 2,8 mg/dL.

El *prurito* se localizaba de forma preferente en tronco y extremidades.

La *hepatomegalia*, en 10 casos medía 2-3 cm, en cuatro, 5 cm y en un paciente 8 cm.

Solo 2 pacientes con *eritrosis palmar* a la exploración referían un consumo de alcohol mayor de 60 gr/día.

Las *artralgias* se localizaban en su mayoría en pequeñas y medianas articulaciones (manos, tobillos, muñecas y rodillas).

El paciente que presentaba *heridas por microtraumatismo*, fue diagnosticado de porfiria hepatocutánea y hepatitis C.

	<i>H63D</i>
Ascitis	--
Edemas	1 (0,5%)
Diatesis hemorrágica	43 (22,6%)
Ictericia	1 (0,5%)
Coluria	5 (2,6%)
Prurito	31 (16,4%)
Hepatomegalia	15 (7,9%)
Eritrosis palmar	8 (4,2%)
Hiperpigmentación cutánea	2 (1,1%)
Heridas por microtrumatismos	1 (0,6%)
Astenia	52 (27,5%)
Artralgias	68 (35,8%)
Impotencia (varones)	24 (16,9%)
Disminución de la libido	31 (19,1%)
Hipertricosis	2 (1,1%)
Ampollas	1 (0,5%)
Cicatrices	1 (0,5%)
Dolor abdominal	15 (7,9%)

3.- RESULTADOS ANALÍTICOS

A continuación se presentan los valores analíticos promedio del grupo de homocigotos H63D.

La ferritina media fue 372,06 ng/mL y el índice de saturación calculado mediante la fórmula: $IST = (\text{hierro sérico} \times 100) / (\text{transferrina} \times 1.27)$ resultó del 42,47%. El hierro sérico estimado fue de 116,90 $\mu\text{g/ml}$ y la hemoglobina media 15,17 g/dL.

No se objetivó plaquetopenia ni alteraciones de la coagulación de forma global.

Los valores medios de bilirrubina, transaminasas, GGT y fosfatasa alcalina fueron normales. Lo mismo sucedió con los niveles de creatinina, urea y proteína C reactiva.

HEMOGRAMA

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Estándar
Hematíes (/mm³)	190	4890000	6560000	4821210,53	463756,35
Hematocrito (%)	192	34,90	52,40	43,81	3,54
Hemoglobina (g/dl)	192	11,7	18,6	15,17	1,29
VCM (fl)	192	60,6	110,5	91,21	5,40
Leucocitos (/mm³)	192	3200	13700	6681,41	1731,96
Neutrófilos (/mm³)	190	1300	59200	4044,97	4228,88
Linfocitos (/mm³)	190	500	18900	2226,06	1394,62
Monocitos (/mm³)	190	247	1200	521,93	159,67
Plaquetas (/mm³)	190	29000	438000	228305,26	61119,03

PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL HIERRO

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Estándar
Hierro sérico (µg/ml)	190	25	239	116,90	41,26
Ferritina (ng/mL)	192	5,80	3408,00	372,06	385,74
Transferrina (mg/dl)	190	80,00	372,00	224,71	38,87
IST (%)	189	12,78	132,09	42,47	19,10

PARÁMETROS RELACIONADOS CON LA FUNCIÓN Y EL PERFIL HEPÁTICO

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Estándar
Activ. Protrombina (%)	188	26	121	95,41	10,30
Fibrinógeno (mg/dl)	188	174,1	740,0	302,26	78,70
Bilirrubina (mg/dl)	192	0,2	2,8	0,81	0,46
GOT(UI/l)	192	11	152	26,39	18,31
GPT(UI/l)	192	6	285	37,91	35,20
GGT(UI/l)	192	5	347,00	45,30	53,09
Fosfatasa alcalina(UI/l)	192	7	768	91,72	77,37
Albúmina (g/dl)	180	3,02	5,26	4,41	0,33

DETERMINACIONES HORMONALES

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Estándar
TSH (UI/ml)	139	0,17	5,16	1,84	0,67
T4 libre (UI/ml)	11	0,69	1,35	1,08	0,21
T3 libre (UI/ml)	77	2,77	4,09	3,20	0,49
FSH (UI/ml)	149	0,69	96,50	11,70	18,51
Hormona luteinizante	148	0,11	39,46	6,54	8,11
17-beta-Estradiol (pg/ml)	140	5,47	612,00	39,87	66,59
Testosterona (ng/dl)	148	14,20	1439,20	371,93	279,92

OTRAS DETERMINACIONES

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desv. Estándar
Creatinina (mg/dl)	190	0,6	1,4	0,92	0,16
Urea (mg/dl)	188	12	73	35,16	9,33
Colesterol (mg/dl)	190	95	310	191,91	37,80
HDL-Colesterol (mg/dl)	126	21,00	176,00	48,35	17,48
LDL-Colesterol (mg/dl)	128	41	237	116,08	38,63
Triglicéridos (mg/dl)	190	30	1042	117,11	90,05
Proteínas totales (g/dl)	190	6,3	9,0	7,16	0,44
-Alfa 1	180	0,08	3,10	0,25	0,40
-Alfa 2	180	0,10	11,10	1,05	1,63
-Beta	180	0,12	12,60	1,08	1,67
-Gamma	180	0,12	17,20	1,34	1,99
Ig G (mg/dl)	184	546,00	1770,00	1093,44	235,99
Ig A (mg/dl)	184	30	983	242,15	119,50
Ig M (mg/dl)	184	33	363	113,17	57,84
Alfa-1-antitripsina (mg/dl)	25	32,60	281,00	125,67	53,67
Alfa fetoproteína (UI/ml)	166	0,81	23,01	2,87	2,22
Porfirinas totales (µg/24 h)	179	7,50	2252,20	108,95	185,81
Uroporfirinas (µg/24 h)	178	3,68	1525,00	37,17	130,76
Coproporfirinas (µg/24 h)	173	4,30	727,20	72,75	60,93
Ceruloplasmina (mg/dl)	169	11,10	44,20	24,89	5,30
Cobre sérico (µg/dl)	161	35,00	139,00	78,72	19,02
Proteína C reactiva (mg/l)	160	0,23	19,20	3,54	3,47
Glucosa (mg/dl)	190	66	171	97,87	18,75
Hb glicosilada (%)	160	3,5	8,1	5,32	0,85

4.-ESTUDIO DE FACTORES ASOCIADOS A HIPERFERRITINEMIA

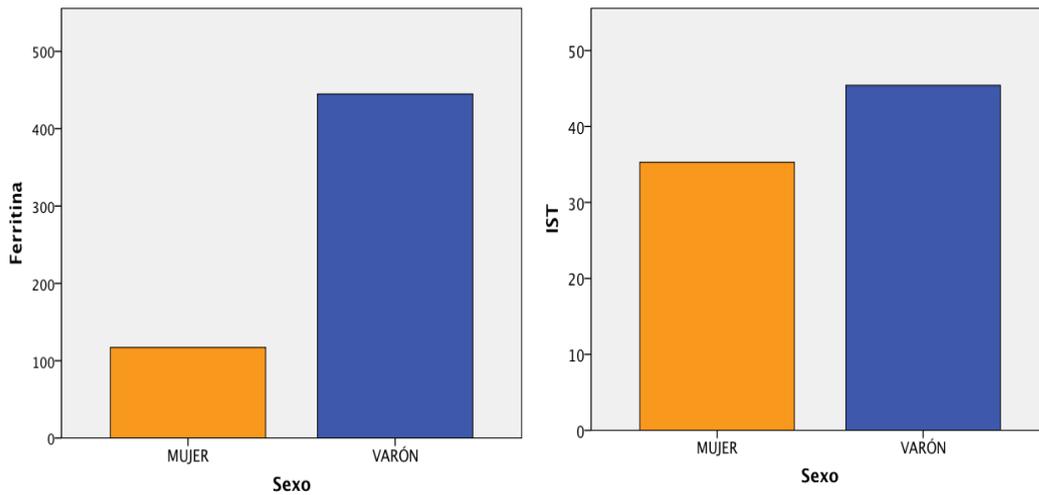
A continuación, se valoró la existencia de diferencias estadísticamente significativas en los niveles de ferritina e índice de saturación de la transferrina (IST) entre los pacientes que presentaban factores de riesgo relacionados con hiperferritinemia y otras posibles variables de confusión.

- 1-Sexo
- 2-Edad
- 3-Grupo de procedencia
- 4-Obesidad y síndrome metabólico
- 5-Consumo de alcohol
- 6-Esteatosis hepática
- 7-Inflamación
- 8-Hepatopatías crónicas

4.1.Sexo

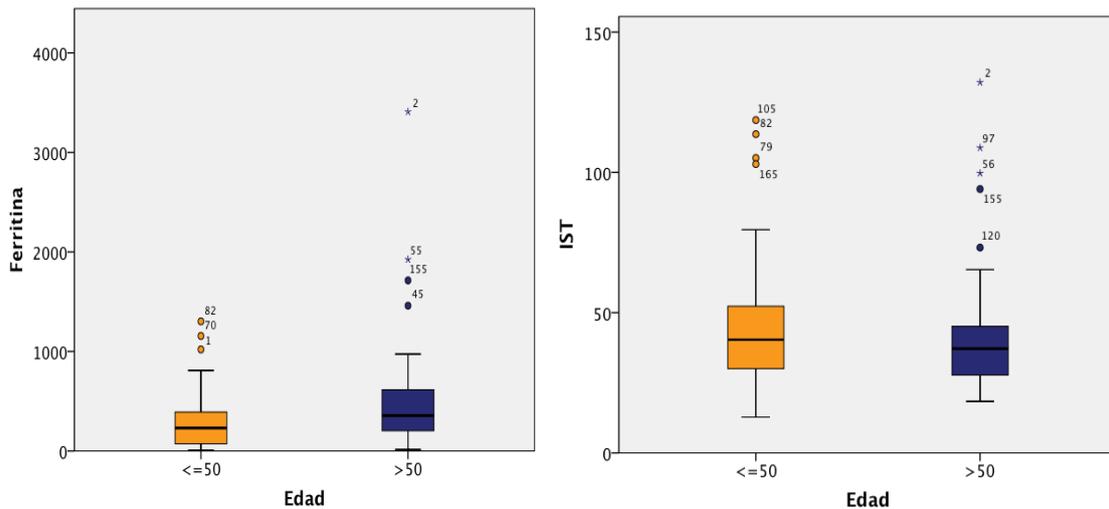
Los niveles de ferritina y el IST fueron significativamente más elevados en el grupo de varones que en el de las mujeres.

	<i>Sexo</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estandar</i>	<i>Significación</i>
Ferritina	Varón	144	452,74	405,62	p<0,000
	Mujer	48	130,05	156,00	
IST	Varón	141	44,99	19,05	p=0,002
	Mujer	48	35,06	17,41	



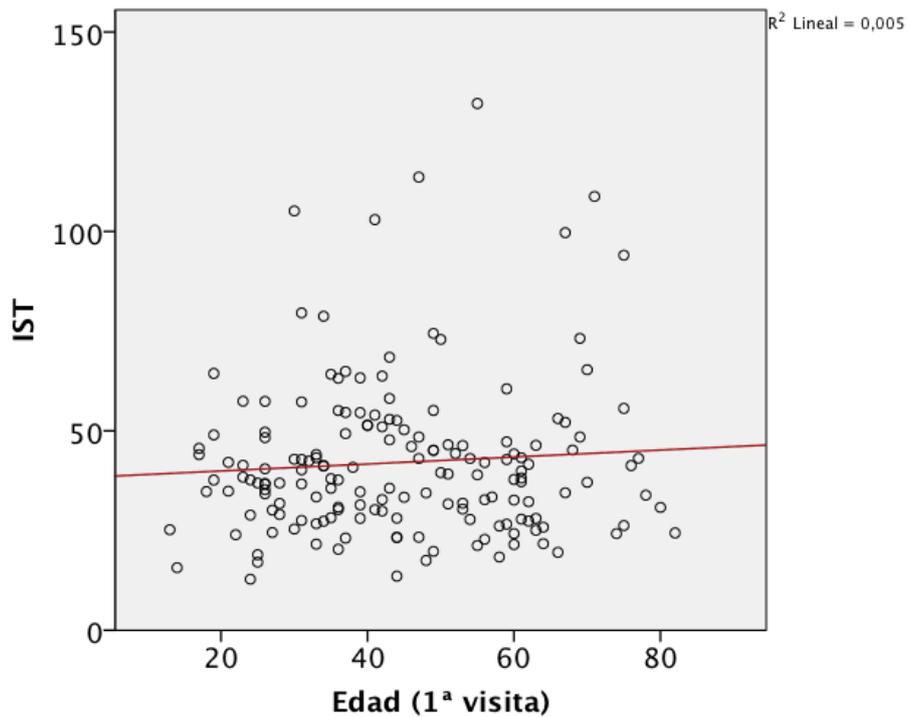
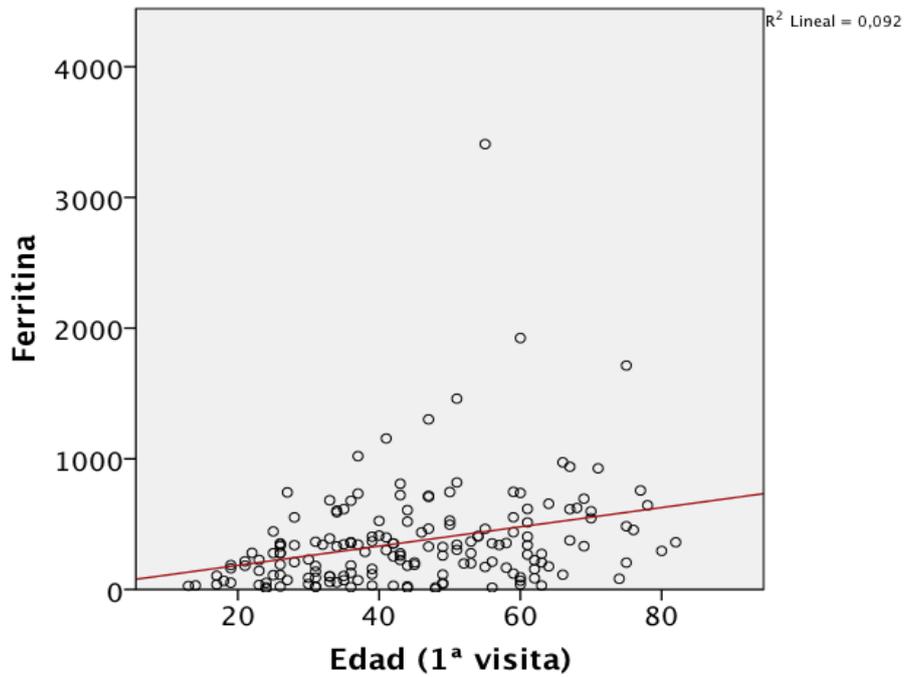
4.2. Edad

Los pacientes con más de 50 años, presentaron niveles de ferritina más elevados que el grupo de menores de 50 años (513 vs 289,08 ng/mL) . Estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,000$). También el índice de saturación de transferrina fue ligeramente superior en el grupo de más edad en comparación con los pacientes jóvenes, pero esta diferencia no alcanzó significación estadística.



VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

Se objetivó una correlación lineal positiva entre la edad y la concentración de ferritina en los homocigotos H63D. Esta correlación es prácticamente nula para el IST.



Se realizó un subanálisis para determinar si las diferencias observadas entre hombres y mujeres se mantenían al categorizar a los pacientes según los grupos de edad.

Como se observa en la siguiente tabla, persistieron las diferencias en los niveles de ferritina e IST entre sexos y por grupos de edad ($p < 0,05$).

		<i>Ferritina</i>	<i>IST</i>
Mujer ≥ 50	Media	212,87	30,81
	N	19	19
	Desv. estandar	189,11	11,17
Mujer < 50	Media	75,78	37,85
	N	29	29
	Desv. estandar	100,79	20,21
Varón ≥ 50	Media	629,31	46,81
	N	54	52
	Desv. estándar	533,96	22,05
Varón < 50	Media	346,79	43,93
	N	90	89
	Desv. estándar	253,58	17,10

4.3. Grupo de procedencia

Los pacientes incluidos fueron estudiados por sospecha de hemocromatosis hereditaria, tanto por presentar antecedentes familiares, como personales de sobrecarga férrica. El análisis por subgrupos mostró diferencias significativas en la concentración de ferritina (normal en los familiares), pero no así en el índice de saturación de la transferrina (por debajo del límite alto de la normalidad en ambos grupos).

	<i>Grupo</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
Ferritina	Sobrecarga férrica	138	463,57	413,30	p<0,000
	Familiar	54	138,22	131,02	
IST	Sobrecarga férrica	135	44,01	20,14	p=0,079
	Familiar	54	38,61	15,73	

4.4. Obesidad y síndrome metabólico

La obesidad se asocia con un incremento progresivo de los niveles de ferritina que generalmente no superan los 1000 ng/mL y suele acompañarse de una saturación de transferrina dentro de los límites normales.

En nuestro estudio, los pacientes con un nivel de ferritina más elevado fueron aquellos con un IMC entre 30-34,9 (Obesidad grado I).

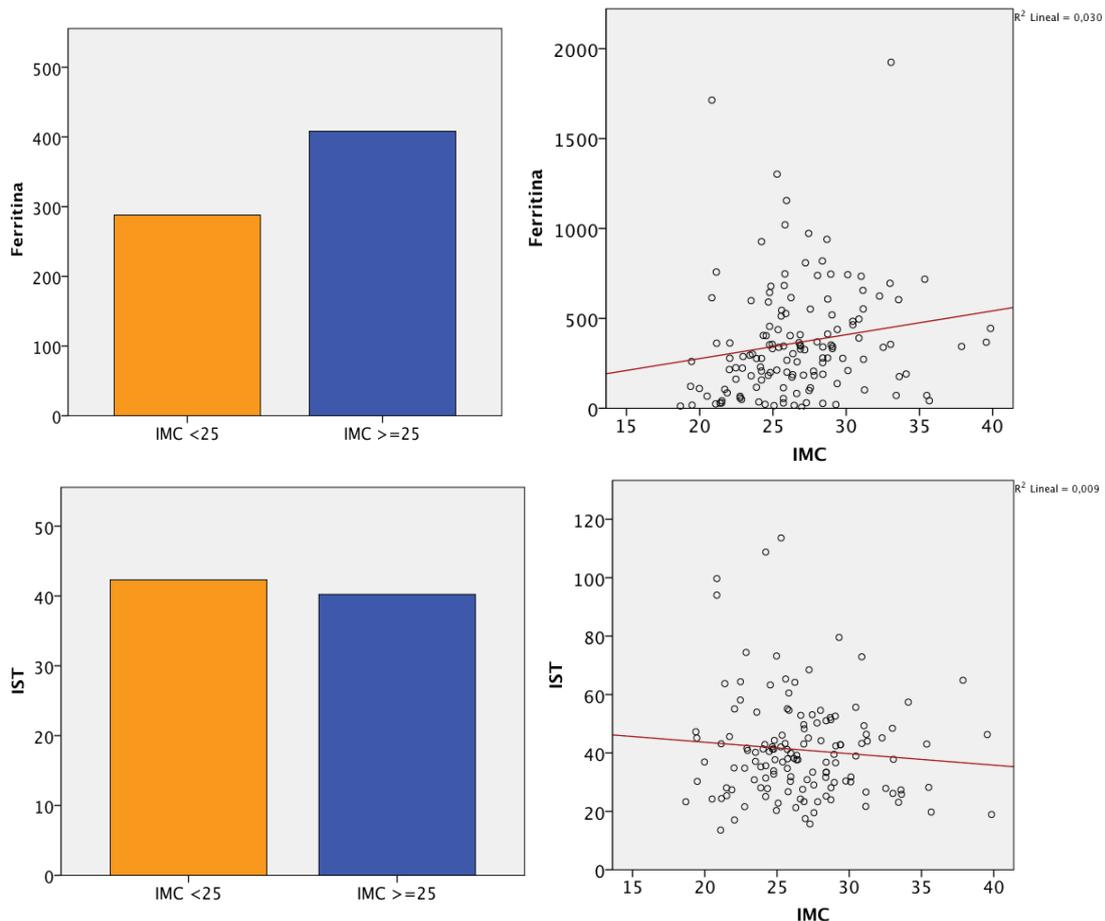
		<i>Ferritina</i>	<i>IST</i>
Peso normal	Media	297,17	42,09
	N	56	56
	Desv. estándar	296,20	18,53
Sobrepeso	Media	406,42	42,36
	N	72	71
	Desv. estándar	314,06	17,51
Obesidad clase I	Media	489,00	39,56
	N	22	22
	Desv. estándar	380,99	13,13
Obesidad clase II	Media	358,87	35,68
	N	7	7
	Desv. estándar	240,61	16,62

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

El valor medio de ferritina resultó significativamente mayor en los pacientes con sobrepeso u obesidad ($IMC \geq 25$) en comparación con aquellos con un IMC normal ($p=0,019$). Por el contrario, el IST del grupo de pacientes no obesos, fue ligeramente superior, aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística ($p>0,05$).

	<i>IMC</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
Ferritina	< 25	56	297,17	296,20	p=0,019
	≥ 25	101	421,11	324,69	
IST	< 25	56	42,09	18,53	p=0,778
	≥ 25	100	41,28	16,54	

En el gráfico de dispersión de puntos se puede observar una tendencia ascendente de los niveles de ferritina al aumentar el IMC, aunque no ocurre lo mismo en el caso de la saturación de transferrina.



El síndrome metabólico, según los criterios establecidos por la Federación Internacional de la Diabetes en 2006, también se asocia con alteraciones bioquímicas hepáticas. Estas son secundarias al exceso de ácidos grasos que dan lugar a esteatosis, resistencia insulínica y exceso de hierro a nivel parenquimatoso.

La ferritina media en los pacientes con síndrome metabólico fue mayor que la de aquellos que no cumplían los criterios, sin embargo, el IST fue más elevado en estos últimos. Estas diferencias observadas no alcanzaron significación estadística.

	<i>Síndrome metabólico</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
Ferritina	No	136	361,11	392,07	p=0,130
	Si	18	510,99	397,95	
IST	No	136	42,85	19,35	p=0,324
	Si	18	38,16	14,28	

4.5. Consumo de alcohol

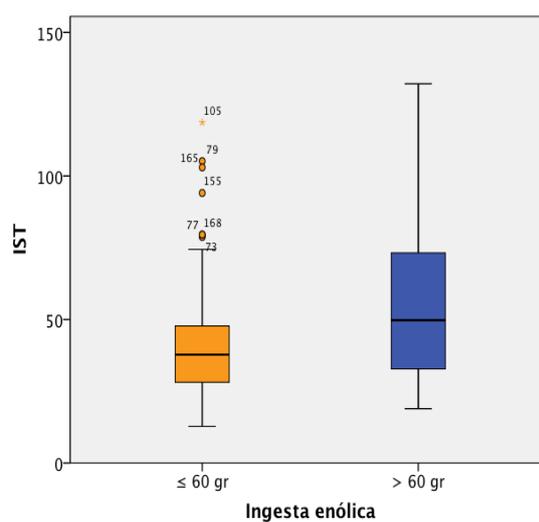
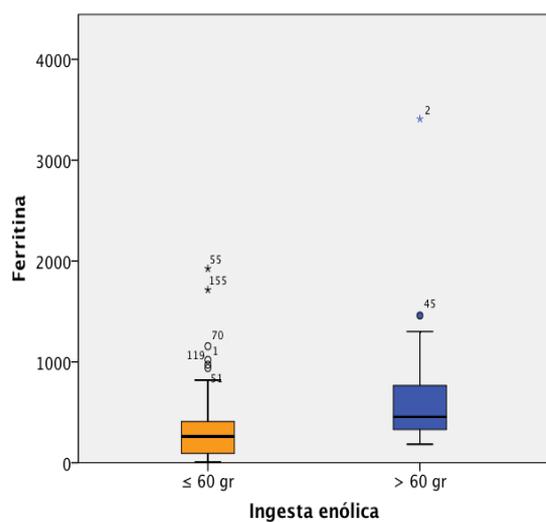
La ingesta excesiva de alcohol, se asocia a un incremento progresivo de los depósitos de hierro. Este hecho conduce a lesiones hepáticas crónicas a largo plazo.

En el grupo de homocigotos H63D, los pacientes que consumían más de 60 gr de alcohol al día mostraron unos niveles significativamente más elevados de ferritina, IST, hierro sérico, transaminasas, GGT y bilirrubina. Las diferencias en los valores de fosfatasa alcalina no alcanzaron significación estadística.

El grupo de pacientes que consumía mayor cantidad de alcohol presentó valores elevados de ferritina, IST, transaminasas y GGT. En los sujetos abstemios, todos estos valores, excepto la ferritina, fueron normales.

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

	<i>Consumo de alcohol</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
Ferritina	≤ 60 gr	171	336,33	307,18	p<0,000
	> 60 gr	21	663,00	720,54	
IST	≤ 60 gr	170	40,74	16,15	p<0,000
	> 60 gr	19	57,96	32,84	
Hierro sérico	≤ 60 gr	170	113,08	38,57	p<0,000
	> 60 gr	20	149,36	49,65	
GGT	≤ 60 gr	171	37,70	38,45	p<0,000
	> 60 gr	21	107,19	99,16	
GOT	≤ 60 gr	171	24,52	14,28	p<0,000
	> 60 gr	21	41,62	34,58	
GPT	≤ 60 gr	171	34,87	29,04	p=0,001
	> 60 gr	21	62,62	62,80	
FA	≤ 60 gr	171	88,30	73,84	p=0,08
	> 60 gr	21	119,57	99,49	
Bilirrubina	≤ 60 gr	171	0,79	0,45	p=0,813
	> 60 gr	21	0,97	0,47	



4.6. Esteatosis hepática

La esteatosis hepática, al igual que la obesidad de predominio central y el síndrome metabólico, puede asociarse con un aumento de los niveles de ferritina y también de las transaminasas.

En los pacientes estudiados, el nivel de GOT, FA, bilirrubina y hierro resultaron normales en todos los grupos. La ferritina fue más elevada en los pacientes con esteatosis grado I y II, pero de forma llamativa, aquellos con esteatosis grado III presentaban niveles de ferritina menores que los pacientes sin esteatosis. Hay que tener en cuenta que el número de casos fue significativamente menor que el resto (N=7)

<i>ESTEATOSIS</i>		<i>GGT</i>	<i>GOT</i>	<i>GPT</i>	<i>FA</i>	<i>Bilirrubina</i>	<i>IST</i>	<i>Ferritina</i>	<i>Hierro</i>
	Media	60,6	33,2	55,9	90,8	0,80	46,9	456,7	128,2
Grado I	N	46	46	46	46	46	44	46	45
	Desv. Est	72,6	27,1	54,5	59,7	0,43	20,6	309,5	45,3
	Media	56,1	28,6	45,7	74,5	0,92	42,3	472,8	116,4
Grado II	N	25	25	25	25	25	25	25	25
	Desv. Est	58,7	16,8	30,3	31,7	0,65	16,1	429,0	38,3
	Media	46,8	28,7	58,7	75,5	0,90	31,6	298,0	100,4
Grado III	N	7	7	7	7	7	7	7	7
	Desv. Est	25,8	8,6	28,5	26,1	0,59	8,7	154,6	23,1
	Media	36,8	22,6	27,4	94,2	0,77	41,6	321,0	113,9
No	N	111	111	111	111	111	110	111	110
	Desv. Est	41,7	12,8	19,8	84,1	0,40	19,4	410,0	40,4

También se analizó la existencia de diferencias estadísticas en los parámetros anteriormente descritos entre el grupo de pacientes con y sin esteatosis independientemente del grado de la misma.

	<i>ESTEATOSIS</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación est.</i>	<i>Significación</i>
Ferritina	No	111	321,02	410,06	p=0,027
	Si	78	447,69	342,83	
IST	No	110	41,66	19,45	p=0,413
	Si	76	44,01	18,79	
Hierro	No	110	113,94	40,49	p=0,197
	Si	77	121,86	42,11	
GGT	No	111	36,87	41,72	p=0,007
	Si	78	57,97	65,01	
GOT	No	111	22,64	12,80	p=0,001
	Si	78	31,36	23,01	
GPT	No	111	27,47	19,87	p<0,000
	Si	78	52,95	45,97	
FA	No	111	94,21	84,10	p=0,350
	Si	78	84,23	50,16	
Bilirrubina	No	111	0,77	0,409	p=0,249
	Si	78	0,85	0,52	

Como se observa en la tabla, los valores de GGT, GOT, GPT y Ferritina fueron significativamente mayores en los pacientes con esteatosis, si bien en el caso de la GOT en ambos grupos se encontraban dentro de los límites normales.

4.7. Inflamación

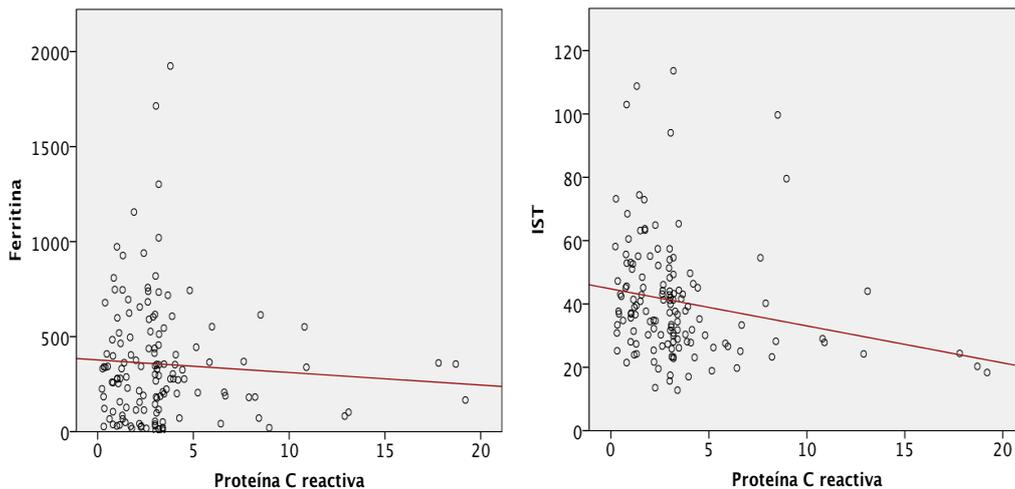
Los reactantes de fase aguda son productos de síntesis mayoritariamente hepática, cuya concentración varía por efecto de las citoquinas generadas en los procesos inflamatorios de cierta entidad. Entre estas proteínas se incluye la ferritina, por lo que se analizó si existían variaciones significativas en sus niveles en función de la elevación de la proteína C reactiva.

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

Como vimos en la tabla de valores analíticos medios del grupo de homocigotos del H63D, la PCR, de forma global, se encontraba dentro de los límites normales. Al comparar la media de ferritina e IST entre dos grupos establecidos con PCR mayor o menor de 12 mg/dL, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$)

	<i>Proteína C reactiva</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
Ferritina	Normal	152	362,81	324,07	p= 0,678
	> 12 mg/L	39	391,50	564,63	
IST	Normal	151	41,92	18,21	p= 0,532
	> 12 mg/L	37	44,12	22,53	

En los gráficos de dispersión, el ajuste de la recta a la línea de puntos muestra una correlación lineal débil negativa entre los niveles de PCR y ferritina e IST.



4.8. Otras hepatopatías crónicas

Las enfermedades hepáticas crónicas, y más frecuentemente la infección por virus C, pueden asociarse a un incremento de las reservas de hierro. Este aumento se debe, por una parte, a su liberación desde los hepatocitos lesionados y, por otra, a un efecto directo del virus sobre el metabolismo del hierro.

Los pacientes diagnosticados de hepatopatía crónica de origen enólico presentaron los niveles de ferritina más elevados.

El paciente con esteatohepatitis no alcohólica mostró una concentración de ferritina superior a la de los sujetos con hepatitis crónica C, si bien, el IST resultó normal en el primer caso. Los pacientes con hepatopatía por virus C y porfiria hepato-cutánea de forma simultánea, mostraron niveles significativamente más elevados de ferritina e IST en comparación con los pacientes con hepatitis C de forma aislada.

<i>Otras hepatopatías</i>		<i>Ferritina</i>	<i>IST</i>
No	Media	328,89	40,71
	N	172	170
Déficit alfa1antitripsina	Media	355,40	26,14
	N	1	1
EHNA	Media	1140,10	29,05
	N	2	2
Hepatopatía alcohólica	Media	1170,80	82,05
	N	5	5
VHC	Media	411,48	46,79
	N	6	5
Porfiria	Media	255,19	41,80
	N	3	3
VHC+Porfiria	Media	1047,76	84,34
	N	3	3

ANOVA test: $p < 0,000$ tanto para ferritina como IST

5.- SOBRECARGA FÉRRICA BIOQUÍMICA Y PARENQUIMATOSA

5.1-Sobrecarga bioquímica de hierro

En función de lo establecido en las guías de práctica clínica europea y americana, se consideró que existía sobrecarga férrica valorada mediante parámetros bioquímicos en aquellos casos en los que se alcanzaron los siguientes valores:

Ferritina > 300 (ng/mL) hombres + IST > 45 %
> 200 (ng/mL) mujeres + IST > 45%

Según estos criterios, se calculó el número de pacientes que presentaba niveles aumentados de Ferritina e IST. Como vemos a continuación, solo un 21,9% de los sujetos incluidos en el estudio cumplieron ambos requisitos.

		<i>N</i>	<i>Porcentaje</i>
Sobrecarga bioquímica	No	150	78,1%
	Sí	42	21,9%

Los valores medios de transaminasas, FA, GGT, plaquetas y actividad de protrombina, no fueron significativamente distintos entre ambos grupos. El nivel de bilirrubina sí, pero en ambos casos se encontraban dentro de límites normales por lo que este hecho no supone una diferencia clínica relevante.

	<i>Sobrecarga bioquímica</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación estadística</i>
Ferritina	No	150	292,36	289,77	p<0,000
	Si	42	656,71	530,85	
IST	No	147	36,21	12,77	p<0,000
	Si	42	64,39	21,45	
GGT	No	150	42,31	48,23	p=0,141
	Si	42	55,97	67,28	

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

GOT	No	150	25,21	15,55	p=0,092
	Si	42	30,60	25,67	
GPT	No	150	37,69	36,41	p=0,875
	Si	42	38,67	30,90	
FA	No	150	88,70	74,96	p=0,308
	Si	42	102,50	85,51	
Bilirrubina	No	150	0,750	0,42	p=0,001
	Si	42	1,026	0,529	
Hierro	No	148	104,20	33,05	p<0,000
	Si	42	161,62	36,08	
Plaquetas	No	149	231691,2	58180,0	p=0,146
	Si	41	216000,0	70201,8	
Actividad Protrombina	No	147	95,26	10,68	p=0,717
	Si	41	95,92	8,92	

Solo 9 de los 42 pacientes (21,4%) con valores de ferritina e IST aumentados significativamente, presentaban además otras enfermedades hepáticas.

	No	Sí
No	139	33
Déficit alfa1antitripsina	1	0
EHNA	2	0
Hepatopatía alcohólica	0	5
VHC	4	2
Porfiria	3	0
VHC+Porfiria	1	2

Se objetivaron diferencias estadísticas significativas entre la proporción de pacientes con sobrecarga bioquímica de hierro en función del grupo de procedencia:

	<i>Sobrecarga bioquímica</i>		<i>p = 0,32</i>
	No	Si	
Sobrecarga férrica	102 (53,13%)	36 (18,75%)	
Familiar	48 (25%)	6 (3,13%)	

5.2. Exceso parenquimatoso de hierro

Posteriormente se analizó la correlación existente entre los niveles séricos de ferritina e IST con el exceso parenquimatoso de hierro en base a los resultados obtenidos en las biopsias hepáticas y/o la cuantificación de hierro mediante resonancia magnética.

La cuantificación del hierro se realizó mediante la escala de Scheuer. Esta escala establece 5 niveles siendo 0 = ausencia de hemosiderina y 4 el grado máximo, compatible con hemocromatosis.

En los casos en los que se realizó resonancia magnética, se estableció clínicamente relevante una concentración de hierro mayor de 60 micromol/g (valor normal <36 micromol/g).

Se llevaron a cabo 78 resonancias y 28 biopsias hepáticas.

Solo un 15,6% del total de los pacientes mostraron signos de sobrecarga férrica en la resonancia (el 38,5% de aquellos a los que se les realizó).

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>	<i>Porcentaje válido</i>
Hierro < 36 mcmol/gr	30	15,6%	38,5%
Hierro ≥ 60 mcmol/gr	30	15,6%	38,5%
Hierro 36-60 mcmol/gr	18	9,4%	23,1%
Sub-total	78	40,6%	100%
Resonancia no realizada	114	59,4%	
Total	192	100%	

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

Diecinueve de los 30 pacientes (63,33%) con datos en la resonancia compatibles con exceso significativo de hierro, presentaban además datos bioquímicos de sobrecarga férrica.

Se objetivaron 11 casos en los que la resonancia mostró signos de sobrecarga férrica, pero en los que no se cumplieron los criterios bioquímicos referidos anteriormente (saturación de transferrina >45%, ferritina > 300 ng/mL en hombres o 200 ng/mL en mujeres). Nueve de los 11 presentaban valores de ferritina elevados (media 752,44 ng/mL), pero sin alcanzar el valor límite establecido para la saturación de la transferrina.

		<i>Hierro hepático RM</i>			<i>Total</i>
		No	Si>60	Si 36-60	
Sobrecarga bioquímica	No	24	11	13	48
	Si	6	19	5	30
Total		30	30	18	78

En cuanto a las biopsias hepáticas, de las 28 realizadas, una fue insuficiente para el análisis histológico. En las restantes, se determinó el grado de hemosiderosis (0-IV) obteniendo los resultados que se detallan a continuación:

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>	<i>Porcentaje válido</i>
0	10	5,2%	37,0%
I /IV	10	5,2%	37,0%
II /IV	6	3,1%	22,2%
IV /IV	1	0,5%	3,7%
Total	27	14,1%	100%
No realizada o insuficiente	165	85,9%	
Total	192	100%	

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

Cinco de los 6 pacientes con siderosis hepática que no reunieron los criterios de sobrecarga bioquímica de hierro, presentaron cifras de ferritina mayores de 500 ng/mL, pero un IST < 45%.

		<i>Grado siderosis</i>				<i>Total</i>
		0	I	II	IV	
Sobrecarga bioquímica	No	7	4	2	0	13
	Si	3	6	4	1	14
Total		10	10	6	1	27

Con los datos anteriormente obtenidos mediante resonancia y biopsia hepática, se calculó el porcentaje de pacientes homocigotos para la mutación H63D que presentaban un exceso parenquimatoso de hierro.

Las biopsias solo evidenciaron un caso de siderosis \geq III/IV de la escala de Scheuer, por lo que la mayoría de los pacientes incluidos en el grupo de sobrecarga parenquimatosa de hierro lo fueron a expensas del resultado de la resonancia.

<i>Siderosis hepática</i>	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
No	162	84,37%
Sí	30	15,62%

Un 92,8% (26/28) de los pacientes con siderosis hepática significativa eran varones y la edad media de este grupo fue 47,93 años. No existieron diferencias significativas en relación a la edad entre el grupo que presentaba sobrecarga de hierro parenquimatosa y el que no.

		<i>Siderosis No</i>	<i>Siderosis Sí</i>	<i>Total</i>
Sexo	Mujer	46	2	48
	Hombre	118	26	144

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

	<i>Siderosis</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
Edad	No	164	44,45	17,054	p=0,30
	Si	28	47,93	11,779	

Tampoco se observaron diferencias significativas respecto al IMC entre ambos grupos:

	<i>Siderosis</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desv. estándar</i>	<i>Significación</i>
IMC	No	133	26,52 (sobrepeso)	4,1055	p=0,121
	Si	26	27,89 (sobrepeso)	3,9876	

	<i>Siderosis histológica</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desv. estándar</i>	<i>Significación</i>
GGT	No	164	43,55	47,73	p=0,271
	Si	28	55,53	77,84	
GOT	No	164	26,27	18,54	p=0,832
	Si	28	27,07	17,18	
GPT	No	164	37,82	35,78	p=0,933
	Si	28	38,43	32,17	
FA	No	164	92,73	79,42	p=0,662
	Si	28	85,79	64,93	
Bilirrubina	No	164	0,80	0,45	p=0,446
	Si	28	0,87	0,52	
Hierro sérico	No	162	113,56	42,38	p=0,007
	Si	28	136,19	27,47	
Ferritina	No	164	321,08	298,57	p<0,000
	Si	28	670,67	637,32	
IST	No	161	40,50	18,09	p=0,001
	Si	28	53,80	21,07	
Plaquetas	No	162	231648,1	60100,2	p=0,070
	Si	28	208964,2	64461,5	
Actividad de Protrombina	No	160	95,26	10,32	p=0,629
	Si	28	96,28	10,34	

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos H63D

Con respecto a los valores analíticos, los pacientes con sobrecarga parenquimatosa, presentaron valores significativamente mayores de hierro sérico, ferritina e IST.

No hubo diferencias con respecto al grupo de procedencia de los pacientes:

	<i>Siderosis No</i>	<i>Siderosis Sí</i>	
Antecedentes personales	115 (83,3%)	23 (16,7%)	p = 0,257
Antecedentes familiares	49 (90,7%)	5 (9,3%)	

Solo 3 de los 28 pacientes (10,71%) con datos histológicos o calculados mediante resonancia de sobrecarga férrica parenquimatosa, presentaban además otras hepatopatías.

	<i>Siderosis No</i>	<i>Siderosis Sí</i>	<i>Total</i>
No	147	25	172
Déficit alfa1antitripsina	1	0	1
EHNA	1	1	2
Hepatopatía alcohólica	3	2	5
VHC	6	0	6
Porfiria	3	0	3
VHC+Porfiria	3	0	3

5.3- Hipertensión portal

Seis pacientes de los 170 estudiados, presentaban signos de hipertensión portal. Todos ellos eran varones.

-4 fueron diagnosticados de cirrosis enólica.

-2 presentaban hepatitis crónica por virus C, y uno de ellos, además, porfiria hepatocutánea.

La edad media de los sujetos con hipertensión portal fue 54,17 años, sin existir diferencias significativas en este sentido con respecto al resto de pacientes.

	<i>Hipertensión portal</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
Edad	No	151	44,45	16,38	p=0,15
	Si	6	54,17	13,68	

5.4-Ferritina ≥ 1000

Varios estudios han demostrado que los pacientes con hemocromatosis hereditaria y niveles de ferritina superiores a 1000 ng/mL presentan mayor riesgo de progresión a cirrosis. En estos casos debe considerarse realizar una biopsia hepática para descartar lesiones histológicas.

En nuestro estudio, todos los casos con ferritina mayor de 1000 ng/mL (8) tenían una biopsia hepática, excepto en 2 pacientes con más de 70 años en el momento del diagnóstico y sin signos clínicos, analíticos ni en pruebas de imagen de hepatopatía crónica.

		<i>Ferritina</i>		<i>Total</i>
		<1000	≥ 1000	
Biopsia hepática	No	162	2	164
	Si	22	6	28

Cinco de estos 8 pacientes (62,6%), presentaban además otros diagnósticos:

2 hepatitis crónica C y porfiria hepato-cutánea

1 cirrosis enólica

1 Esteatohepatitis no alcohólica

GRUPO HOMOCIGOTOS C282Y

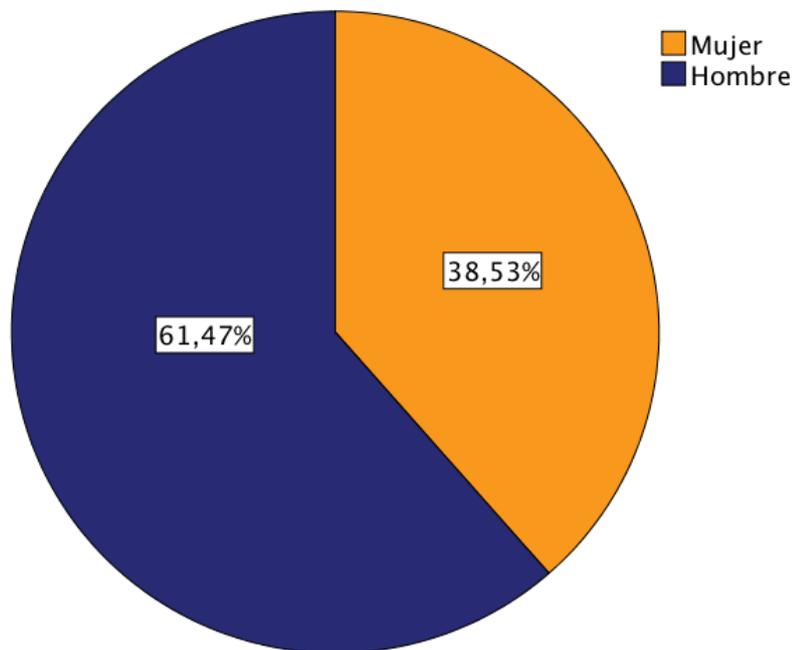
1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y ESTUDIO COMPARATIVO

1.1. Número total de pacientes

En el grupo de Homocigotos C282Y se incluyeron **109** pacientes, sobre los que se presentan las comparaciones con respecto al grupo de estudio H63D.

1.2. Sexo

El 61,47% de los pacientes eran varones. Este porcentaje fue significativamente inferior al objetivado en el grupo H63D (61% vs 75%, $p = 0,014$).



	<i>Hombre</i>	<i>Mujer</i>	<i>Total</i>	<i>Significación</i>
H63D	144 (75%)	48 (25%)	192	p= 0,014
C282Y	67 (61,47%)	42 (38,53%)	109	

1.3. Grupo de procedencia

.El 68,8% (75) de los pacientes fueron remitidos para estudio por presentar niveles elevados de ferritina u otros datos de sobrecarga férrica.

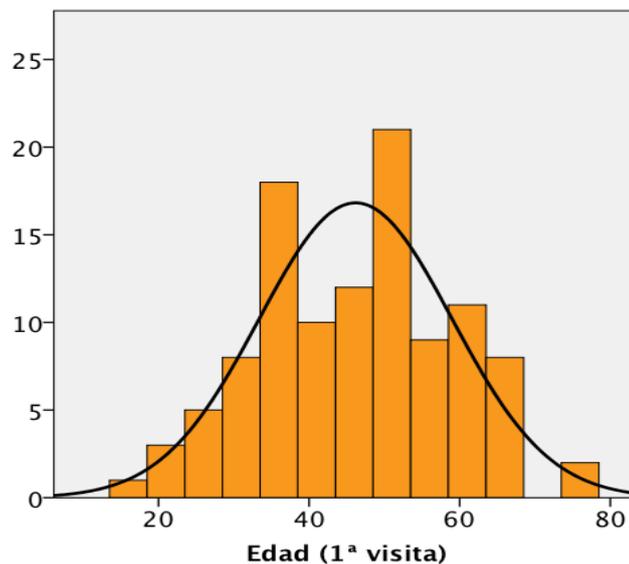
.Treinta y cuatro (31,2%), fueron estudiados por tener antecedentes familiares de hemocromatosis.

No se detectaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a los homocigotos H63D al comparar ambas proporciones.

	<i>Familiar</i>	<i>Sobrecarga férrica</i>	<i>Total</i>	<i>Significación</i>
H63D	54 (28,1%)	138 (71,9%)	192	p= 0,574
C282Y	34 (31,2%)	75 (68,8%)	109	

1.4.-Edad media:

La edad media en la primera visita fue 46, $18 \pm 12,80$ años. Rango: 16-76



No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en comparación con la edad media del grupo H63D.

	<i>Edad</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
H63D	44,95	16,41	p= 0,50
C282Y	46,18	12,80	

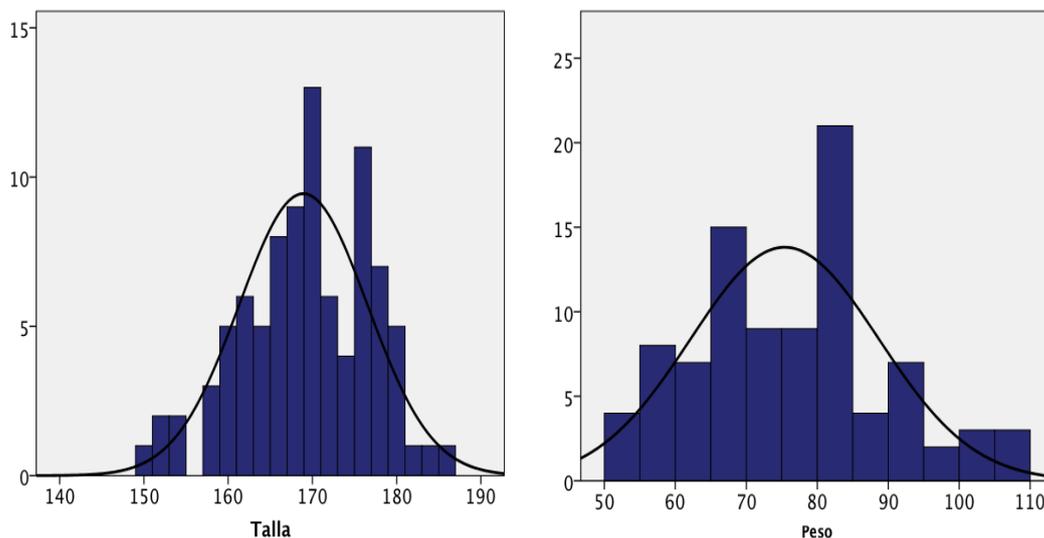
1.5.-Factores de riesgo cardiovascular

1.5.1.-Índice de masa corporal (IMC)

Para el cálculo del IMC se utilizó la fórmula: peso (kg) / (talla)² (m), obteniendo previamente los valores medios de altura y peso de los pacientes estudiados:

-Altura media: 168,92 ± 7,60 cm.

-Peso medio: 75,40 ± 13,28 Kg

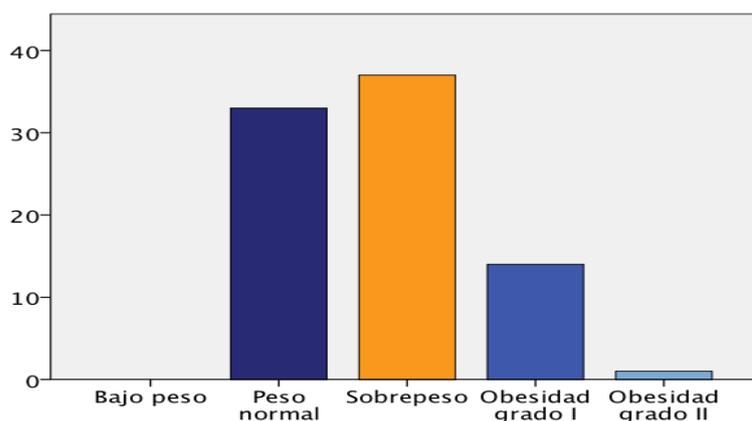


-El **IMC** medio fue 26,19 Kg/m² (sobrepeso). Al igual que en el grupo de homocigotos H63D, ningún paciente presentó obesidad de grado III (IMC >40) ni bajo peso (IMC < 18,5).

	<i>N</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>
IMC (kg/m²)	87	18,69	35,16	26,19	3,71
Talla (m)	90	150	186	168,92	7,60
Peso (Kg)	92	54	109	75,40	13,28

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos C282Y

		<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Peso normal	(IMC =18,5-24,9)	33	30,3
Sobrepeso	(IMC =25-29,9)	37	33,9%
Obesidad clase I	(IMC = 30-34,9)	14	12,8%
Obesidad clase II	(IMC =35-39,9)	1	0,9%



Los pacientes estudiados por antecedentes familiares, presentaron un IMC significativamente inferior, en términos estadísticos, al de los sujetos con datos de sobrecarga férrica. No obstante, ambos grupos presentaban sobrepeso, por lo que esta diferencia no es clínicamente relevante.

	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>	
A. personales	115	27,18	4,22	$p=0,031$
A. familiares	44	25,61	3,57	

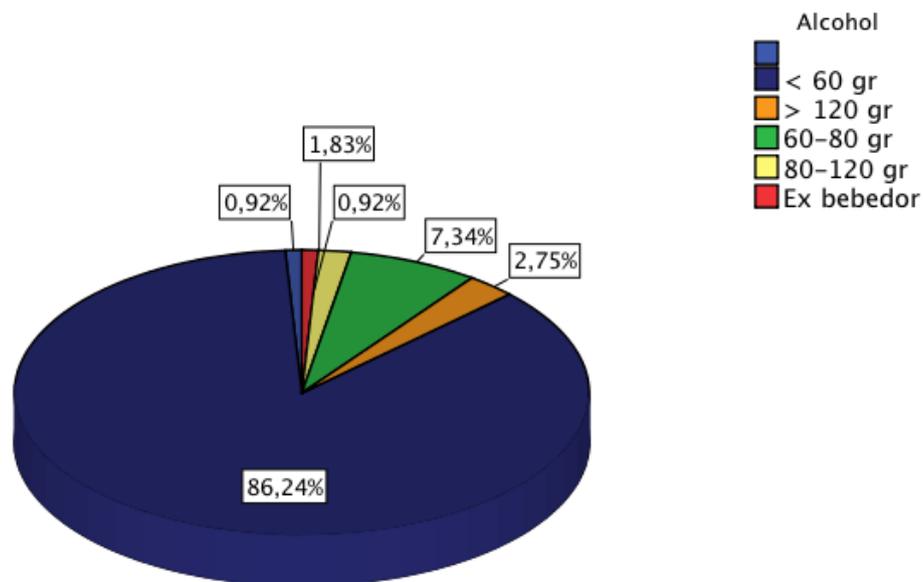
Al comparar los anteriores parámetros con los obtenidos en el grupo de homocigotos H63D, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

	<i>Grupo</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación típ.</i>	<i>Significación</i>
Talla	H63D	162	168,24	20,50	$p= 0,762$
	C282Y	90	168,92	7,60	
Peso	H63D	166	76,93	16,81	$p=0,453$
	C282Y	92	75,40	13,28	
IMC	H63D	159	26,75	4,10	$p= 0,298$
	C282Y	87	26,19	3,71	

1.6. Factores relacionados con hiperferritinemia secundaria

1.6.1. Consumo de alcohol

El 86,2% (94 pacientes) consumían menos de 60 gr de alcohol al día, y solo 3 reconocían una ingesta superior a 120 gr.



Al igual que en el grupo de homocigotos H63D, la mayor parte de los pacientes consumidores de más de 60 gr diarios de alcohol, eran varones (84,61 % vs 15,38%).

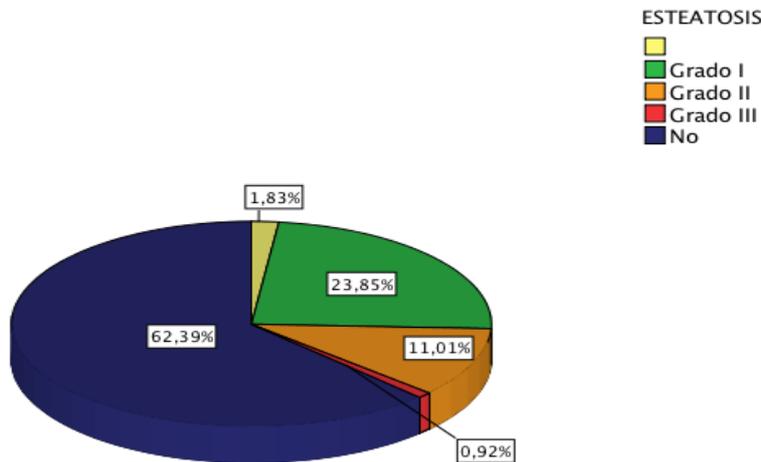
No se objetivaron diferencias significativas al agrupar a los pacientes en función de un consumo mayor o menor de 60 gr/día entre los homocigotos H63D y C282Y.

	< 60 gr/día	> 60 gr/día	Significación
H63D	171 (89,1%)	21 (10,9%)	p= 0,60
C282Y	94 (87%)	14 (13,0%)	

1.6.2. Esteatosis hepática

El 35% de los pacientes presentaba esteatosis en mayor o menor grado según las pruebas de imagen. No se objetivó ningún caso de estatohepatitis no alcohólica

	Nº	Porcentaje
<i>EHNA*</i>	0	0%
<i>Esteatosis grado I</i>	26	23,9%
<i>Esteatosis grado II</i>	12	11,0%
<i>Esteatosis grado III</i>	1	0,9%
<i>Sin esteatosis</i>	68	62,4%



De los 68 pacientes sin esteatosis, 58 (85,29%) consumían menos de 60 gr de alcohol al día. No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas entre el grado de esteatosis y el hábito enólico en las diferentes categorías establecidas ($p=0,994$). Tampoco hubo diferencias con respecto al grupo H63D en cuanto a los porcentajes de esteatosis.

	H63D	C282Y	Significación
Sí	79 (41,6%)	36 (35%)	$p=0,48$
EHNA	1 (0,5%)	--	
Esteatosis grado I	46 (24%)	26 (23,9%)	
Esteatosis grado II	25 (13%)	12 (11,0%)	
Esteatosis grado III	7 (3,6%)	1 (0,9%)	

1.6.3. Hepatopatías crónicas: Virus de la hepatitis B y C, porfiria cutánea tarda y otras

a) Hepatitis crónica B:

Ningún paciente homocigoto C282Y presentaba hepatitis crónica por el virus B. Once (10,1%) eran portadores de anticuerpos frente al antígeno de superficie y 13 (11,9%) frente al antígeno del core:

b) Hepatitis crónica C:

Tres pacientes (2,7%) fueron diagnosticados de infección crónica por el virus C. El genotipo más frecuente fue el 1b (2 casos).

c) Porfiria hepato-cutánea:

Uno de los pacientes diagnosticado de hepatitis crónica C (0,94%), presentaba además porfiria hepato-cutánea.

d) Otras hepatopatías crónicas:

Se diagnosticó un caso de déficit de alfa-1- antitripsina y 2 de hepatopatía de origen enólico. Uno de estos pacientes presentaba datos de HTP.

Con respecto al grupo H63D no se objetivaron diferencias significativas al comparar los porcentajes de otras hepatopatías.

	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>Significación</i>
Hepatitis VHB	0 (0%)	0 (0%)	p>0,99
Hepatitis VHC	9 (4,6%)	3 (2,7%)	p=0,55
Porfiria	6 (3,1%)	1 (0,9%)	p=0,43
Déficit alfa 1 antitripsina	1 (0,5%)	1 (0,9%)	p > 0,99
Hepatopatía alcohólica	5 (2,6%)	2 (1,8%)	p=0,42

Tabla 5.- Variaciones en la ferritina e IST según diferentes factores de confusión asociados a hiperferritinemia:

	<i>Homocigotos H63D</i>				<i>Homocigotos C282Y</i>			
	Ferritina	p	IST	p	Ferritina	p	IST	p
Sexo		<0,001		0,002		<0,001		0,009
Hombres	453 (406)		45,0 (19,1)		1296 (1053)		87,6 (23,1)	
Mujeres	130 (156)		35,1 (17,4)		486 (550)		75,2 (23,7)	
Edad		<0,001		0,87		0,19		0,63
≤ 50 años	289 (257)		42,7 (18,2)		892 (782)		84,0 (23,5)	
> 50 años	513 (510)		42,2 (20,7)		1185 (1234)		81,5 (25,3)	
IMC		0,019		0,74		0,76		0,22
< 25 Kg/m ²	299 (291)		42,3 (18,9)		1070 (1154)		86,2 (23,4)	
≥ 25 Kg/m ²	421 (325)		41,3 (16,5)		1002 (881)		79,6 (24,8)	
Consumo alcohol		0,004		0,024		0,13		0,35
≤ 60 gramos	336 (307)		40,7 (16,2)		964 (1007)		83,7 (24,1)	
> 60 gramos	663 (721)		58,0 (32,8)		1153 (726)		77,0 (24,0)	
Esteatosis		0,026		0,45		0,15		0,76
No	321 (410)		41,7 (19,5)		887 (887)		82,2 (23,8)	
Sí	447 (341)		43,8 (18,8)		1178 (1121)		83,7 (24,8)	
Otras hepatopatías								
No	329 (274)		40,7 (16,1)		970 (988)		82,3 (24,1)	
VHC	624 (546)	0,10	41,7 (18,1)	0,04	1534 (554)	0,049	102,8 (13,5)	0,063
Porfiria	651 (696)	0,48	63,1 (34,1)	0,11	1667 (--)	0,35	101,4 (--)	0,47
Alcohólica	1171 (1272)	0,013	82,1 (37,4)	0,003	509 (--)	0,74	68,9 (--)	0,60
PCR		0,73		0,45		0,008		0,20
< 12 mg/L	364 (323)		41,8 (18,2)		998 (876)		82,7 (24,1)	
> 12 mg/L	388 (572)		44,6 (22,7)		3129 (1920)		100,9 (12,2)	

2.- SIGNOS Y SÍNTOMAS CLÍNICOS

Los síntomas más frecuentes fueron, al igual que en el grupo H63D, las artralgias (44%). Estas se localizaban fundamentalmente en pequeñas articulaciones, hombros y rodillas. La disminución de la libido (21,1%), la astenia (17,4%) y el prurito (16,5%) fueron los siguientes síntomas más frecuentes.

Se detectaron 10 casos de hiperpigmentación cutánea. Se trataba de varones con una edad media de 55,3 años, todos ellos estudiados por antecedentes personales de sobrecarga férrica. Siete presentaban ferritina mayor de 1000 ng/mL y todos, IST > 50%.

La hepatomegalia fue el signo objetivado más frecuentemente en la exploración física (26,6%): en 22 casos medía 2-3 cm, en seis, 4-5 cm y en un paciente 8 cm. También aquí, la mayoría (76%) procedían del grupo estudiado por antecedentes personales.

Ningún paciente presentaba ascitis, ampollas, cicatrices o heridas por microtraumatismos.

El patrón clínico fue similar en los dos grupos (C282Y y H63D), excepto por una menor prevalencia de hepatomegalia, hiperpigmentación cutánea, disminución de la libido y dolor abdominal en estos últimos.

	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
Ascitis	--	--	>0,99
Edemas	1 (0,5%)	2 (1,9%)	0,30
Diatesis hemorrágica	43 (22,6%)	5 (4,6%)	<0,001
Ictericia	1 (0,5%)	2 (1,8%)	0,30
Coluria	5 (2,6%)	2 (1,8%)	>0,99
Prurito	31 (16,4%)	18 (20%)	0,46
Hepatomegalia	15 (7,9%)	29 (27,1%)	<0,001
Eritrosis palmar	8 (4,2%)	6 (5,6%)	0,60
Hiperpigmentación	2 (1,1%)	10 (9,2%)	0,001

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos C282Y

Heridas	1 (0,6%)	--	>0,99
microtrumatismos			
Astenia	52 (27,5%)	19 (17,6%)	0,054
Artralgias	68 (35,8%)	48 (44,4%)	0,14
Impotencia (varones)	24 (16,9%)	15 (22,7%)	0,32
Disminución de la libido	31 (19,1%)	23 (32,4%)	0,027
Hipertricosis	2 (1,1%)	3 (2,8%)	0,36
Ampollas	1 (0,5%)	--	>0,99
Cicatrices	1 (0,5%)	--	>0,99
Dolor abdominal	15 (7,9%)	17 (15,7%)	0,037

3.- RESULTADOS ANALÍTICOS

La ferritina media fue 980,85 ng/mL (el 33,3% de los pacientes presentaban ferritina > 1000ng/mL) y el índice de saturación calculado mediante la fórmula: $IST = (\text{hierro sérico} \times 100) / (\text{transferrina} \times 1.27)$ 82,68%. El hierro sérico estimado fue de 179,67 $\mu\text{g/ml}$ y la hemoglobina media 15,08 g/dL.

Los valores de coagulación, plaquetas y albúmina fueron normales.

La bilirrubina, GOT, GGT y fosfatasa alcalina se encontraban de forma global dentro de los límites normales. Se objetivó no obstante un leve aumento de la GPT.

Con respecto a los homocigotos H63D, se detectaron diferencias estadísticamente significativas en el número de hematíes, volumen corpuscular medio, albúmina, Inmunoglobulina A y hormona folículo estimulante. No obstante, estos valores se encontraban dentro de los límites normales, por lo que los resultado no son clínicamente relevantes.

Sí cabe destacar las diferencias entre los valores de ferritina (372,06 ng/mL vs 980,85 ng/mL) y saturación de la transferrina (42, 47% vs 82,68%) que traducen una mayor sobrecarga férrica estadísticamente significativa en los pacientes C282Y. Los valores de GOT, GPT, FA, Hierro sérico y transferrina también fueron significativamente superiores en este grupo.

	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
Hematies, 10⁶/μL	4,821 (4,638)	4,646 (4,106)	0,001
Hematocrito, %	43,81 (3,54)	47,05 (35,35)	0,21
Hemoglobina, g/dL	15,2 (1,3)	15,1 (1,4)	0,56
VCM, fL	91,2 (5,4)	94,1 (4,0)	<0,001
Leucocitos, n/μL	6681 (1732)	6961 (1668)	0,18
PMN, n/μL	4045 (4229)	4057 (1455)	0,98
Linfocitos, n/μL	2226 (1395)	2292 (600)	0,64
Monocitos, n/μL	522 (160)	545 (170)	0,23
Plaquetas, n/μL	228305 (61119)	216524 (56824)	0,11
Fe serico, $\mu\text{g/dL}$	117 (41)	180 (49)	<0,001
Transferrina, mg/dL	224,7 (38,9)	174,6 (33,4)	<0,001
IST, %	42,5 (19,1)	82,7 (24,0)	<0,001
Ferritina, ng/mL	372,1 (385,8)	980,9 (973,1)	<0,001

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos C282Y

	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
Activ. Protrombina, %	95 (10)	94 (13)	0,45
Fibrinógeno, mg/dL	302,3 (78,7)	310,3 (116,8)	0,49
Bilirrubina, mg/dL	0,8 (0,5)	0,7 (0,4)	0,071
GOT, U/L	26 (18)	32 (26)	0,02
GPT, U/L	38 (35)	49 (57)	0,07
GGT, U/L	45,3 (53,1)	45,9 (115,7)	0,95
Fosfatasa Alcalina, U/L	92 (77)	127 (81)	<0,001
Albumina, g/dL	4,42 (0,34)	4,32 (0,44)	0,061

	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
TSH, UI/ml	1,84 (0,67)	1,63 (0,83)	0,48
T4 libre, UI/ml	1,08 (0,21)	1,15 (0,18)	0,61
T3 libre, UI/ml	3,21 (0,49)	--	
FSH, UI/ml	11,7 (18,5)	19,2 (28,0)	0,048
LH, UI/ml	6,55 (8,11)	8,95 (9,61)	0,079
17-beta-Estradiol, pg/mL*	hombre: 25,95 (11,1) mujer: 80,74 (120,0)	36,93 (55,5) 97,77 (144,8)	0,16
Testosterona, ng/dL**	hombre: 519,3 (201,6) mujer: 37,9 (14,2)	483,1 (221,7) 37,29 (20,43)	0,22

	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
Creatinina, mg/dL	0,9 (0,2)	0,9 (0,2)	0,50
Urea, mg/dL	35 (9)	34 (10)	0,35
Colesterol, mg/dL	192 (28)	187 (41)	0,35
HDL colesterol, mg/dL	48,4 (17,5)	11,5 (23,9)	<0,001
LDL colesterol, mg/dL	116 (39)	113 (32)	0,68
Triglicéridos, mg/dL	117 (90)	109 (62)	0,40
Proteínas totales, g/dL	7,2 (0,4)	7,1 (0,5)	0,73
Alfa 1	0,25 (0,40)	0,19 (0,06)	0,04
Alfa 2	1,05 (1,63)	0,80 (0,14)	0,04

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos C282Y

Beta	1,08 (1,67)	0,80 (0,18)	0,027
Gamma	1,34 (1,99)	1,12 (0,33)	0,27
Inmunoglobulina G, mg/dL	1093 (236)	1102 (309)	0,79
Inmunoglobulina A, mg/dL	242 (120)	209 (106)	0,020
Inmunoglobulina M, mg/dL	113 (58)	121 (93)	0,35
Alfa-1-antitripsina, mg/dL	126 (54)	113 (39)	0,40
Alfa fetoproteína, UI/mL	2,88 (2,22)	2,66 (4,78)	0,62
Porfirinas totales, µg/24 h	109 (186)	115 (73)	0,77
Uroporfirinas, µg/24 h	37,2 (130,8)	37,1 (38,8)	0,99
Coproporfirinas, µg/24 h	72,8 (60,9)	77,2 (43,4)	0,54
Ceruloplasmina, mg/dL	25,1 (5,0)	25,0 (5,7)	0,95
Cobre sérico, µg/dl	79,2 (18,0)	81,1 (22,8)	0,47
Proteína C reactiva, mg/L	3,5 (3,5)	5,3 (12,8)	0,20
Glucosa, mg/dL	98 (19)	100 (30)	0,40
Hemoglobina glicosilada, %	5,4 (0,6)	5,3 (0,9)	0,34

4.- SOBRECARGA FÉRRICA BIOQUÍMICA Y PARENQUIMATOSA

4.1-Sobrecarga bioquímica de hierro

Se analizó el número de pacientes homocigotos C282Y con niveles aumentados de Ferritina e IST siguiendo los criterios establecidos en las actuales guías de consenso. Concretamente se establecieron, al igual que en los pacientes H63D, los siguientes puntos de corte:

Ferritina > 300 (ng/mL) hombres + IST \geq 45 %
> 200 (ng/mL) mujeres + IST \geq 45%

El 80% de los pacientes de este grupo (87) presentaban datos de sobrecarga férrica, frente al 22% de los homocigotos H63D. Esta diferencia resultó estadísticamente significativa ($p < 0,000$). Por tanto, los pacientes homocigotos C282Y presentaron un exceso de hierro medido mediante parámetros analíticos significativamente superior al del grupo de homocigotos H63D.

De los 19 pacientes sin datos analíticos de exceso de hierro, 10 eran mujeres con una edad media de 44,3 años. Los 9 restantes eran varones con una edad media de 45,25 años, un IST de 61,93% y ferritina de 99,83 ng/mL (intervalo 12,5-194).

		<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Sobrecarga bioquímica	No	19	17,4%
	Sí	87	79,8%

	<i>Sin sobrecarga bq</i>	<i>Con sobrecarga bq</i>	<i>Significación</i>
H63D	150 (78,1%)	42 (21,9%)	p= 0,000
C282Y	19 (17,4%)	87 (79,8%)	

Ferritina mayor de 1000

Hasta un 33% de los pacientes C282Y presentaban niveles de ferritina superiores a 1000 ng/mL. Este porcentaje resultó significativamente mayor que el del grupo H63D.

	< 1000 ng/mL	≥ 1000 ng/mL	Significación
H63D	183 (95,3%)	9 (4,7%)	p= 0,000
C282Y	72 (66,1%)	36 (33,0%)	

4.2. Sobrecarga férrica parenquimatosa

Se analizaron los resultados de las biopsias hepáticas y las resonancias magnéticas con cuantificación de hierro realizadas, con el fin de determinar el porcentaje de sobrecarga parenquimatosa en el grupo C282Y.

Como en el caso de los H63D, la cuantificación del hierro en las biopsias se realizó mediante la escala de Scheuer (I-IV) y se estableció clínicamente relevante una concentración de hierro superior a 60 micromol/g en la resonancia magnética.

Se llevaron a cabo 45 resonancias (41,3% de los pacientes) y 64 biopsias hepáticas (58,7%).

El 30,3% de los pacientes (33) mostraron un exceso de hierro clínicamente significativo en la resonancia (el 73,3% de aquellos en los que se realizó).

	Frecuencia	Porcentaje global	Porcentaje RM
Hierro < 36 mcmol/gr	10	9,2%	22,2%
Hierro ≥ 60 mcmol/gr	33	30,3%	73,3%
Hierro 36-60 mcmol/gr	2	1,8%	4,4%
Sub-total	45	41,3%	100%
Resonancia no realizada	64	58,7%	
Total	109	100%	

VIII. Resultados. Grupo Homocigotos C282Y

En comparación con el grupo H63D, estas diferencias entre los porcentajes resultaron estadísticamente significativas (30,3% vs 15,6%, $p < 0,000$).

	<i>< 60 mcmol/gr</i>	<i>≥ 60 mcmol/gr</i>	<i>Significación</i>
H63D	48 (95,3%)	30 (4,7%)	p= 0,000
C282Y	12 (66,1%)	33 (33,0%)	

En cuanto a las biopsias hepáticas, se realizaron 64, pero en una el material remitido no fue suficiente para el diagnóstico. Los resultados según el grado de hemosiderosis fueron los siguientes:

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
0	1	0,9%
I /IV	5	4,6%
II /IV	29	26,6%
III/IV	27	24,8%
IV /IV	1	0,9%
Total	63	57,8%
Biopsia no realizada o insuficiente	46	42,2%
Total	109	100%

El porcentaje de siderosis parenquimatosa, medida mediante biopsia hepática, con respecto al grupo H63D, fue estadísticamente superior en los pacientes homocigotos C282Y.

	<i>Siderosis 0-II</i>	<i>Siderosis III-IV</i>	<i>Significación</i>
H63D	26 (13,54%)	1 (0,52%)	p= 0,000
C282Y	35 (32,11%)	28 (25,69%)	

4.3- Hipertensión portal

Solo 2 pacientes al inicio del seguimiento presentaban datos de HTP. No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a grupo H63D, si bien el limitado número de casos en ambos grupos podría condicionar la representatividad de los resultados.

	<i>Sin datos de HTP</i>	<i>Datos de HTP</i>	<i>Significación</i>
H63D	186 (96,87%)	6 (3,12%)	p= 0,000
C282Y	107 (98,16%)	2 (1,83%)	

GRUPO SIN MUTACIONES GENÉTICAS

1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y ESTUDIO COMPARATIVO

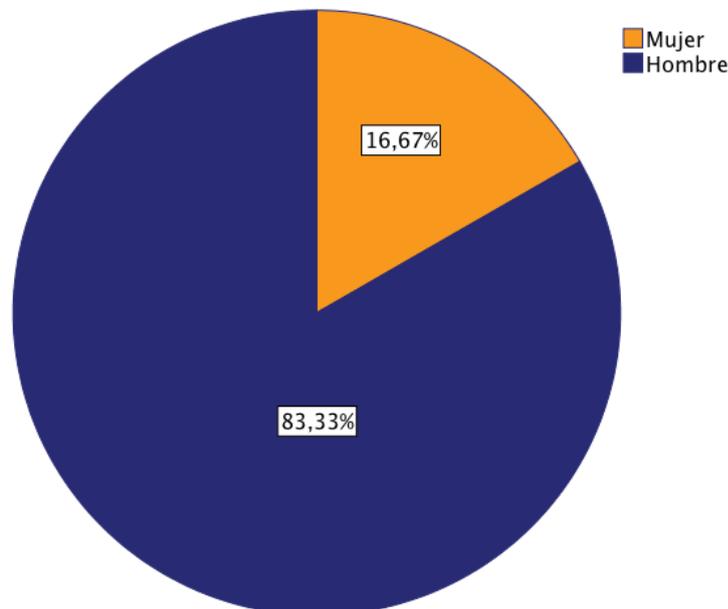
1.1. Número total de pacientes

En este último grupo se incluyeron **144** pacientes remitidos a la consulta por presentar antecedentes familiares de hemocromatosis o sobrecarga férrica, y en los que el estudio genético fue negativo para las mutaciones H63D y C282Y.

1.2. Sexo

El 83,3% de los pacientes eran varones y el 16,7% mujeres.

El porcentaje de varones fue superior al del grupo H63D (83,3% vs 75%), pero esta diferencia no resultó estadísticamente significativa ($p = 0,080$, Chi cuadrado de Pearson)



VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

	<i>Hombre</i>	<i>Mujer</i>	<i>Total</i>	<i>Significación</i>
H63D	144 (75%)	48 (25%)	192	p= 0,080
Sin mutaciones	120 (83,3%)	24 (16,7%)	144	

1.3. Grupo de procedencia

.Ciento treinta y ocho pacientes (95,8%) fueron estudiados por presentar niveles elevados de ferritina u otros datos de sobrecarga férrica.

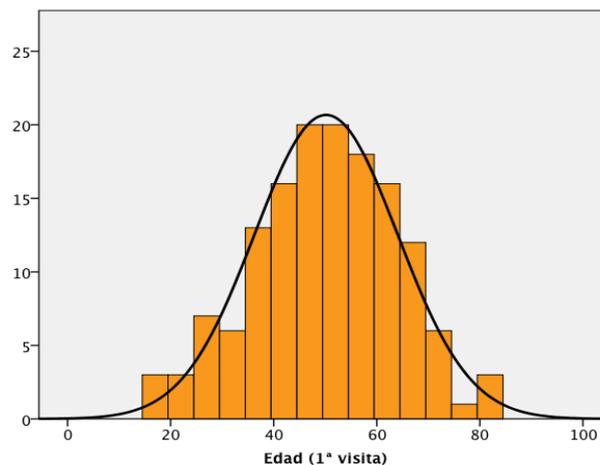
.Únicamente 6 (4,2%), contaban con antecedentes familiares de hemocromatosis.

Estos resultados fueron significativamente distintos a los obtenidos en el grupo de homocigotos H63D, en el que el 28,13% de los pacientes incluidos presentaba algún familiar con diagnóstico de hemocromatosis.

	<i>Familiar</i>	<i>Sobrecarga férrica</i>	<i>Total</i>	<i>Significación</i>
H63D	54 (28,1%)	138 (71,9%)	192	p= 0,000
Sin mutaciones	6 (4,1%)	138 (95,8%)	144	

1.4.-Edad media

La edad media de los pacientes en su primera visita fue $50,15 \pm 13,89$ años (rango: 17-83).



VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas entre las edades del grupo de hombres y mujeres (49,88 vs 51,50). Sin embargo, sí fue significativamente superior en comparación con el grupo de homocigotos H63D.

	<i>Edad</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Significación</i>
H63D	44,95	16,41	p= 0,002
Sin mutaciones	50,15	13,89	

1.5.-Factores de riesgo cardiovascular

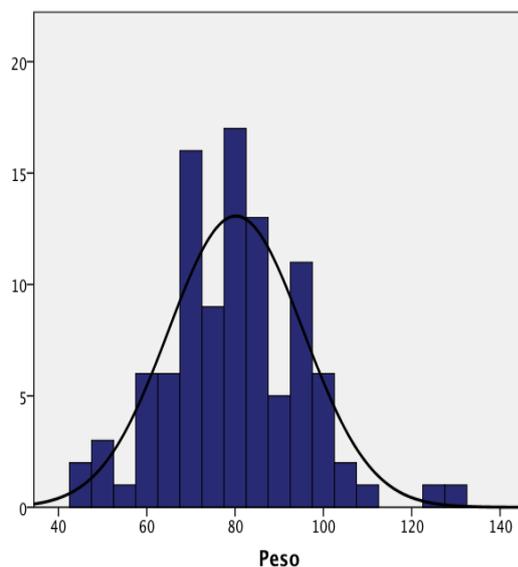
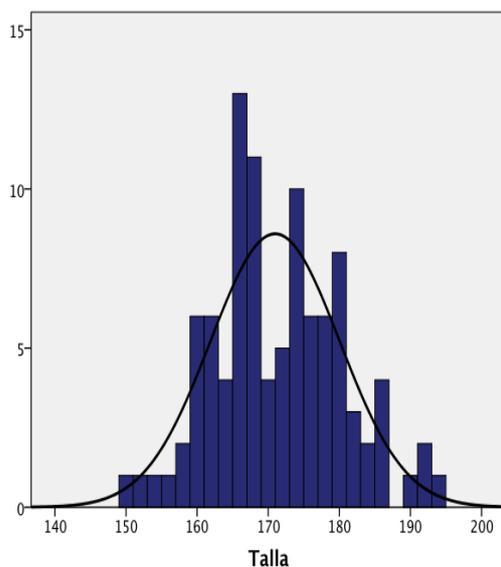
1.5.1.-Índice de masa corporal (IMC)

El índice de masa corporal medio del grupo resultó superior a 24,9 Kg/m², encontrándose la mayoría de los pacientes en situación de sobrepeso.

-Altura media: 170,96 ± 9,10 cm

-Peso medio 80,17 ± 15,25 Kg

-IMC medio 27,20 Kg/m² (sobrepeso)

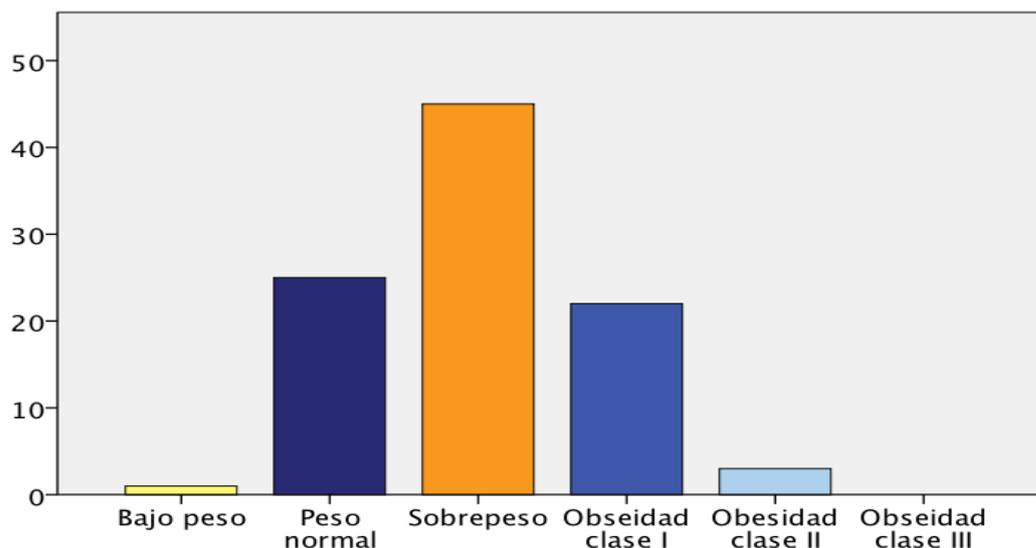


VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

	<i>N</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación estándar</i>
IMC (kg/m²)	97	18,41	38,46	27,20	3,96
Talla (m)	98	150	194	170,96	9,10
Peso (Kg)	100	45	130	80,17	15,25

Uno de los pacientes incluidos presentaba bajo peso. Se trataba de una varón de 22 años con una altura de 1,85 m y 63 Kg de peso. Ninguno de los sujetos incluidos alcanzó cifras superiores o iguales a 40 Kg/m² (obesidad mórbida).

		<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Bajo peso	(IMC < 18,5)	1	0,7%
Peso normal	(IMC =18,5-24,9)	25	17,4%
Sobrepeso	(IMC =25-29,9)	45	31,3%
Obesidad clase I	(IMC = 30-34,9)	22	15,3%
Obesidad clase II	(IMC =35-39,9)	3	2,1%



VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

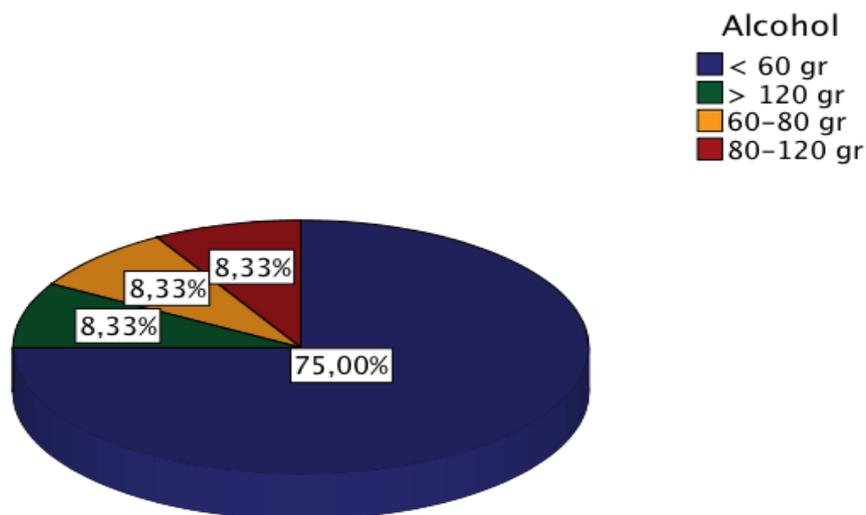
Al comparar los valores de talla, peso e IMC con los obtenidos en el grupo de homocigotos H63D, no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas.

	<i>Grupo</i>	<i>N</i>	<i>Media</i>	<i>Desviación ttp.</i>	<i>Significación</i>
Talla	H63D	162	168,24	20,50	p= 0,216
	Sin mutaciones	98	170,96	9,10	
Peso	H63D	166	76,93	16,81	p=0,117
	Sin mutaciones	100	80,17	15,25	
IMC	H63D	159	26,75	4,10	p= 0,387
	Sin mutaciones	97	27,20	3,96	

1.6. Antecedentes personales relacionados con factores de riesgo

1.6.1.- Consumo de alcohol

La mayor parte del grupo (75%) consumía menos de 60 gr de alcohol al día.



Al analizar las características de los pacientes que presentaban un consumo perjudicial de alcohol, se observó que al igual que en los grupos anteriormente estudiados, existía un predominio del sexo masculino (22,9 vs 2,08%).

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

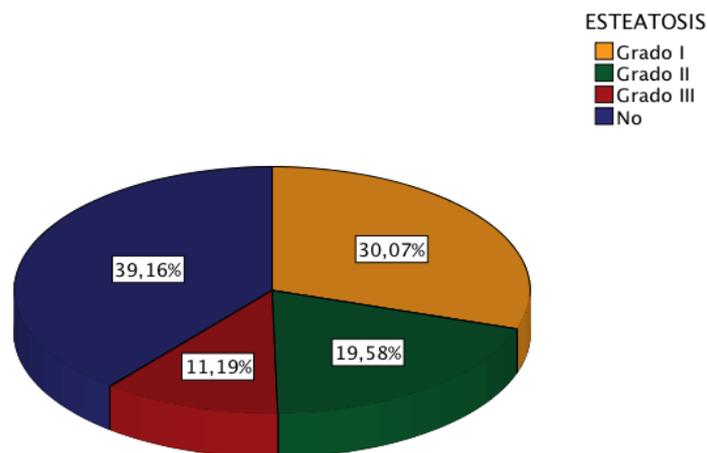
Por último, el consumo perjudicial de alcohol fue significativamente mayor en los pacientes con sobrecarga férrica sin mutaciones que en los homocigotos H63D.

	< 60 gr/día	> 60 gr/día	Significación
H63D	171 (89,1%)	108 (75%)	p= 0,001
Sin mutaciones	21 (10,9%)	36 (25%)	

1.6.2. Esteatosis hepática:

El 60,4% de los pacientes del grupo analizado, presentaban esteatosis hepática (60,4%).

	Nº	Porcentaje
<i>Esteatosis grado I</i>	43	29,9%
<i>Esteatosis grado II</i>	28	19,4%
<i>Esteatosis grado III</i>	16	11,1%
<i>Sin esteatosis</i>	56	38,9%



El porcentaje global de pacientes con esteatosis fue significativamente mayor que el objetivado en el grupo de homocigotos H63D (p=0,001).

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

	<i>Sin esteatosis</i>	<i>Esteatosis</i>	<i>Significación</i>
H63D	111 (58,7%)	78 (41,3%)	p= 0,001
Sin mutaciones	56 (39,9%)	87 (60,1%)	

Se objetivó un aumento del IMC proporcional al grado de esteatosis, excepto en el grupo III cuyo IMC medio resultó inferior al resto.

De forma global, el IMC de los sujetos con esteatosis fue significativamente superior al de los sujetos que no la presentaban (27,99 vs 26,02; $p=0,017$), si bien esta diferencia no es clínicamente relevante al corresponder ambos valores a la categoría de sobrepeso.

1.6.3. Hepatopatías crónicas: Virus de la hepatitis B y C, porfiria cutánea tarda y otras

a) Hepatitis crónica B:

Solo un paciente fue diagnosticado de hepatitis crónica por el virus B. De los restantes, 33 resultaron portadores de anticuerpos frente al antígeno de superficie y 26 frente al antígeno del core.

b) Hepatitis crónica C:

Ocho pacientes (5,6%) fueron diagnosticados de infección crónica por el virus C. El genotipo más frecuente fue el 1b (4 casos).

c) Porfiria hepato-cutánea:

Siete pacientes fueron diagnosticados de porfiria hepato-cutánea, 3 de los cuales, además, estaban infectados por el virus de la hepatitis C.

d) Otras hepatopatías crónicas:

En este grupo no se detectó ningún caso de déficit de alfa-1-antitripsina.

Catorce pacientes fueron diagnosticados de hepatopatía crónica de origen enólico como causa de la sobrecarga férrica.

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

En comparación con el grupo de homocigotos H63D, solo se objetivaron diferencias en el porcentaje de sujetos con hepatopatía de origen enólico.

	<i>H63D</i>	<i>Sin mutaciones</i>	<i>Significación</i>
Hepatitis VHB	0 (0%)	0 (0%)	--
Hepatitis VHC	9 (4,6%)	8 (5,6%)	p=0,803
Porfiria	6 (3,1%)	7 (4,9%)	p=0,569
Déficit alfa 1 antitripsina	1 (0,5%)	0 (0%)	--
Hepatopatía alcohólica	5 (2,6%)	14 (9,72%)	p=0,005

Tabla 6.- Variaciones en la ferritina e IST según diferentes factores de confusión asociados a hiperferritinemia:

	<i>Pacientes sin mutaciones</i>				<i>Homozigotos H63D</i>			
	Ferritina	p	IST	p	Ferritina	p	IST	p
Sexo		0,90		0,30		<0,001		0,002
Hombres	598 (604)		39,3 (19,6)		453 (406)		45,0 (19,1)	
Mujeres	582 (619)		45,8 (25,2)		130 (156)		35,1 (17,4)	
Edad		0,025		0,093		<0,001		0,87
≤ 50 años	706 (699)		37,3 (21,1)		289 (257)		42,7 (18,2)	
> 50 años	481 (464)		43,3, (21,2)		513 (510)		42,2 (20,7)	
IMC		0,37		0,25		0,019		0,74
< 25 Kg/m2	681 (693)		40,7 (22,8)		299 (291)		42,3 (18,9)	
≥ 25 Kg/m2	553 (338)		34,9 (14,9)		421 (325)		41,3 (16,5)	
Consumo alcohol		0,051		0,04		0,004		0,024
≤ 60 gramos	508 (346)		38,2 (21,3)		336 (307)		40,7 (16,2)	
> 60 gramos	856 (1014)		46,5 (20,3)		663 (721)		58,0 (32,8)	
Esteatosis		0,029		0,022		0,026		0,45
No	481 (308)		45,6 (24,4)		321 (410)		41,7 (19,5)	
Sí	677 (728)		37,2 (18,2)		447 (341)		43,8 (18,8)	
Otras hepatopatías		--		--				
No	596 (40)		40,3 (21,3)		329 (274)		40,7 (16,1)	
VHC	--		--		624 (546)	0,10	41,7 (18,1)	0,04
Porfiria	--		--		651 (696)	0,48	63,1 (34,1)	0,11
Alcohólica	--		--		1171 (1272)	0,013	82,1 (37,4)	0,003
PCR		0,85		0,74		0,73		0,45
< 12 mg/L	579 (405)		38,8 (21,0)		364 (323)		41,8 (18,2)	
> 12 mg/L	514 (174)		31,8 (7,1)		388 (572)		44,6 (22,7)	

2.- SIGNOS Y SÍNTOMAS CLÍNICOS

Las artralgias y la astenia fueron los síntomas más frecuentes. Con respecto a las primeras, se localizaron más frecuentemente en rodillas y pequeñas articulaciones de las manos.

En la exploración física se detectaron 21 casos de hepatomegalia. En 9 pacientes media aproximadamente 3 cm, en 6 pacientes, 4 cm, en 4, 5 cm, y en 2, 7 cm. La proporción de sujetos con hepatomegalia fue superior a la de los homocigotos H63D, lo que podría estar relacionado, entre otros factores, con un mayor consumo de alcohol en el grupo sin mutaciones.

Los 3 casos que presentaban ascitis correspondieron a pacientes con hepatopatía crónica de origen enólico en los que se objetivaron, además, otros signos de hipertensión portal.

La bilirrubina media en los pacientes con ictericia fue 4,95 mg/dL.

	<i>H63D</i>	<i>Sin mutaciones</i>	<i>p</i>
Ascitis	--	3 (2,1%)	0,079
Edemas	1 (0,5%)	4 (2,8%)	0,17
Diatesis hemorrágica	43 (22,6%)	27 (18,8%)	0,083
Ictericia	1 (0,5%)	4 (2,8%)	0,17
Coluria	5 (2,6%)	7 (4,9%)	0,28
Prurito	31 (16,4%)	19 (13,4%)	0,45
Hepatomegalia	15 (7,9%)	26 (18,2%)	0,005
Eritrosis palmar	8 (4,2%)	7 (4,9%)	0,77
Hiperpigmentación	2 (1,1%)	4 (2,8%)	0,51
Heridas microtrumatismos	1 (0,6%)	3(2,9%)	0,15
Astenia	52 (27,5%)	28 (20,4%)	0,14
Artralgias	68 (35,8%)	41 (28,5%)	0,16
Impotencia (varones)	24 (16,9%)	19 (16,0%)	0,84
Disminución de la libido	31 (19,1%)	21 (26,3%)	0,21
Hipertriosis	2 (1,1%)	3 (2,1%)	0,66
Ampollas	1 (0,5%)	3 (2,1%)	0,19
Cicatrices	1 (0,5%)	4 (2,8%)	0,17
Dolor abdominal	15 (7,9%)	18 (2,5%)	0,17

3.- RESULTADOS ANALÍTICOS

En el grupo de pacientes sin mutaciones relacionadas con sobrecarga de hierro, la ferritina media fue 595,57 ng/dL. Este valor fue significativamente superior al que presentaron los homocigotos H63D ($p < 0,000$). La saturación de la transferrina sin embargo, resultó más elevada en el grupo H63D, si bien la diferencia no fue estadística ni clínicamente significativa. Los niveles de hierro sérico en ambos grupos resultaron muy similares (116,90 vs 117,72)

En comparación con los homocigotos C282Y, los valores de ferritina y saturación de la transferrina fueron significativamente inferiores (595,57 ng/mL vs 980,85 ng/mL y 40,33% vs 82,68% respectivamente).

Los valores medios de GOT, GPT y en particular de GGT resultaron por encima del límite alto de la normalidad. Los parámetros de coagulación, la bilirrubina, el número de plaquetas y la función renal media fueron normales.

El colesterol total y los triglicéridos resultaron, con respecto a los pacientes H63D, significativamente más elevados ($p = 0,033$ y $p < 0,033$ respectivamente).

	<i>H63D</i>	<i>Sin mutaciones</i>	<i>p</i>
Hematies, 10⁶/μL	4,821 (4,638)	4,789 (5,293)	0,55
Hematocrito, %	43,81 (3,54)	43,71 (4,01)	0,80
Hemoglobina, g/dL	15,2 (1,3)	15,0 (1,4)	0,32
VCM, fL	91,2 (5,4)	91,6 (6,4)	0,55
Leucocitos, n/μL	6681 (1732)	6723 (1699)	0,83
PMN, n/μL	4045 (4229)	3814 (1428)	0,53
Linfocitos, n/μL	2226 (1395)	2187 (689)	0,76
Monocitos, n/μL	522 (160)	540 (188)	0,35
Plaquetas, n/μL	228305 (61119)	215215 (67363)	0,065
Fe serico, μg/dL	117 (41)	118 (54)	0,875
Transferrina, mg/dL	224,7 (38,9)	241,9 (48,7)	<0,000
IST, %	42,5 (19,1)	40,3 (21,3)	0,338

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

Ferritina, ng/mL	372,1 (385,8)	595,6 (604,6)	<0,000
-------------------------	---------------	---------------	--------

	<i>H63D</i>	<i>Sin mutaciones</i>	<i>p</i>
Activ. Protrombina, %	95 (10)	94 (13)	0,15
Fibrinógeno, mg/dL	302,3 (78,7)	300,8 (98,4)	0,88
Bilirrubina, mg/dL	0,8 (0,5)	1,0 (0,9)	0,070
GOT, U/L	26 (18)	43 (47)	<0,001
GPT, U/L	38 (35)	55 (51)	0,001
GGT, U/L	45,3 (53,1)	121,1 (329,6)	0,007
Fosfatasa Alcalina, U/L	92 (77)	111 (86)	0,039
Albumina, g/dL	4,42 (0,34)	4,40 (0,46)	0,67

	<i>H63D</i>	<i>Sin mutaciones</i>	<i>p</i>
TSH, UI/ml	1,84 (0,67)	253,5 (888,5)	0,13
T4 libre, UI/ml	1,08 (0,21)	--	--
T3 libre, UI/ml	3,21 (0,49)	--	--
FSH, UI/ml	11,7 (18,5)	9,2 (12,2)	0,57
LH, UI/ml	6,55 (8,11)	5,44 (6,35)	0,08
17-beta-Estradiol, pg/mL	hombre: 25,95 (11,1) mujer: 80,74 (120,0)	27,10 (13,48) 41,00 (11,31)	0,48
Testosterona, ng/dL	hombre: 519,3 (201,6) mujer: 37,9 (14,2)	553,0 (252,3) 28,10 (7,31)	0,57

	<i>H63D</i>	<i>Sin mutaciones</i>	<i>p</i>
Creatinina, mg/dL	0,9 (0,2)	0,9 (0,2)	0,16
Urea, mg/dL	35 (9)	33 (9)	0,027
Colesterol, mg/dL	192 (28)	216,4 (75,1)	<0,001
HDL colesterol, mg/dL	48,4 (17,5)	50,59 (15,12)	0,08
LDL colesterol, mg/dL	116 (39)	50,6 (15,1)	0,43
Triglicéridos, mg/dL	117 (90)	154 (211)	0,033

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

Proteínas totales, g/dL	7,2 (0,4)	7,3 (0,5)	0,001
Alfa 1	0,25 (0,40)	0,23 (0,37)	0,58
Alfa 2	1,05 (1,63)	0,78 (0,13)	0,028
Beta	1,08 (1,67)	0,88 (0,18)	0,10
Gamma	1,34 (1,99)	1,12 (0,41)	0,15
Inmunoglobulina G, mg/dL	1093 (236)	1150 (378)	0,12
Inmunoglobulina A, mg/dL	242 (120)	293 (208)	0,012
Inmunoglobulina M, mg/dL	113 (58)	121 (92)	0,39
Alfa-1-antitripsina, mg/dL	126 (54)	179 (148)	0,22
Alfa fetoproteína, UI/mL	2,88 (2,22)	4,64 (7,26)	0,016
Porfirinas totales, µg/24 h	109 (186)	193 (586)	0,16
Uroporfirinas, µg/24 h	37,2 (130,8)	95,5 (469,7)	0,12
Coproporfirinas, µg/24 h	72,8 (60,9)	98,1 (125,8)	0,057
Ceruloplasmina, mg/dL	25,1 (5,0)	24,9 (5,1)	0,77
Cobre sérico, µg/dl	79,2 (18,0)	78,4 (18,4)	0,72
Proteína C reactiva, mg/L	3,5 (3,5)	3,9 (4,3)	0,54
Glucosa, mg/dL	98 (19)	110 (33)	<0,001
Hemoglobina glicosilada, %	5,4 (0,6)	5,7 (1,0)	0,027

4.- SOBRECARGA FÉRRICA BIOQUÍMICA Y PARENQUIMATOSA

4.1-Sobrecarga bioquímica de hierro

El 25% de los pacientes (36) presentaron valores de ferritina y saturación de la transferrina superiores a los niveles que previamente se establecieron como clínicamente significativos (IST > 45% y ferritina > 300 ng/mL en hombres o > 200 ng/mL en mujeres).

La ferritina media, en los pacientes que cumplieron ambos requisitos (elevación significativa de ferritina e IST), fue 959 ng/mL, mientras que en el grupo que no los cumplía fue 475 ng/mL. La saturación de la transferrina media únicamente fue superior al 45% en el primer grupo, lo que refleja que aquellos pacientes que no reunieron ambas condiciones, lo hicieron en su mayoría por no alcanzar el porcentaje establecido para el IST.

El grupo de homocigotos H63D, presentó un porcentaje de casos con exceso bioquímico

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

de hierro superior al del grupo sin mutaciones, sin embargo esta diferencia no alcanzó significación estadística ($p= 0,434$).

		<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
Sobrecarga bioquímica	No	104	72,2%
	Sí	36	25,0%

	<i>Sin sobrecarga bq</i>	<i>Con sobrecarga bq</i>	<i>Significación</i>
H63D	150 (78,1%)	42 (21,9%)	p= 0,434
Sin mutaciones	104 (72,2%)	36 (25,0%)	

Ferritina mayor de 1000

Diecinueve pacientes (13,2%) presentaron valores de ferritina por encima de 1000 ng/mL. En comparación con los homocigotos H63D este resultado resultó estadísticamente significativo ($p < 0,008$).

Ocho pacientes con ferritina > 1000 ng/mL mostraron sin embargo un IST $< 45\%$. En 10 de los 19 casos se llevó a cabo una biopsia hepática.

	<i>< 1000 ng/mL</i>	<i>≥ 1000 ng/mL</i>	<i>Significación</i>
H63D	183 (95,3%)	9 (4,7%)	p= 0,008
Sin mutaciones	123 (85,4%)	19 (13,2%)	

4.2. Sobrecarga férrica parenquimatosa

Con el fin de determinar las implicaciones a nivel histológico del exceso bioquímico de hierro, se analizaron los resultados de las biopsias hepáticas y resonancias realizadas.

Al igual que en los grupos anteriormente analizados, se estableció como clínicamente significativa una concentración de hierro superior a 60 micromol/g medida mediante resonancia magnética o equivalente al grado III-IV de la escala de Scheuer en la biopsia .

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

El 9% de los pacientes a los que se les realizó una resonancia (13), presentaron a nivel parenquimatoso una concentración excesiva de hierro.

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje global</i>	<i>Porcentaje RM</i>
Hierro < 36 mcmol/gr	15	10,4%	39,47%
Hierro ≥ 60 mcmol/gr	13	9,0%	34,21%
Hierro 36-60 mcmol/gr	10	6,9%	26,31%
Sub-total	38	26,3%	100%
Resonancia no realizada	106	73,6%	
Total	144	100%	

En comparación con el grupo H63D, estas diferencias no resultaron estadísticamente significativas ($p = 0,688$).

	<i>< 60 mcmol/gr</i>	<i>≥ 60 mcmol/gr</i>	<i>Significación</i>
H63D	48 (95,3%)	30 (4,7%)	$p = 0,688$
Sin mutaciones	25 (17,36%)	13 (9,30%)	

Se realizaron 34 biopsias hepáticas. Tres muestras fueron insuficientes para establecer un diagnóstico histológico.

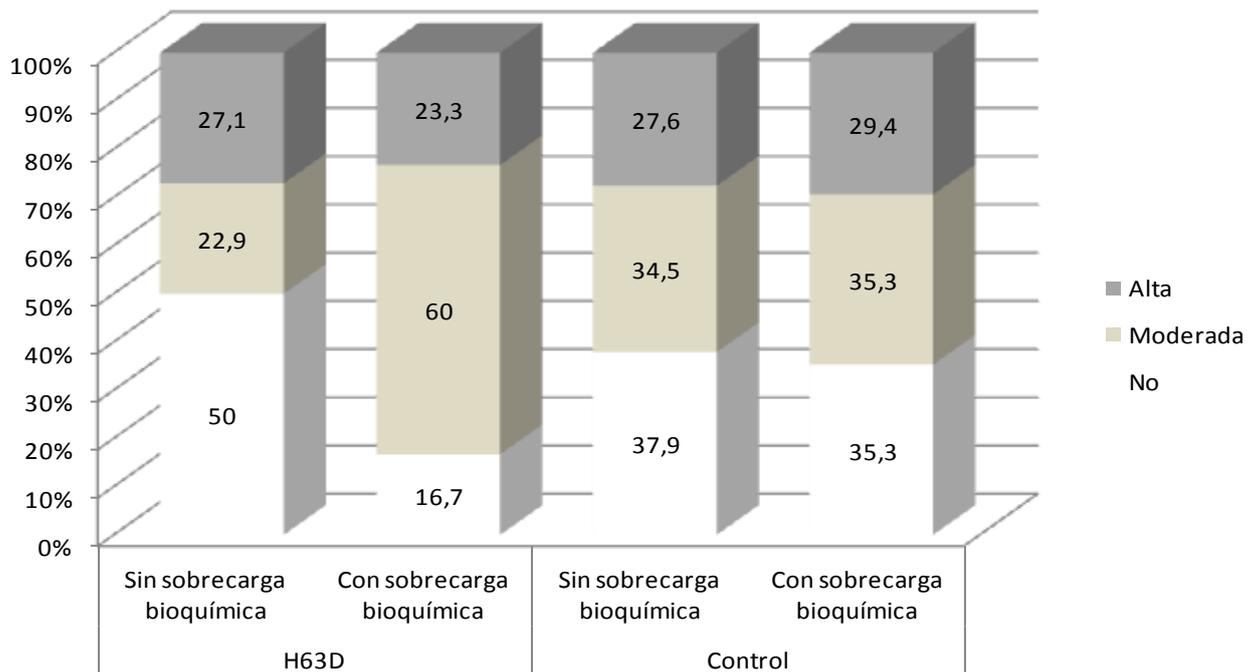
Ningún paciente en este grupo presentó una concentración de hierro equivalente al grado IV de la escala de Scheuer.

	<i>Frecuencia</i>	<i>Porcentaje</i>
0	16	11,1%
I /IV	10	6,9%
II /IV	2	1,4%
III/IV	2	1,4%
IV /IV	0	0%

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

Total	30	20,8%
Biopsia no realizada o insuficiente	114	79,2%
Total	144	100%

La sobrecarga bioquímica de hierro se correlacionó con una sobrecarga moderada a nivel parenquimatoso.



En comparación con los homocigotos H63D, el porcentaje de siderosis parenquimatosa significativa (grados III-IV) no fue estadísticamente diferente. Sin embargo, hay que destacar que el número de pacientes incluidos en esta categoría en ambos grupos fue muy pequeño.

	<i>Siderosis 0-II</i>	Siderosis III-IV	<i>Significación</i>
H63D	26 (13,54%)	1 (0,52%)	p= 1 (Fisher)
Sin mutaciones	28 (19,44%)	2 (1,39%)	

4.3- Hipertensión portal

Solo 4 pacientes al inicio del seguimiento presentaban datos de HTP. No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a grupo H63D, si bien, al igual que en los

VIII. Resultados. Grupo sin mutaciones genéticas

resultados anteriormente señalados, el escaso número de pacientes en ambos grupos podría condicionar la representatividad de los resultados.

Tres de los 4 pacientes con HTP presentaban cirrosis de origen enólico, y el cuarto de hepatitis crónica por virus C.

	<i>Sin datos de HTP</i>	<i>Datos de HTP</i>	<i>Significación</i>
H63D	186 (96,87%)	6 (3,12%)	p= 1 (Fisher)
Sin mutaciones	140 (97,22%)	4 (2,77%)	

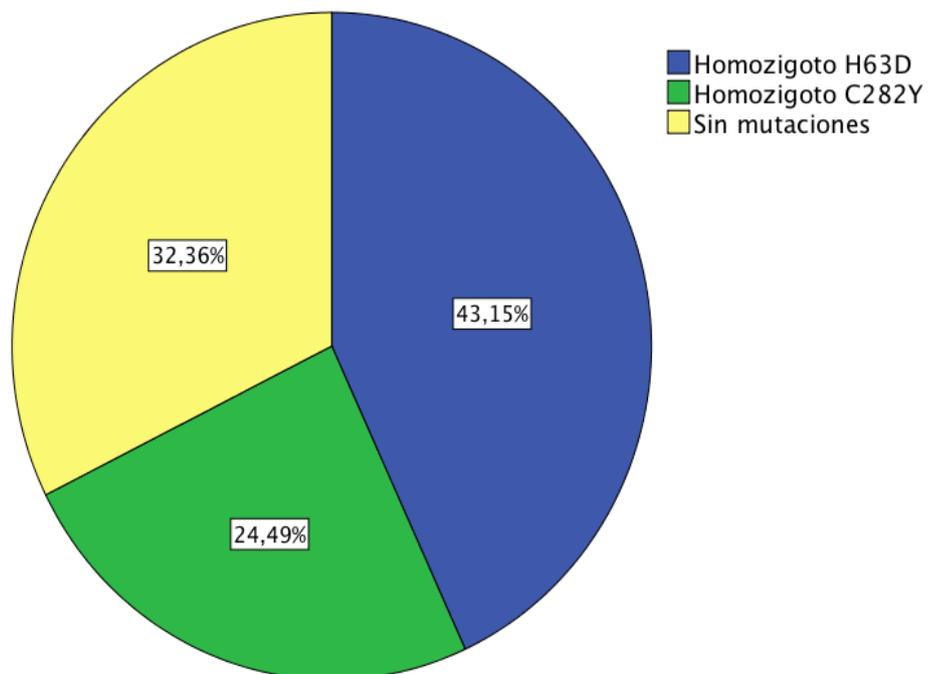
RESULTADOS GLOBALES

Se incluyeron en el estudio 445 pacientes clasificados en 3 grupos:

-192 (43,1%) homocigotos H63D

-109 (24,5%) homocigotos C282Y

-144 (32,4%) con estudio genético negativo para ambas mutaciones



1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS Y CARACTERÍSTICAS BASALES

Los 3 grupos fueron comparables en cuanto a sus características basales excepto en las siguientes variables:

La **edad** media del grupo H63D fue significativamente menor que la de los sujetos sin mutaciones.

El porcentaje de **varones** homocigotos C282Y fue significativamente menor que el del grupo con estudio genético negativo.

Como era de esperar, el porcentaje de pacientes sin alteraciones genéticas remitidos por antecedentes familiares de hemocromatosis como motivo de consulta fue significativamente inferior al de los otros dos grupos.

Tabla 7 . Descriptivos de edad y sexo

	<i>Sin mutaciones</i>	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>
Edad, media (DE)	50,2 (13,9)	44,9 (16,4)*	46,2 (12,8)
Sexo, n(%)			
Hombres	120 (83,35)	144 (75%)	67 (61,5%)*
Mujeres	24 (16,7%)	48 (25%)	42 (38,5%)
Motivo derivación:			
Sobrecarga férrica	138 (95,8%)	138 (71,9%)*	75 (68,8%)*
Antecedentes familiares	6 (4,2%)	54 (28,1%)	34 (31,2%)

*: $p < 0,005$ respecto al grupo de pacientes sin mutaciones

Con respecto a la distribución de factores de riesgo cardiovascular, únicamente se objetivaron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de colesterol, que fueron mayores en los pacientes sin mutaciones.

Tabla 8. Distribución de los factores de riesgo cardiovascular

	<i>Sin mutaciones</i>	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
IMC	27,2±4,0	26,8±4,1	26,2±3,7	0,23
Normopeso (18,5-24,9 Kg/m²)	26 (26,8%)	58 (36,5%)	35 (40,2%)	0,27
Sobrepeso (25-29,9 Kg/m²)	46 (47,4%)	72 (45,3%)	37 (42,5%)	
Obesidad clase I (30-34,9 Kg/m²)	22 (22,7%)	22 (13,8%)	14 (16,1%)	
Obesidad clase II (35-39,9 Kg/m²)	3 (3,1%)	7 (4,4%)	1 (1,1%)	

Colesterolemia	216,4±75,1	191,9±37,8	187,5±40,8	<0,001
Colesterol-LDL	141,4±42,0	118,9±34,6	112,5±32,0	<0,001
Colesterol-HDL	50,6±15,1	48,4±17,5	54,4±18,9	0,27
Glucemia alt. en ayunas	nd	23 (12,4%)	nd	
Diabetes Mellitus Tipo II	nd	24 (12,9%)	nd	
Síndrome Metabólico	nd	18 (11,7%)	nd	
Hipertensión arterial	nd	34 (18,3%)	nd	

*: p<0,05 respecto al grupo de Normales

nd: no disponible

2. SIGNOS Y SÍNTOMAS CLÍNICOS

La mayoría de los parámetros clínicos analizados se distribuyeron de forma homogénea entre los 3 grupos. Únicamente las diferencias entre los porcentajes de artralgias, pigmentación cutánea y diátesis hemorrágica resultaron estadísticamente significativas.

Tabla 9 .Signos y síntomas clínicos

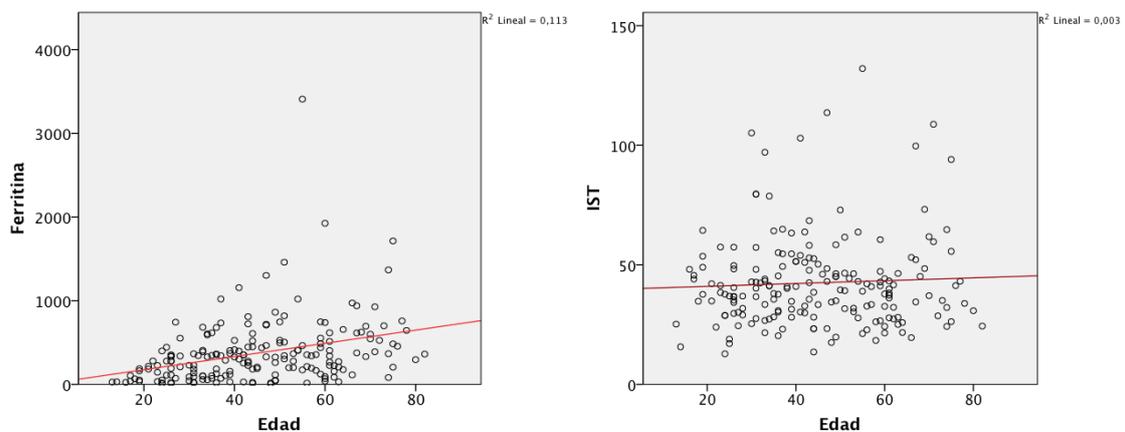
	<i>Sin</i> <i>mutaciones</i>	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
Ascitis	3 (2,1%)	--	--	0,04
Edemas	4 (2,8%)	1 (0,5%)	2 (1,9%)	0,25
Diatesis hemorrágica	27 (18,8%)	43 (22,6%)	5 (4,6%)	<0,001
Ictericia	4 (2,8%)	1 (0,5%)	2 (1,8%)	0,26
Coluria	7 (4,9%)	5 (2,6%)	2 (1,8%)	0,34
Prurito	19 (13,4%)	31 (16,4%)	18 (20%)	0,41
Hepatomegalia	19 (13,2%)	20 (10,5%)	11 (10,1%)	0,67
Eritrosis palmar	7 (4,9%)	8 (4,2%)	6 (5,6%)	0,87
Hiperpigmentación cutánea	14 (9,7%)	2 (1,1%)	10 (9,2%)	0,001
Heridas por microtrumatismos	3(2,9%)	1 (0,6%)	--	0,11
Astenia	28 (20,4%)	52 (27,5%)	19 (17,6%)	0,11
Artralgias	41 (28,5%)	68 (35,8%)	48 (44,4%)	0,032
Impotencia (varones)	19 (16,0%)	24 (16,9%)	15 (22,7%)	0,48
Disminución de la libido	21 (26,3%)	31 (19,1%)	23 (32,4%)	0,079
Hipertricosis	3 (2,1%)	2 (1,1%)	3 (2,8%)	0,54
Ampollas	3 (2,1%)	1 (0,5%)	--	0,17
Cicatrices	4 (2,8%)	1 (0,5%)	--	0,067
Dolor abdominal	18 (2,5%)	15 (7,9%)	17 (15,7%)	0,11

3. PARÁMETROS RELACIONADOS CON EL METABOLISMO DEL HIERRO

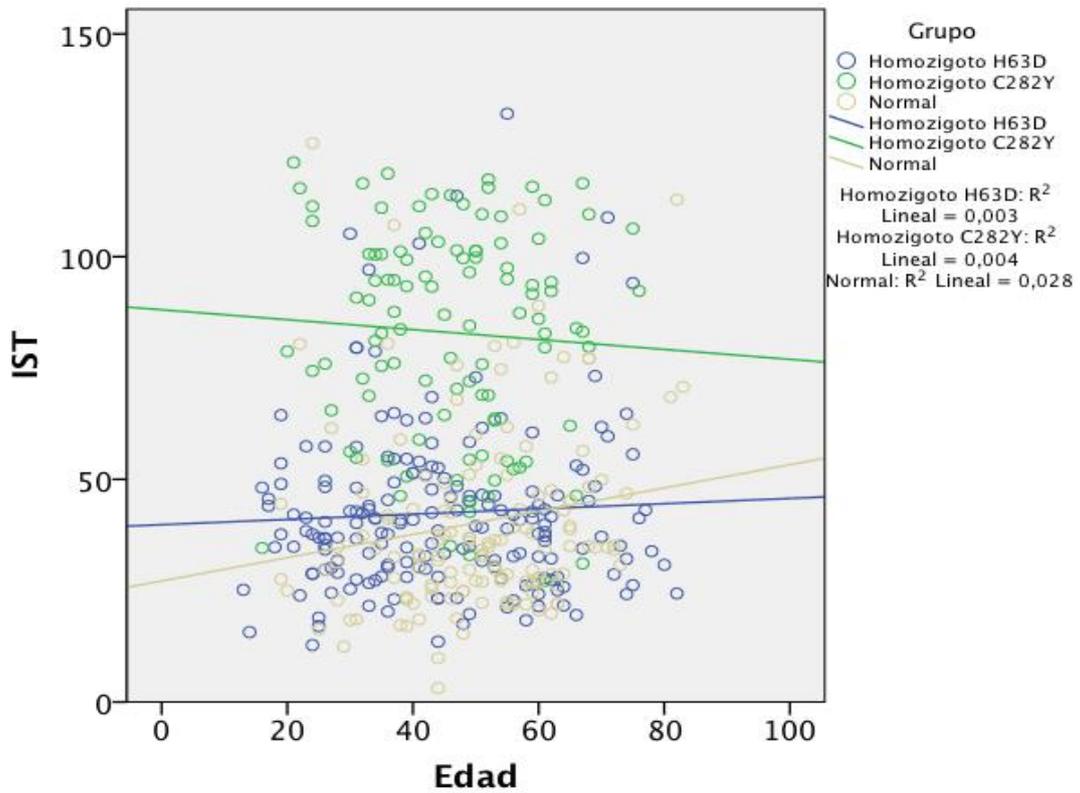
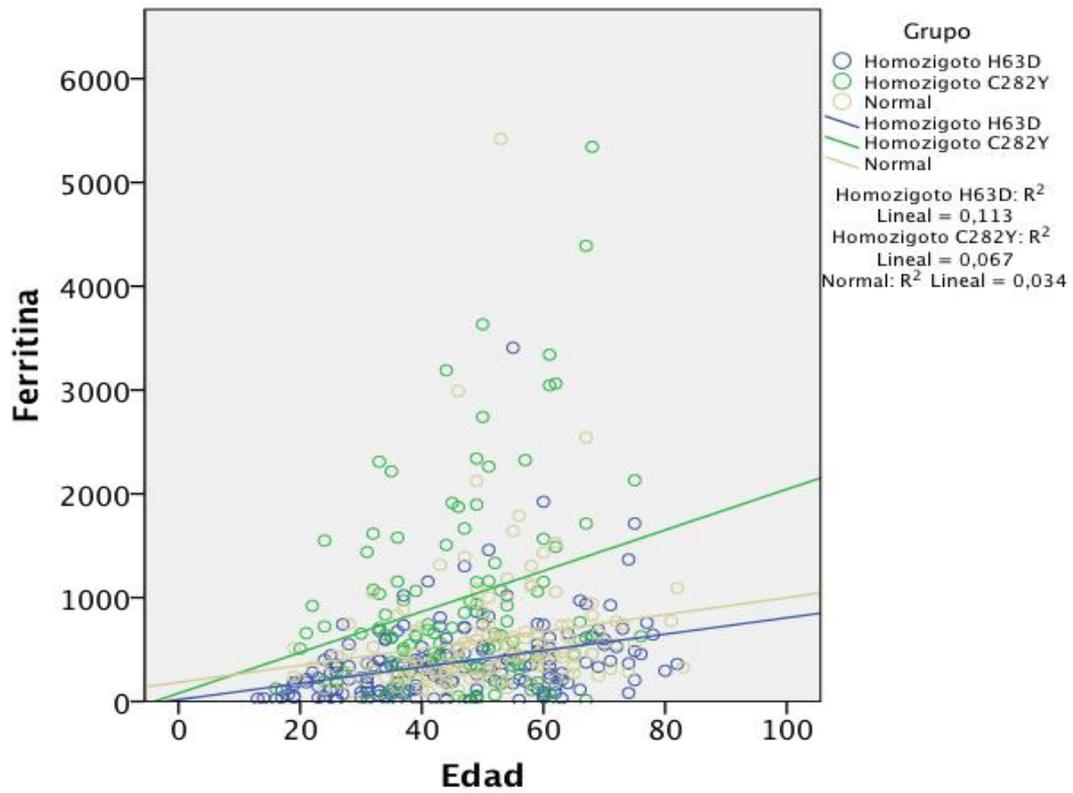
Los pacientes homocigotos C282Y presentaron datos de sobrecarga férrica en base a parámetros bioquímicos (IST, hierro y ferritina) superiores al resto de los grupos.

	<i>Sin mutaciones</i>	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
Fe serico, µg/dL	118 (54)	117 (41)	180 (49)	<0,001
IST, %	40,3 (21,3)	42,5 (19,1)	82,7 (24,0)	<0,001
Ferritina, ng/mL	595,6 (604,6)	372,1 (385,8)	980,9 (973,1)	<0,001

Los pacientes homocigotos H63D presentaron de forma global una correlación lineal estadísticamente significativa entre la concentración de ferritina y la edad. El índice de saturación de la transferrina, no obstante, no mostró prácticamente ninguna progresión a lo largo del tiempo.



En comparación con los otros 2 grupos, los homocigotos C282Y, presentaron una tendencia significativamente mayor al aumento de ferritina con la edad. En cambio, la saturación de transferrina muestra una correlación lineal negativa con el tiempo en este grupo (disminución del porcentaje de saturación con la edad).



En relación con los factores asociados a hiperferritinemia secundaria, la proporción de pacientes con una ingesta perjudicial de alcohol, así como el porcentaje de esteatosis fue mayor en el grupo de sujetos sin mutaciones.

Tabla 10. Distribución de factores asociados a hiperferritinemia secundaria

	<i>Sin mutaciones</i>	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
Consumo de alcohol > 60 g	36 (25,0%)	21 (10,9%)	14 (13,0%)	0,001
Esteatosis hepática	86 (60,1%)	79 (41,6%)	36 (33,3%)	<0,001
VHC	13 (11,1%)	10 (5,3%)	4 (3,7%)	0,053
Porfiria	7 (4,9%)	6 (3,1%)	1 (0,9%)	0,21
Déficit de α-1-antitripsina	--	1 (0,5%)	1 (0,9%)	0,68
Proteína C reactiva, mg/L	3,9 (4,3)	3,5 (3,5)	5,3 (12,8)	0,18

Tabla 11. Estudio de la relación entre ferritina e ist y otros factores relacionados con sobrecarga férrica

	<i>Pacientes sin mutaciones</i>				<i>Homozigotos H63D</i>				<i>Homozigotos C282Y</i>			
	Ferritina	p	IST	p	Ferritina	p	IST	p	Ferritina	p	IST	p
Sexo		0,90		0,30		<0,001		0,002		<0,001		0,009
Hombres	598 (604)		39,3 (19,6)		453 (406)		45,0 (19,1)		1296 (1053)		87,6 (23,1)	
Mujeres	582 (619)		45,8 (25,2)		130 (156)		35,1 (17,4)		486 (550)		75,2 (23,7)	
Edad		0,025		0,093		<0,001		0,87		0,19		0,63
≤ 50 años	706 (699)		37,3 (21,1)		289 (257)		42,7 (18,2)		892 (782)		84,0 (23,5)	
> 50 años	481 (464)		43,3, (21,2)		513 (510)		42,2 (20,7)		1185 (1234)		81,5 (25,3)	
IMC		0,37		0,25		0,019		0,74		0,76		0,22
< 25 Kg/m2	681 (693)		40,7 (22,8)		299 (291)		42,3 (18,9)		1070 (1154)		86,2 (23,4)	
≥ 25 Kg/m2	553 (338)		34,9 (14,9)		421 (325)		41,3 (16,5)		1002 (881)		79,6 (24,8)	
Consumo de alcohol		0,051		0,04		0,004		0,024		0,13		0,35
≤ 60 gramos	508 (346)		38,2 (21,3)		336 (307)		40,7 (16,2)		964 (1007)		83,7 (24,1)	
> 60 gramos	856 (1014)		46,5 (20,3)		663 (721)		58,0 (32,8)		1153 (726)		77,0 (24,0)	
Esteatosis hepática		0,029		0,022		0,026		0,45		0,15		0,76
No	481 (308)		45,6 (24,4)		321 (410)		41,7 (19,5)		887 (887)		82,2 (23,8)	
Sí	677 (728)		37,2 (18,2)		447 (341)		43,8 (18,8)		1178 (1121)		83,7 (24,8)	
Otras hepatopatías		--		--								
No	596 (40)		40,3 (21,3)		329 (274)		40,7 (16,1)		970 (988)		82,3 (24,1)	
VHC	--		--		624 (546)	0,10	41,7 (18,1)	0,04	1534 (554)	0,049	102,8 (13,5)	0,063
Porfiria	--		--		651 (696)	0,48	63,1 (34,1)	0,11	1667 (--)	0,35	101,4 (--)	0,47-
Alcohólica	--		--		1171 (1272)	0,013	82,1 (37,4)	0,003	509 (--)	0,74	68,9 (--)	0,60
Proteína C Reactiva		0,85		0,74		0,73		0,45		0,008		0,20
< 12 mg/L	579 (405)		38,8 (21,0)		364 (323)		41,8 (18,2)		998 (876)		82,7 (24,1)	
> 12 mg/L	514 (174)		31,8 (7,1)		388 (572)		44,6 (22,7)		3129 (1920)		100,9 (12,2)	

4.- RESULTADOS ANALÍTICOS

Se objetivaron diferencias estadísticamente significativas entre los valores medios de transaminasas y GGT entre los 3 grupos. La bilirrubina, FA y número de hematíes fueron estadísticamente diferentes, si bien estas variaciones no resultan clínicamente relevantes.

Tabla 12. Resultados analíticos principales

	<i>Sin mutaciones</i>	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>p</i>
Hematies, 106/μL	4,789 (5,293)	4,821 (4,638)	4,646 (4,106)	0,008
Hematocrito, %	43,71 (4,01)	43,81 (3,54)	47,05 (35,35)	0,25
Hemoglobina, g/dL	15,0 (1,4)	15,2 (1,3)	15,1 (1,4)	0,60
Plaquetas, n/μL	215215 (7363)	228305 (61119)	216524 (56824)	0,11
Activ. Protrombina	94 (13)	95 (10)	94 (13)	0,36
Bilirrubina, mg/dL	1,0 (0,9)	0,8 (0,5)	0,7 (0,4)	0,007
GOT, U/L	43 (47)	26 (18)	32 (26)	<0,001
GPT, U/L	55 (51)	38 (35)	49 (57)	0,003
GGT, U/L	121,1 (329,6)	45,3 (53,1)	45,9 (115,7)	0,001
Fosfatasa Alc, U/L	111 (86)	92 (77)	127 (81)	0,001
Albúmina, g/dL	94 (13)	95 (10)	94 (13)	0,36

Resultados expresados como media (desviación estándar)

5.- SOBRECARGA FÉRRICA BIOQUÍMICA Y PARENQUIMATOSA

El grupo de homocigotos C282Y presentó porcentajes significativamente superiores de sobrecarga bioquímica (Ferritina e IST elevados simultáneamente), y parenquimatosa de hierro (cuantificada mediante resonancia o biopsia).

Tabla 13. Sobrecarga bioquímica de hierro

	<i>No</i>	<i>Sí</i>
H63D	150 (78,1%)	42 (21,9%)
C282Y	19 (17,9%)	87 (82,1%)
Sin mutaciones	104 (74,3%)	36 (25,7%)

Significación bilateral **Chi cuadrado: 0,000****Tabla 14. Sobrecarga histológica de hierro**

	<i>No</i>	<i>Sí</i>
H63D	164 (85,4%)	28 (14,6%)
C282Y	56 (51,4%)	53 (48,6%)
Sin mutaciones	122 (84,7%)	103 (23,1%)

Significación bilateral **Chi cuadrado: 0,000**

6. ANÁLISIS MULTIVARIANTE

Se llevó a cabo una regresión lineal múltiple, para determinar qué factores se asocian de forma independiente a sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa.

Con respecto al aumento conjunto de ferritina e IST, las variables que alcanzaron significación estadística en el análisis fueron: presencia de otras hepatopatías y homocigosis C282Y. Esta última variable también resultó estadísticamente significativa en el modelo de regresión de sobrecarga parenquimatosa.

SOBRECARGA BIOQUÍMICA	<i>Coef. B</i>	<i>Error típico</i>	<i>Significación</i>
-Consumo de alcohol	0,210	0,120	0,083
-Síndrome metabólico	0,109	0,104	0,299
-Sexo	0,131	0,079	0,100
-Edad (< o > 50 años)	0,160	0,143	0,097
-Otras hepatopatías	0,062	0,031	0,047
-Homocigosis H63D	0,230	0,102	0,106
-Sin mutaciones	0,103	0,098	0,085
-Homocigosis C282Y	0,043	0,041	0,003

S. PARENQUIMATOSA	<i>Coef. B</i>	<i>Error típico</i>	<i>Significación</i>
-Consumo de alcohol	0,210	0,120	0,083
-Síndrome metabólico	0,109	0,104	0,299
-Sexo	0,131	0,079	0,100
-Edad (< o > 50 años)	0,160	0,143	0,097
-Otras hepatopatías	0,062	0,031	0,047
-Homocigosis H63D	0,230	0,102	0,106
-Sin mutaciones	0,103	0,098	0,085
-Homocigosis C282Y	0,043	0,041	0,003

7. CÁLCULO DEL PODER ESTADÍSTICO

Dado que no se calculó a priori el tamaño muestral, se realizó posteriormente un análisis del poder estadístico del estudio en función de la magnitud del efecto a detectar. Tanto para la comparación entre dos proporciones (porcentajes de sobrecarga bioquímica y parenquimatosa de hierro) , como para la comparación entre 2 medias (niveles de ferritina e IST), la potencia del estudio para detectar diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de homocigotos H63D y cada uno de los dos grupos controles fue adecuada (80-100%).

IX. DISCUSIÓN

La mutación C282Y constituye la principal alteración genética relacionada con la Hemocromatosis Hereditaria. Sin embargo, la sustitución de Histidina por Aspartato en la posición 63 del gen HFE podría ejercer también un papel relevante en la sobrecarga de hierro.

Actualmente no disponemos de evidencias suficientes que permitan demostrar que los sujetos homocigotos H63D presenten un mayor riesgo de desarrollar sobrecarga férrica significativa en ausencia de otros factores predisponentes. Además, entre los diversos estudios publicados existen diferencias metodológicas que dificultan la comparación entre los mismos y la generalización de los resultados.

La heterogeneidad de los trabajos, surge fundamentalmente de la variabilidad en el origen de las muestras de población analizadas y en la identificación y estudio de otros factores asociados a hemocromatosis secundaria.

En primer lugar, con respecto a la selección de los sujetos, los estudios realizados con individuos que inicialmente presentan datos clínicos o bioquímicos de sobrecarga de hierro parecen objetivar con mayor frecuencia diferencias significativas a favor de un aumento de los parámetros férricos en los pacientes homocigotos H63D (De Diego *et al.*, 2007; Aguilar-Martinez *et al.*, 2001; Samarasena *et al.*, 2006; Cassanelli *et al.*, 2001; Brandhagen *et al.*, 2001). Por su parte, los trabajos realizados con muestras de población asintomática (donantes de sangre por ejemplo), encuentran menos probable la asociación entre esta mutación y el incremento de los depósitos de hierro (Jackson *et al.*, 2001; Gochee *et al.*, 2002; Sanchez *et al.*, 2003; Olynik *et al.*, 1999). Este hecho podría estar relacionado con la presencia de ciertos modificadores genéticos no identificados, o con la existencia de otros factores determinantes de sobrecarga de hierro secundaria. En particular, el consumo de alcohol, el síndrome metabólico, las hepatitis crónicas virales o la presencia de esteatosis entre otros, se relacionan con un aumento de estos parámetros, y se describen o analizan de forma muy variable en los distintos estudios publicados. Por este motivo, en nuestro trabajo se puso especial interés en identificar estos factores y analizar su influencia en los resultados antes de establecer conclusiones definitivas.

Dado que las guías de práctica clínica actuales no recomiendan la realización de pruebas de cribado poblacional en la HH, hoy en día la determinación de las mutaciones H63D y C282Y solo se lleva a cabo en individuos que presentan antecedentes familiares de hemocromatosis o datos clínico-analíticos de sobrecarga férrica. Estos sujetos constituyen la

población de referencia de nuestro estudio, a la que se pretende extrapolar los resultados obtenidos en la muestra de sujetos analizados.

Después de la valoración e interpretación de la información obtenida, no se ha podido establecer una asociación significativa entre el aumento de los depósitos de hierro y la presencia de la mutación H63D en ambos alelos del gen HFE. No se objetivaron diferencias significativas a este respecto entre los portadores homocigotos de dicha mutación y los sujetos sin alteraciones genéticas.

No obstante se ha podido objetivar un aumento progresivo con la edad de parámetros indicativos de sobrecarga férrica, al igual que ocurre en los pacientes homocigotos C282Y., si bien con valores inferiores a este último grupo.

Como era previsible, el grupo de homocigotos C282Y fue el que presentó los valores de hierro sérico y parenquimatoso más elevados. Este hecho, además, no se vio modificado por la presencia de otros factores asociados a hiperferritinemia.

En todos los casos, las mutaciones H63D y C282Y fueron determinadas al presentar los sujetos incluidos antecedentes familiares de HH o datos clínicos o bioquímicos de sobrecarga férrica. Por este motivo, era previsible que los parámetros relacionados con el metabolismo del hierro, como la ferritina y el IST, resultaran de forma global, superiores a los de la población general.

A continuación se procederá a analizar detalladamente el significado y las implicaciones derivadas de los resultados obtenidos en el grupo de homocigotos H63D, comparándolos a su vez con los pacientes homocigotos C282Y, los sujetos sin mutaciones y otros estudios relevantes relacionados con este tema.

1. SOBRECARGA FÉRRICA BASADA EN PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

1.1. Resultados del grupo H63D

En el grupo de sujetos homocigotos H63D, se obtuvo una concentración media de ferritina de $372,1 \pm 385,8$ mg/dL (SD) (mediana 302,35) y un índice de saturación de la transferrina del $42,5\% \pm 19,1$ (SD) (mediana 39,18). Los valores de ferritina fueron superiores en los sujetos de mayor edad, y en aquellos que fueron estudiados por antecedentes personales de sobrecarga férrica. Los valores de hierro sérico resultaron normales, al igual que las transaminasas, la bilirrubina y la GGT.

El IST por debajo del límite alto de la normalidad traduce una sobrecarga férrica leve al menos en lo que respecta a la medición de parámetros bioquímicos en este grupo de pacientes.

Otras publicaciones tampoco han podido demostrar un aumento significativo de los depósitos de hierro. Así, en el trabajo presentado por de Gochee y cols se analizaron las características de un grupo de 2531 sujetos, entre los que identificaron 62 homocigotos H63D. Al igual que en nuestro estudio, la concentración media de ferritina en estos pacientes fue similar a la del grupo con estudio genético negativo. El IST, sin embargo, resultó significativamente mayor en los pacientes homocigotos (H63D: 35,1% en hombres y 29,6% en mujeres vs sujetos sin mutaciones: 28,4% y 25,0% respectivamente), pero, a pesar de que estos resultados alcanzaron significación estadística, en ambos grupos los valores se encontraba por debajo del límite alto de la normalidad, por lo que las diferencias obtenidas no resultan clínicamente relevantes. Aunque el 15% de los homocigotos presentó un IST >45% y el 36%, valores de ferritina superiores a 300 ng/mL, sólo 3 pacientes (9%) presentaron una elevación simultánea de ambos parámetros (Gochee *et al.*, 2002).

Los valores de ferritina e IST resultaron inferiores a los objetivados en nuestro estudio. Estas diferencias podrían deberse a que mientras que nuestros pacientes presentaban antecedentes familiares o personales de sobrecarga férrica, Gochee llevó a cabo un trabajo de base poblacional con sujetos no seleccionados procedentes de la ciudad australiana de Busselton.

Otras publicaciones, como la llevada a cabo por De Diego y cols (De Diego *et al.*, 2006), presentan resultados más dispares, si bien, diferencias metodológicas en el diseño de los estudios, dificultan, como se comentó anteriormente, la comparación entre los mismos.

De Diego y cols analizaron las características de un grupo de 45 homocigotos H63D. El análisis genético fue solicitado por presentar todos ellos datos bioquímicos o clínicos de sobrecarga férrica. Se compararon los valores de ferritina e IST con 127 controles sanos donantes de sangre, obteniendo valores significativamente más elevados en el grupo portador de la mutación. Concluyen que el genotipo H63D podría ser la causa primaria de la sobrecarga férrica, si bien no pueden descartar que existan factores modificadores genéticos no identificados.

En comparación con nuestro trabajo, la concentración de ferritina y el IST obtenidos fueron más elevados, si bien hay que tener en cuenta que en el grupo de De Diego no se incluyeron familiares asintomáticos de pacientes con HH sino sólo pacientes remitidos por presentar datos de sobrecarga férrica. Por otra parte, respecto al estudio de factores relacionados con hiperferritinemia secundaria, únicamente se investigó la presencia de hepatitis crónica C y el consumo excesivo de alcohol. No se tuvo en cuenta la posible contribución de otros factores como la esteatosis, procesos inflamatorios o el síndrome metabólico, entre otros, lo que podría haber influido en la determinación de los parámetros investigados. Al comparar sujetos homocigotos H63D con datos de sobrecarga férrica con otros asintomáticos no portadores de la mutación, es razonable que las diferencias resulten significativas, por lo que es difícil generalizar las conclusiones sugeridas por estos autores.

1.2 Resultados de los grupos comparativos:

1.2.1. Homocigotos C282Y:

En comparación con el grupo H63D, los homocigotos C282Y presentaron unos niveles de ferritina e IST más elevados. Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas: Ferritina/IST C282Y: 980/82,7% vs H63D 372/42,5% ($p < 0,001$ en ambos casos).

Este resultado, aún antes de analizar la influencia de otros factores asociados a hiperferritinemia, indica que el condicionante genético de la mutación C282Y en la sobrecarga

férrica, es mucho mayor que el aportado por el polimorfismo H63D. Esta conclusión concuerda con el consenso general establecido en las principales guías de práctica clínica de HH, en las que la mutación C282Y constituye la principal alteración genética asociada a este trastorno (EASL practice guidelines, 2010; Bacon *et al.*, 2011).

Estudios realizados en España como el publicado por Remacha y cols. (Remacha *et al.*, 2006), muestran resultados similares a los nuestros. Dichos autores, analizaron las características de un grupo de 54 pacientes homocigotos H63D, evidenciando un aumento moderado de los parámetros séricos relacionados con el depósito de hierro. Sin embargo, este aumento resultó significativamente menor que el objetivado en el grupo de homocigotos C282Y, y además, en la mayoría de los casos, se identificó la contribución de otros factores asociados a hiperferritinemia secundaria. Al igual que en nuestro trabajo, los sujetos homocigotos H63D que no presentaban dichos factores, apenas mostraron alteraciones en la concentración de ferritina o el IST. Cabe destacar, que la cohorte de pacientes analizada por Remacha y cols fue muy similar a la nuestra, ya que todos los sujetos habían sido remitidos para estudio por presentar datos bioquímicos de sobrecarga férrica o antecedentes familiares de HH.

Recientemente se han publicado nuevas evidencias que apoyan la teoría de que los sujetos homocigotos H63D no presentan mayor riesgo de desarrollar sobrecarga férrica clínicamente significativa (Adams *et al.*, 2014; Kelley *et al.*, 2014). Kelley y colaboradores analizaron de forma retrospectiva una cohorte de 170 individuos portadores homocigotos de esta mutación. En el momento del diagnóstico genotípico, el 28.8% presentaba ferritina elevada (media \pm SD: 501 \pm 829 μ g/L) y el 15.9% aumento del IST. De todos ellos, solo 3 pacientes mostraban además datos de sobrecarga férrica clínicamente significativa.

1.2.2. Pacientes sin mutaciones:

Por su parte, el grupo de pacientes sin mutaciones mostró unos niveles de ferritina superiores a los del grupo H63D (H63D mediana: 302,35 vs 443, $p < 0,001$). El IST sin embargo, resultó ligeramente menor, si bien esta diferencia no alcanzó significación estadística (H63D mediana: 39,18% vs 34,75%). En cualquier caso, puesto que ambos valores se encuentran por debajo del límite alto de la normalidad (<45%), esta diferencia carece también de relevancia clínica.

1.3 Elevación simultánea de ferritina e IST

Dado que diversos procesos inflamatorios, metabólicos y neoplásicos pueden aumentar los valores de ferritina, su especificidad de forma aislada para la detección de HH es baja. Por este motivo, también se analizó el porcentaje de pacientes que en cada grupo cumplía simultáneamente criterios bioquímicos de sobrecarga férrica tanto por aumento del IST ($\geq 45\%$), como de la ferritina ($> 200 \mu\text{g/L}$ en las mujeres o $> 300 \mu\text{g/L}$ en los hombres).

Atendiendo a estos parámetros, en el grupo de homocigotos H63D se identificaron 42 casos (21,9%) que cumplían ambos criterios. De todos ellos, 38 (90,47%) eran hombres y 18 (42,86%) tenían más de 50 años al diagnóstico.

Se objetivaron datos de hipertensión portal en 5 casos, de los cuales 1 fue diagnosticado de hepatopatía crónica por VHC y los otros 4 de cirrosis enólica.

En 31 pacientes, se identificaron otras causas de hiperferritinemia secundaria (73,80%) (tabla 52).

Tabla 15: Número de sujetos homocigotos H63D que presentaban otros factores de riesgo relacionados con hiperferritinemia.

	<i>Número de pacientes</i>
Consumo de alcohol >60 gr/día	10
Hepatitis crónica VHC	4
Esteatosis	22
Síndrome metabólico	6
Porfiria hepato-cutánea	2

(Nota: En algunos casos, coexistían varios factores de forma simultánea, por lo que el recuento final de pacientes resultó 31)

Once pacientes con elevación simultánea de ferritina e IST, no presentaron otros factores predisponentes. De estos, 5 mostraron además, datos de sobrecarga férrica medida mediante resonancia o biopsia hepática:

Tabla 16: *Pacientes con sobrecarga férrica bioquímica y parenquimatosa que no presentaban otros factores asociados a hemosiderosis.*

<i>Paciente 1</i>	Biopsia: Siderosis parenquimatosa leve (grado I). Mínima esteatosis
<i>Paciente 2</i>	Biopsia: Siderosis parenquimatosa zonal periportal grado II/IV
<i>Paciente 3</i>	Resonancia: Hígado normal con pérdida difusa de la señal en secuencia T2 sugestivo de hemocromatosis
<i>Paciente 4</i>	Resonancia: Signos de sobrecarga férrica. Cuantificación 62 $\mu\text{mol/gr}$. No signos de esteatosis.
<i>Paciente 5</i>	Resonancia: Concentración de hierro hepático 214 $\mu\text{mol/gr}$. Hígado de tamaño y morfología normal, sin esteatosis.

Por tanto, en 5 homocigotos H63D (2,6% con respecto al total), se objetivaron datos bioquímicos y parenquimatosos de sobrecarga férrica en ausencia de otras causas de hiperferritinemia secundaria, por lo que en estos pacientes, el condicionante genético de la mutación H63D podría ser el responsable principal de la siderosis. No obstante no se puede descartar la existencia de otros factores genéticos o adquiridos no detectados.

En todos estos casos se inició tratamiento mediante flebotomías periódicas, presentando posteriormente mejoría de los parámetros bioquímicos.

En comparación con los otros grupos, tanto los homocigotos C282Y como los sujetos sin mutaciones, presentaron mayores porcentajes de pacientes con ambos índices alterados, así como de individuos con concentraciones de ferritina superiores a 1000 $\mu\text{g/L}$. Este hecho podría indicar una sobrecarga férrica mayor en estos grupos con respecto a los homocigotos H63D.

De los pacientes sin mutaciones, 36 (25%) mostraron aumento de ferritina e IST según los criterios anteriormente establecidos. Siguiendo el mismo análisis de factores asociados a hiperferritinemia secundaria, en este grupo se identificaron 13 casos en los que la elevación de los parámetros séricos no se pudo correlacionar con la presencia de otras hepatopatías, consumo excesivo de alcohol o esteatosis. De estos, 4 (2,7%) presentaron datos de sobrecarga férrica parenquimatosa en la biopsia o la resonancia hepática.

El porcentaje de pacientes con sobrecarga férrica de causa no identificada en los sujetos sin mutaciones resultó muy similar al objetivado en los homocigotos H63D. La ausencia de diferencias significativas a este respecto plantea la posibilidad de que en este grupo la existencia de otros condicionantes no identificados pueda tener un papel patogénico más relevante que la propia mutación.

2. SOBRECARGA FÉRRICA PARENQUIMATOSA: BIOPSIA HEPÁTICA Y MAGNÉTICA

Con el fin de determinar las implicaciones del aumento de ferritina e IST a nivel histológico, se analizó la información relativa a la concentración parenquimatosa de hierro obtenida mediante biopsia o resonancia magnética con cuantificación de hierro.

Tabla 17: Número de resonancias magnéticas y biopsias realizadas en cada grupo. Número y porcentaje de individuos con sobrecarga férrica histológica.

	<i>Homocigotos H63D</i>	<i>Homocigotos C282Y</i>	<i>Sin mutaciones</i>
Resonancia	78	45	34
Biopsia	28	64	46
Exceso de hierro parenquimatoso	21 (10,93%)	34 (31,19%)	15 (10,41%)

Como era previsible los homocigotos C282Y presentaron un depósito patológico de hierro significativamente mayor que el de los otros 2 grupos, mientras que entre los homocigotos H63D y los sujetos sin mutaciones no se observaron diferencias significativas.

A pesar de que en el grupo sin mutaciones se objetivó una concentración de ferritina más elevada que en los homocigotos H63D, este hecho no tradujo una mayor sobrecarga de hierro a nivel hepático.

2.1. Cirrosis e hipertensión portal

Siete de los 192 portadores homocigotos de la mutación H63D presentaron al diagnóstico datos de hipertensión portal. En 4 de ellos, la causa de la cirrosis se atribuyó al consumo excesivo de alcohol, y en otros 2, al virus de la hepatitis C (uno de ellos presentaba además infección por el VIH y porfiria hepatocutánea). El séptimo paciente presentaba esteatosis hepática y síndrome metabólico, si bien en la biopsia realizada no se describieron datos de esteatohepatitis como causa de la cirrosis. En ningún caso, la hipertensión portal pudo relacionarse exclusivamente con el aumento de ferritina e IST asociado a la mutación H63D.

Tabla 18: Pacientes con datos de HTP en el momento del diagnóstico.

		<i>Datos de HTP</i>		<i>Total</i>
		No	Si	
Grupo	H63D	185	7 (3,64%)	192
	C282Y	106	3 (2,75%)	109
	Sin mutaciones	140	4 (2,77%)	144
Total		433	12	445

No encontramos diferencias estadísticamente significativas en los porcentajes de HTP entre los distintos grupos, si bien el pequeño número de casos podría condicionar la representatividad de los resultados.

Actualmente, gracias a la disponibilidad de los test genéticos, el diagnóstico de HH se realiza en la mayoría de los casos previo al desarrollo de cirrosis e HTP. Por este motivo, el bajo porcentaje de sujetos con HTP objetivado en el estudio, incluso entre los homocigotos C282Y, no resulta sorprendente. En otros trabajos donde se ha estimado la prevalencia de cirrosis en sujetos con HH, los porcentajes resultaron también bajos, situándose entre el 1,9% y el 5,6% en mujeres y hombres respectivamente (Powell *et al.*, 2006; Bell *et al.*, 2000).

3. ESTUDIO DE OTROS FACTORES ASOCIADOS A SOBRECARGA FÉRRICA

3.1. Factores demográficos

3.1.1 Sexo:

-Grupo H63D:

Se objetivó un predominio del sexo masculino en el grupo de sujetos homocigotos para la mutación H63D (75% varones vs 25% mujeres). Este resultado es comparable a los datos publicados en pacientes con diagnóstico cierto de HH en los que la proporción de varones con respecto a las mujeres varía entre una relación de 2:1 a 8:1 (Asberg *et al.*, 2007; Adams *et al.*, 2005).

Por otra parte, los varones homocigotos H63D presentaron unos niveles de ferritina e IST significativamente más elevados que los observados en el grupo de las mujeres (Ferritina: 453 vs 130, $p < 0,001$; IST: 45% vs 35%, $p = 0,002$). Este hecho se objetiva también en los pacientes con HH, donde la sobrecarga férrica y la afectación hepática secundaria al depósito de hierro predomina en el sexo masculino (Adams *et al.*, 2005; Merryweather-Clarke *et al.*, 1997; Crawford *et al.*, 1998; Powell *et al.*, 2006; Allen *et al.*, 2008; Whitlock *et al.*, 2006; Gleeson *et al.*, 2004; Moirand *et al.*, 1997 a; Asberg *et al.*, 2007). Dicha circunstancia se produce a pesar de que las principales mutaciones genéticas asociadas a la HH se distribuyen de forma homogénea entre ambos géneros (Alen *et al.*, 2008). La menor penetrancia o expresividad clínica en las mujeres se ha relacionado con el efecto de los ciclos menstruales y de los embarazos sobre las reservas de hierro (Bacon *et al.*, 2008) y ello posiblemente también haya podido condicionar las diferencias observadas en la muestra de sujetos analizada.

Otros estudios realizados en homocigotos H63D, presentan resultados similares a este respecto (De Diego *et al.*, 2006; Gochee *et al.*, 2002). Así, en el trabajo comentado anteriormente publicado por De Diego y cols (De Diego *et al.*, 2006), los niveles de ferritina también resultaron significativamente superiores en los hombres (826 $\mu\text{g/L}$ vs mujeres: 594 $\mu\text{g/L}$, $p = 0,0157$).

-Comparación con el grupo de homocigotos C282Y y sujetos sin mutaciones

Los varones homocigotos C282Y, mostraron cifras de ferritina e IST significativamente más elevadas que las mujeres (ferritina/IST hombres: 1296/87% vs mujeres 486/75%, $p < 0,001$ y $p = 0,009$ respectivamente). En los sujetos sin mutaciones, las diferencias entre ambos sexos no

resultaron significativas (ferritina/IST hombres: 598/39,3% vs mujeres 582/45,8%, $p=0,9$ y $p=0,3$ respectivamente).

En el estudio comparativo, los homocigotos H63D presentaron proporciones de hombres y mujeres similares a las del grupo sin mutaciones (75% vs 83,3%; $p = 0,065$). Sin embargo, con respecto a los pacientes C282Y el porcentaje de varones resultó significativamente mayor (75% vs 61,5%, $p=0,014$).

Por tanto, a pesar de que los homocigotos C282Y mostraron cifras de ferritina e IST más elevadas que los otros dos grupos, también presentaron un porcentaje significativamente menor de varones. Este hecho sugiere una mayor influencia del componente genético en la sobrecarga férrica de estos pacientes.

3.1.2. Edad:

La edad media de los homocigotos H63D (44.95 años, DS 16.41) resultó similar a la descrita en pacientes con HH. Los grandes estudios poblacionales muestran que el diagnóstico se realiza, en la mayoría de los casos, entre los 40 y los 50 años, si bien la implementación de los estudios genéticos permite la detección cada vez más precoz de individuos asintomáticos.

Los niveles de ferritina resultaron significativamente más elevados en el subgrupo de pacientes con más de 50 años en comparación con los sujetos más jóvenes (≤ 50 : 289 mg/L vs > 50 : 513 mg/L, $p < 0,001$). El IST, no obstante, fue similar en ambas categorías (42,7 vs 42,2; $p = 0,74$).

El aumento de los niveles de ferritina con la edad es un fenómeno ya descrito en estudios previos, por lo que los resultados obtenidos no resultan sorprendentes. Se ha demostrado que la concentración de ferritina aumenta de forma progresiva en los varones desde el final de la adolescencia, y alcanza su máximo valor entre los 30 y los 39 años. Posteriormente, se mantiene más o menos estable hasta la octava década de la vida, momento en el cual comienza a descender. Por su parte, la ferritina en las mujeres permanece en niveles relativamente bajos hasta alcanzar la menopausia, siguiendo a partir de entonces un curso similar al de los varones (Zacharski *et al.*, 2000).

En nuestro trabajo, no se objetivaron diferencias de edad significativas entre el grupo de hombres y mujeres, resultando estas últimas sólo 0.25 años de media más jóvenes (Hombres: 45,01 años vs Mujeres: 44, 77 años, $p= 0,92$). Según las series clásicas, el diagnóstico de HH basado en las manifestaciones clínicas y bioquímicas se realiza aproximadamente 10 años más tarde en las mujeres debido a las pérdidas fisiológicas de hierro durante la edad fértil. En base a esta circunstancia la diferencia de edad observada en nuestro trabajo podría haber sido mayor.

Al analizar detenidamente este resultado, se observó que las mujeres habían sido remitidas en mayor proporción que los hombres por presentar antecedentes familiares de HH (52% vs 21%). Por tanto, el diagnóstico en ellas, fue previo a la aparición de datos clínicos o analíticos de sobrecarga férrica en la mayoría de los casos. Este hecho justificaría que la diferencia de edad entre ambos grupos no fuera significativa y corrobora los resultados de los estudios poblacionales más recientes, en los que la generalización de los test genéticos permite una detección precoz, e iguala la edad al diagnóstico en ambos sexos (Allen-Gurrin *et al.*, 2008).

La edad media de los homocigotos H63D y C282Y fue similar en ambos grupos (44,9 vs 46,2 años, $p=0,51$), mientras que los sujetos sin mutaciones resultaron significativamente mayores en la primera visita (44,9 vs 50,2 años, $p=0,002$). Así pues, observamos cómo en este último grupo, tanto la edad como el mayor porcentaje de varones, contribuyen a la sobrecarga férrica secundaria en ausencia de mutaciones genéticas asociadas HH.

3.1.3. Grupo de procedencia

Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron seleccionados por presentar datos de sobrecarga férrica o antecedentes familiares de HH. Esta variable podría actuar como factor de confusión si no estuviera distribuida de forma equitativa en todos los grupos. Debido a ello, además, se estratificaron los principales resultados según el motivo de derivación a la consulta con el fin de detectar diferencias significativas a este respecto.

Los homocigotos H63D que presentaban antecedentes familiares de hemocromatosis, mostraron unos valores de ferritina e IST menores que aquellos remitidos por sobrecarga férrica (Ferritina: 138,22 vs 463,57 $p<0,001$; IST: 44,01 vs 38,61 $p>0,05$). La distribución de esta variable fue similar tanto en el grupo de homocigotos H63D como en el C282Y ($p= 0,57$) (tabla 56).

Tabla 19: Porcentaje de pacientes incluidos según el motivo de consulta inicial

<i>Motivo de derivación</i>	<i>H63D</i>	<i>C282Y</i>	<i>Sin mutaciones</i>
Sobrecarga férrica	138 (71,9%)	75 (68,8%)	138 (95,8%)
Antecedentes familiares	54 (28,1%)	34 (31,2%)	54 (28,1%)

Como era de esperar, la mayoría de los pacientes sin alteraciones genéticas fueron estudiados por presentar datos analíticos de sobrecarga férrica. Las diferencias con respecto a los homocigotos H63D resultaron significativas ($p < 0,001$). Este hecho podría contribuir a la mayor concentración de ferritina e IST objetivada en los sujetos sin mutaciones.

3.2. Otros factores asociados a hiperferritinemia

El aumento de ferritina, con frecuencia es secundario a ciertas patologías o condiciones que elevan su concentración plasmática. Entre ellas, el consumo de alcohol, el síndrome metabólico, las enfermedades hepáticas crónicas, la inflamación o el exceso de hierro parenteral son las causas más frecuentes. Por este motivo, se analizó la presencia y distribución de estos factores, con el fin de valorar su repercusión en los resultados obtenidos.

3.2.1. Factores de riesgo cardiovascular y síndrome metabólico

Diversos estudios han demostrado la relación existente entre el síndrome metabólico y el aumento de los niveles de ferritina (Park *et al.*, 2012; Jehn *et al.*, 2004; Bozzini *et al.*, 2005).

En nuestro estudio, 18 pacientes del grupo H63D (9,4%) cumplieron criterios de síndrome metabólico. Este se definió de acuerdo con lo establecido por la Federación internacional de Diabetes en el consenso de 2006 (obesidad central más 2 o más de los siguientes factores de riesgo cardiovascular: hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, HTA y/o diabetes).

Los pacientes con diagnóstico de síndrome metabólico, presentaron niveles de ferritina más elevados (mediana: 454,20 vs 280,05; $p=0,024$). Sin embargo, no se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en el IST, que resultó en ambos grupos (con y sin síndrome metabólico) inferior al 45% (tabla 57). Esto concuerda con los estudios publicados previamente, que establecen una correlación positiva entre los niveles de ferritina y el síndrome metabólico. Los valores normales de IST sugieren que esta asociación, probablemente, no traduce una verdadera sobrecarga de hierro.

Tabla 20: Diferencias entre los valores de ferritina e IST entre los homocigotos H63D con y sin diagnóstico de síndrome metabólico

		<i>IST</i>	<i>Ferritina</i>	<i>Significación estadística</i>
No	Media	42,85	361,11	Ferritina: $p=0,024$
	N	136	136	
	Desv. típ.	19,35	392,07	
	Mediana	40,35	280,05	
SÍ	Media	38,17	510,99	IST: $p=0,802$
	N	18	18	
	Desv. típ.	14,29	397,96	
	Mediana	38,38	454,20	

Otros autores han demostrado que los factores de riesgo cardiovascular, de forma aislada, también se asocian con un aumento de la concentración de ferritina. Concretamente, los pacientes con hipertensión arterial (Pipperno *et al.*, 2002), resistencia a la insulina (Sheu *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2011), diabetes mellitus (Ford *et al.*, 1999; Shi *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2006) y obesidad (Gillum *et al.*, 2001) presentan cifras más elevadas que los sujetos sanos, circunstancia que podría estar relacionada con la lesión celular secundaria al estrés oxidativo y la inflamación crónica.

Individualmente, los porcentajes de prevalencia de los distintos factores de riesgo cardiovascular (FRCV) en pacientes homocigotos H63D, resultaron en general más bajos que los comunicados para la población española. Esta afirmación se basa en los datos obtenidos por Gabriel y cols. en el estudio poblacional publicado en 2008, que incluía un total de 19.729 sujetos (Gabriel *et al.*, 2008). Según este trabajo, los FRCV más frecuentes en España son la hipercolesterolemia (colesterol total > 200 mg/dl, 46,7%), la hipertensión arterial (37,6%), el

tabaquismo (32,2%), la obesidad (22,8%) y la diabetes mellitus (6,2%). No obstante, observaron variaciones geográficas significativas entre las regiones del norte y centro de España (áreas de menor prevalencia) con respecto al sur y la cuenca Mediterránea.

Tabla 21: prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular en el grupo de pacientes H63D

	<i>Pacientes homocigotos H63D</i>	<i>Población española</i>
HTA	18,28%	37,6%
Diabetes Mellitus	12,9%	6,2%
Hipercolesterolemia	25,53%	46,7%
Obesidad	18,2%	22,8%

Como se observa en la tabla, a excepción de la DM tipo II, la proporción de pacientes con FRCV en nuestro estudio resultó menor. Este hecho podría estar relacionado con las variaciones geográficas anteriormente mencionadas, ya que la muestra de pacientes analizados pertenece en su mayoría a una región de baja prevalencia (área central, Comunidad de Madrid).

Por su parte, los 3 grupos (H63D, C282Y y sujetos sin mutaciones) presentaron un índice de masa corporal muy similar (26.8, 26.2 y 27.2 Kg/m², $p < 0,05$), mientras que el colesterol total resultó más elevado en los pacientes sin mutaciones (216,4 vs 191,9 mg/dL en los pacientes H63D, $p < 0,001$). Al igual que vimos en el caso de la edad y el sexo, este resultado indica que los mayores niveles de ferritina objetivados en estos sujetos, pueden justificarse por una mayor prevalencia de factores asociados a sobrecarga férrica secundaria.

3.2.2-Hepatopatías crónicas

El exceso de hierro depositado en los pacientes con diagnóstico de hepatopatía crónica de cualquier origen, contribuye a la lesión hepatocitaria y acelera la progresión de la fibrosis. Factores relacionados con el metabolismo del hierro, su liberación procedente de la necrosis de los hepatocitos y alteraciones en la función reguladora de la hepcidina, son mecanismos comunes que conducen a la sobrecarga férrica independientemente de la etiología de la cirrosis.

En el grupo H63D no se objetivó ningún caso de hepatitis crónica B, pero sí 9 de infección por el virus de la hepatitis C, 1 caso de esteatohepatitis no alcohólica, 1 déficit de alfa-1-antitripsina, 5 pacientes con hepatopatía de origen enólico y 6 con porfiria cutánea tarda (3 de los cuales también fueron diagnosticados de hepatitis C).

Los 19 pacientes portadores de otras hepatopatías (9,8%), presentaron niveles de ferritina e IST mayores que el resto de sujetos de su grupo (tabla 59). Este resultado es compatible con lo anteriormente expuesto acerca de la siderosis asociada a estas patologías.

Tabla 22: *Pacientes homocigotos H63D con diagnóstico adicional de otras hepatopatías crónicas*

<i>Otras hepatopatías</i>	<i>Ferritina</i>	<i>IST</i>
No	329 mg/dL	40,7%
VHC	624 mg/dL	41,7%
Porfiria	651 mg/dL	63,1%
Alcohólica	1171 mg/dL	82,1%

En el grupo de homocigotos C282Y, 3 pacientes fueron diagnosticados de infección crónica por el VHC (uno de ellos además, de porfiria cutánea tarda), 2 de cirrosis enólica y 1 de déficit de alfa-1-antitripsina. En total 6 pacientes, lo que supone un 5,5% del total, porcentaje algo inferior, aunque sin diferencias estadísticas relevantes, con respecto a los homocigotos H63D.

Los sujetos sin mutaciones, sin embargo, presentaron un porcentaje significativamente mayor de otras hepatopatías (26 casos, 18,5%), lo que confirma el origen secundario de la siderosis en estos casos.

3.2.3-Consumo de alcohol

El consumo excesivo de alcohol es una causa frecuente de hiperferritinemia. El estrés oxidativo, la peroxidación lipídica y la disminución de la expresión de hepcidina entre otros factores, contribuyen a la siderosis y secundariamente aceleran el proceso de lesión hepática.

Los homocigotos H63D consumidores de más de 60 gr de alcohol al día, presentaron cifras significativamente más elevadas de ferritina (663 vs 336, $p=0,004$) e IST (58,0% vs 40,7%, $p=0,024$). Como vemos, los pacientes no bebedores presentaron un IST normal y una concentración de ferritina media próxima al límite. Este resultado sugiere que la sobrecarga férrica en estos pacientes se ve significativamente influenciada por la presencia de otros factores, sin que el efecto de la alteración genética tenga probablemente un papel determinante.

Por otra parte, en los homocigotos C282Y se observa el fenómeno contrario: los niveles de ferritina e IST no presentan diferencias estadísticamente significativas en función del consumo de alcohol (ferritina 964 vs 1153, $p=0,13$; IST 83,7% vs 77%, $p=0,35$ respectivamente). Por tanto, la contribución de esta mutación a la sobrecarga férrica parece ser mayor que en el grupo H63D.

3.2.4-Esteatosis

Los sujetos con enfermedad por hígado graso no alcohólica (NAFLD), presentan frecuentemente elevaciones moderadas de los niveles de ferritina (Sebastiani *et al.*, 2006; Bonkovsky *et al.*, 1999). Sin embargo, cuando esta elevación también se asocia a un aumento del IST, es recomendable investigar la presencia de mutaciones asociadas a HH (Bacon *et al.*, 2012). Algunos estudios, además sugieren que los valores de ferritina actúan como predictores independientes de fibrosis avanzada y progresión histológica en estos casos (Kowdly *et al.*, 2012).

Bonkovsky y cols. objetivaron una mayor prevalencia de mutaciones del gen HFE en los pacientes con esteatohepatitis no alcohólica (NASH) (Bonkovsky *et al.*, 1999). Los sujetos con NASH, que además eran homocigotos o heterocigotos H63D y/o C282Y, presentaron niveles de ferritina, hierro y saturación de transferrina significativamente más elevados que los pacientes sin alteraciones genéticas. Sin embargo, no hallaron diferencias significativas en cuanto a la

concentración intraparenquimatosa de hierro o los índices de hierro hepáticos. Estudios posteriores, sugieren que la presencia de mutaciones asociadas al gen HFE no confieren un mayor riesgo de fibrosis hepática en este tipo de pacientes (Chituri *et al.*, 2002).

En nuestro trabajo, el 41,6% de los homocigotos H63D (79 pacientes) presentaron datos de esteatosis diagnosticada mediante técnicas de imagen o biopsia hepática. Sólo 9 de ellos referían un consumo de alcohol superior a 60 gr diarios.

Los niveles de ferritina resultaron significativamente más elevados en los sujetos con esteatosis (447 vs 321, $p=0,004$), mientras que el IST no varió de forma significativa (41,7 vs 43,8 $p=0,45$). Este resultado contribuye a reforzar la idea de que la presencia de la mutación H63D en ambos alelos del gen HFE, no justifica por sí sola el desarrollo de sobrecarga férrica significativa, y que en los casos en que esta se produce, es imprescindible investigar la contribución de otros cofactores.

Al comparar el porcentaje de esteatosis en el grupo H63D con los sujetos sin mutaciones, observamos diferencias estadísticamente significativas a favor de una mayor prevalencia de hígado graso en el segundo grupo (Sin mutaciones: 60,1% vs H63D 41,6% $p=0,002$) (tabal 60).

Tabla 23: Valores de ferritina e IST estratificados en función de la presencia de esteatosis hepática

		<i>Homocigotos H63D</i>	<i>%</i>	<i>Sin mutaciones</i>	<i>%</i>
Esteatosis	SI	Ferritina 447	41,6%	Ferritina 677	60,1%
		IST 43,8%		IST 37,2%	
	NO	Ferritina 321	58,4%	Ferritina 481	39,9%
		IST 41,7%		IST 45,6%	

Con respecto a los homocigotos C282Y, la prevalencia de esteatosis fue comparable a la del grupo H63D (C282Y 33,3% vs H63D 41,6%, $p=0,48$). En este caso, los niveles de ferritina e IST no presentaron diferencias significativas en función de la presencia o no de esteatosis

(C282Y con esteatosis: ferritina 887, IST 82,2 ; sin esteatosis: ferritina 1178, IST 83,7 p=0,15 y p=0,76 respectivamente).

Estos resultados apoyan las conclusiones obtenidas anteriormente en relación con una mayor influencia de factores asociados a hiperferritinemia secundaria en los pacientes no portadores de la mutación C282Y.

3.2.5-Inflamación

Se denominan reactantes de fase aguda a las proteínas séricas cuya concentración aumenta o disminuye al menos un 25% durante los estados proinflamatorios (Kushner *et al.*, 1982, Raynes *et al.*, 1994). La ferritina, a través de la regulación ejercida por la hepcidina, se eleva en estas situaciones que, por su frecuencia, constituyen una de las principales causas de hiperferritinemia. Algunos autores incluso han investigado su utilidad a la hora de diferenciar entre enfermedades infecciosas y no infecciosas en los pacientes con fiebre de origen desconocido (Kim *et al.*, 2013).

No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en los valores de ferritina o IST al estratificar los resultados del grupo H63D en función de los niveles de proteína C reactiva (Ferritina: 364 vs 388 e IST: 41,8% vs 44,6% en los pacientes con PCR < 12 o > 12 mg/dl respectivamente). El mismo resultado se obtuvo en el grupo de homocigotos C282Y y en los sujetos sin alteraciones genéticas. Por tanto parece poco probable que la inflamación actúe como factor de confusión en nuestro estudio.

4. SIGNOS Y SÍNTOMAS

Hoy en día la mayoría de los casos de HH se diagnostican en el contexto de estudios realizados por alteraciones de la bioquímica hepática o en sujetos con antecedentes familiares de hemocromatosis. La triada clásica de diabetes, cirrosis e hiperpigmentación cutánea es muy infrecuente en la actualidad (Adams *et al.*, 1991; Bacon *et al.*, 1997).

En nuestro trabajo se analizó la información relativa a los síntomas y signos referidos en la valoración inicial de todos los pacientes. La astenia y las artralgias fueron las manifestaciones más frecuentes, si bien la inespecificidad de estos hallazgos disminuye su relevancia clínica y dificulta su interpretación.

Otros estudios muestran resultados similares, siendo la astenia, el dolor abdominal, las artralgias y la disminución de la libido los síntomas más habituales (Milder *et al.*, 1980; Edwards *et al.*, 1980; Niderau *et al.*, 1985).

Con respecto a la exploración física, la hepatomegalia y la hiperpigmentación cutánea constituyen hallazgos relativamente frecuentes en los estudios clásicos. Trabajos posteriores muestran que hasta el 75% de los pacientes que son identificados por presentar alteraciones bioquímicas o antecedentes familiares de HH se encuentran asintomáticos al diagnóstico (Bacon *et al.*, 2011).

En nuestro trabajo, solo un pequeño porcentaje de pacientes mostraron signos típicamente relacionados con esta entidad. Por ejemplo, en el grupo H63D solo 2 individuos (1,1%) presentaron hiperpigmentación cutánea, y en ambos casos el diagnóstico se realizó con más de 65 años. En los homocigotos C282Y la prevalencia de manifestaciones clínicas fue mayor, existiendo diferencias significativas en varios de los parámetros analizados (hepatomegalia, hiperpigmentación cutánea, disminución de la libido y dolor abdominal). Estos resultados corroboran la existencia de una mayor sobrecarga férrica en este grupo, si bien, la subjetividad y la influencia de factores adicionales en la caracterización de algunas de estas manifestaciones hacen poco valorables las conclusiones a este respecto.

5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

5.1-Selección de la muestra de pacientes

Todos los pacientes incluidos fueron remitidos para estudio por presentar antecedentes familiares de hemocromatosis hereditaria o datos clínico-analíticos de sobrecarga férrica.

De este hecho se derivan 2 consecuencias importantes. Por un lado, los valores de ferritina e IST son más elevados que los que se hubieran obtenido al seleccionar a los homocigotos H63D de una muestra poblacional asintomática. Por otra parte, las conclusiones obtenidas solo pueden ser extrapoladas a una población de referencia de similares características, es decir, formada por sujetos que presenten alteraciones del perfil hepático o antecedentes familiares de hemocromatosis. Como se expuso anteriormente, al no estar recomendado el cribado poblacional de forma sistemática, es muy improbable encontrar sujetos portadores de mutaciones del gen HFE fuera de estos dos contextos. Por esta razón, los resultados del estudio tienen utilidad práctica, ya que dan respuesta a situaciones clínica habituales.

Otros trabajos realizados en población no seleccionada, muestran resultados similares a los nuestros. Jackson y colaboradores analizaron 10556 muestras procedentes de donantes de sangre, identificando a 249 homocigotos H63D. Estos pacientes mostraban niveles elevados de ferritina y saturación de la transferrina, pero, en comparación con los donantes sin mutaciones, no presentaron un riesgo significativamente mayor de sobrecarga férrica (Jackson *et al.*, 2006).

Al realizar el análisis por subgrupos según la procedencia de los pacientes, objetivamos que aquellos con antecedentes familiares de HH eran significativamente más jóvenes y presentaban niveles de ferritina e IST más bajos que el resto de sujetos. Este grupo, en su mayoría constituido por sujetos asintomáticos, contribuye a que el grado de sobrecarga férrica objetivado de forma global en los homocigotos H63D sea menor que el de los pacientes con estudio genético negativo. Estos últimos, presentaban en su mayoría manifestaciones clínicas o analíticas de sobrecarga férrica.

5.2.- Diseño del estudio

A este respecto, hay que tener presente que no se trata de un ensayo clínico aleatorizado. Esto limita la validez interna de los resultados, ya que los estudios de intervención son los que ofrecen un mayor control sobre posibles sesgos y errores. No obstante, en nuestro caso, la aleatorización de la variable principal no es factible al tratarse de una alteración genética. Se ha intentado disminuir al máximo el efecto de los posibles factores de confusión estratificando y analizando los resultados en función de determinadas variables modificadoras de efecto.

5.3.-Ausencia de seguimiento

El seguimiento de la evolución natural de los sujetos estudiados podría haber aportado información acerca del riesgo de desarrollar sobrecarga férrica significativa a lo largo del tiempo en función del genotipo. Sin embargo, consideraciones éticas impiden analizar este aspecto una vez identificados todos aquellos factores modificables asociados a hiperferritinemia. En los casos en los que el exceso de hierro persistía a pesar de dichas modificaciones o cuando este se asociaba a un componente genético insoslayable (homocigotos C282Y), se indicó la realización de sangrías.

5.4.-Otras mutaciones no investigadas

Si bien la hemocromatosis hereditaria clásica o tipo I asociada a mutaciones del gen HFE es la variante genética más frecuente, alteraciones en otros genes pueden condicionar una sobrecarga de hierro patológica.

En nuestro estudio, el papel de otras mutaciones relacionadas con la HH no ha sido determinado. Concretamente, no ha sido posible realizar el análisis de las mutaciones del gen de la hemojuvelina, la hepcidina, el receptor de la transferrina tipo 2 o la ferroportina, ya que su determinación solo está disponible en centros de referencia. En los 2 primeros casos (hemojuvelina y hepcidina), las alteraciones genéticas dan lugar a una forma especialmente grave de hemocromatosis, denominada variante Juvenil o HH tipo II. Se trata un subtipo rápidamente progresivo que se manifiesta en la segunda o tercera década de la vida. Si no es

detectado precozmente, la pacientes fallecen en la mayoría de los casos por un fallo cardiaco congestivo antes de alcanzar los 30 años. Tras analizar las características de los sujetos incluidos en el grupo de homocigotos H63D, no hay datos, a priori, que sugieran la presencia de esta variante específica. En consecuencia, el no haber podido realizar su determinación, probablemente no tenga relevancia a la hora de interpretar los resultados.

Por otra parte, la HH asociada a la alteración del receptor de la transferrina tipo 2 (también llamada HH tipo III) y la enfermedad de la ferroportina (HH tipo IV), son trastornos infrecuentes que no obstante pueden dar lugar a situaciones clínicas superponibles a la HH clásica. Sin embargo, estas dos entidades presentan características específicas que hacen poco probable su participación en nuestro trabajo. En el caso de la ferroportina, el patrón de herencia es autosómico dominante y se caracteriza por hiperferritinemia de instauración temprana (ya desde la primera década de la vida) con valores normales o bajos de IST. Por su parte, la HH tipo 3, se asocia a la mutación del gen TfR2 localizado en el brazo corto del cromosoma 7, y aunque presenta un patrón de distribución mundial, la mayoría de los casos han sido descritos en Italia.

Por último, la sustitución de cisteína por serina en la posición 65 del gen HFE (S65C), constituye un polimorfismo infrecuente, que se relaciona con hemosisiderosis sólo cuando se asocia de forma simultánea a la mutación C282Y. Por este motivo, aunque no haya sido determinada específicamente en nuestro estudio, la exclusión de los heterocigotos C282Y, descarta también la participación de la mutación S65C como causa de sobrecarga férrica en los 3 grupos estudiados.

A pesar de todo lo anterior, el hecho de que en un pequeño porcentaje de pacientes sin mutaciones no fuera posible identificar el origen de la hiperferritinemia, sugiere la existencia de otros determinantes genéticos y/o factores adquiridos no detectados. Esta consideración es extensible al grupo de homocigotos H63D que no se vería exento del efecto de estos condicionantes no investigados.

6. CONSIDERACIONES FINALES

Entre el 80 y el 85% de los pacientes diagnosticados de HH son portadores de la mutación C282Y en ambos alelos del gen HFE. Un pequeño porcentaje, sin embargo, son heterocigotos compuestos, hecho que suscita la posibilidad de que la mutación H63D aumente de forma independiente el riesgo de sobrecarga férrica. Así, al igual que los homocigotos C282Y presentan una susceptibilidad genética que condiciona el depósito en exceso de hierro en el organismo, se podría esperar el mismo efecto en aquellos sujetos portadores del polimorfismo H63D/H63D. Este planteamiento constituye el eje principal de nuestra investigación.

Las diferencias metodológicas observadas entre los estudios publicados acerca de este tema, limitan la generalización de las conclusiones, que, en ocasiones, resultan contradictorias. Las principales fuentes de variabilidad las constituyen el origen de la muestra de pacientes y el análisis de factores asociados a hiperferritinemia. Los trabajos de base poblacional, presentan los mayores tamaños muestrales, pero debido a ello, el estudio de condicionantes no genéticos de sobrecarga férrica es limitado. Nuestra investigación sin embargo, incluye una de las series más extensas realizadas con pacientes homocigotos H63D, aportando además un análisis exhaustivo de los posibles factores de confusión.

Tras el análisis de los datos obtenidos, la comparación de los mismos con otros grupos relacionados (homocigotos C282Y y sujetos sin mutaciones), y el estudio de la posible influencia de otros condicionantes externos, los resultados de nuestro estudio sugieren que los sujetos homocigotos H63D presentan concentraciones de ferritina elevadas, si bien, este hecho no supone mayor riesgo de desarrollar sobrecarga férrica clínicamente significativa en ausencia de otros factores predisponentes.

X. CONCLUSIONES

Los resultados del estudio sugieren que:

1. La mutación C282Y es el principal condicionante genético de sobrecarga férrica.
2. La sobrecarga férrica asociada a la homocigosis C282Y no varía significativamente ante la presencia de otros factores relacionados con hiperferritinemia secundaria.
3. La mutación H63D en ambos alelos del gen HFE se asocia a un aumento progresivo de la concentración de ferritina.
4. En un 21.9% (42) de los pacientes homocigotos H63D se demuestran parámetros *bioquímicos* compatibles con sobrecarga férrica. No obstante, solo en el 26.19% (11) de éstos no existen otras causas que justifiquen la elevación, lo que equivale al 5.72% del total de los pacientes H63D.
5. Sólo el 50% de los pacientes con signos bioquímicos de sobrecarga férrica y sin factores predisponentes añadidos, demuestran signos de sobrecarga férrica parenquimatosa cuantificada mediante RM
6. En un 2.6% de los pacientes homocigotos H63D se detecta un aumento de la concentración de hierro *parenquimatoso* a nivel hepático en ausencia de otras causas de hiperferritinemia secundaria, pero solo en el 1.04% dicha sobrecarga cumple criterios de HH.
7. Por tanto, en los pacientes homocigotos H63D que presentan datos analíticos o histológicos de sobrecarga sistémica de hierro, debe investigarse en primer lugar la existencia de otros factores asociados a hiperferritinemia.
8. El consumo excesivo de alcohol, la esteatosis, otras hepatopatías crónicas como la porfiria o la hepatitis C y el síndrome metabólico, se asocian a hiperferritinemia secundaria tanto en los homocigotos H63D como en los sujetos sin mutaciones.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. **Adams** PC, Kertesz AE, Valberg LS. Clinical presentation of hemochromatosis: a changing scene. *Am J Med.* 1991;90:445-9
2. **Adams** PC. Implications of genotyping of spouses to limit investigation of children in genetic hemochromatosis. *Clin Genet.* 1998;53:176-8
3. **Adams** P, Brissot P, Powell LW. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol.* 2000;33:485-504
4. **Adams** PC, Reboussin DM, Barton JC, McLaren CE, Eckfeldt JH, McLaren GD, Dawkins FW, Acton RT, Harris EL, Gordeuk VR, Leiendecker-Foster C, Speechley M, Snively BM, Holup JL, Thomson E, Sholinsky P; Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) Study Research Investigators. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population. *N Engl J Med.* 2005;352:1769-78
5. **Adams** PC, Reboussin DM, Press RD, Barton JC, Acton RT, Moses GC, Leiendecker-Foster C, McLaren GD, Dawkins FW, Gordeuk VR, Lovato L, Eckfeldt JH. Biological variability of transferrin saturation and unsaturated iron-binding capacity. *Am J Med.* 2007;120:1-7
6. **Adams** PC. The natural history of untreated HFE-related hemochromatosis. *Acta Haematol.* 2009;122:134-9
7. **Adams** PC, Barton JC. How I treat hemochromatosis. *Blood.* 2010;116:317-25
8. **Adams** P. Iron overload states. En J. S. Dooley, A. Lok, A. Burroughs, E. J. Heathcote eds. *Sherlock's Diseases of the liver and biliary system*, Twelfth Edition. Blackwell Publishing Ltd. 2011. P 521-531
9. **Adams** PC. H63D genotyping for hemochromatosis: Helper or hindrance? *Can J Gastroenterol Hepatol.* 2014;28:179-80
10. **Adhoute** X, Foucher J, Laharie D, Terrebonne E, Vergniol J, Castéra L, Lovato B, Chanteloup E, Merrouche W, Couzigou P, de Ledinghen V. Diagnosis of liver fibrosis using FibroScan and other noninvasive methods in patients with hemochromatosis: a prospective study. *Gastroenterol Clin Biol.* 2008;32:180-7

-
11. **Aguilar-Martinez P**, Bismuth M, Picot MC *et al.* Variable phenotypic presentation of iron overload in H63D homozygotes: are genetic modifiers the cause? *Gut* 2001; 48: 836–42
 12. **Aigner E**, Theurl I, Theurl M, Lederer D, Haufe H, Dietze O, Strasser M, Datz C, Weiss G. Pathways underlying iron accumulation in human nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:1374-83
 13. **Alberti KG**, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome--a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med.* 2006;23:469-80
 14. **Allen KJ**, Gurrin LC, Constantine CC, Osborne NJ, Delatycki MB, Nicoll AJ, McLaren CE, Bahlo M, Nisselle AE, Vulpe CD, Anderson GJ, Southey MC, Giles GG, English DR, Hopper JL, Olynyk JK, Powell LW, Gertig DM. Iron-overload-related disease in HFE hereditary hemochromatosis. *N Engl J Med.* 2008;358:221-30
 15. **Allen KJ**, Bertalli NA, Osborne NJ, Constantine CC, Delatycki MB, Nisselle AE, Nicoll AJ, Gertig DM, McLaren CE, Giles GG, Hopper JL, Anderson GJ, Olynyk JK, Powell LW, Gurrin LC; HealthIron Study Investigators. HFE Cys282Tyr homozygotes with serum ferritin concentrations below 1000 microg/L are at low risk of hemochromatosis. *Hepatology.* 2010;52:925-33
 16. **Altes A**, Ruiz A, Barceló MJ, Remacha AF, Puig T, Maya AJ, Castell C, Amate JM, Saz Z, Baiget M. Prevalence of the C282Y, H63D, and S65C mutations of the HFE gene in 1,146 newborns from a region of Northern Spain. *Genet Test.* 2004;8:407-10
 17. **Alvarez S**, Mesa MS, Bandrés F, Arroyo E. C282Y and H63D mutation frequencies in a population from central Spain. *Dis Markers.* 2001;17:111-4
 18. **Andersen RV**, Tybjaerg-Hansen A, Appleyard M, Birgens H, Nordestgaard BG. Hemochromatosis mutations in the general population: iron overload progression rate. *Blood.* 2004;103:2914-9
 19. **Andrews NC.** Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med.* 1999;341:1986-95
 20. **Angulo P.** Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med.* 2002;346:1221-31

21. **Asasa-Senju** M, Maeda T, Sakata T, Hayashi A, Suzuki T. Molecular analysis of the transferrin gene in a patient with hereditary hypotransferrinemia. *J Hum Genet* 2002; 47: 355-9
22. **Åsberg** A, Hveem K, Thorstensen K, Ellekjaer E, Kannelønning K, Fjøsne U, Halvorsen T. B, *et al.* Screening for hemochromatosis: high prevalence and low morbidity in an unselected population of 65,238 persons. *Scand J Gastroenterol.* 2001;36:1108-15
23. **Åsberg** A, Hveem K, Kannelønning K, Irgens WØ. Penetrance of the C282Y/C282Y genotype of the HFE gene. *Scand J Gastroenterol.* 2007;42:1073-7
24. **Bacon** BR, Sadiq SA. Hereditary hemochromatosis: presentation and diagnosis in the 1990s. *Am J Gastroenterol.* 1997;92:784-9
25. **Bacon** BR, Adams PC, Kowdley KV, Powell LW, Tavill AS; American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2011;54:328-43
26. **Baiget** M, Barceló MJ, Gimferrer E. Frequency of the HFE C282Y and H63D mutations in distinct ethnic groups living in Spain. *J Med Genet.* 1998;35:701
27. **Baker** JA, Cohen M. Development of hemosiderosis after side-to-side portacaval shunting. *Gastroenterology.* 1972;63:491-4
28. **Barbaro** G, Di Lorenzo G, Ribersani M, Soldini M, Giancaspro G, Bellomo G, *et al.* Serum ferritin and hepatic glutathione concentrations in chronic hepatitis C patients related to the hepatitis C virus genotype. *J Hepatol* 1999;30:774– 82
29. **Bardou-Jacquet** E, Lainé F, Morcet J, Perrin M, Guyader D, Deugnier Y. Long-term course after initial iron removal of iron excess in patients with dysmetabolic iron overload syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2014;26:418-21
30. **Barton** JC. Chelation therapy for iron overload. *Curr Gastroenterol Rep.* 2007;9:74-82
31. **a. Barton** JC, Leiendecker-Foster C, Reboussin DM, Adams PC, Acton RT, Eckfeldt JH; Hemochromatosis and Iron Overload Screening Study Research Investigators. Thyroid-

- stimulating hormone and free thyroxine levels in persons with HFE C282Y homozygosity, a common hemochromatosis genotype: the HEIRS study. *Thyroid*. 2008;18:831-8
32. **b. Barton** JC. Ferritin > 1000: grand for hemochromatosis screening? *Blood*. 2008;111:3309
33. **Barton** JC, Barton JC, Acton RT, So J, Chan S, Adams PC. Increased risk of death from iron overload among 422 treated probands with HFE hemochromatosis and serum levels of ferritin greater than 1000 µg/L at diagnosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2012;10:412-6
34. **Beaton** M, Guyader D, Deugnier Y, Moirand R, Chakrabarti S, Adams P. Noninvasive prediction of cirrhosis in C282Y-linked hemochromatosis. *Hepatology*. 2002;36:673-8
35. **Bekri** S, Gual P, Anty R, Luciani N, Dahman M, Ramesh B, Iannelli A, Staccini-Myx A, Casanova D, Ben Amor I, Saint-Paul MC, Huet PM, Sadoul JL, Gugenheim J, Srai SK, Tran A, Le Marchand-Brustel Y. Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH. *Gastroenterology*. 2006;131:788-96
36. **Bell** H, Berg JP, Undlien DE, Distant S, Raknerud N, Heier HE, Try K, Thomassen Y, Haug E, Raha-Chowdhury R, Thorsby E. The clinical expression of hemochromatosis in Oslo, Norway. Excessive oral iron intake may lead to secondary hemochromatosis even in HFE C282Y mutation negative subjects. *Scand J Gastroenterol*. 2000;35:1301-7
37. **Beutler** E, Gelbart T, Lee P, Trevino R, Fernandez MA, Fairbanks VF. Molecular characterization of a case of atransferrinemia. *Blood* 2000; 96: 4071-4
38. **Beutler** E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G--> A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet*. 2002;35:211-8
39. **Beutler** E, Barton JC, Felitti VJ, Gelbart T, West C, Lee PL, Waalen J, Vulpe C. Ferroportin 1 (SCL40A1) variant associated with iron overload in African-Americans. *Blood Cells Mol Dis*. 2003;31:305-9

40. **Bezançon** F, De Gennes L, Delarue J, Oumensky D. Cirrhosis pigmentaire avec infantilisme et insuffisance cardiaque et aplasies endocriniennes multiples. Bull Mém Soc Méd Hop Paris 1932; 48: 967-74
41. **Bonkovsky** HL, Jawaid Q, Tortorelli K, LeClair P, Cobb J, Lambrecht RW, Banner BF. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. J Hepatol. 1999;3:421-9
42. **Bonkovsky** HL, Naishadham D, Lambrecht RW, Chung RT, Hoefs JC, Nash SR, Rogers TE, Banner BF, Sterling RK, Donovan JA, Fontana RJ, Di Bisceglie AM, Ghany MG, Morishima C; HALT-C Trial Group. Roles of iron and HFE mutations on severity and response to therapy during retreatment of advanced chronic hepatitis C. Gastroenterology. 2006;131:1440-51
43. **Borot** N, Roth M, Malfroy L, Demangel C, Vinel JP, Pascal JP, Coppin H. Mutations in the MHC class I-like candidate gene for hemochromatosis in French patients. Immunogenetics. 1997;45:320-4
44. **Bozzini** C, Girelli D, Olivieri O, Martinelli N, Bassi A, De Matteis G, Tenuti I, Lotto V, Friso S, Pizzolo F, Corrocher R. Prevalence of body iron excess in the metabolic syndrome. Diabetes Care. 2005;28:2061-3
45. **Bralet** MP, Régimbeau JM, Pineau P, Dubois S, Loas G, Degos F, Valla D, Belghiti J, Degott C, Terris B. Hepatocellular carcinoma occurring in nonfibrotic liver: epidemiologic and histopathologic analysis of 80 French cases. Hepatology. 2000;32:200-4
46. **Brandhagen** DJ, Fairbanks VF, Baldus WP, Smith CI, Kruckeberg KE, Schaid DJ, Thibodeau SN. Prevalence and clinical significance of HFE gene mutations in patients with iron overload. Am J Gastroenterol. 2000;95:2910-4
47. **Bridle** K, Cheung TK, Murphy T, Walters M, Anderson G, Crawford DG, Fletcher LM. Hepsidin is down-regulated in alcoholic liver injury: implications for the pathogenesis of alcoholic liver disease. Alcohol Clin Exp Res. 2006;30:106-12
48. **Bring** P, Partovi N, Ford JA, Yoshida EM. Iron overload disorders: treatment options for patients refractory to or intolerant of phlebotomy. Pharmacotherapy. 2008;28:331-42

49. **Brunt** EM, Olynyk JK, Britton RS, Janney CG, Di Bisceglie AM, Bacon BR. Histological evaluation of iron in liver biopsies: relationship to HFE mutations. *Am J Gastroenterol.* 2000;95:1788-93
50. **Burke** W, Thomson E, Khoury MJ, McDonnell SM, Press N, Adams PC, Barton JC, Beutler E, Brittenham G, Buchanan A, Clayton EW, Cogswell ME, Meslin EM, Motulsky AG, Powell LW, Sigal E, Wilfond BS, Collins FS. Hereditary hemochromatosis: gene discovery and its implications for population-based screening. *JAMA.* 1998;280:172-8
51. **Camaschella** C, Roetto A. TFR2-Related Hereditary Hemochromatosis. 2005 Aug 29 . In: Pagon RA, Bird TD, Dolan CR, Stephens K, Adam MP, editors. *GeneReviews™*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-97
52. **Camaschella** C, Fargion S, Sampietro M, Roetto A, Bosio S, Garozzo G, Arosio C, Piperno A. Inherited HFE-unrelated hemochromatosis in Italian families. *Hepatology.* 1999;29:1563-4
53. **Camaschella** C, Roetto A, Cali A, De Gobbi M, Garozzo G, Carella M, Majorano N, Totaro A, Gasparini P. The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet.* 2000;25:14-5
54. **Cappellini** MD, Bejaoui M, Agaoglu L, Canatan D, Capra M, Cohen A, Drelichman G, Economou M, Fattoum S, Kattamis A, Kilinc Y, Perrotta S, Piga A, Porter JB, Griffel L, Dong V, Clark J, Aydinok Y. Iron chelation with deferasirox in adult and pediatric patients with thalassemia major: efficacy and safety during 5 years' follow-up. *Blood.* 2011;118:884-93
55. **Carroll** GJ, Bredahl WH, Bulsara MK, Olynyk JK. Hereditary hemochromatosis is characterized by a clinically definable arthropathy that correlates with iron load. *Arthritis Rheum.* 2011;63:286-94
56. **Case Records of the Massachusetts General Hospital.** Weekly clinicopathological exercises. Case 31-1994. A 25-year-old man with the recent onset of diabetes mellitus and congestive heart failure. *N Engl J Med* 1994; 331: 460-6
57. **Cassanelli** S, Pignatti E, Montosi G, Garuti C, Mariano M, Campioli D, Carbonieri A, Baldini E, Pietrangelo A. Frequency and biochemical expression of C282Y/H63D

- hemochromatosis (HFE) gene mutations in the healthy adult population in Italy. *J Hepatol.* 2001;34:523-8
58. **Cazzola M**, Ascari E, Barosi G, Claudiani G, Dacha M, Kaltwasser JP, *et al.* Juvenile idiopathic hemochromatosis: a life-threatening disorder presenting as hypogonadotropic hypogonadism. *Human Genet* 1983; 65: 149-54
59. **Chalasani N**, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ; American Gastroenterological Association; American Association for the Study of Liver Diseases; American College of Gastroenterology. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology.* 2012;142:1592-609
60. **Chan KC**, Edelman M, Fantasia JE. Labial salivary gland involvement in neonatal hemochromatosis: a report of 2 cases and review of literature. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2008;106:27-30
61. **Chen LY**, Chang SD, Sreenivasan GM, Tsang PW, Broady RC, Li CH, Zypchen LN. Dysmetabolic hyperferritinemia is associated with normal transferrin saturation, mild hepatic iron overload, and elevated hepcidin. *Ann Hematol.* 2011;90:139-43
62. **Chen X**, Scholl TO, Stein TP. Association of elevated serum ferritin levels and the risk of gestational diabetes mellitus in pregnant women: The Camden study. *Diabetes Care* 2006;29:1077-1082
63. **Chevrand-Breton J**, Simon M, Bourel M, Ferrand B. Cutaneous manifestations of idiopathic hemochromatosis. Study of 100 cases. *Arch Dermatol.* 1977;113:161-5
64. **Chitturi S**, Weltman M, Farrell GC, McDonald D, Kench J, Liddle C, Samarasinghe D, Lin R, Abeygunasekera S, George J. HFE mutations, hepatic iron, and fibrosis: ethnic-specific association of NASH with C282Y but not with fibrotic severity. *Hepatology.* 2002;36:142-9
65. **Costaguta A**, Alvarez F. The new paradigm of neonatal hemochromatosis: fetal alloimmune hepatitis. *Arch Argent Pediatr.* 2012;110:237-43

66. **Cottier** H. A hemochromatosis similar disease in newborn. *Schweiz Med Wochenschr.* 1957;87:39-43
67. **Crawford** DH, Jazwinska EC, Cullen LM, Powell LW. Expression of HLA-linked hemochromatosis in subjects homozygous or heterozygous for the C282Y mutation. *Gastroenterology.* 1998;114:1003-8
68. **De Diego** C, Opazo S, Murga MJ, Martínez-Castro P. H63D homozygotes with hyperferritinaemia: Is this genotype, the primary cause of iron overload? *Eur J Haematol.* 2007;78:66-71
69. **De Juan** D, Reta A, Castiella A, Pozueta J, Prada A, Cuadrado E. HFE gene mutations analysis in Basque hereditary haemochromatosis patients and controls. *Eur J Hum Genet.* 2001;9:961-4
70. **Deguti** MM, Sipahi AM, Gayotto LC, Palácios SA, Bittencourt PL, Goldberg AC, Laudanna AA, Carrilho FJ, Cançado EL. Lack of evidence for the pathogenic role of iron and HFE gene mutations in Brazilian patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Braz J Med Biol Res.* 2003;36:739-45
71. **Demant** AW, Schmiedel A, Büttner R, Lewalter T, Reichel C. Heart failure and malignant ventricular tachyarrhythmias due to hereditary hemochromatosis with iron overload cardiomyopathy. *Clin Res Cardiol.* 2007;96:900-3
72. **Deugnier** Y, Lainé F. Dysmetabolic iron overload syndrome: A systemic disease?. *Presse Med.* 2014;9:193-6
73. **Di Bisceglie** AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, Bacon BR. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology.* 1992;102:2108-13
74. **Distante** S, Bjørø K, Hellum KB, Myrvang B, Berg JP, Skaug K, Raknerud N, Bell H. Raised serum ferritin predicts non-response to interferon and ribavirin treatment in patients with chronic hepatitis C infection. *Liver.* 2002;22:269-75
75. **Dorantes-Mesa** S, Márquez JL, Valencia-Mayoral P. Sobrecarga de hierro en atranferrinemia hereditaria. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 1986; 43: 99-101

-
76. **Edwards** CQ, Cartwright GE, Skolnick MH, Amos DB. Homozygosity for hemochromatosis: clinical manifestations. *Ann Intern Med.* 1980;93:519-25
 77. **Edwards** CQ, Kelly TM, Ellwein G, Kushner JP. Thyroid disease in hemochromatosis. Increased incidence in homozygous men. *Arch Intern Med.* 1983;143:1890-3
 78. **Eisenbach** C, Gehrke SG, Stremmel W. Iron, the HFE gene, and hepatitis C. *Clin Liver Dis.* 2004;8:775-85
 79. **Elder** GH. Porphyria cutanea tarda. *Semin Liver Dis.* 1998;18:67-75
 80. **Elmberg** M, Hultcrantz R, Simard JF, Carlsson A, Askling J. Increased risk of arthropathies and joint replacement surgery in patients with genetic hemochromatosis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2012 Nov 8. doi: 10.1002/acr.21883. Epub ahead of print
 81. **European Association For The Study Of The Liver.** EASL clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. *J Hepatol.* 2010;53:3-22
 82. **Fabio** G, Minonzio F, Delbini P, Bianchi A, Cappellini MD. Reversal of cardiac complications by deferiprone and deferoxamine combination therapy in a patient affected by a severe type of juvenile hemochromatosis (JH). *Blood.* 2007;109:362-4
 83. **Falize** L, Guillygomarc'h A, Perrin M, Lainé F, Guyader D, Brissot P, Turlin B, Deugnier Y. Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: a study of 36 cases. *Hepatology.* 2006;44:472-7
 84. **Faraawi** R, Harth M, Kertesz A, Bell D. Arthritis in hemochromatosis. *J Rheumatol.* 1993;20:448-52
 85. **Fargion** S, Fracanzani AL, Piperno A, Braga M, D'Alba R, Ronchi G, Fiorelli G. Prognostic factors for hepatocellular carcinoma in genetic hemochromatosis. *Hepatology.* 1994;20:1426-31
 86. **Fargion** S. Dysmetabolic iron overload syndrome. *Haematologica.* 1999;84:97-8
 87. **Feder** JN, Gnirke A, Thomas Wm *et al.* A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13: 399-408

-
88. **Fernández-Mosteirín** N, Salvador-Osuna C, García-Erce JA, Orna E, Pérez-Lungmus G, Giralt M. Comparison between phlebotomy and erythrocytapheresis of iron overload in patients with HFE gene mutations. *Med Clin (Barc)*. 2006;127:409-12
89. **a. Fleming** RE. Advances in understanding the molecular basis for the regulation of dietary iron absorption. *Curr Opin Gastroenterol*. 2005;21:201-6
90. **b. Fleming** RE, Bacon BR. Orchestration of iron homeostasis. *N Engl J Med*. 2005;352:1741-4
91. **Fletcher** LM, Dixon JL, Purdie DM, Powell LW, Crawford DH. Excess alcohol greatly increases the prevalence of cirrhosis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology*. 2002;122:281-9
92. **Ford** ES, Cogswell ME. Diabetes and serum ferritin concentration among U.S. adults. *Diabetes Care* 1999;22:1978-1983
93. **Fracanzani** AL, Conte D, Fraquelli M, Taioli E, Mattioli M, Losco A, Fargion S. Increased cancer risk in a cohort of 230 patients with hereditary hemochromatosis in comparison to matched control patients with non-iron-related chronic liver disease. *Hepatology*. 2001;33:647-51
94. **Fujita** N, Sugimoto R, Urawa N, Araki J, Mifuji R, Yamamoto M, Horiike S, Tanaka H, Iwasa M, Kobayashi Y, Adachi Y, Kaito M. Hepatic iron accumulation is associated with disease progression and resistance to interferon/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22:1886-93
95. **Fujita** N, Miyachi H, Tanaka H, Takeo M, Nakagawa N, Kobayashi Y, Iwasa M, Watanabe S, Takei Y. Iron overload is associated with hepatic oxidative damage to DNA in nonalcoholic steatohepatitis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2009;18:424-32
96. **Gabriel** R, Alonso M, Segura A, Tormo MJ, Artigao LM, Banegas JR, Brotons C, Elosua R, Fernández-Cruz A, Muñoz J, Reviriego B, Rigo F; ERICE Cooperative Group. Prevalence, geographic distribution and geographic variability of major cardiovascular risk factors in Spain. Pooled analysis of data from population-based epidemiological studies: the ERICE Study. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:1030-40

-
97. **Gandon Y**, Olivié D, Guyader D, Aubé C, Oberti F, Sebille V, Deugnier Y. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet*. 2004;363:357-62
 98. **Ganz T**. Hcpidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*. 2003;102:783-8
 99. **George DK**, Goldwurm S, MacDonald GA, Cowley LL, Walker NI, Ward PJ, Jazwinska EC, Powell LW. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology*. 1998;114:311-8
 100. **Gillum RF**. Association of serum ferritin and indices of body fat distribution and obesity in Mexican American men—the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001;25:639-645
 101. **Girelli D**, Bozzini C, Roetto A, Alberti F, Daraio F, Colombari R, Olivieri O, Corrocher R, Camaschella C. Clinical and pathologic findings in hemochromatosis type 3 due to a novel mutation in transferrin receptor 2 gene. *Gastroenterology*. 2002;122:1295-302
 102. **Gleeson F**, Ryan E, Barrett S, Crowe J. Clinical expression of haemochromatosis in Irish C282Y homozygotes identified through family screening. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2004;16:859-63
 103. **Gochee PA**, Powell LW, Cullen DJ, Du Sart D, Rossi E, Olynyk JK. A population-based study of the biochemical and clinical expression of the H63D hemochromatosis mutation. *Gastroenterology*. 2002;122:646-51
 104. **Goossens JP**. Idiopathic haemochromatosis: Juvenile and familiar type -Endocrine aspects. *Neth J Med* 1975; 18: 161-9
 105. **Gordeuk V**, Mukiibi J, Hasstedt SJ, Samowitz W, Edwards CQ, West G, Ndambire S, Emmanuel J, Nkanza N, Chapanduka Z, *et al*. Iron overload in Africa. Interaction between a gene and dietary iron content. *N Engl J Med*. 1992;326:95-100
 106. **Gordeuk VR**. African iron overload. *Semin Hematol*. 2002;39:263-9
 107. **Goya N**, Miyazaki S, Kodate S, Ushio B. A family of congenital atransferrinemia. *Blood* 1972; 40: 239-45

-
108. **Guix** P, Picornell A, Parera M, Galmes A, Obrador A, Ramon MM, Castro JA. Distribution of HFE C282Y and H63D mutations in the Balearic Islands (NE Spain). *Clin Genet.* 2002;61:43-8
109. **Gurrin** LC, Osborne NJ, Constantine CC, McLaren CE, English DR, Gertig DM, Delatycki MB, Southey MC, Hopper JL, Giles GG, Anderson GJ, Olynyk JK, Powell LW, Allen KJ; HealthIron Study Investigators. The natural history of serum iron indices for HFE C282Y homozygosity associated with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology.* 2008;135:1945-52
110. **Guyader** D, Jacquelinet C, Moirand R, Turlin B, Mendler MH, Chaperon J, David V, Brissot P, Adams P, Deugnier Y. Noninvasive prediction of fibrosis in C282Y homozygous hemochromatosis. *Gastroenterology.* 1998;115:929-36
111. **Hamill** RL, Woods JC, Cook BA. Congenital atransferrinemia: a case report and review of the literature. *Am J Clin Pathol* 1991; 96: 215-8
112. **Hamilton** EB, Bomford AB, Laws JW, Williams R. The natural history of arthritis in idiopathic haemochromatosis: progression of the clinical and radiological features over ten years. *Q J Med.* 1981;50:321-9
113. **Harris** ZL, Klomp LW, Gitlin JD. Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Am J Clin Nutr.* 1998 ;67:972S-977S
114. **Harrison-Findik** DD, Schafer D, Klein E, Timchenko NA, Kulaksiz H, Clemens D, Fein E, Andriopoulos B, Pantopoulos K, Gollan J. Alcohol metabolism-mediated oxidative stress down-regulates hepcidin transcription and leads to increased duodenal iron transporter expression. *J Biol Chem.* 2006;281:22974-82
115. **Harrison-Findik** DD. Role of alcohol in the regulation of iron metabolism. *World J Gastroenterol.* 2007;13:4925-30
116. **Harrison-Findik** DD, Klein E, Crist C, Evans J, Timchenko N, Gollan J. Iron-mediated regulation of liver hepcidin expression in rats and mice is abolished by alcohol. *Hepatology.* 2007;46:1979-85

117. **Heilmeyer** L, Keller W, Vivel O, Betker K, Wöhler F, Keiderling W. Die kongenitale Atransferrinämie. *Schweiz Med Wochenschr* 1961; 91: 1203
118. **Hemochromatosis**. In: Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM. Baltimore: McKusick-Nathans Institute for Genetic Medicine, 2000
119. **Hentze** MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell*. 2004;117:285-97
120. **Hetet** G, Devaux I, Soufir N, *et al.* Molecular analyses of patients with hyperferritinemia and normal serum iron values reveal both L ferritin IRE and 3 new ferroportin (SCL11A3) mutations. *Blood* 2003;102:1904-10
121. **Hirsch** JH, Killien FC, Troupin RH. The arthropathy of hemochromatosis. *Radiology*. 1976;118:591-6
122. **Hofer** H, Osterreicher C, Jessner W, Penz M, Steindl-Munda P, Wrba F, Ferenci P. Hepatic iron concentration does not predict response to standard and pegylated-IFN/ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2004;40:1018-22
123. **Hramiak** IM, Finegood DT, Adams PC. Factors affecting glucose tolerance in hereditary hemochromatosis. *Clin Invest Med*. 1997;20:110-8
124. **Hromec** A, Payer J Jr, Killinger Z, Rybar I, Rovensky J. Kongenitale Atransferrinämia. *Dtsch Med Wochenschr* 1994; 119: 663-6
125. **Hsiao** PJ, Tsai KB, Shin SJ, Wang CL, Lee ST, Lee JF, Kuo KK. A novel mutation of transferrin receptor 2 in a Taiwanese woman with type 3 hemochromatosis. *J Hepatol*. 2007;47:303-6
126. **Inui** A, Fujisawa T, Kubo T, Sogo T, Komatsu H, Kagata Y. A case of neonatal hemochromatosis-like liver failure with spontaneous remission. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40:374-7
127. **Jackson** HA, Carter K, Darke C, Guttridge MG, Ravine D, Hutton RD, Napier JA, Worwood M. HFE mutations, iron deficiency and overload in 10,500 blood donors. *Br J Haematol*. 2001 Aug;114(2):474-84

128. **Jehn M**, Clark JM, Guallar E. Serum ferritin and risk of the metabolic syndrome in U.S. adults. *Diabetes Care*. 2004;27:2422-8
129. **Jensen PD**, Baggett J, Jensen FT, Baardrup U, Christensen T, Ellegard J. Heart transplantation in a case of juvenile hereditary hemochromatosis followed up by MRI and endomyocardial biopsies. *Eur J Haematol* 1993; 51:199-205
130. **Kaltwasser JP**. Juvenile hemochromatosis. En: Barton JC, Edwards CQ, eds. *Hemochromatosis: genetics, pathophysiology, diagnosis, and treatment*. Cambridge: Cambridge University Press, 2000. p. 318-28
131. **Kasvosve I**, Gangaidzo IT, Gomo ZA, Gordeuk VR. African iron overload. *Acta Clin Belg*. 2000;55:88-93
132. **Kawabata H**, Yang R, Hirama T, Vuong PT, Kawano S, Gombart AF, Koeffler HP. Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family. *J Biol Chem*. 1999;274:20826-32
133. **Kelley M**, Joshi N, Xie Y, Borgaonkar M. Iron overload is rare in patients homozygous for the H63D mutation. *Can J Gastroenterol Hepatol*. 2014;28:198-202
134. **Kellner H**, Zoller WG. Repeated isovolemic large-volume erythrocytapheresis in the treatment of idiopathic hemochromatosis. *Z Gastroenterol*. 1992;30:779-83
135. **Kelly AL**, Rhodes DA, Roland JM, Schofield P, Cox TM. Hereditary juvenile haemochromatosis: A genetically heterogeneous life-threatening iron-storage disease. *Q J Med* 1998; 91: 607-18
136. **Kelly AL**, Lunt PW, Rodrigues F, Berry PJ, Flynn DM, McKiernan PJ, Kelly DA, Mieli-Vergani G, Cox TM. Classification and genetic features of neonatal haemochromatosis: a study of 27 affected pedigrees and molecular analysis of genes implicated in iron metabolism. *J Med Genet*. 2001;38:599-610
137. **Kim CH**, Kim HK, Bae SJ, Park JY, Lee KU. Association of elevated serum ferritin concentration with insulin resistance and impaired glucose metabolism in Korean men and women. *Metabolism* 2011;60:414-420

138. **Kim** SE, Kim UJ, Jang MO, Kang SJ, Jang HC, Jung SI, Lee SS, Park KH. Diagnostic use of serum ferritin levels to differentiate infectious and noninfectious diseases in patients with fever of unknown origin. *Dis Markers*. 2013;34:211-8
139. **Knisely** AS, Gelbart T, Beutler E. Molecular characterization of a third case of human atransferrinemia. *Blood* 2004; 104: 2607
140. **Kowdley** KV. Iron, hemochromatosis, and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127:S79-86
141. **Kowdley** KV, Belt P, Wilson LA, Yeh MM, Neuschwander-Tetri BA, Chalasani N, Sanyal AJ, Nelson JE; NASH Clinical Research Network. Serum ferritin is an independent predictor of histologic severity and advanced fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2012;55:77-85
142. **Koyama** C, Wakusawa S, Hayashi H, Suzuki R, Yano M, Yoshioka K, Kozuru M, Takayama Y, Okada T, Mabuchi H. Two novel mutations, L490R and V561X, of the transferrin receptor 2 gene in Japanese patients with hemochromatosis. *Haematologica*. 2005;90:302-7
143. **Kratka** K, Dostalíková-Cimburová M, Michalíková H, Štránský J, Vranová J, Horák J. High prevalence of HFE gene mutations in patients with porphyria cutanea tarda in the Czech Republic. *Br J Dermatol*. 2008;159:585-90
144. **Kushner** I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann N Y Acad Sci*. 1982;389:39-48
145. **Lainé** F, Deugnier Y. Dysmetabolic iron overload syndrome. *Gastroenterol Clin Biol*. 2008 ;32:421-4
146. **Lamon** JM, Marynick SP, Roseblatt R, Donnelly S. Idiopathic hemochromatosis in a young female. A case study and review of the syndrome in young people. *Gastroenterology* 1979; 76: 178-83
147. **Le Gac** G, Mons F, Jacolot S, Scotet V, Férec C, Frébourg T. Early onset hereditary hemochromatosis resulting from a novel TFR2 gene nonsense mutation (R105X) in two siblings of north French descent. *Br J Haematol*. 2004;125:674-8

-
148. **Lee** PL, Beutler E, Rao SV, Barton JC. Genetic abnormalities and juvenile hemochromatosis: mutations of the HJV gene encoding hemojuvelin. *Blood*. 2004;103:4669-71
149. **Létocart** E, Le Gac G, Majore S, Ka C, Radio FC, Gourlaouen I, De Bernardo C, Férec C, Grammatico P. A novel missense mutation in SLC40A1 results in resistance to hepcidin and confirms the existence of two ferroportin-associated iron overload diseases. *Br J Haematol*. 2009 Nov;147(3):379-85
150. **Loperana** L, Dorantes S, Medrano E. Atransferrinemia hereditaria. *Bol Med Hosp. Infant Mex* 1974; 31: 519
151. **Loréal** O, Turlin B, Pigeon C, Moisan A, Ropert M, Morice P, *et al.* Aceruloplasminemia: new clinical, pathophysiological and therapeutic insights. *J Hepatol* 2002; 36: 851-6
152. **Loréal** O, Haziza-Pigeon C, Troadec MB, Detivaud L, Turlin B, Courselaud B, Ilyin G, Brissot P. Hepcidin in iron metabolism. *Curr Protein Pept Sci*. 2005;6:279-91
153. **Lunova** M, Goehring C, Kuscuoglu D, Mueller K, Chen Y, Walther P, Deschemin JC, Vaulont S, Haybaeck J, Lackner C, Trautwein C, Strnad P. Hepcidin knockout mice fed with iron-rich diet develop chronic liver injury and liver fibrosis due to lysosomal iron overload. *J Hepatol*. 2014; 6
154. **Magliocca** KR, Lewis EL, Bhattacharyya I, Cohen DM, Dixon LR. Labial salivary gland biopsy in the investigation of neonatal hemochromatosis. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011;69:2592-4
155. **Martinelli** AL, Zago MA, Roselino AM, Filho AB, Villanova MG, Secaf M, Tavella MH, Ramalho LN, Zucoloto S, Franco RF. Porphyria cutanea tarda in Brazilian patients: association with hemochromatosis C282Y mutation and hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol*. 2000;95:3516-21
156. **Mattman** A, Huntsman D, Lockitch G, Langlois S, Buskard N, Ralston D, Butterfield Y, Rodrigues P, Jones S, Porto G, Marra M, De Sousa M, Vatcher G. Transferrin receptor 2 (TfR2) and HFE mutational analysis in non-C282Y iron overload: identification of a novel TfR2 mutation. *Blood*. 2002;100:1075-7

-
157. **McNeill** A, Pandolfo M, Kuhn J, Shang H, Miyajima H. The neurological presentation of ceruloplasmin gene mutations. *Eur Neurol.* 2008;60:200-5
158. **Meerpohl** JJ, Antes G, R cker G, Fleeman N, Niemeyer C, Bassler D. Deferasirox for managing transfusional iron overload in people with sickle cell disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;8:CD007477
159. **Meerpohl** JJ, Antes G, R cker G, Fleeman N, Motschall E, Niemeyer CM, Bassler D. Deferasirox for managing iron overload in people with thalassaemia. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;2:CD007476
160. **Mendes** AI, Ferro A, Martins R, Pican o I, Gomes S, Cerqueira R, Correia M, Nunes AR, Esteves J, Fleming R, Faustino P. Non-classical hereditary hemochromatosis in Portugal: novel mutations identified in iron metabolism-related genes. *Ann Hematol.* 2009;88:229-34
161. **Mendler** MH, Moirand R, Turlin B, *et al.* Study of HFE mutations in the “dysmetabolic iron overload syndrome”. *Hepatology* 1998; 28:419A
162. **Mendler** MH, Turlin B, Moirand R, Jouanolle AM, Sapey T, Guyader D, Le Gall JY, Brissot P, David V, Deugnier Y. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology.* 1999;117:1155-63
163. **Merryweather-Clarke** AT, Pointon JJ, Shearman JD, Robson KJ. Global prevalence of putative haemochromatosis mutations. *J Med Genet.* 1997;34:275-8
164. **Merryweather-Clarke** AT, Pointon JJ, Jouanolle AM *et al.* Geography of HFE C282Y and H63D mutations. *Genet Test* 2000; 2: 183–198
165. **Milder** MS, Cook JD, Stray S, Finch CA. Idiopathic hemochromatosis, an interim report. *Medicine (Baltimore).* 1980;59:34-49
166. **Milman** N, Pedersen P,   Steig T, Byg KE, Graudal N, Fenger K. Clinically overt hereditary hemochromatosis in Denmark 1948-1985: epidemiology, factors of significance for long-term survival, and causes of death in 179 patients. *Ann Hematol.* 2001;80:737-44

167. **Miret** S, Simpson RJ, McKie AT. Physiology and molecular biology of dietary iron absorption. *Annu Rev Nutr.* 2003;23:283-301
168. **Miyajima** H, Nishimura Y, Mizoguchi K, Sakamoto M, Shimizu T, Honda N. Familial aceruloplasmin deficiency associated with blepharospasm and retinal degeneration. *Neurology.* 1987;37:761-7
169. **Miyajima** H, Takahasi Y, Kamata T, Shimizu H, Sakai N, Gitlin JD. Use of desferroxamine in the treatment of aceruloplasminemia. *Ann Neurol* 1997;41:404-407
170. **Miyajima** H. Aceruloplasminemia, an iron metabolic disorder. *Neuropathology.* 2003;23:345-50
171. **a. Moirand** R, Adams PC, Bicheler V, Brissot P, Deugnier Y. Clinical features of genetic hemochromatosis in women compared with men. *Ann Intern Med.* 1997;127:105-10
172. **b. Moirand** R, Mortaji AM, Loréal O, Paillard F, Brissot P, Deugnier Y. A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin saturation. *Lancet.* 1997;349:95-7
173. **Montosi** G, Donovan A, Totaro A, Garuti C, Pignatti E, Cassanelli S, Trenor CC, Gasparini P, Andrews NC, Pietrangelo A. Autosomal-dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest.* 2001;108:619-2
174. **Moreno** L, Vallcorba P, Boixeda D, Cabello P, Bermejo F, San Román C. The usefulness of the detection of Cys282Tyr and His63Asp mutations in the diagnosis of hereditary hemochromatosis. *Rev Clin Esp.* 1999;199:632-6
175. **Morita** H, Ikeda S, Yamamoto K, Morita S, Yoshida K, Nomoto S, Kato M, Yanagisawa N. Hereditary ceruloplasmin deficiency with hemosiderosis: a clinicopathological study of a Japanese family. *Ann Neurol.* 1995;37:646-56
176. **Morrison** ED, Brandhagen DJ, Phatak PD, Barton JC, Krawitt EL, El-Serag HB, Gordon SC, Galan MV, Tung BY, Ioannou GN, Kowdley KV. Serum ferritin level predicts advanced hepatic fibrosis among U.S. patients with phenotypic hemochromatosis. *Ann Intern Med.* 2003 Apr 15;138(8):627-33. Erratum in: *Ann Intern Med.* 2003;139:235

177. **Moyo** VM, Mandishona E, Hasstedt SJ, Gangaidzo IT, Gomo ZA, Khumalo H, Saungweme T, Kiire CF, Paterson AC, Bloom P, MacPhail AP, Rouault T, Gordeuk VR. Evidence of genetic transmission in African iron overload. *Blood*. 1998;91:1076-82
178. **Mura** C, Ragueneas O, Férec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis. *Blood*. 1999;93:2502-5
179. **Muro** M, Moya-Quiles MR, Botella C, Álvarez-López MR. Prevalence of C282Y, H63D and S65C mutations of the hemochromatosis (HFE) gene in a population from southeastern Spain (Murcia Region). *Clin Genet*. 2007;71:97-8
180. **Nadakkavukaran** IM, Gan EK, Olynyk JK. Screening for hereditary haemochromatosis. *Pathology*. 2012;44:148-52
181. **Nelson** JE, Bhattacharya R, Lindor KD, Chalasani N, Raaka S, Heathcote EJ, Miskovsky E, Shaffer E, Rulyak SJ, Kowdley KV. HFE C282Y mutations are associated with advanced hepatic fibrosis in Caucasians with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2007;46:723-9
182. **Nicolas** G, Viatte L, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. Hemojuvelin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol Dis*. 2002;29:327-35
183. **Niederau** C, Fischer R, Sonnenberg A, Stremmel W, Trampisch HJ, Strohmeyer G. Survival and causes of death in cirrhotic and in noncirrhotic patients with primary hemochromatosis. *N Engl J Med*. 1985;313:1256-62
184. **Niederau** C, Erhardt A, Häussinger D, Strohmeyer G. Haemochromatosis and the liver. *J Hepatol*. 1999;30:6-11
185. **Nielsen** P, Fischer R, Buggisch P, Janka-Schaub G. Effective treatment of hereditary haemochromatosis with desferrioxamine in selected cases. *Br J Haematol*. 2003;123:952-3
186. **Njajou** OT, Vaessen N, Joosse M, *et al*. A mutation in SLC11A3 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Nat Genet* 2001;2893:213-4

-
187. **Ohtake** T, Saito H, Hosoki Y, Inoue M, Miyoshi S, Suzuki Y, Fujimoto Y, Kohgo Y. Hepcidin is down-regulated in alcohol loading. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(1 Suppl):S2-8
188. **Olthof** AW, Sijens PE, Kreeftenberg HG, Kappert P, van der Jagt EJ, Oudkerk M. Non-invasive liver iron concentration measurement by MRI: comparison of two validated protocols. *Eur J Radiol.* 2009;71:116-21
189. **a. Olynyk** JK. Hereditary haemochromatosis: diagnosis and management in the gene era. *Liver.* 1999;19:73-80
190. **b. Olynyk** JK, Cullen DJ, Aquilia S, Rossi E, Summerville L, Powell LW. A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med.* 1999;341:718-24
191. **Olynyk** JK, Trinder D, Ramm GA, Britton RS, Bacon BR. Hereditary hemochromatosis in the post-HFE era. *Hepatology.* 2008;48:991-1000
192. **Osaki** S, Johnson DA, Frieden E. The possible significance of the ferrous oxidase activity of ceruloplasmin in normal human serum. *J Biol Chem.* 1966;241:2746-51
193. **Pantopoulos** K, Porwal SK, Tartakoff A, Devireddy L. Mechanisms of Mammalian iron homeostasis. *Biochemistry.* 2012;51:5705-5724
194. **Papanikolaou** G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald ML, Franchini PL, Dubé MP, Andres L, MacFarlane J, Sakellaropoulos N, Politou M, Nemeth E, Thompson J, Risler JK, Zaborowska C, Babakaiff R, Radomski CC, Pape TD, Davidas O, Christakis J, Brissot P, Lockitch G, Ganz T, Hayden MR, Goldberg YP. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet.* 2004;36:77-82
195. **Park** SK, Ryoo JH, Kim MG, Shin JY. Association of serum ferritin and the development of metabolic syndrome in middle-aged Korean men: a 5-year follow-up study. *Diabetes Care.* 2012;35:2521-6
196. **Phatak** P, Brissot P, Wurster M, Adams PC, Bonkovsky HL, Gross J, Malfertheiner P, McLaren GD, Niederau C, Piperno A, Powell LW, Russo MW, Stoelzel U, Stremmel W, Griffel L, Lynch N, Zhang Y, Pietrangelo A. A phase 1/2, dose-escalation trial of

- deferasirox for the treatment of iron overload in HFE-related hereditary hemochromatosis. *Hepatology*. 2010;52:1671-779
197. **Pietrangelo A.** Metals, oxidative stress, and hepatic fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 1996;16:13–30
198. **a. Pietrangelo A.** Hemochromatosis 1998: is one gene enough? *J Hepatol*. 1998;29:502-9
199. **b. Pietrangelo A, Camaschella C.** Molecular Genetics and control of iron metabolism in haemochromatosis. *Haematologica* 1998; 83: 456–461
200. **Pietrangelo A, Montosi G, Totaro A, Garuti C, Conte D, Cassanelli S, Fraquelli M, Sardini C, Vasta F, Gasparini P.** Hereditary hemochromatosis in adults without pathogenic mutations in the hemochromatosis gene. *N Engl J Med*. 1999;341:725-32
201. **Pietrangelo A.** Hereditary hemochromatosis--a new look at an old disease. *N Engl J Med*. 2004;350:2383-97
202. **Pietrangelo A.** The ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis* 2004; 32: 131-8
203. **Pietrangelo A.** Non-HFE hemochromatosis. *Semin Liver Dis*. 2005;25:450-60
204. **Pietrangelo A.** Juvenile hemochromatosis. *J Hepatol*. 2006;45:892-4
205. **Pietrangelo A, Caleffi A, Corradini E.** Non-HFE hepatic iron overload. *Semin Liver Dis*. 2011;31:302-18
206. **Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loréal O.** A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem*. 2001;276:7811-9
207. **Piperno A, Sampietro M, Pietrangelo A, Arosio C, Lupica L, Montosi G, Vergani A, Fraquelli M, Girelli D, Pasquero P, Roetto A, Gasparini P, Fargion S, Conte D, Camaschella C.** Heterogeneity of hemochromatosis in Italy. *Gastroenterology*. 1998;114:996-1002
208. **Piperno A, Trombini P, Gelosa M, et al.** Increased serum ferritin is common in men with essential hypertension. *J Hypertens* 2002;20:1513-1518

209. **Pippard** MJ. Detection of iron overload. *Lancet*. 1997;349:73-4
210. **Poullin** P, Lefèvre PA. Effectiveness of therapeutic erythrocytapheresis to achieve iron depletion in hereditary type 1 hemochromatosis: report of 30 cases. *Transfus Clin Biol*. 2011;18:553-8
211. **Powell** LW, Kerr JF. Reversal of "cirrhosis" in idiopathic haemochromatosis following long-term intensive venesection therapy. *Australas Ann Med*. 1970;19:54-7
212. **Powell** LW, Dixon JL, Ramm GA, Purdie DM, Lincoln DJ, Anderson GJ, Subramaniam VN, Hewett DG, Searle JW, Fletcher LM, Crawford DH, Rodgers H, Allen KJ, Cavanaugh JA, Bassett ML. Screening for hemochromatosis in asymptomatic subjects with or without a family history. *Arch Intern Med*. 2006;166:294-301
213. **Preza** GC, Ruchala P, Pinon R, Ramos E, Qiao B, Peralta MA, Sharma S, Waring A, Ganz T, Nemeth E. Minihepcidins are rationally designed small peptides that mimic hepcidin activity in mice and may be useful for the treatment of iron overload. *J Clin Invest*. 2011;121:4880-8
214. **Ramos** E, Ruchala P, Goodnough JB, Kautz L, Preza GC, Nemeth E, Ganz T. Minihepcidins prevent iron overload in a hepcidin-deficient mouse model of severe hemochromatosis. *Blood*. 2012;120:3829-36
215. **Rand** EB, McClenathan DT, Whittington PF. Neonatal hemochromatosis: report of successful orthotopic liver transplantation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 1992;15:325-9
216. **Rand** EB, Karpen SJ, Kelly S, Mack CL, Malatack JJ, Sokol RJ, Whittington PF. Treatment of neonatal hemochromatosis with exchange transfusion and intravenous immunoglobulin. *J Pediatr*. 2009;155:566-71
217. **Raynes** JG. The acute phase response. *Biochem Soc Trans*. 1994;22:69-74
218. **Remacha** AF, Sardà MP, Barceló MJ, Bach V, Altès A, Baiget M, Guarner C, Blesa I. Genotype-phenotype correlation in a Spanish population homozygous for the H63D mutation of the HFE gene. *Ann Hematol*. 2006;85:340-2
219. **Riva** A, Trombini P, Mariani R, Salvioni A, Coletti S, Bonfadini S, Paolini V, Pozzi M, Facchetti R, Bovo G, Piperno A. Reevaluation of clinical and histological criteria for

- diagnosis of dysmetabolic iron overload syndrome. *World J Gastroenterol.* 2008;14:4745-52
220. **Rivard** SR, Lanzara C, Grimard D, Carella M, Simard H, Ficarella R, Simard R, D'Adamo AP, De Braekeleer M, Gasparini P. Autosomal dominant reticuloendothelial iron overload (HFE type 4) due to a new missense mutation in the FERROPORTIN 1 gene (SLC11A3) in a large French-Canadian family. *Haematologica.* 2003;88:824-6
221. **Roberts** AG, Whatley SD, Morgan RR, Worwood M, Elder GH. Increased frequency of the haemochromatosis Cys282Tyr mutation in sporadic porphyria cutanea tarda. *Lancet.* 1997;349:321-3
222. **Rodrigues** F, Kallas M, Nash R, Cheeseman P, D'Antiga L, Rela M, Heaton ND, Mieli-Vergani G. Neonatal hemochromatosis--medical treatment vs. transplantation: the king's experience. *Liver Transpl.* 2005;11:1417-24
223. **Roetto** A, Totaro A, Piperno A, Piga A, Longo F, Garozzo G, Cali A, De Gobbi M, Gasparini P, Camaschella C. New mutations inactivating transferrin receptor 2 in hemochromatosis type 3. *Blood.* 2001;97:2555-60
224. **Roetto** A, Daraio F, Alberti F, Porporato P, Cali A, De Gobbi M, Camaschella C. Hemochromatosis due to mutations in transferrin receptor 2. *Blood Cells Mol Dis.* 2002;29:465-70
225. **Roetto** A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, Loukopoulos D, Camaschella C. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet.* 2003;33:21-2
226. **Rombout-Sestrienkova** E, Nieman FH, Essers BA, van Noord PA, Janssen MC, van Deursen CT, Bos LP, Rombout F, van den Braak R, de Leeuw PW, Koek GH. Erythrocytapheresis versus phlebotomy in the initial treatment of HFE hemochromatosis patients: results from a randomized trial. *Transfusion.* 2012;52:470-7
227. **Ropero-Gradilla** P, González-Fernández FA, Briceño-Polacre O, Villegas-Martínez A. Geographical distribution of HFE C282Y and H63D mutation in Spain. *Med Clin (Barc).* 2005;125:794-5

-
228. **Rovati** A, Bergamaschi G, Casula S, Cerani P, Grasso M, Cazzola M. The dysmetabolic iron overload syndrome is clinically and genetically distinct from HFE-related genetic hemochromatosis. *Haematologica*. 1999;84:182-3
229. **Roy** CN, Penny DM, Feder JN, Enns CA. The hereditary hemochromatosis protein, HFE, specifically regulates transferrin-mediated iron uptake in HeLa cells. *J Biol Chem*. 1999;274:9022-8
230. **Ryan Caballes** F, Sendi H, Bonkovsky HL. Hepatitis C, porphyria cutanea tarda and liver iron: an update. *Liver Int*. 2012;32:880-93
231. **Samarasena** J, Winsor W, Lush R, Duggan P, Xie Y, Borgaonkar M. Individuals homozygous for the H63D mutation have significantly elevated iron indexes. *Dig Dis Sci*. 2006;51:803-7
232. **Sánchez** M, Bruguera M, Bosch J, Rodés J, Ballesta F, Oliva R. Prevalence of the Cys282Tyr and His63Asp HFE gene mutations in Spanish patients with hereditary hemochromatosis and in controls. *J Hepatol*. 1998;29:725-8
233. **Sánchez** M, Villa M, Ingelmo M, Sanz C, Bruguera M, Ascaso C, Oliva R. Population screening for hemochromatosis: a study in 5370 Spanish blood donors. *J Hepatol*. 2003;38:745-50
234. **Scheuer** PJ, Williams R, Muir AR. Hepatic pathology in relatives of patients with haemochromatosis. *J Pathol Bacteriol*. 1962;84:53-64
235. **Schmidt** PJ, Fleming MD. Modulation of hepcidin as therapy for primary and secondary iron overload disorders: preclinical models and approaches. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2014;28:387-401
236. **Sebastiani** G, Wallace DF, Davies SE, Kulhali V, Walker AP, Dooley JS. Fatty liver in H63D homozygotes with hyperferritinemia. *World J Gastroenterol*. 2006;12:1788-92
237. **Sham** RL, Phatak PD, West C, Lee P, Andrews C, Beutler E. Autosomal dominant hereditary hemochromatosis associated with a novel ferroportin mutation and unique clinical features. *Blood Cells Mol Dis*. 2005 Mar-Apr;34(2):157-61
238. **Sheldon** JH. *Haemochromatosis*. London, UK: Oxford University Press, 1935.

-
239. **Sherrington** CA, Olynyk JK. Iron as a cofactor in chronic hepatitis C infection. *Liver*. 2002;22:187-9
240. **Sheu** WH, Chen YT, Lee WJ, Wang CW, Lin LY. A relationship between serum ferritin and the insulin resistance syndrome is present in non-diabetic women but not in non-diabetic men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;58:380-385
241. **Shi** Z, Hu X, Yuan B, Pan X, Meyer HE, Holmboe-Ottesen G. Association between serum ferritin, hemoglobin, iron intake, and diabetes in adults in Jiangsu, China. *Diabetes Care* 2006;29:1878-1883
242. **Siddique** A, Kowdley K.V. Review article: The iron overload syndromes. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012;35:876-893
243. **Siminoski** K, D'Costa M, Walfish PG. Hypogonadotropic hypogonadism in idiopathic hemochromatosis: evidence for combined hypothalamic and pituitary involvement. *J Endocrinol Invest*. 1990;13:849-53
244. **Smith** SR, Shneider BL, Magid M, Martin G, Rothschild M. Minor salivary gland biopsy in neonatal hemochromatosis. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;130:760-3.
245. **Soto** L, Vega A, Goyanes V, Valverde D. Hemochromatosis in Galicia (NW Spain): a Celtic influence? *Clin Genet*. 2000;57:454-5
246. **St Pierre** TG, Clark PR, Chua-anusorn W, Fleming AJ, Jeffrey GP, Olynyk JK, Pootrakul P, Robins E, Lindeman R. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood*. 2005;105:855-61
247. **Stölzel** U, Köstler E, Schuppan D, Richter M, Wollina U, Doss MO, Wittekind C, Tannapfel A. Hemochromatosis (HFE) gene mutations and response to chloroquine in porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol*. 2003;139:309-13
248. **Stuart** KA, Busfield F, Jazwinska EC, Gibson P, Butterworth LA, Cooksley WG, Powell LW, Crawford DH. The C282Y mutation in the haemochromatosis gene (HFE) and hepatitis C virus infection are independent cofactors for porphyria cutanea tarda in Australian patients. *J Hepatol*. 1998;28:404-9

249. **Sundaram** SS, Alonso EM, Narkewicz MR, Zhang S, Squires RH; Pediatric Acute Liver Failure Study Group. Characterization and outcomes of young infants with acute liver failure. *J Pediatr.* 2011;159:813-818
250. **Tannapfel** A, Stölzel U, Köstler E, Melz S, Richter M, Keim V, Schuppan D, Wittekind C. C282Y and H63D mutation of the hemochromatosis gene in German porphyria cutanea tarda patients. *Virchows Arch.* 2001;439:1-5
251. **Toll** A, Celis R, Ozalla MD, Bruguera M, Herrero C, Ercilla MG. The prevalence of HFE C282Y gene mutation is increased in Spanish patients with porphyria cutanea tarda without hepatitis C virus infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2006;20:1201-6
252. **Tomatsu** S, Orii KO, Fleming RE, Holden CC, Waheed A, Britton RS, Gutierrez MA, Velez-Castrillon S, Bacon BR, Sly WS. Contribution of the H63D mutation in HFE to murine hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:15788-93
253. **Trousseau** A. Glycosurie; diabete sucre. *Clinique Med de l'Hotel de Paris* 1865;2:663-98
254. **Tung** BY, Emond MJ, Bronner MP, Raaka SD, Cotler SJ, Kowdley KV. Hepatitis C, iron status, and disease severity: relationship with HFE mutations. *Gastroenterology.* 2003;124:318-26
255. **Valenti** L, Fracanzani AL, Rossi V, Rampini C, Pulixi E, Varenna M, Fargion S, Sinigaglia L. The hand arthropathy of hereditary hemochromatosis is strongly associated with iron overload. *J Rheumatol.* 2008;35:153-8
256. **Valenti** L, Varenna M, Fracanzani AL, Rossi V, Fargion S, Sinigaglia L. Association between iron overload and osteoporosis in patients with hereditary hemochromatosis. *Osteoporos Int.* 2009;20:549-55
257. **Van Thiel** DH, Friedlander L, Fagioli S, Wright HI, Irish W, Gavalier JS. Response to interferon alpha therapy is influenced by the iron content of the liver. *J Hepatol.* 1994;20:410-5

-
258. **Varkonyi** J, Kaltwasser JP, Seidl C, Kollai G, Andrikovics H, Tordai A. A case of non-HFE juvenile haemochromatosis presenting with adrenocortical insufficiency. *Br J Haematol* 2000; 109: 252-3
259. **Vichinsky** E, Bernaudin F, Forni GL, Gardner R, Hassell K, Heeney MM, Inusa B, Kutlar A, Lane P, Mathias L, Porter J, Tebbi C, Wilson F, Griffel L, Deng W, Giannone V, Coates T. Long-term safety and efficacy of deferasirox (Exjade) for up to 5 years in transfusional iron-overloaded patients with sickle cell disease. *Br J Haematol*. 2011;154:387-97
260. **Von Kempis** J. Arthropathy in hereditary hemochromatosis. *Curr Opin Rheumatol*. 2001;13:80-3
261. **Von Recklinghausen** FD (1890). "Haemochromatose". *Tageblatt der Naturforschenden Versammlung, Heidelberg, 1889*, 324
262. **Waheed** A, Parkkila S, Saarnio J, Fleming RE, Zhou XY, Tomatsu S, Britton RS, Bacon BR, Sly WS. Association of HFE protein with transferrin receptor in crypt enterocytes of human duodenum. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999;96:1579-84
263. **Walbaum** R. Déficit congénital en transferrine. *Lille Med* 1971; 16: 1122-4
264. **Wallace** DF, Pedersen P, Dixon JL, *et al*. Novel mutation in ferroportin 1 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Blood* 2002; 100:692-4
265. **Wallace** DF, Dixon JL, Ramm GA, Anderson GJ, Powell LW, Subramaniam VN. A novel mutation in ferroportin implicated in iron overload. *J Hepatol*. 2007;46:921-6
266. **Wang** Y, Gurrin LC, Wluka AE, Bertalli NA, Osborne NJ, Delatycki MB, Giles GG, English DR, Hopper JL, Simpson JA, Graves S, Allen KJ, Cicuttini FM. HFE C282Y homozygosity is associated with an increased risk of total hip replacement for osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum*. 2012;41:872-8
267. **West** AP Jr, Bennett MJ, Sellers VM, Andrews NC, Enns CA, Bjorkman PJ. Comparison of the interactions of transferrin receptor and transferrin receptor 2 with transferrin and the hereditary hemochromatosis protein HFE. *J Biol Chem*. 2000;275:38135-8

-
268. **Whittington** PF, Hibbard JU. High-dose immunoglobulin during pregnancy for recurrent neonatal haemochromatosis. *Lancet*. 2004;364:1690-8
269. **Whittington** PF, Malladi P. Neonatal hemochromatosis: is it an alloimmune disease? *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40:544-9
270. **Whittington** PF. Neonatal hemochromatosis: a congenital alloimmune hepatitis. *Semin Liver Dis*. 2007;27:243-50
271. **Whittington** PF, Kelly S. Outcome of pregnancies at risk for neonatal hemochromatosis is improved by treatment with high-dose intravenous immunoglobulin. *Pediatrics*. 2008;121:1615-21
272. **Whittington** PF, Pan X, Kelly S, Melin-Aldana H, Malladi P. Gestational alloimmune liver disease in cases of fetal death. *J Pediatr*. 2011; 159:612-6
273. **Whitlock** EP, Garlitz BA, Harris EL, Beil TL, Smith PR. Screening for hereditary hemochromatosis: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med*. 2006;145:209-23
274. **Wood** JC. Magnetic resonance imaging measurement of iron overload. *Curr Opin Hematol*. 2007;14:183-90
275. **Worthen** CA, Enns CA. The role of hepatic transferrin receptor 2 in the regulation of iron homeostasis in the body. *Front Pharmacol*. 2014;5:34
276. **Xu** X, Pin S, Gathinji M, Fuchs R, Harris ZL. Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1012:299-305
277. **Yamashita** C, Adams PC. Natural history of the C282Y homozygote for the hemochromatosis gene (HFE) with a normal serum ferritin level. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2003;1:388-91
278. **Yamauchi** N, Itoh Y, Tanaka Y, Mizokami M, Minami M, Morita A, Toyama T, Yamaguchi K, Fujii H, Okanou T. Clinical characteristics and prevalence of GB virus C, SEN virus, and HFE gene mutation in Japanese patients with nonalcoholic steatohepatitis. *J Gastroenterol*. 2004;39:654-60

279. **Yoshida** K, Furihata K, Takeda S, Nakamura A, Yamamoto K, Morita H, Hiyamuta S, Ikeda S, Shimizu N, Yanagisawa N. A mutation in the ceruloplasmin gene is associated with systemic hemosiderosis in humans. *Nat Genet.* 1995;9:267-72
280. **Zacharski** LR, Ornstein DL, Woloshin S, Schwartz LM. Association of age, sex, and race with body iron stores in adults: analysis of NHANES III data. *Am Heart J.* 2000;140:98-10

ANEXO I.

Conformidad de la Dirección del Centro

Conformidad de la Dirección del Centro

Dra. Victoria Ureña Vilardell Subdirectora Médico de Docencia e Investigación del Hospital "Ramón y Cajal" y vista la autorización del Comité Ético de Investigación Clínica de este Centro

CERTIFICA

Que conoce la propuesta para que sea realizado en el Hospital Ramón y Cajal el Proyecto de Investigación titulado:

ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL HIERRO: PAPEL DE LA MUTACIÓN H63D

Y que será realizado por el **Dr. Daniel M. Boixeda** como Investigador Principal.

Servicio: **GASTROENTEROLOGÍA**

Que acepta la realización de dicho Proyecto de Investigación en este Hospital.

Lo que firma en Madrid a 20 de Marzo de 2012



Fdo. Dra. Victoria Ureña Vilardell

ANEXO II

***Aprobación del Estudio por el Comité
Ético de Investigaciones Clínicas***

Dra. ITZIAR DE PABLO LÓPEZ DE ABECHUCO, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Ramón y Cajal

CERTIFICA

Que el Comité Ético de Investigación Clínica, ha evaluado el **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:**

Título:

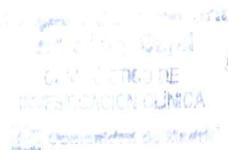
ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL HIERRO: PAPEL DE LA MUTACIÓN H63D

Investigador Principal: **Dr. Daniel M. Boixeda**

Servicio: **GASTROENTEROLOGÍA**

Y ha decidido su **APROBACIÓN.**

Lo que firmo en Madrid a 15 de Marzo de 2012



Fdo.: Dra. Itziar de Pablo López de Abechuco
Secretaria del CEIC

ANEXO III

Consentimiento informado Estudio Genético



Hospital Universitario
Ramón y Cajal

Comunidad de Madrid

APELLIDOS:

NOMBRE:

SERVICIO:

CAMA:

Fecha Ingreso:

N.H.C.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

ESTUDIO GENETICO DE HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA

SERVICIO: GENETICA MÉDICA

MÉDICO QUE INFORMA: APELLIDOS NOMBRE:

Finalidad: Analizar los genes de la Hemocromatosis Hereditaria que pueden estar implicados en la patología de mi enfermedad.

Descripción del proceso: Se le va a realizar una extracción de una muestra de sangre periférica y después en esta muestra se utilizarán las técnicas de biología molecular necesarias para el estudio y diagnóstico de esta patología y que básicamente consisten en la amplificación y posterior búsqueda de las mutaciones en el material genético (**ADN**) aislado de los linfocitos.

Beneficios del estudio: Este estudio puede permitir una confirmación diagnóstica.

El estudio no produce más molestias que las de cualquier análisis de sangre

Es posible que de este estudio no se derive ningún resultado beneficioso ni concluyente acerca de su patología, debido al conocimiento incompleto de los mecanismos genéticos.

Por el contrario, también es posible que se deriven conclusiones que le afecten a usted o a sus familiares directos.

Derechos del paciente: El Servicio de Genética Médica del Hospital Ramón y Cajal, guardará absoluta confidencialidad tanto de su identidad como del resultado obtenido.

- De identificarse la alteración genética responsable de la patología, deseo ser informado/a
 SI NO
- Si de este estudio se derivasen resultados de interés para otros miembros de mi familia, éstos podrán solicitar voluntariamente la realización del estudio.
- Mi ADN (muestra genética) sin identificación se podrá utilizar como control en estudios genéticos:
 SI NO
- Mi ADN (muestra genética) se podrá volver a estudiar caso de descubrirse nuevos mecanismos genéticos que expliquen la enfermedad:
 SI NO

Antes de firmar este documento, si desea más información o tiene cualquier duda, no tenga reparo en preguntarnos. Le atenderemos con mucho gusto.

El paciente D./Dña., o su representante legal, declara que:

- **HA RECIBIDO INFORMACIÓN** sobre el procedimiento propuesto y sus posibles alternativas.
- **ESTÁ SATISFECHO** con la información recibida y ha tenido posibilidad de aclarar todas sus dudas sobre el tema.
- **CONCEDE SU CONSENTIMIENTO** para que se le realice el procedimiento previsto y conoce su derecho a revocar dicho consentimiento en cualquier momento previo a la realización del mismo, sin necesidad de tener que explicar sus causas.

Madrid, de de

Fdo:
EL INTERESADO O RESPONSABLE LEGAL

Fdo:
EL MÉDICO INFORMANTE

CI.010

NO CONSIENTO y rechazo el procedimiento propuesto y al hacerlo libero al Servicio de Genética Médica de toda responsabilidad relativa a mi caso.

Madrid, de de.....

EL PACIENTE O REPRESENTANTE LEGAL

EL MÉDICO INFORMANTE

REVOCO el consentimiento previamente concedido

Madrid, de de.....

EL PACIENTE O REPRESENTANTE LEGAL

EL MÉDICO INFORMANTE



ANEXO IV

Rangos de referencia

Parámetros	Unidades	Valor de Referencia
Leucocitos Totales	/mm ³	4000-11000
Neutrófilos	%	42-74
Neutrófilos	/mm ³	1700-7500
Linfocitos	%	16-45
Linfocitos	/mm ³	1000-3500
Monocitos	%	4-12
Monocitos	/mm ³	200-1000
Eosinófilos	%	4-12
Eosinófilos	/mm ³	0-500
Basófilos	%	0-2
Basófilos	/mm ³	0-200
Eritrocitos	/mm ³	H 4600000-5700000 M 4000000-5500000
Hemoglobina	gr/dL	H 13-17.5 M 12-16
Hematocrito	%	H 40-54 M 36-47
VCM	fL	82-98
HCM	pg	27-31
CHCM	gr/dL	31-38
Plaquetas	/mm ³	140000-450000
TTPa	Segundos	9.70-14
Actividad de Protrombina	%	75.0-127
Tiempo de protrombina	Segundos	0.85-1.2
INR	Relación	25-40
Fibrinógeno	mg/dL	150-400
Glucosa	mg/dL	70-110
Urea	mg/dL	15-45
Bilirrubina total	mg/dL	0.2-1.2
AST	UI/L	4-50
ALT	UI/L	5-40
Fosfatasa alcalina	UI/L	4-147
GGT	UI/L	7-50
Hierro plasmático	µg/mL	60-156
Ferritina	ng/mL	H 14-300 M 14-200
Índice Saturación de Transferrina	%	20-45
Transferrina	mg/dL	200-360
Albúmina	g/dL	3.8-5.4
TSH	UI/mL	0.4-4
T4 libre	UI/mL	4.5-11.2
Hormona folículo estimulante	mUI/mL	H 1.5-12.4 M 4.7-134
Hormona Luteinizante	UI/L	H 2-12 M 0.6-105
17-Beta-Estradiol	pg/mL	H 10-50 M 30-400
Testosterona	ng/dL	H 300-1000 M 15-70
Colesterol total	mg/dL	120-240
HDL colesterol	mg/dL	>40
LDL colesterol	mg/dL	<100
Triglicéridos	mg/dL	25-200

Proteína C reactiva	g/dL	≤5
Alfa-1-antitripsina	mg/L	92-200
Alfa-fetoproteína	mg/dL	0-5.8
Porfirinas totales	µg/24 horas	≤300
Uroporfirinas	µg/24 horas	≤50
Coproporfirinas	µg/24 horas	≤250
Ceruloplasmina	mg/dL	20-60
Cobre sérico	µg/dL	70-150
Inmunoglobulina G	mg/dL	700-1600
Inmunoglobulina A	mg/dL	70-400
Inmunoglobulina M	mg/dL	40-230