

REVISION BIBLIOGRAFICA

Hemocromatosis tipo I. Patogenia y diagnóstico

Hemochromatosis Type I. Pathogenia and Diagnosis

Lic. Ismael Aramís Cervera García.

Licenciado en Tecnología de la Salud. Perfil Laboratorio Clínico. MSc. en Genética Médica. Aspirante a investigador. Profesor Instructor. Centro Nacional de Genética Médica. Cuba.

Bachelor Degree in Health Technology. Clinical Laboratory Profile. MSc. in Medical Genetics. Research Assistant. Instructor. National Center for Medical Genetics.

RESUMEN

La hemocromatosis tipo I es una enfermedad genética caracterizada por elevada absorción de hierro a nivel de las criptas intestinales debido a una alteración en su metabolismo, que provoca su depósito progresivo en distintos órganos. Debe diagnosticarse en fases pre-clínicas, mediante análisis genéticos o bioquímicos; algunos pacientes se diagnostican tardíamente, a partir de los síntomas, lo cual es un fracaso, pues hacerlo en fase asintomática podría evitar las complicaciones orgánicas graves de la enfermedad. Su incidencia en Cuba no ha sido reportada y aunque recientemente se introdujo en el país el diagnóstico molecular, este continúa realizándose mediante las características clínicas del paciente y la cuantificación de hierro y ferritina séricos, de forma que no se consigue identificar a los pacientes asintomáticos ni los portadores. Por tales razones se realizó esta revisión para que los médicos conozcan más sobre este padecimiento y los medios disponibles para su correcto diagnóstico.

Palabras clave: hemocromatosis; diagnóstico

Límites: humanos

ABSTRACT

Hemochromatosis type 1 is a genetic disease characterized by high iron absorption at the intestinal crypts due

to an alteration in their metabolism, causing progressive accumulation in a variety of organs. It should be diagnosed in pre-clinical stages through genetic and biochemical tests; some patients are diagnosed late, that is after symptoms appear which is considered to be a failure given that diagnosis during asymptomatic phase could prevent serious organs complications of the disease. Its incidence in Cuba has not been reported and, although molecular diagnostics have just been introduced in our context, it continues to be performed from patient's clinical characteristics and quantification of serum iron and ferritin, so that asymptomatic patients or carriers can not be identified yet. For all these reasons this review was conducted so that doctors know more about this condition and the means available for an appropriate diagnosis.

Key words: hemochromatosis; diagnosis

Limits: humans

INTRODUCCIÓN

La hemocromatosis tipo I (OMIM 235 200) es el defecto congénito del metabolismo más frecuente en las personas con ascendencia europea. Estudios de población basados en ensayos fenotípicos que utilizan la sobrecarga férrica como marcador, muestran que en la población caucásica se encuentra afectado 1 de cada 200 a 400 individuos. ⁽¹⁾ La enfermedad tiene un patrón

Recibido: 2 de febrero de 2012

Aprobado: 1 de abril de 2012

Correspondencia:

Lic. Ismael Aramís Cervera García.

Centro Nacional de Genética Médica.

La Habana. Cuba.

Dirección electrónica: icervera@infomed.sld.cu

de herencia autosómico recesivo y se caracteriza por una elevada absorción de hierro a nivel de las criptas intestinales como consecuencia de una alteración del metabolismo de este mineral, lo que provoca su depósito progresivo en distintos órganos, como el hígado, páncreas, corazón, articulaciones y otros. ^(2,3)

La incidencia en Cuba de la hemocromatosis aún no ha sido reportada. A pesar de que recientemente se logró introducir en el país el diagnóstico molecular de esta enfermedad, el diagnóstico se continúa realizando mediante el cuadro clínico del paciente y la cuantificación de hierro y ferritina séricos, de forma que no se consigue identificar a los pacientes asintomáticos ni a los portadores. ^(2,3)

El gen de la hemocromatosis tipo I se denomina HFE y se localiza en el brazo corto del cromosoma 6, en el locus 6p21,3 donde se han identificado varias mutaciones asociadas a la enfermedad. ^(2,4) Las principales son la sustitución de una cisteína por una tirosina en posición 282 de la proteína (C282Y) y el cambio de una histidina por un aspártico en posición 63 (H63D). ⁽⁴⁻⁶⁾

Existe un tratamiento paliativo que puede frenar la evolución de la hemocromatosis tipo I, ^(6,7) lo que justifica que se intente realizar un diagnóstico precoz antes de que se produzca el daño irreversible (cirrosis, hepatocarcinoma, miocardiopatía, diabetes mellitus, impotencia, artritis), logrando que la esperanza de vida de estos pacientes sea equiparable a la de la población normal, razones por las cuales se realizó esta revisión bibliográfica.

DESARROLLO

Reseña histórica

En 1865, el médico francés Armand Trousseau describió un síndrome clínico caracterizado por cirrosis hepática, diabetes e hiperpigmentación cutánea, en un varón de 28 años; era relevante el tono oscuro de la piel y en especial el color negruzco del pene. A esta triada Trousseau la denominó *diabetes bronceada* por su asociación con la hiperpigmentación cutánea tan llamativa de los enfermos. ⁽⁸⁾

En 1889, von Recklinghausen utilizó el nombre de hemocromatosis para designar el síndrome clínico de Trousseau, tras descubrir que el hierro era el metal acumulado en los tejidos y conjuntamente sospechar el carácter hereditario del proceso al observar la agregación familiar de sus casos. El Dr. Joseph H. Sheldon, afianzó los estudios de Recklinghausen al revisar los trabajos sobre la agregación familiar de la hemocromatosis en 14 autores y confirmó en 1935 que se trataba de una enfermedad genética que altera el metabolismo del hierro. ⁽⁹⁾

La naturaleza genética de la enfermedad se demostró 40 años más tarde por Simon y colaboradores en 1975, cuando publicaron su investigación sobre la asociación con el alelo HLA-A3 del complejo mayor de

histocompatibilidad en el cromosoma 6. ⁽¹⁰⁾ Posteriormente, en 1996 John N. Feder y colaboradores identificaron el gen responsable y las dos mutaciones principales asociadas a esta entidad, lo que marcó un hito en el entendimiento y manejo de la enfermedad, así como del metabolismo del hierro, ⁽¹¹⁾ John nombró al gen HLA-H, aunque más tarde pasaría a denominarse HFE.

Barton y colaboradores identificaron en 1999 cuatro nuevas mutaciones del gen HFE en pacientes clínicamente diagnosticados con hemocromatosis tipo I. En la actualidad se han descubierto más de 20 mutaciones asociadas a esta enfermedad. ^(2,5,11)

Epidemiología

La hemocromatosis tipo I es la enfermedad genética más frecuente en los individuos de color de piel blanca, afecta a 1 de cada 200 personas. ^(2,4,5,12) Todos los estudios han demostrado su mayor prevalencia en individuos de raza blanca, de origen caucásico y céltico. La migración de los pueblos celtas explicaría, quizás, la diseminación de la enfermedad por todo el mundo. ^(1,13)

Además de las diferencias étnicas, el género también parece guardar relación con la enfermedad. Los hombres la padecen con mayor frecuencia que las mujeres, en una proporción 3:1. Factores fisiológicos femeninos, como son la menstruación o el embarazo, impiden la acumulación de grandes cantidades de hierro en el organismo, lo que es una de las causas de dicha discordancia. ⁽¹⁴⁾

Se transmite de forma autosómica recesiva, esto significa que en una pareja de portadores, su descendencia tendrá una probabilidad de un 25 % de hijos sanos, 50 % de hijos portadores y 25 % de hijos con ambos alelos del gen HFE mutados. ^(2,4,5) La incidencia de heterocigocidad para el alelo de la hemocromatosis en la población blanca es de aproximadamente el 10 %. La incidencia esperada de homocigocidad es de 2-3 por 1000 individuos. ^(2,4,5) Su gran prevalencia sugiere que ha existido una selección positiva, para mutaciones del gen HFE o para el haplotipo ancestral del complejo mayor de histocompatibilidad conservado con el que se asocia la mutación. Es una enfermedad que resulta en un exceso de hierro, por lo que pudiera conferir una ventaja selectiva en periodos de déficit nutricional de hierro o en estadios fisiológicos que requieren más hierro, como en el embarazo. ⁽¹⁵⁾

Hemocromatosis hereditaria tipo II o hemocromatosis hereditaria juvenil

Es una forma rara y grave de hemocromatosis hereditaria ⁽¹⁶⁾ (OMIM 602 390) que afecta a niños o adultos jóvenes de menos de 30 años de uno y otro sexo. Se muestra en sujetos de raza caucásica y procedencia europea y se define clínicamente por presentar hipogonadismo hipogonadotropo, miocardiopatía, hepatomegalia, cirrosis hepática y

pigmentación melánica de la piel. Presenta una herencia autosómica recesiva y en la mayoría de los casos está ligada al cromosoma 1q, en que se denomina hemocromatosis tipo IIa; en una minoría de casos la enfermedad está ligada al cromosoma 19, entonces se conoce como hemocromatosis tipo IIb.

Hemocromatosis hereditaria del tipo III asociada al receptor 2 de la transferrina

La hemocromatosis tipo III ⁽¹⁷⁾ (OMIM 604 250) está asociada a mutaciones en el gen del receptor 2 de la transferrina (TfR2). Es frecuente que los pacientes presenten sintomatología a edades tempranas, incluso antes de los 30 años, que existan manifestaciones cardíacas, hipogonadismo hipogonadotrópico, artralgias, hiperpigmentación de la piel y cirrosis hepática. El cuadro puede recordar al de la hemocromatosis tipo II.

Hemocromatosis hereditaria tipo IV o enfermedad de la ferroportina

La hemocromatosis tipo IV ⁽¹⁸⁾ (OMIM 606 069) se transmite de forma autosómica dominante y es común que la tasa de ferritina en sangre esté muy elevada, sin que este aumento se acompañe de una saturación paralela de la transferrina. En estos casos no se observa el predominio periportal de la siderosis hepatocitaria habitual en la hemocromatosis clásica. Esta siderosis es bien tolerada y la fibrosis hepática es leve o inexistente. Mutaciones en el gen de la ferroportina-1 (FP-1) situado en el cromosoma 2q32 son responsables de esta enfermedad.

Manifestaciones clínicas

Los individuos con un genotipo asociado a hemocromatosis tipo I no siempre expresan la enfermedad. En los casos con manifestaciones clínicas, la expresión patológica del fenotipo ocurre de acuerdo a las siguientes fases: ^(6, 19,20)

Fase 1: del nacimiento a la adolescencia. No se han descrito alteraciones.

Fase 2: de la adolescencia a la quinta década de la vida. Aparecen alteraciones en algunas determinaciones bioquímicas que posibilitan el diagnóstico bioquímico. Todavía no se presentan lesiones orgánicas y, por tanto, el sujeto no puede aún considerarse "enfermo".

Fase 3: a partir de la quinta década de la vida. Se inicia un proceso de daño parenquimatoso y aparecen las "enfermedades asociadas": hepatopatía, cirrosis hepática, carcinoma hepático, diabetes mellitus, insuficiencia cardíaca, impotencia, artropatía, oscurecimiento cutáneo.

Sólo los individuos que llegan a la fase 3 pueden considerarse enfermos. El resto tienen marcadores, primero los genéticos y después los bioquímicos, que son predictivos de una presentación futura de enfermedad si ello no se evita. (Gráfico 1).

La hemocromatosis debe diagnosticarse en fases pre-clínicas (1 y 2), mediante análisis genéticos o



Gráfico 1. Fases de la hemocromatosis tipo I

bioquímicos. Algunos pacientes se diagnostican tardíamente, a partir del conjunto de síntomas de la enfermedad, lo que supone un fracaso. El paciente con hemocromatosis tipo I diagnosticado en fase asintomática podrá evitar todas las complicaciones orgánicas graves de la enfermedad mediante un tratamiento sencillo, barato y seguro que es la flebotomía ^(2,4,5,21).

El diagnóstico de la hemocromatosis requiere:

1) Sospecha por análisis sugestivo en paciente con o sin clínica (presencia de uno de los siguientes datos analíticos o varios en dos ocasiones separadas un mínimo de 3 meses): ⁽⁷⁾

- Hierro sérico $\geq 150 \mu\text{g/dL}$
- Índice de saturación de transferrina $> 45 \%$
- Ferritina sérica $> 400 \mu\text{g/L}$

2) Demostración de la presencia de las mutaciones más frecuentes del gen HFE.

3) Posteriormente, es conveniente la confirmación de la acumulación de hierro mediante resonancia magnética nuclear o biopsia hepática en caso de que la ferritina sérica sea mayor de $1000 \mu\text{g/L}$.

Las pautas de la Asociación Americana para el Estudio de las Enfermedades Hepáticas (AASLD por sus siglas en inglés) para el diagnóstico y tratamiento de hemocromatosis hereditaria establecen que "se debe exhortar en forma contundente a todos los pacientes con hemocromatosis que tengan evidencia de sobrecarga de hierro a someterse a flebotomías regulares hasta que los depósitos de hierro se reduzcan". (Gráfico 2).

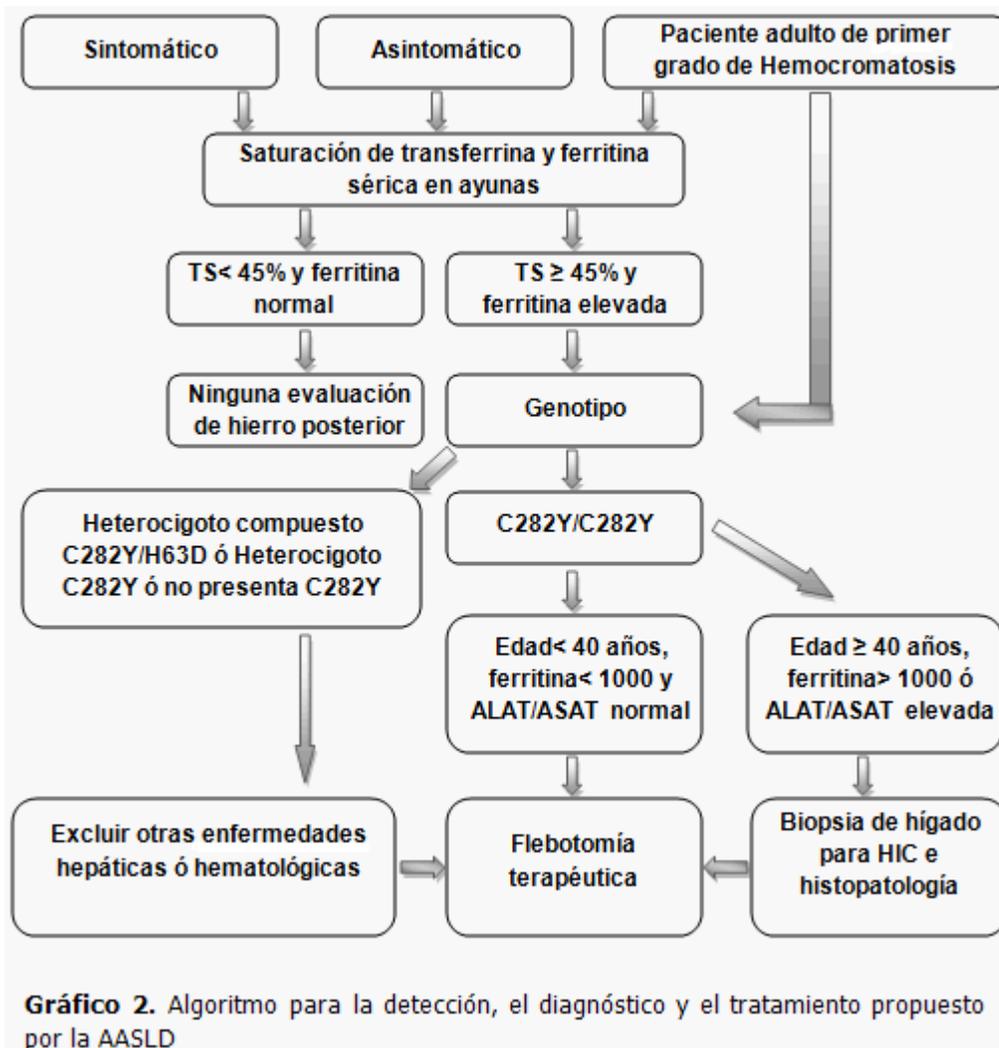


Gráfico 2. Algoritmo para la detección, el diagnóstico y el tratamiento propuesto por la AASLD

Etiología

La causa molecular que provoca la hemocromatosis tipo I son las mutaciones en el gen HFE que codifica la proteína del mismo nombre. ^(2,4,5)

Genética

El gen HFE se localiza en el brazo corto del cromosoma 6 en el locus 21.3, organizado en 7 exones. Su ARN_m, de cerca de 2700 pb de longitud, codifica la proteína HFE. ^(2,4,5)

Proteína HFE

El gen HFE codifica para una glicoproteína de 343 aminoácidos, muy similar en su estructura tridimensional a la de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad de clase I. Esta proteína tiene seis dominios diferentes: una cadena peptídica de 22 residuos, tres dominios extracelulares alfa en forma de bucle, una región transmembranosa y un corto residuo C-terminal intracelular que le sirve a la proteína de anclaje en la membrana celular. La estructura terciaria de esta proteína se mantiene gracias a puentes disulfuro. Entre los bucles alfa 1 y alfa 2 queda un

espacio por el que interactúa con los receptores de la transferrina. El bucle alfa 3 formado mediante un puente tiol entre dos moléculas de cisteína es fundamental para la unión no covalente a la beta 2 microglobulina y para la expresión de la proteína en la superficie de las células. ⁽²⁾

Esta proteína se encuentra físicamente donde hay receptores de la transferrina tipo 1, como por ejemplo las células epiteliales de las criptas duodenales y el sincitiotrofoblasto. La proteína puede localizarse en todo el tracto digestivo pero su máxima densidad se ha observado en las criptas de los enterocitos duodenales. También se encuentra su expresión en las células epiteliales del tracto biliar, en las células de Kuppfer hepáticas, en las células del sincitiotrofoblasto, en macrófagos, granulocitos circulantes y monocitos.

Función de la proteína HFE

La proteína HFE se asocia, en dependencia del pH, con el receptor de la transferrina, disminuyendo la afinidad de este por la transferrina cargada, con la que compite por su unión al receptor. Debido a su vinculación con la vía de incorporación de hierro mediada por la

transferrina y su localización en los endosomas y la cara basolateral de los precursores enterocíticos, se plantea que la HFE puede ser un sensor de las reservas corporales de hierro, e incluso se ha sugerido que la relación de la HFE con el receptor de la transferrina es crítico para el mantenimiento de la homeostasia del hierro. En fecha reciente, se ha sugerido que la HFE normalmente facilita más que obstaculiza la incorporación celular de hierro unido con la transferrina mediada por el receptor de la transferrina, y parece que la HFE puede también unir otras proteínas o ejercer un

efecto directo sobre el transporte endosomal del mineral.⁽²²⁾

Mecanismo fisiopatológico

La cantidad de hierro total del organismo es de unos 4-5 g en individuos sanos y se mantiene dentro de esos límites durante toda la vida, gracias a que su absorción intestinal se encuentra sometida a un estrecho control. En los pacientes con hemocromatosis este equilibrio está roto por lo que la absorción intestinal de hierro se ve muy aumentada. (Tabla 1).

Tabla 1. Estadios de sobrecarga de hierro en la hemocromatosis tipo I

1. Predisposición genética, sin otras alteraciones.
2. Sobrecarga mínima (aproximadamente 1,5.g), con ferritina en valores normales.
3. Sobrecarga moderada (2-5.g), sin síntomas ni daño estructural. Ferritina: <500 mg/L. Habitualmente menores de 20 años
4. Sobrecarga severa (5-10.g) que promueve síntomas inespecíficos y aumento moderado de transaminasas. Ferritina: 500-1 000 mg/L. Edad entre 20 y 40 años.
5. Sobrecarga muy severa (>10.g) con lesión estructural y funcional permanente, principalmente cirrosis. Ferritina > 1 000 mg/L. En mayores de 40 años.

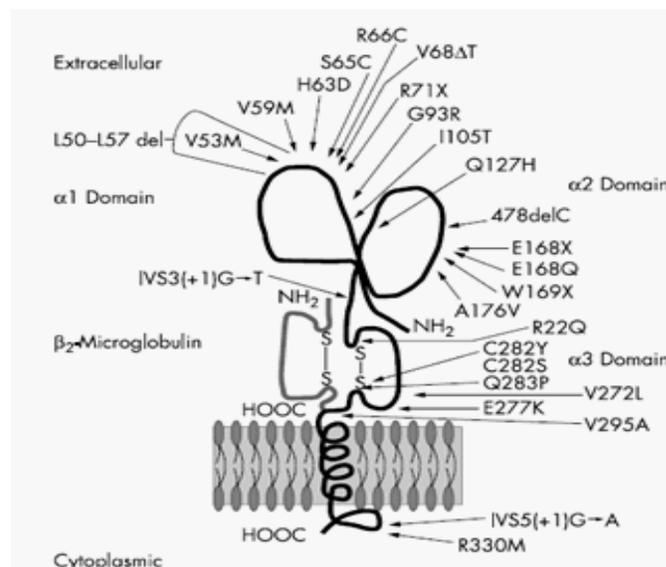
Existen dos mecanismos que explican cómo tiene lugar este desorden homeostático: mediante el papel de las criptas intestinales y el de la hepcidina.^(19,20)

La hipótesis más aceptada es la relacionada con el papel de la hepcidina, a partir del mayor conocimiento de su funcionamiento y su asociación con la hemocromatosis juvenil. Cuando la sideremia es elevada, la síntesis de hepcidina aumenta y disminuye la liberación de hierro de los enterocitos y de los macrófagos, posiblemente gracias a la interacción de otras proteínas relacionadas con la homeostasis del hierro y que aún no están completamente estudiadas, entre ellas la ferroportina. Cuando la sideremia desciende lo hacen también los niveles de hepcidina lo que provoca un aumento en la liberación del hierro. El estímulo directo que controla a la hepcidina aún permanece desconocido pero parece que la HFE, la hemojuvelina y el receptor de transferrina 2 juegan un papel importante en él. En presencia de un gen HAMP (del inglés: *hepcidin antimicrobial peptide*) normal, que codifica para la proteína hepcidina, la HFE mutante puede alterar de alguna manera las señales o los factores necesarios para la síntesis de la hepcidina de los hepatocitos lo que producirá una liberación descontrolada de hierro desde los enterocitos duodenales y los macrófagos. Estos eventos explican la liberación inapropiada de hierro.⁽²³⁻²⁵⁾

Mutaciones en el gen HFE

Se han descrito más de 20 mutaciones en el gen HFE responsables de la hemocromatosis tipo 1, en el gráfico 3 se representa la localización de las mutaciones en la proteína. Se conoce que un 80-90 % de los pacientes con hemocromatosis hereditaria son homocigotos

C282Y/C282Y; un 3,6 % heterocigotos C282Y, un 5 % son heterocigotos dobles, C282Y/H63D; un 1,5 % son homocigotos H63D y un 5,2 % heterocigotos H63D.^(2,4,5)



(Tomado de Carballal J. Hemocromatosis hereditaria.)

Gráfico 3. Lugar en el que pueden afectar las mutaciones del gen a la proteína HFE

Mutación C282Y

Esta mutación puntual en el aminoácido 282 (nucleótido 845 del exón 4) que cambia una cisteína en una tirosina,⁽²⁶⁾ deshace un puente disulfuro en la hélice α_3 ,

lo que provoca la eliminación de su capacidad de unión a la β_2 -microglobulina, y evita la expresión de la proteína HFE en la superficie de la célula. ^(14,15) En sistemas modelo (ratones *knock-in*) con la mutación C260Y (equivalente al humano C282Y), se ha demostrado que no está presente un efecto de anulación completa del alelo, ya que se produce una sobrecarga férrica menor que en ratones sin el gen HFE (ratones *knock-out*). Además, la sobrecarga no está presente en el momento del nacimiento, indicando que esta mutación provoca un aumento de absorción del hierro a nivel intestinal y no afecta a la captación placentaria de hierro. ⁽²⁷⁾ Sin embargo, la localización de la proteína HFE y del receptor de la transferrina en la membrana placentaria, parecería indicar alguna función en la homeostasis materno-filial del hierro sugiriendo una posible participación en algunas formas de sobrecarga férrica neonatal. ⁽²⁸⁾

El estudio de la prevalencia de esta mutación en 42 poblaciones de distintos países, ha determinado que el alelo C282Y tiene su origen en las poblaciones de origen céltico y nórdico. En el Reino Unido e Irlanda el 10-20 % de la población es portadora, siendo más baja (hasta un 2-4 %) en los países del Sur y Este europeos. ⁽²⁷⁾

Penetrancia de la mutación C282Y

A pesar de los estudios realizados al respecto, la penetrancia exacta de los homocigotos para la C282Y en la hemocromatosis no se conoce aún, pero las divergencias entre el número de pacientes, la frecuencia alélica de la mutación C282Y en la población general, y las predicciones de la frecuencia de la hemocromatosis hereditaria indican que, o bien la penetrancia de la mutación es incompleta o que existen muchos pacientes no diagnosticados. ^(26,29,30) Seis grandes estudios poblacionales describen un porcentaje de entre el 12 al 81 % de individuos con la mutación C282Y en homocigosis con valores normales de ferritina sérica. ^(2,27,28) Esta amplia divergencia en el cálculo de la penetrancia de la mutación C282Y (18,8 a 88,4 %) puede deberse, en parte, a que los estudios de cribado normalmente describen una media de penetrancia en una población de individuos con un amplio rango de edad, en lugar de analizar solo el grupo de individuos de la tercera edad, ya que la expresión de la hemocromatosis depende de la edad. ^(2,4,5,26) Ni un exceso de hierro de la dieta ni pérdidas de sangre por menstruación o por donaciones explica todos los casos de C282Y homocigotos asintomáticos, por lo que se apunta hacia que mutaciones en otros genes pudieran modificar la expresión fenotípica de la enfermedad. Es posible que otros factores o mutaciones además de la C282Y sean necesarios para la aparición de la enfermedad, por lo que no todos los individuos C282Y homocigotos con una bioquímica alterada desarrollarían síntomas clínicos, como se apuntó en el último trabajo

realizado sobre la penetrancia de la mutación C282Y en la población de EE.UU. ^(25,31)

Mutación H63D

La mutación H63D resulta de un cambio puntual en el nucleótido 187 (187 C \rightarrow G) del exón 2 del gen HFE, que provoca en la transducción la sustitución en el aminoácido 63 de una histidina por ácido aspártico. ⁽⁵⁾ Las moléculas portadoras de la mutación H63D se procesan correctamente y se expresan en la membrana, uniéndose al receptor de la transferrina, y al parecer no alteran la afinidad del receptor por la transferrina. ^(2,4,5)

Esta mutación tiene una distribución más global que C282Y, lo que indicaría un origen anterior. Las frecuencias alélicas más elevadas se localizan en Europa, Asia Menor y la India, es muy poco frecuente en África y América. España con un 25-30 % de portadores es uno de los países con mayor frecuencia de esta mutación.

Penetrancia del genotipo heterocigoto compuesto C282Y/H63D

Se ha descrito que la penetrancia del genotipo heterocigoto compuesto es muy baja ya que el equilibrio Hardy-Weinberg predice en la población más heterocigotos compuestos que C282Y homocigotos y sólo un bajo porcentaje de heterocigotos compuestos presentan la enfermedad. Esta penetrancia ha sido estimada entre 0,44 %-1,5 % por varios grupos. ^(2,11)

Estudios moleculares

Los estudios moleculares en las familias con hemocromatosis hereditaria se iniciaron en 1996 utilizando la reacción en cadena de la polimeriza o PCR (del inglés: *polymerasechainreaction*) seguida de digestión enzimática. ⁽¹¹⁾ Esto supuso un avance importante para las familias ya que se pudo abordar la detección de portadores a partir del núcleo familiar. Actualmente con la caracterización de las mutaciones es posible confirmar el diagnóstico clínico de los pacientes con clínica sugestiva.

El análisis de las mutaciones C282Y y H63D permite un nivel de detección del 90 % al 95 % utilizando el PCR seguido de digestión enzimática (RFLP). ⁽¹¹⁾ Pero además de este método, existen otros como el PCR con cebadores de secuencia específica (ASO), SSCP (del inglés: *single-strand conformational polymorphism*) y PCR en tiempo real. ⁽³²⁾

PCR seguido de digestión enzimática

Comparado con otros procedimientos este método no requiere de equipamiento especializado y es probablemente el más utilizado en los laboratorios para la detección de las dos mutaciones. En Cuba, desde el año 2009 se utiliza este método para la detección de la hemocromatosis tipo I en el Laboratorio de Biología Molecular del Centro Nacional de Genética Médica,

aunque también es utilizado el ASO cuando el número de muestras es elevado.

La mutación C282Y crea una diana de restricción para la enzima Rsa I o SnaBI y la mutación H63D destruye una diana de restricción de la enzima Mbo I o BclII, por lo que los alelos normales y mutados pueden ser fácilmente reconocidos sobre la base del tamaño de los fragmentos, una vez digeridos con la enzima adecuada y sometidos a electroforesis en un gel de agarosa. Muchos laboratorios utilizan los cebadores descritos por Feder y colaboradores en el artículo que detalla el descubrimiento del gen HFE. ⁽¹¹⁾ Sin embargo es importante la selección de los cebadores y la enzima de restricción para que el producto de PCR contenga un sitio de restricción adicional al creado o destruido por la mutación, para usarlo como control interno de la reacción. Así pues para mutación C282Y se utiliza la enzima Rsa I en lugar del SnaBI que es de corte menos frecuente con los cebadores descritos originalmente por Feder y colaboradores. ⁽¹¹⁾ Para la mutación H63D es

mejor rediseñar los cebadores para que en el producto de PCR se incluya otra diana Mbo I. Debido a la polémica sobre la utilización de los cebadores reversos descritos por Feder y colaboradores en esta técnica se ha recomendado no utilizar cebadores que comprendan polimorfismos conocidos.

Conclusiones

Debido a su alta incidencia, la hemocromatosis tipo I constituye un grave problema de salud en la actualidad del cual Cuba no se encuentra exenta. Por esta razón, debido a la importancia que tiene diagnosticar esta enfermedad en la fase asintomática con el objetivo de evitar el deterioro de diversos órganos, lo que pudiera comprometer la calidad de vida de los pacientes y ocasionar elevadas pérdidas económicas a la sociedad, se considera oportuno que los facultativos conozcan más sobre este padecimiento, así como sobre los medios disponibles con que cuentan para su adecuado diagnóstico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cukjati M, Vaupotic T, Ruprecht R, Curin-Serbec V. Prevalence of H63D, S65C and C282Y hereditary hemochromatosis gene mutations in Slovenian population by an improved high-throughput genotyping assay. *BMC Med Genet.* 2007;8:69.
2. Adams PC, Barton JC. Haemochromatosis. *The Lancet.* 2007;370(9602):9602-60.
3. Allen KJ, Gurrin LC, Constantine CC, Osborne NJ, Delatycki MB, Nicoll AJ, et al. Iron-Overload-Related Disease in HFE Hereditary Hemochromatosis. *N Engl J Med.* 2008;358(3):221-30.
4. Niederau C. Hereditary hemochromatosis. *Med Klin (Munich).* 2009;104(12):931-46.
5. Fix OK, Kowdley KV. Hereditary hemochromatosis. *Minerva Med.* 2008;99(6):605-1
6. Bacon B, Adams P, Kowdley K, Powell L, Tavill A. Diagnosis and Management of Hemochromatosis: 2011 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology.* 2011;54(1):328-43.
7. Brissot P, Bismuth M, Peynaud-Debayle E, de Bels F. Practical management of HFE hemochromatosis. *Rev Prat.* 2006;56(19):2123-9.
8. Pietrangelo A. Hereditary Hemochromatosis: Pathogenesis, diagnosis and treatment. *Gastroenterology.* 2010;139(2):393-408.
9. Tavill AS, Adams PC. A diagnostic approach to hemochromatosis. *Can J Gastroenterol.* 2006;20(8):535-40.
10. Simon M, Bourel M, Genetet B, Fauchet R. Idiopathic hemochromatosis: demonstration of recessive transmission and early detection by family HLA typing. *New Eng J Med.* 1977;297(19):1017-21.
11. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet.* 1996;13(4):399-408.
12. Ayonrinde OT, Milward EA, Chua AC, Trinder D, Olynyk JK. Clinical perspectives on hereditary hemochromatosis. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2008;45(5):451-84.
13. Distant S, Robson KJ, Graham-Campbell J, Arnaiz-Villena A, Brissot P, Worwood M. The origin and spread of the HFE-C282Y haemochromatosis mutation. *Hum Genet.* 2004;115(4):269-79.
14. Acton RT, Barton JC, Snively BM, McLaren CE, Adams PC, Harris EL, et al. Geographic and racial/ethnic differences in HFE mutation frequencies in the Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) Study. *Ethn Dis.* 2006;16(4):815-21.
15. Datz C, Haas T, Rinner H, Sandhofer F, Patsch W, Paulweber B. Heterozygosity for the C282Y mutation in the hemochromatosis gene is associated with increased serum iron, transferrin saturation, and hemoglobin in young women: a protective role against iron deficiency? *Clin. Chem.* 1998;44(12):2429-32.
16. Papanikolaou G, Samuel ME, Ludwig EH, MacDonald ML, Franchini PL, Dube MP, et al. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet.* 2004;36(1):77-82.

17. Camaschella C, Roetto A, Cali A, De Gobbi M, Garozzo G, Carella M, Majorano N, et al. The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet.* 2000;25(1):14-5.
18. Cremonesi L, Forni GL, Soriani N, Lamagna M, Fermo I, Daraio F, et al. Genetic and clinical heterogeneity of ferroportin disease. *B J Haematol.* 2005;131(5):663-70.
19. Fleming RE, Britton RS, Waheed A, Sly WS, Bacon BR. Pathophysiology of hereditary hemochromatosis. *Semin Liver Dis.* 2001;21(4):563-71
20. Loréal O, Ropert M, Mosser A, Déhais V, Deugnier Y, David V, et al. Pathophysiology and genetics of classic HFE (type 1) hemochromatosis. *Presse Med.* 2007;36(9 Pt 2):1271-7.
21. Beaton MD, Adams PC. Prognostic factors and survival in patients with hereditary hemochromatosis and cirrhosis. *Can J Gastroenterol.* 2006;20(4):257-60.
22. Britton RS, Fleming RE, Parkkila S, Waheed A, Sly WS, Bacon BR. Pathogenesis of hereditary hemochromatosis: genetics and beyond. *Semin Gastrointest Dis.* 2002;13(2):68-79.
23. Fleming RE, Sly WS. Mechanisms of iron accumulation in hereditary hemochromatosis. *Annu Rev Physiol.* 2002;64:663-80.
24. Gleeson R, Ryan E, Barrett Sh, Russell J, Crowe J. Hepatic iron metabolism gene expression profiles in HFE associated Hereditary Hemochromatosis. *Blood Cells, Molecules and Diseases.* 2007;38(1):37-44.
25. Barton JC, Acton RT, Lovato L, Speechley MR, McLaren CE, Harris EL, et al. Initial screening transferrin saturation values, serum ferritin concentrations, and HFE genotypes in Native Americans and whites in the Hemochromatosis and Iron Overload Screening Study. *Clin Genet.* 2006;69(1):48-57.
26. Rossi E, Jeffrey GP. Clinical Penetrance of C282Y Homozygous HFE Haemochromatosis. *Clin Biochem Rev.* 2004;25(3):183-90.
27. Merryweather-Clarke AT, Pointon JJ, Shearman JD, Robson KJ. Global prevalence of putative haemochromatosis mutations. *J Med Genet.* 1997;34(4):275-8
28. Kawabata H, Yang R, Hirama T, Vuong P, 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(30):20826-32.
29. Powell LW, Dixon JL, Ramm GA, Purdie DM, Lincoln DJ, Anderson GJ, et al. Screening for hemochromatosis in asymptomatic subjects with or without a family history. *Arch Intern Med.* 2006;166(3):294-301.
30. Milman N, Pedersen P. Evidence that the Cys282Tyr mutation of the HFE gene originated from a population in Southern Scandinavia and spread with the Vikings. *Clinical Genetics.* 2003;64(1):36-47.
31. Steinberg KK, Cogswell ME, Chang JC, Caudill SP, McQuillan GM, Bowman BA, et al. Prevalence of C282Y and H63D mutations in the hemochromatosis (HFE) gene in the United States. *JAMA.* 2001;285(17):2216-22.
32. Moysés CB, Moreira ES, Asprino PF, Guimarães GS, Alberto FL. Simultaneous detection of the C282Y, H63D and S65C mutations in the hemochromatosis gene using quenched-FRET real-time PCR. *Braz J Med Biol Res.* 2008;41(10):833-8.