

Genotipo y expresión fenotípica de la hemocromatosis hereditaria en España

A. Pardo^a, E. Quintero^a, Y. Barrios^a, M. Bruguera^b, L. Rodrigo^c, C. Vila^d, D. Acero^e, C. Guarner^f, S. Pascual^g, L. López^h, R. Morenoⁱ, E. Fábrega^j, R. Andrade^k, G. Peláez^l, J. Santos^m, M. Butiⁿ y M. Torresⁿ, por el Grupo de Hemocromatosis Hereditaria de la AEEH¹

^aHospital Universitario de Canarias. La Laguna. Tenerife. España. ^bHospital Clínic i Provincial. Barcelona. España. ^cHospital Central de Asturias. Oviedo. España. ^dHospital del Mar. Barcelona. España. ^eHospital Dr. Josep Trueta. Girona. España. ^fHospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España. ^gHospital General Universitario. Alicante. España. ^hHospital de San Agustín. Avilés. Oviedo. España. ⁱHospital de La Princesa. Madrid. España. ^jHospital Marqués de Valdecilla. Santander. España. ^kFacultad de Medicina. Universidad de Málaga. Málaga. España. ^lHospital Torre Cárdenas. Almería. España. ^mHospital Germans Trias i Pujol. Badalona. Barcelona. ⁿHospital General Vall d'Hebron. Barcelona. ¹Hospital de l'Esperit Sant. Santa Coloma de Gramenet. Barcelona. España.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: La prevalencia de homocigosidad para C282Y en pacientes con hemocromatosis hereditaria (HH) originarios de algunos países de la cuenca mediterránea puede ser sustancialmente inferior a la observada en el norte de Europa. Los datos referidos a España son contradictorios y basados en series pequeñas de ámbito regional. El objetivo de nuestro estudio es determinar la prevalencia de las 2 principales mutaciones del gen *HFE* en una serie de pacientes españoles con HH, no relacionados y de diferente procedencia geográfica.

PACIENTES Y MÉTODO: Los criterios para el diagnóstico de HH fueron: índice de saturación de transferrina superior al 45% en 2 determinaciones y homocigosidad para C282Y y/o índice de hierro hepático mayor de 1,9 de tejido hepático seco en pacientes no cirróticos o superior a 4,1 en presencia de cirrosis. Se excluyeron los casos detectados en familiares. Se evaluaron los datos demográficos, la expresión clínica, los parámetros del hierro y las mutaciones C282Y y H63D del gen *HFE* en un total de 222 pacientes.

RESULTADOS: El 83,3% de los pacientes fueron homocigotos para C282Y y el 5% dobles heterocigotos (C282Y/H63D). No se observaron diferencias significativas en la expresión fenotípica ni en la frecuencia de homocigosidad para C282Y en los pacientes nacidos en el norte o en el sur de España.

CONCLUSIÓN: El patrón genotípico y la expresión fenotípica de la HH en España son muy similares a los observados en el norte de Europa. Por tanto, la heterogeneidad genética descrita en algunas regiones del sur de Europa no puede considerarse una característica común a todos los países de la cuenca mediterránea.

GENOTYPE AND PHENOTYPIC EXPRESSION OF HEREDITARY HEMOCHROMATOSIS IN SPAIN

INTRODUCTION: The prevalence of C282Y homozygosity in patients with hereditary hemochromatosis (HH) has been reported to be markedly lower in the Mediterranean Basin than in northern Europe. In Spain, the available data are contradictory and limited to small series in specific regions. The objective of this study is to determine the prevalence of the 2 main *HFE* gene mutations in a large series of unrelated Spanish patients with HH from different geographical origins.

PATIENTS AND METHOD: The criteria for HH diagnosis were: repeat serum transferrin saturation index (> 45% plus C282Y homozygosity and/or hepatic iron index (> 1.9 of dry liver weight in non-cirrhotic patients or (> 4.1 in patients with liver cirrhosis. Cases in related individuals were excluded. Demographic data, clinical expression, iron parameters

Estudio financiado en parte por el Fondo de Investigación Sanitaria (FIS 99/0416) y por la ayuda C03/02 del Instituto de Salud Carlos III.

*Al final del artículo se ofrece el listado completo de los centros e investigadores participantes.

Correspondencia: Dr. A. Pardo.
Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de Canarias.
Ofra, s/n. 38320 La Laguna. Tenerife. España.
Correo electrónico: equinter@doymanet.es

Recibido el 6-3-2004; aceptado para su publicación el 5-5-2004.

and *HFE* gene mutations (C282Y and H63D) were assessed in 222 patients.

RESULTS: A total of 83.3% of patients were C282Y homozygous and 5% were compound heterozygous (C282Y/H63D). No significant differences in phenotypic expression or in the frequency of C282Y homozygosity were observed between patients born in the North and South of Spain.

CONCLUSION: The genotypic and phenotypic expression of HH in Spain is very similar to that reported in Northern Europe. Thus, the genetic heterogeneity described in some Southern European regions cannot be considered a common feature to all countries of the Mediterranean Basin.

INTRODUCCIÓN

El término hemocromatosis hereditaria (HH) engloba una serie de enfermedades genéticas, caracterizadas por un depósito progresivo de hierro en diversos órganos que puede conducir a la aparición de manifestaciones clínicas graves y potencialmente letales, como cirrosis, diabetes o cardiopatía¹. No obstante, si el diagnóstico se realiza tempranamente, la depleción del exceso de hierro mediante sangrías terapéuticas permite normalizar la esperanza de vida del paciente². La mayoría de los casos de HH se asocia a la presencia de mutaciones del gen *HFE*. El 80-100% de los pacientes diagnosticados en el centro y norte de Europa, o en aquellos países con una población predominantemente de origen noreuropeo, como EE.UU., Canadá o Australia, son homocigotos para la sustitución 845 G → A (C282Y)³⁻⁹. Además, en alrededor de un 5% de los casos se constata doble heterocigosidad para C282Y y una segunda mutación, sustitución 187C-G (H63D), del mismo gen¹⁰.

El descubrimiento del gen *HFE* y sus mutaciones ha facilitado en gran manera el diagnóstico de la HH al permitir la detección de la enfermedad con independencia del grado de sobrecarga férrica, lo que evita, en una gran proporción de casos, la realización de biopsia hepática. Sin embargo, en países del sur de Europa, como Italia, el sur de Francia o Grecia, la prevalencia de homocigosidad para C282Y entre pacientes con diagnóstico fenotípico de HH se ha descrito como sustancialmente inferior, entre el 50 y el 72%¹¹⁻¹⁴. Por este motivo, se ha generalizado la idea de que la HH en el sur de Europa presenta una mayor heterogeneidad genética y que ello podría limitar la utilidad de la genotipificación para el *HFE* como herramienta diagnóstica en estos países. Por lo que respecta a España, los datos disponibles son contradictorios. Mientras que en algunos estudios se ha obtenido una proporción de pacientes homocigotos para C282Y similar a la del norte de Europa (85-93%)¹⁵⁻¹⁷, en otras series dicha cifra se aproxima más a lo observado en el resto del entorno mediterráneo (57-73%)¹⁸⁻²⁰.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar, a partir de una muestra amplia de pacientes de diferente procedencia geográfica y con criterios homogéneos de diagnóstico, la proporción de casos de HH asociados a mutaciones de *HFE* en España.

PACIENTES Y MÉTODO

Selección de pacientes

Se evaluó para su inclusión en el estudio a todos los pacientes diagnosticados de HH hasta junio de 2002 en 16 hospitales españoles, identificados en cada hospital a partir de los registros de los servicios de aparato digestivo o de admisión. Los posibles casos se revisaron de forma centralizada para establecer la confirmación del diagnóstico en uno de los centros participantes (Hospital Universitario de Canarias). Los criterios utilizados para considerar confirmado el diagnóstico de HH, basados en lo establecido por la Conferencia de Consenso de la EASL²¹, fueron: a) índice de saturación de transferrina (IST), previo a iniciar el tratamiento con flebotomías, superior al 45% en al menos 2 determinaciones realizadas en ayunas; b) datos histológicos característicos en la biopsia hepática con índice de hierro hepático (IHH) superior a 1,9 (y superior a 4,1 en presencia de cirrosis), y/o c) homocigosidad para C282Y. Finalmente, los criterios para la inclusión en el estudio fueron: a) cumplir los criterios de diagnóstico confirmado descritos previamente; b) disponibilidad del genotipo para las mutaciones C282Y y H63D del gen *HFE* (en los pacientes diagnosticados antes de que estuviera disponible la prueba genética, la genotipificación se realizó retrospectivamente a partir de muestras de sangre extraídas en visitas sucesivas o a partir de tejido hepático parafinado obtenido en biopsias previas), y c) diagnóstico no realizado en el contexto de un estudio familiar a partir de un caso índice. El estudio fue aprobado por los correspondientes comités de ética de los centros participantes y se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los participantes.

Análisis de los parámetros de sobrecarga férrica

En todos los casos se recogieron los valores de los principales parámetros plasmáticos del metabolismo del hierro (sideremia, ferritina e IST) en el momento del diagnóstico. Las determinaciones se efectuaron en los laboratorios de cada uno de los centros participantes. El IST se determinó de forma indirecta a partir del cociente entre la sideremia y la capacidad total de transporte de hierro. Los valores de normalidad para la ferritina se establecieron en 300 ng/ml en varones y 200 ng/ml en mujeres, y se consideró anormal la elevación del IST por encima del 45% en ambos sexos. En los 155 casos en los que se practicó biopsia hepática, se evaluó la presencia de datos histológicos indicativos de HH en los especímenes procesados según la forma habitual. En 115 casos se determinó el IHH dividiendo la concentración hepática de hierro —expresada en μmol por gramo de tejido hepático seco— por la edad del paciente en años. El análisis de la concentración hepática de hierro se realizó mediante espectrofotometría de absorción atómica, que se llevó a cabo, en caso necesario, en el Hospital Clínic i Provincial de Barcelona.

Análisis de las mutaciones de *HFE*

La determinación de las mutaciones del gen *HFE* se realizó, en la mayor parte de los casos, en los laboratorios de cada uno de los centros participantes. Cuando fue necesario, se efectuó en el Laboratorio de Biología Molecular del Hospital Universitario de Canarias. Se extrajo ADN, tanto de sangre periférica como de biopsias hepáticas almacenadas en parafina, siguiendo digestión estándar con proteinasa K y extracción con fenol-cloroformo. La detección de las mutaciones C282Y y H63D se llevó a cabo a través de reacción en cadena de la polimerasa-RFLP (*restriction fragment long polymorphisms*), tal como se ha descrito previamente³. Los productos de la reacción en cadena de la polimerasa se sometieron posteriormente a digestión con las enzimas RsaI para la mutación C282Y y DpnII para la mutación H63D. Los fragmentos resultantes se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 3%.

Variables clínicas evaluadas

Datos demográficos. Se anotaron en un cuaderno de recogida de datos, previamente consensuado entre los investigadores participantes, las siguientes variables: a) sexo; b) edad en el momento del diagnóstico; c) motivo de sospecha que condujo al diagnóstico de HH (clínico o analítico); d) fecha de diagnóstico (se estableció la fecha de 31 de diciembre de 1996 para considerar si el diagnóstico se había realizado antes o después del descubrimiento del gen *HFE*); e) provincia de nacimiento, que se agrupó en 2 áreas geográficas: norte (Galicia, cordillera cantábrica, País Vasco, meseta norte y valle del Ebro) y sur (meseta sur, Extremadura, Andalucía, litoral mediterráneo y archipiélagos canario y balear). Esta división arbitraria de España se apoyó en la idea generalizada entre los historiadores de la existencia de un mayor poblamiento protohistóri-

co por pueblos de origen centroeuropeo en el noroeste de la Península Ibérica; *f*) consumo de alcohol en el momento del diagnóstico (se consideró que era excesivo si superaba los 80 g/día en varones y los 40 g/día en mujeres); *g*) serología para los virus de la hepatitis B y C, y *h*) existencia de otras posibles causas de sobrecarga férrica, incluidas enfermedades hematológicas, toma crónica de hierro oral u otras hepatopatías crónicas.

Datos analíticos en el momento del diagnóstico. En todos los casos se registraron los valores de los siguientes datos analíticos en el momento del diagnóstico: hemograma completo, pruebas habituales de función hepática (aspartatoaminotransferasa, alaninaaminotransferasa, fosfatasas alcalinas, gammaglutamiltranspeptidasa y bilirubina) y bioquímica plasmática básica, que incluía glucosa y colesterol.

Expresión fenotípica en el momento del diagnóstico

El diagnóstico de cirrosis se estableció por criterios histológicos o por la conjunción de datos clínicos, analíticos y por técnicas de imagen. Los criterios de diabetes fueron los utilizados por la Organización Mundial de la Salud. El diagnóstico de cardiopatía se basó en la presencia de síntomas o signos de insuficiencia cardíaca o de arritmias que requirieran tratamiento, o en hallazgos ecocardiográficos compatibles. La artropatía se definió como la presencia de datos clinicorradiológicos compatibles con la afectación articular típica de la HH. Por último, el diagnóstico de astenia, hepatosplenomegalia, disfunción sexual e hiperpigmentación se basó en la historia clínica previa y los hallazgos de la exploración física.

Análisis estadístico

Los resultados se expresan como media ± desviación estándar o como porcentaje. Las comparaciones entre grupos se realizaron mediante la prueba de la χ^2 para variables cualitativas y la de la *t* de Student para datos no apareados en las cuantitativas. Se aplicó la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples. En caso necesario se utilizaron pruebas no paramétricas (*U* de Mann-Whitney). Las diferencias se consideraron significativas con un valor de *p* inferior a 0,05.

RESULTADOS

Se identificó y evaluó para su inclusión en el estudio a un total de 295 pacientes con diagnóstico previo de HH. De éstos se excluyó a 26 (25 homocigotos para C282Y) por haber sido diagnosticados durante el estudio familiar a partir de un caso índice. En 12 el motivo de no inclusión fue la imposibilidad, por motivos diversos, de realizar la genotipificación del *HFE*. Por último, se excluyó a 35 casos no homocigotos para C282Y por no reunir los criterios de confirmación del diagnóstico de HH: en 9 por no disponer del IHH y en 26 por ser éste inferior a 1,9 (4,1 en presencia de cirrosis). Dieciocho de estos 35 pacientes presentaban una causa potencialmente responsable de sobrecarga férrica secundaria: cirrosis hepática alcohólica (*n* = 7), hepatitis crónica o cirrosis por el virus de la hepatitis C (*n* = 6) y esteatohepatitis no alcohólica (*n* = 5).

En 79 de los pacientes homocigotos para C282Y se dispuso también del IHH, que fue superior a 1,9 en todos los casos excepto en 5 (rango: 1,12-1,53). Estos 5 casos presentaban datos histológicos característicos, alteración significativa de los parámetros del hierro y ausencia de otras posibles causas de sobrecarga férrica. Por otra parte, se incluyó a un total de 106 homocigotos para C282Y sin disponer del IHH. En 35 (33%) de estos pacientes se observaron datos histológicos característicos; en el resto no se había indicado la biopsia hepática. En todos ellos el IST era superior al 45% y en 96 (91%) se constató hiperferritinemia marcada. Las transaminasas estaban elevadas

TABLA I. Provincia de nacimiento de los pacientes incluidos^a

| Provincia | N.º de pacientes |
|------------------------|------------------|
| Norte | 145 |
| Barcelona | 46 |
| Asturias | 41 |
| Cantabria | 13 |
| Girona | 7 |
| Lugo | 4 |
| Orense | 4 |
| Teruel | 4 |
| Zaragoza | 4 |
| Huesca | 3 |
| León | 3 |
| Lleida | 3 |
| Vizcaya | 3 |
| Ávila | 2 |
| Tarragona | 2 |
| Guipúzcoa | 1 |
| Navarra | 1 |
| Palencia | 1 |
| Pontevedra | 1 |
| Soria | 1 |
| Valladolid | 1 |
| Sur | 77 |
| Santa Cruz de Tenerife | 23 |
| Madrid | 14 |
| Alicante | 10 |
| Almería | 7 |
| Málaga | 6 |
| Córdoba | 3 |
| Albacete | 2 |
| Cáceres | 2 |
| Ciudad Real | 2 |
| Sevilla | 2 |
| Badajoz | 1 |
| Cádiz | 1 |
| Granada | 1 |
| Gran Canaria | 1 |
| Murcia | 1 |
| Valencia | 1 |

^aComunidad autónoma en caso de ser uniprovinciales.

en 63 (60%), y en 56 (53%) se registraron posibles síntomas relacionados con la HH. Únicamente en 6 casos la elevación del IST era la única manifestación fenotípica de la enfermedad en el momento del diagnóstico. En ninguno de estos 6 casos se identificó otra posible causa de sobrecarga férrica.

Finalmente, se incluyó a 222 pacientes no relacionados (172 varones y 50 mujeres), con una edad media en el momento del diagnóstico de 49 ± 12 años, de los que 77 (35%) habían nacido en la región sur y 145 (65%) en la norte. En la tabla I se representa el número de casos incluidos en cada una de las provincias españolas. Se diagnosticaron 112 casos (51%) antes del 31 de diciembre de 1996 y 110 (49%) después. En 27 (12%) se registró el antecedente de consumo excesivo de alcohol, mientras que 5 (2%) presentaban datos serológicos de infección por los virus de la hepatitis (4 por el C y uno por el B). No se constató la presencia de ninguna otra causa de sobrecarga secundaria de hierro.

Genotipo *HFE*

La distribución de genotipos *HFE* se muestra en la tabla II. Ciento ochenta y cinco pacientes (83,3%) fueron homocigotos para C282Y y 11 (5%) fueron dobles hete-

TABLA II. Genotipo *HFE* de los pacientes incluidos

| C282Y | H63D | N.º de pacientes (%) |
|-------|------|----------------------|
| +/+ | -/- | 185 (83,3) |
| -/+ | -/+ | 11 (5) |
| -/- | -/- | 11 (5) |
| -/- | -/+ | 6 (2,7) |
| -/+ | -/- | 5 (2,3) |
| -/- | +/+ | 4 (1,8) |

rociogotos para C282Y y H63D. La proporción de pacientes homocigotos para C282Y no fue significativamente diferente al considerar si se les había diagnosticado antes (82%) o después (84%) del descubrimiento del gen *HFE*. Asimismo, en los casos detectados antes de la aparición del diagnóstico genético que además cumplían el criterio de IHH superior al umbral diagnóstico (n = 66), la proporción de homocigotos para C282Y es similar a la obtenida en el total de la serie (el 82 frente al 83%).

Expresión fenotípica

Las principales motivos de sospecha que condujeron al diagnóstico de HH fueron: estudio de hipertransaminasemia persistente en 82 casos (37%), evaluación de alteración de los parámetros séricos del hierro en 72 (33%) y síntomas potencialmente atribuibles a la HH, como artropatía, diabetes, hipogonadismo, cardiopatía o astenia persistente, en 39 (18%). En la tabla III se indica la distribución según el sexo de las características fenotípicas y genotípicas de los pacientes en el momento del diagnóstico.

No presentaban ningún signo o síntoma atribuible a la HH en el momento del diagnóstico 95 pacientes (43,2%). El porcentaje de pacientes totalmente asintomáticos fue significativamente superior en las mujeres respecto a los varones (el 58 frente al 38%; p < 0,01). En los pacientes asintomáticos, el IST fue superior al 45% en el 100% de los casos, se constató hiperferritinemia en 72 (89%) y 49 (61%) presentaban hipertransaminasemia. El IHH, determinado en 31 pacientes asintomáticos, fue superior a 1,9

TABLA III. Expresión fenotípica y genotipo según sexo

| | Varones (n = 172) | Mujeres (n = 50) | p |
|-------------------------------------|-------------------|------------------|-------|
| Asintomáticos | 68 (38) | 29 (58) | 0,01 |
| Diabetes mellitus | 51 (30) | 2 (4) | 0,001 |
| Cirrosis | 46 (27) | 8 (16) | NS |
| Artropatía | 37 (21) | 12 (25) | NS |
| Hiperpigmentación | 31 (18) | 7 (14) | NS |
| Astenia | 23 (13) | 9 (18) | NS |
| Hipogonadismo | 30 (17) | 1 (2) | 0,003 |
| Hepatomegalia | 20 (12) | 2 (4) | NS |
| Esplenomegalia | 9 (5) | 2 (4) | NS |
| Cardiomiopatía | 9 (5) | 1 (2) | NS |
| Cirrosis descompensada ^a | 7 (4) | 1 (2) | NS |
| Hepatocarcinoma | 3 (1,3) | 0 | NS |
| Hipertransaminasemia | 117 (68) | 23 (47) | 0,008 |
| Ferritina plasmática (ng/ml) | 1.641 ± 1.478 | 1.252 ± 1.365 | NS |
| IST (%) | 81 ± 17 | 73 ± 21 | 0,01 |
| IHH ^b | 5,8 ± 4,5 | 4,3 ± 2,6 | NS |
| Homocigotos C282Y | 142 (82,5) | 43 (86) | NS |

Los resultados se expresan como número de pacientes (porcentaje) o media ± desviación estándar.

IHH: índice de hierro hepático; IST: índice de saturación de transferrina; NS: no significativo.

^aEn presencia de ascitis, encefalopatía, ictericia o hemorragia por hipertensión portal; ^bdeterminado en 92 varones y 23 mujeres.

en 28. La frecuencia de homocigosidad para C282Y (83%) fue similar a la obtenida en los pacientes sintomáticos.

Ciento veinticinco pacientes (56,8%) presentaban algún signo o síntoma atribuible a la HH en el momento del diagnóstico, y en 86 (39%) se identificó alguna circunstancia capaz de afectar a la esperanza de vida (cirrosis, diabetes o cardiopatía). Con la excepción de la artropatía y la astenia, se apreció una tendencia a una mayor prevalencia de signos y síntomas en los varones, que alcanzó la significación estadística en el caso de la diabetes (el 30 frente al 4%; p = 0,0001) y el hipogonadismo (el 17 frente al 2%; p = 0,003). Los parámetros de sobrecarga férrica (ferritina plasmática, IST e IHH) fueron asimismo superiores en los varones respecto a las mujeres, aunque sólo en el caso del IST la diferencia observada fue estadísticamente significativa (el 81 ± 17 frente al 73 ± 21%; p = 0,01). En los pacientes sintomáticos fueron significativamente superiores tanto el IHH (6,2 ± 1,7 frente a 4,6 ± 3,4; p < 0,04) como la ferritina plasmática (1.941 ± 1.724 frente a 1.105 ± 767 ng/ml; p < 0,001) con respecto a los observados en los pacientes asintomáticos.

Expresión fenotípica según genotipo

En la tabla IV se muestra la comparación de los datos demográficos y de expresión clínica con respecto al genotipo *HFE*. No se apreciaron diferencias en la edad, presencia de otras posibles causas de sobrecarga férrica, manifestaciones clínicas o parámetros de sobrecarga férrica entre los pacientes homocigotos y no homocigotos para C282Y, con la excepción del IHH, que fue significativamente superior en los primeros (6,1 ± 4,7 frente a 4,3 ± 2,7; p = 0,02).

Genotipo y expresión fenotípica según el origen geográfico

En la tabla V se exponen las características clínicas y el genotipo de los pacientes con respecto a su origen geo-

TABLA IV. Características demográficas y expresión fenotípica según genotipo

| | Homocigotos C282Y (n = 185) | No homocigotos C282Y (n =37) | p |
|--|-----------------------------|------------------------------|------|
| Edad (años) | 49 ± 12 | 49 ± 13 | NS |
| Consumo excesivo de alcohol | 24 (13) | 3 (8) | NS |
| Causa potencial de sobrecarga secundaria de hierro | 3 (1,6) | 2 (5,4) | NS |
| IST (%) | 80 ± 16 | 75 ± 24 | NS |
| Ferritina plasmática (ng/ml) | 1.559 ± 1.386 | 1.537 ± 1.803 | NS |
| IHH ^a | 6,1 ± 4,7 | 4,3 ± 2,7 | 0,02 |
| Asintomáticos | 76 (41,3) | 16 (37) | NS |
| Cirrosis | 46 (25) | 8 (22) | NS |
| Diabetes mellitus | 42 (23) | 11 (29) | NS |
| Cardiomiopatía | 8 (4) | 2 (5) | NS |

Los resultados se expresan como número de pacientes (porcentaje) o como media ± desviación estándar. IHH: índice de hierro hepático; IST: índice de saturación de transferrina; NS: no significativo.
^aDeterminado en 79 homocigotos C282Y y en 36 no homocigotos C282Y.

TABLA V. Características demográficas, expresión fenotípica y genotipo según procedencia geográfica

| | Norte (n = 145) | Sur (n = 77) | p |
|--|-----------------|---------------|----|
| Edad (años) | 48,9 ± 12 | 48,8 ± 14 | NS |
| Homocigotos C282Y | 122 (84) | 62 (82) | NS |
| Consumo excesivo de alcohol | 18 (12) | 9 (12) | NS |
| Causa potencial de sobrecarga secundaria de hierro | 2 (1,4) | 3 (3,9) | NS |
| IST (%) | 78,6 ± 18 | 79,6 ± 18 | NS |
| Ferritina plasmática (ng/ml) | 1.582 ± 1.409 | 1.506 ± 1.559 | NS |
| IHH ^a | 5,8 ± 4,6 | 4,7 ± 2,9 | NS |
| Asintomáticos | 65 (44,8) | 32 (41,5) | NS |
| Cirrosis | 34 (23) | 20 (26) | NS |
| Diabetes mellitus | 38 (26) | 15 (19) | NS |
| Cardiomiopatía | 8 (6) | 2 (3) | NS |

Los resultados se expresan como número de pacientes (porcentaje) o como media ± desviación estándar. IHH: índice de hierro hepático; IST: índice de saturación de transferrina; NS: no significativo.
^aDeterminado en 85 pacientes del norte y en 30 pacientes del sur.

gráfico. No se observaron diferencias significativas en la edad, la frecuencia de otras posibles causas de sobrecarga férrica, la expresión fenotípica, los parámetros de sobrecarga férrica y la prevalencia de homocigosidad para C282Y entre los pacientes nacidos en las regiones norte o sur de España.

DISCUSIÓN

El 83,3% de los pacientes incluidos en esta serie fueron homocigotos para C282Y, mientras que un 5% adicional fueron dobles heterocigotos para C282Y y H63D. Por tanto, en España la frecuencia de HH asociada a *HFE* (88,3%) se aproxima más al patrón observado en el norte de Europa que al referido para otros países del entorno mediterráneo.

La diferencia observada en el patrón genotípico de la HH entre España y otros países mediterráneos puede deberse a varios factores: en primer lugar, se han utilizado diferentes criterios diagnósticos en la definición del caso guía de HH; en segundo lugar, es posible que existan diferencias poblacionales notables en la prevalencia de otras mutaciones del gen *HFE* o de otros genes potencialmente causantes de HH, y por último, es factible que la prevalencia de la mutación C282Y difiera sensiblemente entre los países de la cuenca mediterránea.

Los criterios utilizados para establecer el diagnóstico de HH constituyen un aspecto clave para establecer el patrón genotípico de la enfermedad. Actualmente se considera

que el diagnóstico de HH sólo se puede establecer cuando existe expresión fenotípica de la enfermedad asociada a un genotipo compatible o a un IHH superior a 1,9 en la biopsia hepática. Sin embargo, la presencia aislada de un genotipo característico de HH es un factor que confiere susceptibilidad para adquirir la enfermedad, pero resulta insuficiente para establecer el diagnóstico de HH²²⁻²⁵. En el presente estudio se incluyeron únicamente los casos sin relación familiar y se exigió la presencia de expresión fenotípica en los homocigotos para C282Y. Probablemente debido a que se trata de una serie de casos hospitalarios y no de un estudio poblacional, la práctica totalidad de los homocigotos para C282Y presentaban tanto hiperferritinemia significativa como elevación de transaminasas o clínica compatible con HH. Sólo en 6 de ellos la enfermedad se detectó con una expresión fenotípica mínima, es decir, únicamente con elevación del IST. En los no homocigotos para C282Y se utilizaron criterios histológicos estrictos, lo que permite excluir razonablemente los casos de sobrecarga férrica secundaria. De hecho, la mayoría de los no homocigotos para C282Y excluidos de este estudio por presentar un IHH inferior al umbral exigido tenía alguna posible causa de sobrecarga férrica secundaria, como se ha descrito²⁶.

Puede argumentarse, no obstante, que la utilización de diferentes criterios diagnósticos en homocigotos y no homocigotos para C282Y puede introducir un sesgo de selección a favor de los primeros, al no exigirse en ellos la determinación del IHH. Sin embargo, en la actualidad

está ampliamente aceptado el criterio de que la necesidad de realizar biopsia hepática en los pacientes homocigotos para C282Y se establece únicamente cuando existen datos clinicoanalíticos de hepatopatía avanzada^{21,27}. Por ello, no incluir a los homocigotos para C282Y por el hecho de no haberse realizado biopsia hepática sí hubiera supuesto un importante sesgo de selección a favor de los no homocigotos para C282Y. En este sentido, si analizamos únicamente a los pacientes diagnosticados antes de la aparición del diagnóstico genético que cumplen el criterio diagnóstico de IHH superior a 1,9, se observa que la proporción de homocigotos para C282Y es similar (82%) a la obtenida en el total de la serie. Por todo lo expuesto, parece razonable concluir que el diagnóstico de HH fue correcto en los pacientes incluidos en esta serie y que la prevalencia observada de homocigosidad para C282Y constituye una buena estimación. Es posible que la menor prevalencia de homocigotos para C282Y observada en otras series de pacientes españoles se deba, al menos en parte, a la utilización de criterios diagnósticos más laxos¹⁸⁻²⁰. De hecho, en los estudios españoles que han aplicado criterios de selección estrictos, basados en la combinación de elevación del IST, genotipo y cuantificación del hierro hepático, la cifra de pacientes homocigotos para C282Y ha sido muy similar a la obtenida en el presente estudio¹⁵⁻¹⁷.

En segundo lugar, puede suceder que otras mutaciones del gen *HFE* o de otros genes responsables de la aparición de HH presenten una distribución geográfica restringida a algunos países del sur de Europa. En este sentido, la identificación de nuevas mutaciones de *HFE*, del receptor de transferrina 2 o de ferroportina 1 en pacientes con HH en Italia podría constituir la explicación de la aparente heterogeneidad genética de la HH en ese país²⁸⁻³². Sin embargo, todas estas mutaciones se han detectado fuera de Italia: en el norte de Europa, Norteamérica y Australia³³⁻³⁷. En cualquier caso, además, no parece que estas nuevas mutaciones del gen *HFE* o de otros genes sean responsables de un número cuantitativamente relevante de casos de HH no asociada a *HFE*^{34,37}.

Finalmente, la mayor prevalencia de homocigosidad para C282Y en los pacientes españoles respecto a la observada en otros países mediterráneos puede deberse a la existencia de variaciones en la frecuencia poblacional de dicha mutación. La frecuencia alélica de C282Y en Italia se ha estimado en alrededor de 0,01, con importantes diferencias regionales³⁸, mientras que en España es considerablemente superior, entre 0,02 y 0,04^{15,17,39,40}. Históricamente, se ha considerado que la mutación C282Y tiene un origen celta, dada su elevada frecuencia poblacional en regiones como Irlanda o Bretaña, donde han persistido lenguas celtas hasta la actualidad⁴¹. Por tanto, la explicación más inmediata para la diferencia de prevalencia de la mutación C282Y entre España e Italia sería que la Península Ibérica hubiera recibido un mayor impacto genético celta que la Itálica. No obstante, no está establecida la existencia de una identidad genética celta, ya que este término hace referencia a un complejo histórico de carácter cultural o lingüístico más que propiamente étnico o racial⁴². Además, los estudios de genética de poblaciones han llegado a la

conclusión de que la fuente más relevante de variación genética en Europa tiene su origen en la migración de poblaciones neolíticas desde Oriente Próximo y que este componente genético ejerció un mayor impacto en el este de Europa y la región central de la cuenca mediterránea que en la Península Ibérica y en la mayor parte del noroeste de Europa^{43,44}. Por tanto, si la mutación C282Y estuviera asociada al sustrato genético preneolítico, seguiría una distribución con un gradiente sudeste-noroeste más que norte-sur, lo que podría explicar las diferencias observadas entre España y otras regiones mediterráneas.

En el presente estudio, las manifestaciones clínicas que condujeron al diagnóstico de HH, la proporción de pacientes diagnosticados en un estadio presintomático y la evidencia de enfermedad más avanzada en varones que en mujeres inducen a pensar que la expresión fenotípica de la HH en España es similar a la observada en series de pacientes de origen noreuropeo⁴⁵⁻⁴⁷.

En conclusión, la proporción de homocigosidad para C282Y y la expresión fenotípica de la HH en España es similar a la del norte de Europa, por lo que la heterogeneidad genética para la HH que se ha descrito en Italia no es una circunstancia que pueda extrapolarse a la totalidad de la cuenca mediterránea europea. Por tanto, en nuestro país la genotipificación de las principales mutaciones de *HFE* es una herramienta útil para la confirmación diagnóstica de la HH en la mayoría de los pacientes.

Lista de centros e investigadores participantes

Hospital Universitario de Canarias, Tenerife: A. Pardo, Y. Barrios, E. Salido, A. Jiménez y E. Quintero.
 Hospital Clínic i Provincial, Barcelona: M. Bruguera.
 Hospital Central de Asturias, Oviedo: L. Rodrigo y M.E. Lauret.
 Hospital del Mar, Barcelona: C. Vila y R. Solà.
 Hospital Dr. Josep Trueta, Girona: D. Acero.
 Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Barcelona: C. Guarnier e I. Blesa.
 Hospital General Universitario, Alicante: S. Pascual.
 Hospital San Agustín, Avilés, Oviedo: L. López.
 Hospital de la Princesa, Madrid: R. Moreno y D. Carpio.
 Hospital Marques de Valdecilla, Santander: E. Fábrega.
 Facultad de Medicina, Málaga: R. Andrade.
 Hospital Torre Cárdenas, Almería: G. Peláez.
 Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona: J. Santos y R. Planas.
 Hospital General Vall D'Hebron, Barcelona: M. Buti.
 Hospital de L'Esperit Sant, Barcelona: M. Torres y L. Titó.
 Hospital Clínico de San Cecilio, Granada: J. Salmerón.

BIBLIOGRAFÍA

- Harrison SA, Bacon BR. Hereditary hemochromatosis: update for 2003. *J Hepatol* 2003;38:S14-S23.
- Niederer C, Fischer R, Purschel A, Stremmel W, Haussinger D. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996;92:208-12.
- 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 hemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399-408.
- Beutler E, Gelbart T, West C, Lee P, Adams M, Blackstone R, et al. Mutation analysis in hereditary hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 1996;22:187-94.
- Adams PC, Chakrabarti S. Genotypic/phenotypic correlations in genetic hemochromatosis: evolution of diagnostic criteria. *Gastroenterology* 1998;114:319-23.

6. Jazwinska EC, Cullen LM, Busfield F, Pyper WR, Webb SI, Powell LW, et al. Hemochromatosis and HLA-H. *Nat Genet* 1996;14:249-51.
7. Robson KJ, Worwood M, Shearman JD. A simple genetic test identifies 90% of UK patients with hemochromatosis. The UK Hemochromatosis Consortium. *Gut* 1997;41:841-4.
8. Datz C, Lalloz MRA, Vogel W, Graziadei T, Hackl F, Vautier G, et al. Predominance of the HLA-H Cys282Tyr mutation in Austrian patients with genetic hemochromatosis. *J Hepatol* 1997;27:773-9.
9. Cardoso EM, Stal P, Hagen K, Cabeda JM, Esin S, De Sousa M, et al. *HFE* mutations in patients with hereditary haemochromatosis in Sweden. *J Intern Med* 1998;243:203-8.
10. 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.
11. Carella M, D'Ambrosio L, Totaro A, Grifa A, Valentino MA, Piperno A, et al. Mutation analysis of the HLA-H gene in Italian hemochromatosis patients. *Am J Hum Genet* 1997;60:828-32.
12. Piperno A, Sampietro M, Pietrangelo A, Arosio C, Lupica L, Montosi G, et al. Heterogeneity of hemochromatosis in Italy. *Gastroenterology* 1998;114:996-1002.
13. Borot N, Roth M, Malfroy L, Demangel C, Vinel J, Pascal J, et al. Mutations in the MHC class I-like candidate gene for hemochromatosis in French patients. *Immunogenetics* 1997;5:371-5.
14. Papanikolaou G, Politou M, Terpos E, Fourlemadis S, Sakellariopoulos N, Loukopoulou D, et al. Hereditary hemochromatosis: *HFE* mutation analysis in Greeks reveals genetic heterogeneity. *Blood Cells Mol Dis* 2000;26:163-8.
15. Sánchez M, Bruguera M, Bosch J, Rodes J, Ballesta F, Oliva R, et al. Prevalence of the Cys282Tyr and His63Asp gene mutations in Spanish patients with hereditary hemochromatosis and in controls. *J Hepatol* 1998;29:725-8.
16. Sánchez M, Bruguera M, Quintero E, Barrio Y, Mazzara R, Rodes J, et al. Hereditary hemochromatosis in Spain. *Genet Test* 2000;4:171-6.
17. Guix P, Picornell A, Parera M, Tomas C, Muncunill J, Castro JA, et al. Prevalence of the C282Y mutation for haemochromatosis on the Island of Majorca. *Clin Genet* 2000;58:123-8.
18. Fabrega E, Castro B, Sánchez-Castro L, Benito A, Fernández-Luna JL, Pons-Romero F. Prevalencia de la mutación Cys282Tyr del gen de la hemocromatosis en pacientes diagnosticados de hemocromatosis hereditaria de Cantabria. *Med Clin (Barc)* 1999;112:451-3.
19. 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.
20. Jorquera F, Domínguez A, Díaz-Golpe V, Espinel J, Muñoz F, Herrera A, et al. Mutaciones C282Y y H63D del gen de la hemocromatosis en pacientes con sobrecarga férrica. *Rev Esp Enf Dig* 2001;93:293-302.
21. EASL International Consensus Conference on Hemochromatosis. *J Hepatol* 2000;33:485-504.
22. 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.
23. Asberg A, Hveem K, Thorstensen K, Ellekjetter E, Kannelonning K, Fjosne U, 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.
24. Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G → A (C282Y) *HFE* hereditary hemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002;359:211-8.
25. Cotler SJ, Bronner MP, Press RD, Carlson TH, Perkins JD, Emond MJ, et al. End-stage liver disease without hemochromatosis associated with elevated hepatic iron index. *J Hepatol* 1998;29:257-62.
26. Shaheen NJ, Bacon BR, Grimm IS. Clinical characteristics of hereditary hemochromatosis patients who lack the C282Y mutation. *Hepatology* 1998;28:526-9.
27. Guyader D, Jacquelinet C, Moirand R, Turlin B, Mendler MH, Chaperon J, et al. Noninvasive prediction of fibrosis in C282Y homozygous hemochromatosis. *Gastroenterology* 1998;115:929-36.
28. Piperno A, Arosio C, Fossati L, Vigano M, Trombini P, Vergani A, et al. Two novel nonsense mutations of *HFE* gene in five unrelated Italian patients with hemochromatosis. *Gastroenterology* 2000;119:441-5.
29. Camaschella C, Roetto A, Cali A, DeGobbi M, Garozzo G, Carella M, et al. The gene *TFR2* is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet* 2000;25:14-5.
30. Roetto A, Totaro A, Piperno A, Piga A, Longo F, Garozzo G, et al. New mutations inactivating transferrin receptor 2 in hemochromatosis type 3. *Blood* 2001;97:2555-60.
31. Girelli D, Bozzini C, Roetto A, Alberti F, Daraio F, Colombari R, et al. Clinical and pathologic findings in hemochromatosis type 3 due to a novel mutation in transferrin receptor 2 gene. *Gastroenterology* 2002;122:1295-302.
32. Montosi G, Donovan A, Totaro A, Garuti C, Pignatti E, Cassanelli S, et al. Autosomal-dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001;108:619-23.
33. Barton JC, Sawada-Hirai R, Rothenberg BE, Acton RT. Two novel missense mutations of the *HFE* gene (I105T and G93R) and identification of the S65C mutation in Alabama hemochromatosis probands. *Blood Cells Mol Dis* 1999;25:147-55.
34. Aguilar-Martínez P, Esculie-Coste C, Bismuth M, Giansily-Blaizot M, Larrey D, Schved JF. Transferrin receptor-2 gene and non-C282Y homozygous patients with hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27:290-3.
35. Wallace DF, Pedersen P, Dixon JL, Stephenson P, Searle JW, Powell LW, et al. Novel mutation in ferroportin 1 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Blood* 2002;100:692-4.
36. Devalia V, Carter K, Walker AP, Perkins SJ, Worwood M, May A, et al. Autosomal dominant reticuloendothelial iron overload associated with a 3-base pair deletion in the ferroportin 1 gene (SLC11A3). *Blood* 2002;100:695-7.
37. Lee PL, Halloran C, West C, Beutler E. Mutation analysis of the transferrin receptor-2 gene in patients with iron overload. *Blood Cells Mol Dis* 2001;72:85-9.
38. Cassanelli S, Pignatti E, Montosi G, Garuti C, Mariano M, Campioli D, et al. Frequency and biochemical expression of C282Y/H63D hemochromatosis (*HFE*) gene mutations in the healthy adult population in Italy. *J Hepatol* 2001;34:523-8.
39. Guix P, Picornell A, Parera M, Galmes A, Obrador A, Ramon MM, et al. Distribution of *HFE* C282Y and H63D mutations in the Balearic Islands (NE Spain). *Clin Genet* 2002;61:43-8.
40. Álvarez S, Mesa MS, Bandres F, Arroyo E. C282Y and H63D mutation frequencies in a population from central Spain. *Dis Markers* 2001;17:111-4.
41. Lucotte G. Frequency analysis and allele map in favor of the celtic origin of the C282Y mutation of hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27:549-56.
42. Piazza A, Rendine S, Minch E, Menozzi P, Mountain J, Cavalli-Sforza L. Genetics and the origin of European languages. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:5836-40.
43. Quintana-Murci L, Veitia R, Fellous M, Semino O, Poloni ES. Genetic structure of Mediterranean populations revealed by Y-chromosome haplotype analysis. *Am J Phys Anthropol* 2003;121:157-71.
44. Scozzari R, Cruciani F, Pangrazio A, Santolamazza P, Vona G, Moral P, et al. Human Y-chromosome variation in the western Mediterranean area: implications for the peopling of the region. *Hum Immunol* 2001;62:871-84.
45. Barton JC, Barton NH, Alford TJ. Diagnosis of hemochromatosis probands in a community hospital. *Am J Med* 1997;103:498-503.
46. Bacon BR, Sadiq S. Hereditary hemochromatosis: diagnosis in the 1990's. *Am J Gastroenterol* 1997;92:784-9.
47. 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.