

## HEMOCROMATOSIS. NUEVOS ASPECTOS CLÍNICOS Y DIAGNÓSTICOS

HEMOCROMATOSIS. NEW CLINICAL ASPECTS AND DIAGNOSES

HEMOKROMATOSIA. ALDERDI KLINIKO ETA DIAGNOSTIKO BERRIAK

**Dr. Albert Altes-Hernández.**

*Presidente de la Asociación Española de Hemocromatosis. Servicio de Hematología Clínica. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona. España. UE.*

**Hemocromatosis; generalidades:** La hemocromatosis (HC) es una enfermedad hereditaria, en general autosómica recesiva, que se caracteriza por un incremento de la absorción intestinal de hierro, sobrecarga progresiva de los depósitos corporales de este metal y, finalmente, disfunción de diversos órganos (en especial hígado, páncreas, corazón y articulaciones) debida a daño radicalario. En España, el 85% de los pacientes son homocigotos para una mutación autosómica recesiva (C282Y) del gen denominado HFE, situado en el brazo corto del cromosoma 6. Algunos pacientes son heterocigotos para esta mutación y a la vez para una segunda mutación del mismo gen (H63D).

La mutación C282Y del gen HFE, principal responsable de la enfermedad, se originó hace unos 4.000 años a.C. en alguna zona del centro de Europa, en población céltica y en un cromosoma con los genes HLA-A3 y B7(1). La enfermedad es particularmente frecuente en Noruega, Dinamarca, Islandia, oeste y sur de Alemania, Reino Unido, Irlanda y la Bretaña francesa. En estas zonas constituye la patología genética de mayor prevalencia, afectando hasta a uno de cada 150-200 individuos. La frecuencia alélica de la mutación C282Y oscila entre 0.06 y el 0.1%. En España es de 0.03 (IC95% 0.022 a 0.037) en neonatos, mientras que la frecuencia alélica de la mutación H63D es de 0.2 (IC 95% 0.19 a 0.22)(2). El 85% de los hemocromatósicos españoles son homocigotos C282Y(3). En la **Tabla I** se muestran las prevalencias de neonatos españoles heterocigotos y homocigotos para ambas:

En la actualidad se discute la penetrancia del genotipo C282Y/C282Y. En el pasado se había sobrestimado por un sesgo de selección (los individuos seleccionados ya estaban enfermos). Cuando empezaron a realizarse estudios epidemiológicos en población general, los datos de penetrancia fueron muy variables y oscilaron entre el 50% y el 4%, dependiendo del complejo sintomático considerado y de la edad de la población estudiada(4,5). El debate seguirá abierto hasta que se disponga de amplios estudios poblacionales en que se evalúe el grado de afectación de

personas homocigotas C282Y con más de 50-60 años, escogidas al azar y en el contexto de programas de escrutinio de la enfermedad. No obstante, existe consenso de que la penetrancia es netamente inferior a la inicialmente considerada. Mientras que es incontrovertible que algunos pacientes homocigotos para la mutación C282Y del gen HFE pueden envejecer más allá de los 80 años sin presentar trastornos orgánicos graves, otras personas sufren complicaciones como cirrosis hepática, diabetes o hepatocarcinoma en edades tempranas. El acumulo de hierro en los pacientes afectados también resulta asimismo variable. Aunque se han definido algunos factores ambientales que pueden condicionar parcialmente esta diversa evolución (hábito enólico, presencia de marcadores de hepatitis crónica) la opinión más generalizada es que detrás de los casos más graves puede esconderse la interacción de otros genes directores del metabolismo férrico.

La penetrancia para C282Y/H63D es aún menor, aunque se ha relacionado sin ningún género de duda a la presentación de hemocromatosis en algunos pacientes(6). No parece que el genotipo H63D/H63D pueda ser causa de hemocromatosis por si solo aunque se ha demostrado que esta mutación no se trata de un mero polimorfismo, y que afecta a los depósitos corporales de hierro(7). Existe otra mutación del gen HFE (S65C) que afecta al 3% de la población del Norte de Europa y que presenta un comportamiento fenotípico superponible al de la mutación H63D(8). Se han hallado otras mutaciones en el gen HFE relacionadas con hemocromatosis, pero es tal su rareza que no las trataremos en este artículo.

**Patogenia de la Hemocromatosis:** En la hemocromatosis, la absorción intestinal de hierro se halla incrementada desde el nacimiento, y este incremento se mantiene a pesar de la sobrecarga de los depósitos férricos. Este fenómeno no produce efecto alguno durante la infancia y adolescencia ni en general en las mujeres fértiles, porque el consumo de hierro debido a crecimiento/menstruación es importante. Fundamentalmente es en los varones adultos en los que se produce un acúmulo progresivo de hierro en

Correspondencia:  
Dr. Albert Altes-Hernández.  
Presidente de la Asociación Española de Hemocromatosis.  
Servicio de Hematología Clínica. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau.  
Barcelona. España. UE.  
Enviado 14/05/2007. Aceptado: 30/05/2007.

**TABLA I: PREVALENCIA DE LAS MUTACIONES C282Y Y H63D EN NEONATOS ESPAÑOLES(2).**

los parénquimas hepático, pancreático, cardíaco y articular que causa daño tisular y enfermedad(9). En el artículo original escrito por Feder y col. la mayoría de pacientes con hemocromatosis eran homocigotos para una sustitución de tirosina por cisteína en la posición 282 (C282Y) de un polipéptido de estructura similar a los antígenos mayores de histocompatibilidad de clase I. Esta mutación (que destruye un enlace disulfuro crítico para la estructura de la proteína) afecta al correcto transporte intracelular de la proteína HFE y a su unión con la  $\beta 2$  microglobulina ( $\beta 2M$ ) e impide su presencia en la superficie de la membrana celular. Se han generado modelos murinos knockout y knock-in que recapitulan con todo detalle la enfermedad humana(10,11).

Una pista sobre la implicación patogenética de la proteína HFE en la hemocromatosis se obtuvo al comprobar que esta proteína se une al receptor 1 de la transferrina (TfR1) con una afinidad similar a la de la propia transferrina, reduciendo así la afinidad del receptor por su ligando unido a hierro(12,13). Otro dato fundamental se ha obtenido a raíz del descubrimiento de un pequeño péptido de 25 aminoácidos y con capacidad bactericida/fungicida hallado por primera vez en la orina humana y denominado hepcidina(14,15). La hepcidina se sintetiza en los hepatocitos en respuesta a estímulos inflamatorios y a la sobrecarga de hierro. Estudios en ratones transgénicos demuestran que ejerce una regulación negativa sobre la absorción intestinal y placentaria de hierro y la liberación del metal por parte de los macrófagos. Algunos la han denominado "hormona reguladora del hierro", a pesar que todavía es pronto para conocer los mecanismos íntimos por la que ejerce tal acción(16). Resulta interesante que otras proteínas clave en el metabolismo del hierro, como la recientemente identificada hemojuvelina, modulan a su vez la expresión de hepcidina.

Tanto en modelos murinos como humanos, el genotipo hemocromatósico (homocigocia para la mutación C282Y) provoca un déficit (se desconoce el mecanismo) en la síntesis de hepcidina hepática(17,18). Esto conlleva un incremento en la absorción intestinal de hierro y un aumento en la cesión de hierro al suero por parte de los enterocitos y los macrófagos (esto explicaría por que la mucosa intestinal y el sistema mononuclear - fagocítico de los pacientes con hemocromatosis son relativamente ferropénicos, un dato que se conoce desde antiguo). Este "vertido incontrolado" de hierro al plasma conduce a un incremento notable de la saturación de la transferrina, un signo que

ha constituido durante años el paradigma del diagnóstico precoz de la enfermedad. Dicha hipersaturación de la transferrina conduce a la aparición de hierro libre que, como ya se ha comentado, puede entrar directamente al hepatocito y otras células nobles sin regulación, causando acúmulo férrico y el daño tisular típico de la enfermedad. **Figura 1.** Parece que hepcidina puede actuar degradando o bloqueando la proteína ferroportina, se entiende pues que su acción detenga la absorción de hierro en la célula intestinal y la salida de este metal del compartimento macrófago. Últimamente se ha hipotetizado que el receptor de la transferrina 1 (RT1) competiría con el receptor de la transferrina 2 (RT2) por su unión a la proteína HFE, pero la afinidad de ésta por el RT1 es mayor que por RT2. Sin embargo, la interacción del RT1 con la transferrina cargada con hierro desplazaría a la proteína HFE que interaccionaría con RT2, provocando una señal positiva para la síntesis de hepcidina que frenaría la absorción de hierro mediante su acción sobre la ferroportina. En los pacientes con hemocromatosis estaría afectada la capacidad para sintetizar suficiente hepcidina y por tanto, la capacidad para controlar la sobrecarga férrica.

## 2.5.- Otras alteraciones genéticas no relacionadas con el gen HFE

En los últimos años se han descrito diversas alteraciones genéticas no relacionadas con el gen HFE que pueden causar hemocromatosis y ello ha condicionado una subclasificación de la misma. La hemocromatosis tipo 1 o ligada al gen HFE (OMIM 235200) es la descrita hasta este punto. La hemocromatosis tipo 2A o juvenil (OMIM 602390) presenta un patrón similar, también autosómico recesivo, pero más agresivo y con afectación precoz (en la segunda década de la vida) de órganos diana como corazón, músculo esquelético y gónadas. Muy recientemente se ha identificado el gen cuya alteración causa con mayor frecuencia este tipo de hemocromatosis y que se ha denominado "hemojuvelina" (19). Se trata de un gen situado en 1q21 y que codifica una proteína de 426 aminoácidos. Se expresa preferentemente en hígado y músculo esquelético, pero se desconoce su función exacta. Un dato que parece clave es que hemojuvelina interviene en la modulación de otro gen, situado en 19q13, que codifica un péptido de 25 aminoácidos denominado hepcidina, y que, como hemos explicado en el apartado precedente, parece clave en la regulación de la absorción intestinal de hierro. En algunos casos de hemocromatosis juvenil (hemocromatosis 2B, OMIM 602390) se hallan mutaciones recesivas en el gen de la hepcidina (HAMP)(20), y algunos modelos animales demuestran que la alteración grave de este gen en forma homocigota provoca un cuadro clínico indistinguible de la hemocromatosis juvenil(21). Una alteración también recesiva de otro

TABLA II. CAUSAS GENÉTICAS DE HC

gen situado en 7q22 y que codifica una proteína homóloga al receptor 1 de la transferrina (receptor 2 de la transferrina) causa la hemocromatosis tipo 3 (OMIM 604250)(22-24). Esta alteración se ha hallado solamente en un grupo reducido de familias, italo-francesas, y causa un cuadro clínico indistinguible de la hemocromatosis ligada al gen HFE. Se considera un tipo muy infrecuente de hemocromatosis y las alteraciones de este gen parecen presentar una prevalencia mínima. Se ha descrito un cuarto tipo de hemocromatosis (tipo 4, OMIM 606069) también denominado enfermedad de la ferroportina, con características diferenciales al resto. Se trata de una alteración dominante del gen SLC40A1, situado en 2q32 i que codifica para una proteína que se expresa en el sincitio trofoblasto, duodeno, hepatocitos y sistema retículo endotelial y que se conoce con diversas denominaciones (ferroportina 1, IREG1, MTP1). Clínicamente, los pacientes presentan sobrecarga férrica de predominio macrofágico, con tendencia a la anemia y mala tolerancia a las flebotomías(25). Las complicaciones son más leves que en la hemocromatosis tipo 1 pero parece un trastorno relativamente prevalente y que afecta a diversas etnias. No obstante no se han realizado todavía estudios epidemiológicos para aclarar este punto. Alteraciones en este gen explicarían también algunos tipos específicos de hemocromatosis característicos de etnias africanas(26). En una familia japonesa se ha descrito una hemocromatosis tipo 5, también autosómica dominante, con una mutación en el gen que codifica para la subunidad H de la ferritina(27). En la **Tabla I** se resumen los diversos tipos genéticos de hemocromatosis.

Puede que el péptido hepcidina sea la pieza clave de todas las formas de hemocromatosis. Aparte de lo ya reseñado para los pacientes con hemocromatosis ligada al gen HFE, aquellos que presentan hemocromatosis juvenil por mutación homocigota del gen de la hemojuvelina presentan niveles muy deprimidos de hepcidina, lo cual sugiere que la hemojuvelina sea un regulador de la expresi

ón de hepcidina. Datos muy recientes parecen indicar que hemojuvelina sería una proteína de tipo chaperona, indispensable para la correcta secreción de hepcidina. El otro tipo de hemocromatosis juvenil se caracteriza por mutaciones homocigotas en el gen HAMP responsable de la síntesis de hepcidina, estando dañada por tanto la síntesis o estructura de este péptido. También parece que funciona este mecanismo en la alteración homocigota del receptor 2 de la transferrina en ratones transgénicos(28) y se desconoce si en aquella debida a mutaciones de ferroportina 1 también se presenta depresión de los niveles de hepcidina. Además, se han descrito formas de variantes de hemocromatosis debidas a combinación de algunas de las mutaciones referidas(29-30).

## 2.7.- Diagnóstico de la hemocromatosis

La HC debe diagnosticarse en fases pre-clínicas, mediante test genéticos o bioquímicos. Algunos pacientes continúan diagnosticándose a partir del complejo sintomático de la enfermedad, pero ello supone un fracaso en sí mismo. El paciente hemocromatósico diagnosticado en fase asintomática podrá evitar todas las complicaciones orgánicas graves de la enfermedad mediante un tratamiento sencillo, barato y seguro(31). Es pues en esta fase en la que el colectivo sanitario debe pretender diagnosticar a los pacientes.

El diagnóstico de HC requiere:

- 1) Sospecha, por clínica compatible o analítica sugestiva:
  - Ferritina sérica > 400 µg/L
  - Índice de saturación de transferrina > 45%, ambas en dos ocasiones separadas un mínimo de 3 meses.
- 2) Valoración de posibles causas adquiridas. Ver **Tabla III**.
- 3) Confirmación del acumulo de hierro mediante la demostración de, al menos, uno de los siguientes:
  - RMN compatible. Desde hace tiempo se conoce la capacidad de la RMN de evaluar los depósitos hepáticos de

*Figura 1, Acción de la hepcidina: La hepcidina es sintetizada y liberada por los hepatocitos (H) en respuesta a diversos estímulos, fundamentalmente sobrecarga férrica o infección (liberación por parte de las células de Kupffer (K) de interleukina 6). Dicha hepcidina ejercerá un efecto negativo a dos niveles; la mucosa intestinal y los macrófagos. A nivel de la mucosa intestinal frenará la absorción de hierro. A nivel de los macrófagos impedirá la transferencia de hierro desde estas células al eritrón. El efecto neto es una caída del hierro sérico y de la saturación de la transferrina. (Adaptado de Ref 16.*

hierro, pero el grado de exactitud y reproducibilidad de la técnica eran infraóptimos. Ello llevó a diseñar aparatos tremendamente sofisticados y caros para evaluar de forma no invasiva el hierro hepático, como el SQUID(32). Posteriormente se han realizado intentos de desarrollar sistemas diagnósticos basados en el mismo principio pero más baratos por no precisar material superconductor (que precisan temperaturas muy bajas para su óptimo funcionamiento)(33). Paulatinamente, los algoritmos de evaluación del hierro mediante RMN han mejorado, y hoy por hoy podemos decir que constituye una técnica tan válida como la biopsia hepática con cuantificación bioquímica del hierro en aquellos centros que los han implementado(34,35).

- 1) Tinción de Perls de la biopsia hepática con un acúmulo de hierro de grados 3 ó 4 o índice de hierro hepático >1,9 (concentración bioquímica de hierro hepático en mmol/gr peso de tejido seco dividida por la edad del paciente en años). Diversos estudios han evidenciado que no es necesario efectuar biopsia hepática en los pacientes con ferritina <1000 µg/L, biología hepática normal y ausencia de hepatomegalia. Actualmente no suele tener interés para el diagnóstico de la HC pero si puede tenerlo pronóstico (determinación de grado de afectación hepática, grado de reversibilidad, etc).
- 2) Flebotomía cuantitativa, de al menos 3 g de hierro en mujeres o 5 g en hombres, sin inducir deficiencia de hierro (una unidad = 250 mg de hierro). Constituye en si misma un método diagnóstico y terapéutico.
- 4) Demostración de la mutación C282Y en forma homocigota (o heterocigota doble, C282Y/H63D)

5) En caso de que el índice de sospecha para HC hereditaria sea alto y no se hallen mutaciones del gen HFE compatibles con el diagnóstico, o bien si la presentación clínica es más agresiva de lo esperable, se debe contactar con centros especializados para la investigación de otras mutaciones conocidas causantes de HC (Tabla II).

6) Es muy importante recordar que tras el diagnóstico de un paciente, el proceso debe continuar en la familia (hermanos/as) para hallar otros individuos afectados. El estudio familiar es genotípico en caso que el individuo probando presentara mutaciones definitorias y fenotípico si la sospecha de HC es muy alta y no se han detectado mutaciones causales.

La **figura 3** resume un algoritmo diagnóstico para la HC. Es importante recordar que aquellos pacientes jóvenes (con menos de 25-30 años) con signos bioquímicos de sobrecarga de hierro pueden sufrir hemocromatosis juvenil. Como ya se ha explicado, esta patología presenta un sustrato genético distinto de la HC clásica. Suele debutar en forma de hipogonadismo hipotalámico de inicio muy precoz o fallo cardíaco con insuficiencia cardíaca grave(36). Es importante tratar enérgicamente a estos pacientes con flebotomías, puesto que presentan tasas de mortalidad muy elevadas. En no pocas ocasiones se diagnostica a estos pacientes en la mesa de autopsias, cuando un joven muere a consecuencia de una miocardiopatía rápidamente progresiva de causa no determinada y en ocasiones tributaria de trasplante cardíaco. A pesar de las muchas pruebas realizadas a estos pacientes, en ocasiones no se practica una medición de saturación de la transferrina o ferritina. Es el patólogo el que al final descubre una insospechada sobrecarga letal de hierro. El estudio familiar posterior es obligado.

## REFERENCIAS

- 1.- Distant S, Robson KJH, Graham-Campbell J, Arnaiz-Villena A, Brissot P, Worwood M. The origin and spread of the HFE-C282Y haemochromatosis mutation. *Hum Genet* 2004;115:269-279
- 2.- Altes A, Ruiz A, Barceló MJ, Remacha AF, Puig T, Maya AJ, Castell C, Amate JM, Saz Z, Baiget M. Prevalence of C282Y, H63D and S65C mutations of HFE gene in 1146 newborns from a region of northern Spain. *Genetic Testing* 2004;8:407-10
- 3.- Sanchez M, Bruguera M, Quintero E, y col. (2000). Hereditary hemochromatosis in Spain. *Genet Test*. 4,171-176
- 4.- Beutler E, The HFE Cys282Tyr mutation as a necessary but not sufficient cause of clinical hereditary hemochromatosis. *Blood* 2003;101:3347-3350
- 5.- Ajioka RS, Kushner JP. Clinical consequences of iron overload in hemochromatosis homozygotes. *Blood* 2003;101:3351-3354
- 6.- Girouard J, Giguere Y, Delage R, et al. (2002). Prevalence of HFE gene C282Y and H63D mutations in a French-Canadian population of neonates and in referred patients. *Hum Mol Genet*. 11,185-189.
- 7.- Tomatsu S, Orii KO, Fleming RE, et al. (2003). Contribution of the H63D mutation in HFE to murine hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 100,15788-15793.
- 8.- Mura C, Ragueneas O, Férec C. (1999). HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: Evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis. *Blood*. 8,2502-2502.

- 9.- Pietrangelo A. Hereditary Hemochromatosis – A new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004;350:2383-2397
- 10.- Zhou XY, Tomatsu S, Fleming RE, et al. HFE gene knockout produces mouse model of hereditary haemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:2492-7
- 11.- Levy Je, Montross LK, Cohen DE et al. The C282Y mutation causing hereditary haemochromatosis does not produce a null allele. *Blood* 1999;95:2492-2497
- 12.- Feder JN, Penny DM, Irrinki A, et al. The haemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:1472-1477
- 13.- Lebron JA, Bennett MJ, Vaughn DE, et al. Crystal structure of haemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 1998;93:111-123
- 14.- Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000;480:147-150
- 15.- Pigeon C, Ilyn G, Courselaud B et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001;276:7811-7819
- 16.- Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102:783-788
- 17.- Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ, et al. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet* 2003;361:669-673
- 18.- Gehrke SG, Kulaksiz H, Herrmann T, et al. Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: Evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to non-transferrin-bound iron. *Blood* 2003;102:371-376
- 19.- Papanikolaou G y col. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nature genetics* 2004;36:77-82
- 20.- Roetto A et al, Screening hepcidin for mutations in juvenile hemochromatosis: identification of a new mutation (C70R). *Blood* 2004;103:2407-2409
- 21.- Nicolas G y col. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *PNAS* 2001;98:8780-8785
- 22.- Camaschella C, Roetto A, Cali A, y col. The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet* 2000;25:14-15
- 23.- Mattman A, Huntsman D, Lockitch G, y col. Transferrin receptor 2 (TfR2) and HFE mutational analysis in non-C282Y iron overload: identification of a novel TfR2 mutation. *Blood* 2002;100:1075-1077
- 24.- Girelli D, Bozzini C, Roetto A, y col. Clinical and pathologic findings in hemochromatosis type 3 due to a novel mutation in transferrin receptor 2 gene. *Gastroenterology* 2002;122:1295-1302
- 25.- Pietrangelo A. The ferroportin disease. *Blood Cells, Molecules and Diseases*. 2004;32:131-138
- 26.- Gordeuk VR. Iron overload in africans and african-americans and a common mutation in the SCL40A1 (ferroportin 1) gene. *Blood Cells, Molecules and Diseases* 2003;31:299-304
- 27.- Kato J, Fujikawa K, Kanda M, et al. A mutation, in the iron-responsive element of H ferritin mRNA, causing autosomal dominant iron overload. *Am J Hum Genet* 2001;69:191-197
- 28.- Kawabata H, Fleming RE, Gui D, Moon SY, Saitoh T, O'Kelly J, Umehara Y, Wano Y, Said JW, Koeffler HP. Expression of hepcidin is down-regulated in TfR2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis. *Blood* 2004 Sep 2 [Epub ahead of print]
- 29.- Jacolot S, Gac G, Scotet V, Quere I, Mura C, Ferec C. HAMP as a modifier gene that increase the phenotypic expression of the HFE p.C282Y homozygous genotype. *Blood* 2003 Dec 11. Prepublished online
- 30.- Merryweather-Clarke AT, Cadet E, Bomford A, Capron D, Viprakasit V, Miller A, McHugh PJ, Chapman RW, Pointon JJ, Wimhurst VLC, Livesey KJ, Tanphaichitr V, Rochette J, Robson KJH. Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE results in different types of haemochromatosis. *Human Molecular Genetics* 2003;12:2241-2247
- 31.- Niederau C, Fischer R, Pürschel A, Stremmel W, Strohmeyer G. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996;110:1107-1119
- 32.- Brittenham GM, Badman DG. Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood* 2003;101:15-19
- 33.- Casañas R, Scharfetter H, Altes A, Remacha A, Sarda P, Sierra J, Merwa R, Hollaus K, Rosell J. Measurement of liver iron overload by magnetic induction using a planar gradiometer: preliminary human results. *Physiological Measurement* 2004;25:315-323
- 34.- Gandon Y, Olivie D, Guyader D, et al. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004;363:357-362
- 35.- Alustiza JM, Artetxe J, Castiella A, et al. MR quantification of hepatic iron concentration. *Radiology* 2004;230:479-84
- 36.- Kaltwasser JP. Juvenile hemochromatosis. In *Hemochromatosis*. Ed Barton JC and Edwards CQ. Cambridge University Press. First edition. Pgs: 318-328