

TESIS DOCTORAL

**EFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN
HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE
HIERRO EN LA POBLACIÓN**

NURIA ARANDA PONS

**Doctorado de Nutrición y Metabolismo
Unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública
Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI



REUS, 2007

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007



Informe del director de la tesi doctoral
 (art 11.3 del reial decret 56/2005 de Postgrau)

DADES IDENTIFICATIVES DE LA TESI DOCTORAL		
Títol de la tesi doctoral: Efecto de las alteraciones en el gen HFE y de la dieta sobre el exceso de hierro en la población		
Doctorand/a: Núria Aranda Pons		
Director(s)/es: Maria Victoria Arijá Val		
Programa de doctorat: Nutrición y Metabolismo		
Departament: Ciències Mèdiques Bàsiques		Grup de recerca: Alimentació, Nutrició, Creixement i Salut Mental
INFORME DEL DIRECTOR DE TESI		
El(s) (co)directors sotasignats emeten el següent informe de la tesi doctoral presentada a tràmit de dipòsit		
	SI	NO
La tesi consisteix en un treball original de recerca	X	
El títol reflecteix acuradament el contingut de la tesi	X	
Les hipòtesis i/o els objectius de la tesi estan clarament formulats	X	
La metodologia està descrita	X	
Hi consta el procediment	X	
Hi consten els resultats i la discussió dels mateixos	X	
Les conclusions de la tesi corresponen a les hipòtesis i/o objectius formulats	X	
La bibliografia està ben reflectida	X	
D'aquesta tesi es deriven les següents aportacions científiques: S'aporten les prevalences de la sobrecàrrega de ferro (25,3%) i de les mutacions al gen HFE (C282Y, H63D, S65C) (46%) en una població general del nostre entorn geogràfic S'ha comprovat l'escassa qualitat diagnòstica del receptor soluble de transferrina en la sobrecàrrega de ferro. Per primera vegada es descriuen en la mateixa població general els efectes de les alteracions genètiques i el consum alimentari sobre els nivells de ferro i l'efecte que l'excés de ferro té sobre l'oxidació cel·lular Hem pogut constatar que la alteració S65C heterocigota no modifica els nivells de ferro a la població. Totes aquestes relacions s'han determinat ajustant les relacions per factors relatius a característiques personals i ambientals.		
Altres comentaris sobre la qualitat de la tesi: S'ha publicat 2 articles: Berez V, Camps J, Arijá V, Aranda N, Fernandez-Ballart J, Vilella E, Figuera L, Ferre N, Joven J. Soluble transferrin receptor and mutations in hemochromatosis and transferrin genes in a general Catalan population. Clin Chim Acta 2005; 353: 205-8. Aranda N, Viteri FE, Fernandez-Ballart J, Murphy M, Arijá V. Frequency of the hemochromatosis gene (HFE) 282C-->Y, 63H-->D, and 65S-->C mutations in a general Mediterranean population from Tarragona, Spain. Ann Hematol 2007; 86: 17-21. Està sotmès a revisió el següent manuscrit: Arijá A, Aranda N, Viteri FE. Relationship between 282C-->Y, 63H-->D and 65S-->C mutations of the HFE gene and iron status in a healthy Mediterranean population from Tarragona, Spain. Clin Chem. S'ha presentat resultats de la tesi a 4 congressos internacionals: XIII Congreso Latinoamericano de Nutrición 2003. VI Congreso de la Sociedad Española de Nutrición comunitaria IV Congreso Iberoamericano de Nutrición y Salud Pública (Premi accésit a la millor comunicació oral). I World congress of Public Health Nutrition. VII congreso de la Sociedad Española de Nutrición comunitaria. XIX Congreso Latinoamericano de Nutrición 2006 (3º Premi a la millor comunicació oral a l'àrea de Nutrició i Salut Pública).		

I en conclusió, s'emet l'informe favorable per tal que es pugui portar a terme tràmit de lectura i posterior defensa pública.

Reus, 26 de julio de 2007.

Maria Victoria Arijá Val
 Directora de la tesi

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
EFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN
Núria Aranda Pons
ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

***A MI PADRE Y A MI TÍA CHARITO
A LOS QUE SIEMPRE LLEVO
EN EL CORAZÓN***

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no habría sido posible sin la colaboración de un gran número de personas a las que quiero expresar mi más sincero agradecimiento.

A la Dra. Arija, por haberme introducido en el apasionante mundo del hierro y transmitirme sus conocimientos. Por confiar en mi desde el primer momento, por su gran apoyo, motivación, amistad y todo el tiempo dedicado. Por que sin su ayuda no habría podido realizar este trabajo. Por todo, muchas gracias.

A la unidad de Medicina Preventiva y Salud Pública porque este amplio trabajo ha sido posible gracias a la colaboración de todos sus investigadores, y en especial al Dr. Fernández, por estar siempre dispuesto a ayudarme cuando lo he necesitado y su gran ayuda en el tratamiento estadístico de los datos.

Al Dr. Viteri, porque a pesar de ser un experto en hierro de primera línea a nivel internacional, nos ha asesorado de una forma cercana brindándonos su amistad.

A la unidad de farmacología, en especial a la Dra. Giralt y la Dra. Romeu, por su gran asesoramiento en el campo del estrés oxidativo y estar dispuestas a echarme una mano en cualquier momento dentro y fuera del trabajo. A ellas junto con la Dra Nogués y Vanesa Sánchez agradezco su gran ayuda en las determinaciones del laboratorio, su amistad y los buenos momentos compartidos.

Al *àrea de genotipatge i sequenciació de la URV*, en especial a Iolanda Díaz y a Marta Rodríguez, y a Ana Rull y Judith Marsillach del *Centre de Recerca Biomèdica* por enseñarme las técnicas de laboratorio y por su gran ayuda en las determinaciones bioquímicas y genéticas.

A Carme Montserrat, por su gran trabajo e infinita paciencia en el reclutamiento de los participantes de Cambrils en el estudio. Por todas las horas y buenos ratos compartidos durante el trabajo de campo. Por su amistad y gran ayuda en unos momentos muy difíciles de mi vida.

A Elisabeth Biarnés, porque de ella he aprendido la metodología de valoración de la dieta dejando que fuera su sombra durante una buena temporada. Por su amistad y buen humor.

A todos los profesionales de las Áreas Básicas de Salud de Cambrils y el Morell que han colaborado de alguna manera en la obtención de los datos del estudio.

A todos los participantes, sin los cuales no habría sido posible este estudio, a todos ellos gracias por su implicación desinteresada.

A la URV por concederme la beca predoctoral y al fondo de investigaciones sanitarias del ministerio de Sanidad y Consumo que ha financiado el proyecto (PI021131).

A todas mis compañeras de trabajo (por orden alfabético), Rosa Albadalejo, Nancy Babio, Maribel Berrocal, Marta Ferrer, Carmen Hernández, Michelle Murphy, Silvia Olivé y Judith Salat. A todas ellas gracias por su amistad, su gran apoyo, sus constantes ánimos y por contribuir a que venir a trabajar sea más que una obligación, un placer.

A mi madre y mis hermanos, por sus constantes ánimos y su gran cariño y apoyo en todo momento. Porque solo ellos saben como arrancarme una sonrisa cuando más la necesito. Al resto de mi familia, en especial a mi tía Montse, mi prima Esther, i a l'àvia por su enorme apoyo y confianza en mi. También quiero agradecer a mi diseñadora gráfica favorita Judith por su gran ayuda en la portada de esta tesis.

A Jesús, por su paciencia, comprensión y apoyo incondicional, por transmitirme ese amor y seguridad día tras día y no permitir que me derrumbe en los momentos más difíciles. Porque él junto con el/la "*peque*" son mi mayor ilusión.

A mi padre y a mi tía Charito, a los que recuerdo y echo de menos cada día. Ellos han sido las personas más luchadoras, valientes y con mejor corazón que he conocido jamás. Ellos son mi ejemplo a seguir y a los que quiero dedicar todo el trabajo y esfuerzo depositado en esta tesis.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

RESUMEN

Introducción: La sobrecarga severa de hierro se asocia a una enfermedad llamada Hemocromatosis Hereditaria (HH) relacionada con mutaciones en el gen HFE. En los últimos años, los niveles moderadamente altos se han asociado a un aumento del estrés oxidativo que puede contribuir a la aparición de enfermedades crónicas y muy frecuentes en nuestra sociedad a través de la hipótesis de la teoría oxidativa del hierro.

Los niveles de hierro también pueden estar modulados por otros factores como la dieta o diversos hábitos y estilos de vida.

Objetivo: Establecer la prevalencia de las mutaciones en el gen HFE, la prevalencia de sobrecarga de hierro, la relación entre dieta y genética sobre los niveles de hierro y el efecto del exceso de hierro sobre el estrés oxidativo.

Sujetos y métodos: Estudio epidemiológico transversal. Participaron 815 individuos de tres municipios de la provincia de Tarragona representativos de la población.

Se valoraron características sociodemográficas, medidas antropométricas y estilos de vida como el consumo de tabaco, alcohol, actividad física y la toma de suplementos de hierro. Se estimó el consumo alimentario a través del método del registro alimentario por estimación durante tres días no consecutivos de los cuales uno debía ser festivo.

Se determinó Hemoglobina (Hb), Volumen corpuscular medio (VCM) y otros índices hematológicos, Ferritina sérica (FS), el Hierro sérico (HS), Transferrina sérica (Tfs), receptor soluble de transferrina (RTfs) y la proteína C reactiva (PCR). Se calculó la capacidad total de fijación del hierro a la transferrina (CFHT) y la Saturación de la Transferrina (STf).

Se definió sobrecarga de hierro moderada cuando se cumplieran cualquiera de estas tres condiciones: a) STf superior al 45 % en ambos sexos, b) FS elevada (mayor de 110 µg/l en mujeres y mayor de 200 µg/l en hombres) y c) STf superior a 45% y FS moderada (entre 110-200 µg/l en mujeres y entre 200-300 µg/l en hombres).

Se definió sobrecarga de hierro severa cuando la STf fue superior al 45 % en ambos sexos y la FS mayor de 200 µg/l en mujeres y mayor de 300 µg/l en hombres.

Se determinaron los polimorfismos C282Y (mutación G845A), H63D (mutación C187G) y S65C (mutación A193T) del gen HFE de la HH, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa. La ausencia de mutaciones se expresó como genotipo salvaje.

Se determinaron los siguientes parámetros de estrés oxidativo: los TBARS plasmáticos

(sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico) como medida de peroxidación lipídica y el test de ORAC como medida antioxidante total del plasma.

Resultados y Conclusiones: El 25,3% de la población presenta algún tipo de sobrecarga de hierro y un 46% de nuestra población presenta algún tipo de las alteraciones estudiadas en el gen HFE. Las mutaciones estudiadas en el gen HFE aumentan significativamente los niveles de hierro, afectándose más los niveles circulantes (medidos con la STf) que los depósitos (medidos con la FS). Los genotipos compuestos C282Y/H63D y H63D/S65C son los que más aumentan los niveles de hierro mientras que la alteración S65C heterocigota parece no afectar a dichos niveles en nuestra población. La mayor ingesta de hierro y de alcohol y la menor de calcio se relacionan con el aumento de los niveles de hierro. Los niveles de STf se asocian con un mayor estrés oxidativo medido con los TBARS plasmáticos en las mujeres además de la ingesta de hierro hemo y la vitamina D. En ambos sexos, los depósitos de hierro medidos con la FS y la ingesta de vitamina C y D se relacionan directamente con el aumento de la capacidad antioxidante (ORAC).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
EFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN
Núria Aranda Pons
ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

ÍNDICE

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

ABREVIATURAS 3

RELACIÓN DE FIGURAS Y TABLAS 7

INTRODUCCIÓN 15

1. METABOLISMO DEL HIERRO.....	15
1.1 Contenido corporal, distribución y funciones del hierro en el organismo.....	15
1.2 Entrada del hierro al organismo: Absorción intestinal.....	19
1.2.1 Hierro dietético.....	19
1.2.2 Entrada del hierro dietético al enterocito.....	22
1.2.2.1 Hierro inorgánico o no hemo.....	23
1.2.2.2 Hierro hemo.....	24
1.2.3 Transferencia del hierro a la circulación sanguínea.....	25
1.3 Transporte de hierro.....	27
1.4 Captación celular de hierro.....	29
1.4.1 Vía dependiente de la transferrina.....	29
1.4.2 Vía independiente de la transferrina.....	33
1.5 Depósitos de hierro.....	36
1.5.1 Ferritina.....	36
1.5.2 Hemosiderina.....	38
1.6 Excreción.....	39
1.7 Regulación del metabolismo.....	40
1.7.1 Nuevas proteínas implicadas en la regulación del metabolismo del hierro.....	40
1.7.1.1 Hpcidina.....	41
1.7.1.2 HFE.....	44
1.7.1.3 Receptor de transferrina 2 (RTf2).....	50
1.7.1.4 Hemojuvelina.....	50
1.7.2 Factores dietéticos.....	51
1.7.3 Factores biológicos.....	54
1.7.4 Balance intracelular del hierro.....	55

2. NECESIDADES Y RECOMENDACIONES DE HIERRO.....	59
3. SOBRECARGA DE HIERRO.....	61
3.1 Definición.....	61
3.2 Factores causales.....	65
3.2.1 Alteraciones genéticas asociadas a sobrecarga de hierro.....	66
3.2.1.1 Hemocromatosis hereditaria clásica (HH) o de tipo 1.....	67
3.2.1.2 Hemocromatosis juvenil (HJ) o HH tipo 2.....	70
3.2.1.3 Hemocromatosis asociada al RTf2 o HH tipo 3.....	71
3.2.1.4 Enfermedad de la ferroportina o HH tipo 4.....	72
3.2.1.5 Sobrecarga de hierro asociada a la subunidad H de la ferritina.....	73
3.2.1.6 Aceruloplasminemia hereditaria.....	73
3.2.1.7 Atransferrinemia hereditaria.....	74
3.2.2 Factores dietéticos.....	74
3.2.2.1 Ingesta de hierro en la población.....	75
3.2.2.2 Suplementación con hierro en la población.....	77
3.2.3 Otros factores.....	80
3.3 Prevalencia y penetrancia de las mutaciones en el gen HFE en la población.....	82
3.4 Mecanismos fisiopatológicos del exceso de hierro.....	87
3.4.1 El hierro y la teoría oxidativa.....	87
3.4.2 Patologías asociadas a la sobrecarga de hierro.....	90
3.4.2.1 Enfermedad Cardiovascular.....	90
3.4.2.2 Cáncer.....	92
3.4.2.3 Diabetes.....	93
3.4.2.4 Enfermedades neurodegenerativas.....	94
3.5 Prevalencia de sobrecarga de hierro en la población.....	96
4. MÉTODOS DE VALORACIÓN.....	98
4.1 Determinaciones bioquímicas del estado en hierro.....	98
4.2 Consumo alimentario.....	104
4.3 Detección de mutaciones.....	107
4.4 Estrés oxidativo.....	111

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	117
SUJETOS Y MÉTODOS	121
1. SUJETOS.....	121
2. MÉTODOS UTILIZADOS.....	123
2.1 Historia clínica.....	123
2.2 Valoración del consumo alimentario, ingesta energética y nutricional.....	124
2.3 Obtención, preparación y conservación de las muestras sanguíneas.....	126
2.4 Determinaciones bioquímicas del estado en hierro.....	128
2.4.1 Criterios utilizados de sobrecarga y déficit de hierro.....	130
2.5 Determinación de mutaciones en el gen HFE.....	132
2.6 Determinación de parámetros de estrés oxidativo.....	135
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	138
RESULTADOS	143
1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN.....	143
1.1 Características generales.....	143
1.2 Parámetros bioquímicos según edad y sexo.....	145
1.3 Consumo alimentario, ingesta energética y nutricional según edad y sexo.....	148
1.4 Medidas antropométricas y estilos de vida según edad y sexo.....	153
1.5 Parámetros de estrés oxidativo según edad y sexo.....	155
2. PREVALENCIA DE SOBRECARGA DE HIERRO.....	156
3. PREVALENCIA DE MUTACIONES EN EL GEN HFE.....	161
4. GENÉTICA, DIETA, ANTROPOMETRÍA, ESTILOS DE VIDA Y ESTRÉS OXIDATIVO EN LA SOBRECARGA DE HIERRO.....	163
4.1 Mutaciones en el gen HFE según el estado en hierro.....	163
4.2 Consumo alimentario, ingesta energética y nutricional según el estado en hierro	166
4.3 Medidas antropométricas y estilos de vida según el estado en hierro.....	171
4.4 Estrés oxidativo según el estado en hierro.....	173
5. EFECTO DE LA GENÉTICA Y LA DIETA SOBRE LOS NIVELES DE HIERRO.....	175
6. EFECTO DE LOS NIVELES DE HIERRO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO.....	180

DISCUSIÓN	185
1. SUJETOS.....	185
2. MÉTODOS.....	185
3. RESULTADOS.....	187
4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	199
CONCLUSIONES	203
APLICABILIDAD DEL ESTUDIO Y PLANTEAMIENTOS FUTUROS	207
BIBLIOGRAFIA	211
APORTACIONES CIENTÍFICAS	245
1. ARTÍCULOS.....	245
2. CONTRIBUCIONES A CONGRESOS.....	245

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

ABREVIATURAS

















UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN





Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

Abreviaturas

ABS	Área Básica de Salud	
ApoTf	Apotransferrina	
ARD	Agentes Reductores de la Dieta	
ATP	Adenosín Trifosfato	
β₂μb	Beta 2 microglobulina	
CHCM	Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media	
CFHT	Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina	
Cp	Ceruloplasmina plasmática	
Dcytb	<i>Duodenal cytochrome B</i>	
DMT1 , DCT1, Nramp2	<i>Divalent Metal Transporter 1</i>	
DM2	Diabetes Mellitus de tipo 2	
ECV	Enfermedad Cardiovascular	
ERO	Especie Reactiva de Oxígeno	
Fe, Fe²⁺, Fe³⁺	Hierro, Hierro ferroso, Hierro férrico	
Fe-Tf	Transferrina portadora de hierro	
Fer	Ferritina celular	
FLVCR , Bcrp	<i>Feline Leukemic Virus, sub-group C Receptor</i>	
FS	Ferritina Sérica	
FMO	Flavinmonooxigenasa	
Fpn , Fpn1, IREG1 MTP1	Ferroportina	
Hb	Hemoglobina	
HCM	Hemoglobina Corpuscular Media	
HCP1	<i>Heme Carrier Protein-1</i>	
Hepc , LEAP-1, HAMP	Hepcidina	
Hf	Hefaestina	
HFE	Proteína HFE	
HH	Hemocromatosis Hereditaria	

Abreviaturas

HJ	Hemocromatosis Juvenil o de tipo 2	
HJV	Hemojuvelina	
Hox	Hemooxigenasa	
HS	Hierro sérico	
Hto	Hematocrito	
IRE	<i>Iron Responsive Elements</i>	
IRP	<i>Iron Regulatory Protein</i>	
LDL	<i>Low Density Lipoprotein</i>	
RLM	Regresión Lineal Múltiple	
NTBI	<i>Non Transferrin Bound Iron</i>	
ORAC	<i>oxygen radical absorbance capacity</i>	
PE	Protoporfirina Eritrocitaria	
Pf	Paraferitina	
RTf1	Receptor de transferrina 1	
RTf2	Receptor de transferrina 2	
RTfs	Receptor soluble de transferrina	
SRE	Sistema Retículo Endotelial	
STf	Saturación de la Transferrina	
TBARS	<i>Thioarbituric Acid Reactive Substances</i>	
Tf, Tfs	Transferrina, Transferrina sérica	
VCM	Volumen Corpuscular Medio	

RELACIÓN DE FIGURAS Y TABLAS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

FIGURAS

Figura 1.	Distribución del hierro en el organismo.....	16
Figura 2.	Ciclo del hierro en el hombre.....	17
Figura 3.	Absorción intestinal de hierro.....	23
Figura 4.	Mecanismos de absorción intestinal del hierro.....	26
Figura 5.	Estructura de la transferrina.....	28
Figura 6.	Representación esquemática del Receptor de Transferrina 1.....	30
Figura 7.	Captación del hierro por la vía dependiente de la Transferrina.....	32
Figura 8.	Principales vías de captación celular del hierro.....	34
Figura 9.	Representación esquemática de la incorporación del hierro en sus células principales.....	35
Figura 10.	Estructura de la apoferritina.....	37
Figura 11.	Representación esquemática de la regulación del metabolismo del hierro por la hepcidina.....	43
Figura 12.	Nuevas proteínas que podrían regular la expresión de la hepcidina. Mecanismo de acción de la hepcidina.....	44
Figura 13.	Representación esquemática de la proteína HFE.....	45
Figura 14.	Hipótesis de la célula de la cripta.....	47
Figura 15.	Interacción de HFE con el Receptor de transferrina 2.....	49
Figura 16.	Hipótesis de la hepcidina.....	49
Figura 17.	Representación esquemática del balance celular del hierro.....	58
Figura 18.	Algoritmo para el diagnóstico de hemocromatosis.....	64
Figura 19.	Posibles mecanismos del aumento de la absorción de hierro en presencia de la mutación C282Y.....	69
Figura 20.	Archivo fotográfico.....	125
Figura 21.	Alícuotas de plasma.....	127
Figura 22.	Autoanalizador utilizado para las determinaciones bioquímicas.....	129
Figura 23.	Termociclador utilizado para la técnica de PCR.....	132
Figura 24.	Separación electroforética.....	133
Figura 25.	Visualización de los genotipos del gen HFE en el gel de poliacrilamida.....	134
Figura 26.	Comparativa de la población estudiada y la censada.....	144
Figura 27.	Prevalencia de sobrecarga de hierro por grupos de edad y sexo.....	159
Figura 28.	Prevalencia de alteraciones en el gen HFE en la población.....	162

Relación de figuras y tablas

Figura 29.	Frecuencias alélicas del gen HFE en la población.....	162
Figura 30.	Mutaciones en los individuos con estado de hierro normal y sobrecarga.....	165
Figura 31.	Consumo alimentario en las mujeres con estado de hierro normal y sobrecarga.....	167
Figura 32.	Consumo alimentario en los hombres con estado de hierro normal y sobrecarga.....	168
Figura 33.	Ingesta energética y nutricional en las mujeres con estado de hierro normal y sobrecarga.....	170
Figura 34.	Ingesta energética y nutricional en los hombres con estado de hierro normal y sobrecarga.....	170
Figura 35.	Medidas antropométricas y estilos de vida en las mujeres con estado de hierro normal y sobrecarga.....	172
Figura 36.	Medidas antropométricas y estilos de vida en los hombres con estado de hierro normal y sobrecarga.....	172
Figura 37.	TBARS plasmáticos en mujeres y hombres con estado de hierro normal y sobrecarga.....	174
Figura 38.	Test de ORAC en mujeres y hombres con estado de hierro normal y sobrecarga.....	174
Figura 39.	Correlación entre la ferritina sérica y la saturación de la transferrina.....	179
Figura 40.	Correlación entre TBARS y ORAC.....	181

TABLAS

Tabla 1.	Procesos del organismo en los que interviene el hierro.....	18
Tabla 2.	Contenido de hierro en los alimentos.....	21
Tabla 3.	Nuevas proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro.....	41
Tabla 4.	Factores dietéticos que afectan la absorción de hierro.....	54
Tabla 5.	Ingesta recomendada de hierro en la población española y americana.....	60
Tabla 6.	Situaciones más comunes de sobrecarga férrica.....	66
Tabla 7.	Principales alteraciones genéticas asociadas a sobrecarga de hierro.....	67
Tabla 8.	Especialidades farmacéuticas publicitarias más vendidas en oficina de farmacia que incorporan hierro en su composición.....	80
Tabla 9a.	Frecuencia de las alteraciones en el gen HFE en el norte de Europa.....	83

Relación de figuras y tablas

Tabla 9b.	Frecuencia de las alteraciones en el gen HFE en el centro y sur de Europa....	84
Tabla 10.	Valores normales de los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo del hierro.....	103
Tabla 11.	Métodos más utilizados de valoración del consumo alimentario individual.....	106
Tabla 12.	Principales técnicas de detección de mutaciones.....	110
Tabla 13.	Principales biomarcadores del estrés oxidativo.....	112
Tabla 14.	Niveles límite para el diagnóstico de sobrecarga y déficit de hierro.....	131
Tabla 15.	Criterios diagnósticos utilizados.....	131
Tabla 16.	Primers y enzimas de restricción utilizados en cada restricción enzimática....	133
Tabla 17.	Representación de los sujetos de la población de estudio por grupos de edad y sexo.....	143
Tabla 18.	Porcentaje de la población según el nivel socioeconómico.....	144
Tabla 19.	Parámetros bioquímicos del estado en hierro en las mujeres por grupos de edad.....	145
Tabla 20.	Parámetros bioquímicos del estado en hierro en los hombres por grupos de edad.....	146
Tabla 21.	Parámetros bioquímicos del estado en hierro por sexos.....	146
Tabla 22.	Niveles séricos de ferritina y proteína C reactiva en los individuos sin inflamación por grupos de edad en mujeres y hombres.....	147
Tabla 23.	Niveles séricos de ferritina y proteína C reactiva en los individuos sin inflamación por sexos.....	147
Tabla 24.	Consumo alimentario en las mujeres por grupos de edad.....	148
Tabla 25.	Consumo alimentario en los hombres por grupos de edad.....	149
Tabla 26.	Consumo alimentario por sexos.....	149
Tabla 27.	Ingesta energética y nutricional en las mujeres por grupos de edad.....	150
Tabla 28.	Ingesta energética y nutricional en los hombres por grupos de edad.....	151
Tabla 29.	Ingesta energética y nutricional por sexos.....	152
Tabla 30.	Medidas antropométricas y estilos de vida en las mujeres por grupos de edad.....	153
Tabla 31.	Medidas antropométricas y estilos de vida en los hombres por grupos de edad.....	154
Tabla 32.	Medidas antropométricas y estilos de vida por sexos.....	154
Tabla 33.	Parámetros de estrés oxidativo en las mujeres por grupos de edad.....	155
Tabla 34.	Parámetros de estrés oxidativo en los hombres por grupos de edad.....	155

Relación de figuras y tablas

Tabla 35.	Parámetros de estrés oxidativo por sexos.....	155
Tabla 36.	Porcentaje de sujetos con parámetros del estado de hierro alterados por grupos de edad.....	156
Tabla 37.	Prevalencia de déficit y sobrecarga de hierro por grupos de edad.....	157
Tabla 38.	Parámetros bioquímicos en las mujeres según su estado en hierro.....	160
Tabla 39.	Parámetros bioquímicos en los hombres según su estado en hierro.....	160
Tabla 40.	Prevalencia de alteraciones en el gen HFE según sexo.....	161
Tabla 41.	Frecuencias alélicas del gen HFE según sexo.....	161
Tabla 42.	Niveles de hierro según genotipo y sexo.....	164
Tabla 43.	Mutaciones en el gen HFE según el estado en hierro.....	164
Tabla 44.	Consumo alimentario en las mujeres según su estado en hierro.....	166
Tabla 45.	Consumo alimentario en los hombres según su estado en hierro.....	166
Tabla 46.	Ingesta energética y nutricional en las mujeres según su estado en hierro....	169
Tabla 47.	Ingesta energética y nutricional en los hombres según su estado en hierro...	169
Tabla 48.	Medidas antropométricas y estilos de vida en las mujeres según su estado en hierro.....	171
Tabla 49.	Medidas antropométricas y estilos de vida en los hombres según su estado en hierro.....	171
Tabla 50.	Parámetros de estrés oxidativo en las mujeres según su estado en hierro.....	173
Tabla 51.	Parámetros de estrés oxidativo en los hombres según su estado en hierro.....	173
Tabla 52.	Efecto de las mutaciones en el gen HFE y de la dieta sobre los niveles de saturación de transferrina.....	175
Tabla 53.	Efecto de las mutaciones en el gen HFE y de la dieta sobre los niveles de ferritina sérica.....	176
Tabla 54.	Efecto de las mutaciones en el gen HFE y de la dieta sobre los niveles de ferritina sérica en mayores de 50 años.....	178
Tabla 55.	Valores medios de TBARS y ORAC según los terciles de saturación de transferrina.....	180
Tabla 56.	Valores medios de TBARS y ORAC según los terciles de ferritina sérica.....	180

Relación de figuras y tablas

Tabla 57.	Efecto de los niveles de hierro (STf y FS) sobre la peroxidación lipídica (TBARS plasmáticos).....	182
Tabla 58.	Efecto de los niveles de hierro (STf y FS) sobre sobre la capacidad antioxidante plasmática (test de ORAC).....	182

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

INTRODUCCIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

1. METABOLISMO DEL HIERRO

El hierro es un elemento esencial para la vida, puesto que participa prácticamente en todos los procesos de oxidación-reducción. Forma parte esencial de las enzimas del ciclo de Krebs, de la respiración celular y como transportador de electrones en los citocromos. Está presente en numerosas enzimas involucradas en el mantenimiento de la integridad celular, tales como las catalasas, peroxidasas y oxigenasas (Andrews y Bridge, 1998). Su elevado potencial redox, junto a su facilidad para promover la formación de compuestos tóxicos altamente reactivos, determina que el metabolismo de hierro sea controlado por un potente sistema regulador (Hentze, 1993).

1.1 CONTENIDO CORPORAL, DISTRIBUCIÓN Y FUNCIONES DEL HIERRO EN EL ORGANISMO

El contenido total de hierro de un individuo normal es aproximadamente de 3,5 a 4 g en la mujer y de 4 a 5 g en el hombre, es decir entre 45-55 mg/kg de peso corporal en hombre y mujer adulta respectivamente (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005). El hierro está distribuido en el organismo en tres compartimentos: el esencial, el de transporte y el de reserva.

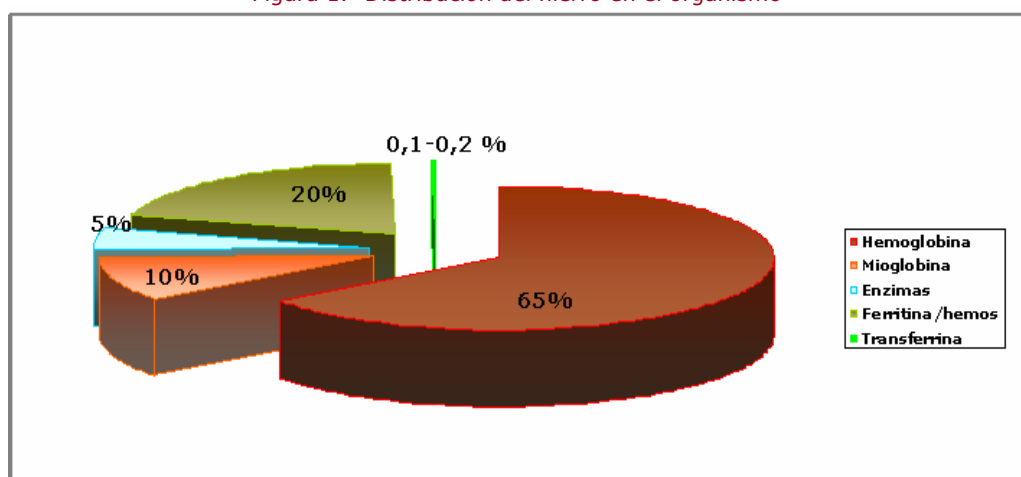
El compartimento **esencial** o funcional está formado principalmente por proteínas con estructura hemoglobínica, tales como la hemoglobina y la mioglobina, además de otras enzimas que requieren hierro como cofactor o como grupo prostético y compuestos activos como los citocromos y grupos Fe-S. Estas proteínas realizan importantes funciones metabólicas o enzimáticas. Del total del hierro del organismo, aproximadamente el 65 % se encuentra formando parte de la hemoglobina (Ponka, 1997; Andrews, 1999) y el 15 % está contenido en las enzimas (catalasas y peroxidasas), citocromos y la mioglobina (fibras musculares).

El compartimento de **transporte** está constituido por la transferrina (también llamada siderofilina) que es una glicoproteína que transporta el hierro por la sangre desde el sistema reticuloendotelial y el intestino hasta los tejidos, en especial hacia la médula ósea para la

síntesis de hemoglobina, el hierro unido a la transferrina representa entre el 0,1-0,2 % del total.

El tercer compartimento, el de **reserva**, está constituido por compuestos proteicos (ferritina y hemosiderina) que constituyen las reservas corporales de este metal. La ferritina se encuentra en muchos tejidos, y en la mucosa intestinal cumple una función de regulación de la absorción (almacenamiento y barrera) al impedir que el hierro se absorba hacia el plasma cuando los depósitos del organismo son abundantes. Esta función es muy importante ya que una vez absorbido podemos eliminar muy poco hierro y su exceso puede ser perjudicial. En este compartimento se encuentra aproximadamente entre el 20-30 % del hierro total (equivale aproximadamente a 1 gramo en el varón adulto y algo menos en la mujer) (Figura 1).

Figura 1.- Distribución del hierro en el organismo



Elaboración propia

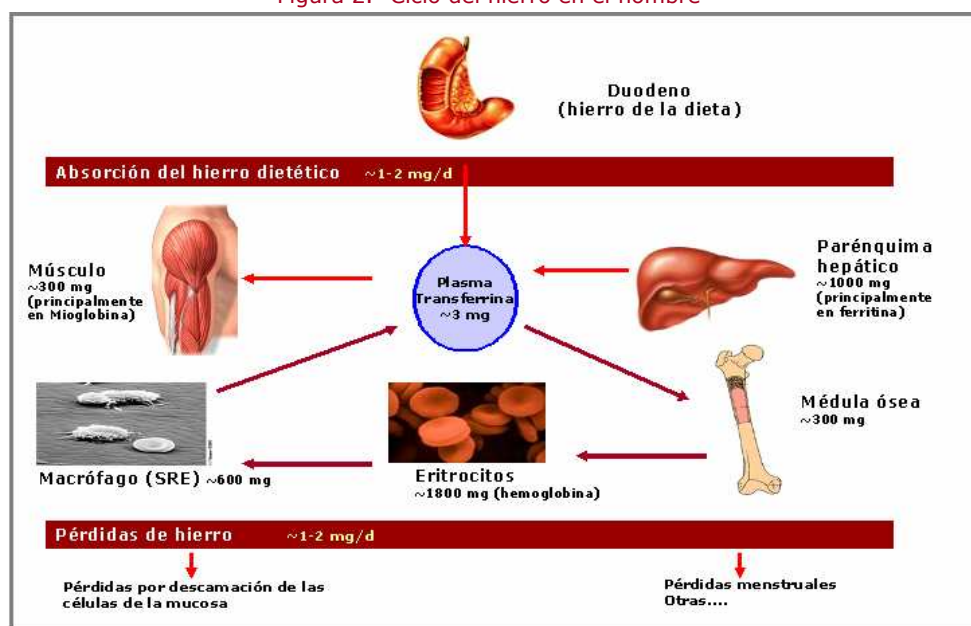
La circulación del hierro entre los compartimentos de reserva y esencial se produce a través de un ciclo que se muestra en la figura 2.

Un individuo sano, absorbe diariamente entre 1-2 mg de hierro de la dieta (aproximadamente un 10 %), que compensa con las pérdidas no específicas por la descamación de las células de la piel y del intestino (mediante orina, sudor, bilis y heces). Además de estas pérdidas basales (0,8-1 mg/día) existen otras pérdidas de hierro añadidas que pueden corresponder a

situaciones fisiológicas como la menstruación y el embarazo al proveer hierro al feto, o situaciones patológicas acompañadas de pérdida de sangre. En total, las pérdidas diarias corresponden entre 1-2 mg de hierro al día.

La eritropoyesis requiere aproximadamente unos 30 mg de hierro al día, que proviene principalmente del reciclaje del hierro de los macrófagos del sistema reticuloendotelial (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005). Éstos eliminan los eritrocitos senescentes y liberan el hierro a la transferrina circulante en el plasma.

Figura 2.- Ciclo del hierro en el hombre



Adaptado de Andrews, 1999

Teniendo en cuenta la relación hierro-proteína, parece claro que en el ser vivo las principales funciones del hierro son transportar oxígeno y participar en los procesos redox que se dan en las reacciones de transferencia de electrones en la cadena respiratoria, facilitando la fosforilación oxidativa que permite convertir el ADP en ATP. En la tabla 1 se muestran los principales procesos de las células animales que específicamente requieren hierro o son moduladas por él.

Tabla 1.- Procesos del organismo en los que interviene el hierro

Proceso	Sitio específico de acción del hierro
Síntesis de ADN	Ribonucleótido reductasa
Síntesis de ARN	ARN polimerasa
Transferencia de electrones	Citocromos, hidrogenasa, ferredoxina, succinato dehidrogenasa
Metabolismo del oxígeno	Catalasa, oxigenasas, peroxidasas
Ciclo de Krebs	Aconitasa
Respuesta inmune	Activación de linfocitos T; función de neutrófilos, natural killers y linfocitos B

Fuente: Weinberg, 1990

1.2 ENTRADA DEL HIERRO AL ORGANISMO: ABSORCIÓN INTESTINAL

En un individuo normal, las necesidades diarias de hierro son muy bajas en comparación con el hierro circulante, por lo que sólo se absorbe una pequeña proporción del total ingerido. La cantidad absorbida varía de acuerdo con la cantidad y el tipo de hierro presente en los alimentos, el estado de los depósitos corporales del mineral, las necesidades, la actividad eritropoyética y una serie de factores lumenales e intraluminales que interfieren o facilitan la absorción (Forrellat y cols., 2000).

El balance de hierro en el organismo se mantiene en unos márgenes estrechos, regulado a través de la absorción intestinal, que puede aumentar o disminuir la cantidad absorbida según diversas situaciones para cubrir las necesidades de hierro.

El proceso de absorción del hierro puede dividirse secuencialmente en dos etapas, una la entrada del hierro dietético en el enterocito, y la otra el paso del hierro del enterocito a la circulación.

1.2.1 HIERRO DIETÉTICO

Las dietas habituales de las poblaciones occidentales aportan entre 10 y 20 mg de hierro al día. Existe dos tipos de hierro en la dieta: el **hierro hemo**, pertenece a la familia de las porfirinas y se encuentra formando parte de la hemoglobina y mioglobina. Este tipo de hierro se absorbe muy bien, pero representa una pequeña fracción del total de la dieta. Por otro lado, el hierro no hemo (o hierro inorgánico) lo encontramos como hidróxido de hierro, sales de hierro o proteínas férricas. El **hierro no hemo** se encuentra de forma abundante en los alimentos, pero su absorción es mucho menor y depende de varios factores dietéticos y fisiológicos.

El hierro hemo está presente en la sangre, las vísceras y el tejido muscular (carne y pescado) y suele representar un 40% del total contenido en el alimento. Tiene una alta biodisponibilidad ya que se absorbe aproximadamente entre un 15 y un 40% del ingerido dependiendo del estado nutricional de hierro y su absorción no se ve apenas influenciada por otros factores dietéticos.

Por el contrario, el hierro no hemo está contenido tanto en los alimentos de origen animal como vegetal, y su absorción varía ampliamente (entre menos del 1% hasta el 40%) siendo muy influenciada por factores dietéticos y biológicos. Este tipo de hierro es el que se utiliza en la fortificación de alimentos (Arija y Viteri, 2006). En la tabla 2 se muestra el contenido de hierro en distintos alimentos.

Diversos trabajos han estudiado la biodisponibilidad de algunos alimentos o de una comida completa mediante la utilización de la técnica del hierro marcado isotópicamente. En este sentido cabe resaltar que la absorción de hierro de las espinacas o de las judías blancas es muy baja (1-3%) en comparación con la del hígado, la carne (12-22%) o la morcilla que contiene aproximadamente 0,4 mg de hierro por cada ml de sangre en ese alimento (Layrisse y cols., 1971).

La principal diferencia entre el metabolismo del niño y del adulto está dada por la dependencia que tienen los primeros del hierro proveniente de los alimentos. En los adultos, aproximadamente el 95 % del hierro necesario para la síntesis de la hemoglobina proviene del reciclaje del hierro de los hematíes senescentes. En contraste, un niño entre los 4 y 12 meses de edad, utiliza el 30 % del hierro contenido en los alimentos con este fin, y la tasa de reutilización a esta edad es menos significativa (Dallman y Simes, 1985).

Tabla 2.- Contenido de hierro en los alimentos

ALIMENTO	CANTIDAD DE HIERRO (mg/100g)
CARNES	1-3
Hígado	13
Carne magra	1,3
Jamón serano	2,3
PESCADOS Y MARISCOS	0,4-2,7
Pescado blanco	1
Pescado Azul	1,1
Mariscos	2,5
HUEVOS	2,2
LÁCTEOS	0,04-,9
Yogur natural	0,1
Queso	0,6
Leche entera	0,04
LEGUMBRES	5,5-8,2
Lentejas	8,2
Garbanzos	6,8
FRUTOS SECOS	5-7,9
Pistachos	7,2
CEREALES	0,8-2,1
Pan	1,6
Espaguetis	2,1
VERDURAS Y HORTALIZAS	0,3-3
Tomate	0,7
Patata	0,8
Acelgas y espinacas	3
FRUTAS	0,1-0,7
Plátano	0,6
Naranja	0,5
Fresa, fresón	0,7

Fuente: Mataix y cols., 2002.

1.2.2 ENTRADA DEL HIERRO DIETÉTICO AL ENTEROCITO

El hierro se absorbe de forma activa en las células epiteliales del duodeno y primera porción del yeyuno, decreciendo su absorción hasta la parte distal del intestino.

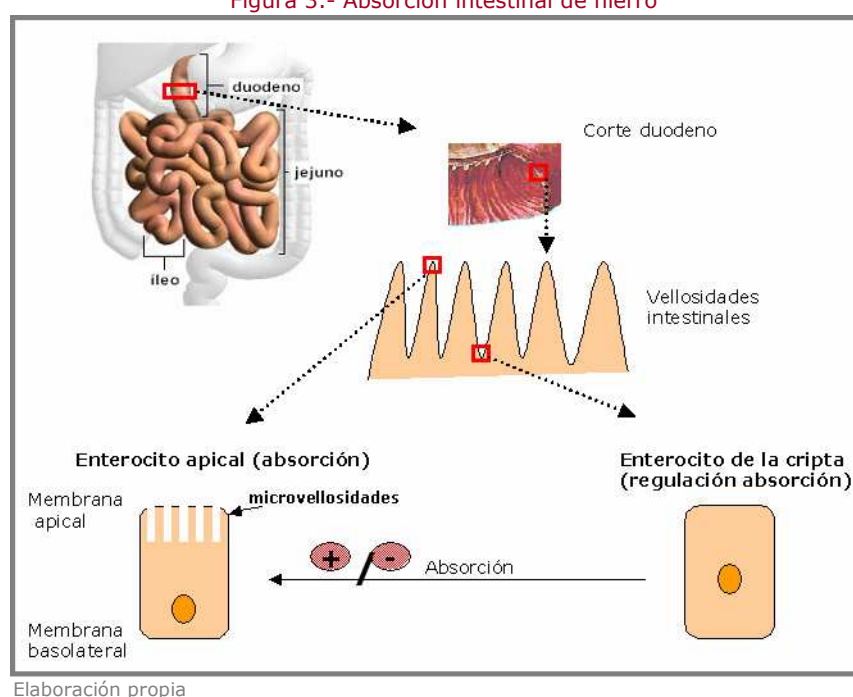
El epitelio intestinal se organiza en una estructura de pliegues aumentando así la superficie de absorción. Además, la superficie de estos pliegues no es lisa, si no que se encuentra recubierta por unas evaginaciones de 0,5 a 1 mm de altura, que multiplican por ocho la superficie de absorción. En estas vellosidades se pueden distinguir dos partes fundamentales, una, la más próxima a la luz intestinal, que es la vellosidad propiamente dicha, y otra, más profunda con relación a la luz que son las llamadas criptas de Lieberkühn (Ariznavarreta R, 1999).

En las criptas se encuentran las células juveniles indiferenciadas cuya función será básicamente reguladora. Una vez maduros y transformados en enterocitos adultos, ascienden desde las criptas hasta las vellosidades donde realizarán la función de absorción. Los enterocitos maduros poseen además las llamadas "microvellosidades" con lo que aumentan en 20 veces la superficie interior del intestino (Figura 3).

El enterocito maduro tiene dos superficies: la apical, es la que se encuentra en contacto con la luz intestinal y contiene las microvellosidades que constituyen el llamado borde del cepillo. En esta membrana es donde se producirá la absorción del hierro de la dieta. La superficie laterobasal o basolateral es la que está en contacto con los vasos sanguíneos y es por donde pasará el hierro a la circulación.

Del total del hierro aportado por la dieta occidental (10-20 mg al día), únicamente se absorbe 1-2 mg (aproximadamente el 10% del total), de los cuales 2 terceras partes deriva del grupo hemo (hierro hemo), mientras que el resto es hierro inorgánico (hierro no hemo). Tanto el hierro hemo como el hierro inorgánico son absorbidos en la membrana apical de los enterocitos duodenales a través de diferentes mecanismos como veremos a continuación.

Figura 3.- Absorción intestinal de hierro



1.2.2.1 HIERRO INORGÁNICO O NO HEMO

El hierro no hemo de la dieta se encuentra principalmente en su forma oxidada (Fe^{3+}). Éste es insoluble en soluciones con pH mayor a 3, por lo que en el estómago, por su bajo pH, se forman complejos solubles del metal que aumentan su disponibilidad para ser absorbido en el duodeno. Por otra parte, en el lumen del intestino se forman cantidades variables de iones ferrosos (Fe^{2+}) como consecuencia de la reducción del hierro férrico por agentes de la dieta (Agentes Reductores Dietéticos: ARD) y por una enzima ferrireductasa (Dcytb) (Duodenal cytochrome B) que se expresa en la superficie apical del enterocito, concretamente en el reborde del cepillo (McKie y cols., 2000). La expresión de Dcytb aumenta en situaciones de déficit de hierro e hipoxia, consiguiendo así un importante papel en la captación de hierro en la membrana apical (Andrews, 2005).

En consecuencia, ambos iones (ferroso y férrico) pueden presentarse ante las células intestinales (Pérez y cols., 2005).

La absorción de los iones ferrosos (Fe^{2+}) a través de la membrana apical del enterocito es facilitada por el transportador de metales divalentes DMT1 (Divalent Metal Transporter 1) también conocido como DCT1 (Divalent Cation Transporter 1) o Nramp2 (Natural Resistance Associated macrophage protein 2), que es una proteína de membrana que se encuentra en muchas células del organismo (Fleming y cols., 1997; Gunshin y cols., 1997). Mientras que en las células intestinales el DMT1 se encuentra concretamente en las células de las vellosidades e interviene en el transporte del hierro desde la luz intestinal al enterocito, en el resto de las células interviene en el paso del hierro del endosoma al citoplasma (Andrews, 1999).

Los iones férricos (Fe^{3+}) pueden ser absorbidos vía una proteína de membrana miembro de la familia de las integrinas, la $\beta 3$ -integrina. Luego, son transferidos a la proteína chaperona mobilferrina (Conrad y cols., 1993) formando un gran complejo proteico citoplasmático llamado paraferitina (Conrad y Umbreit, 2002) que contiene hierro, $\beta 3$ integrina, mobilferrina, $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2\mu b$) y la enzima Flavinmonooxigenasa (FMO). Este complejo macromolecular tiene actividad ferrireductasa y lleva a cabo la reducción del hierro (Pérez y cols., 2005).

1.2.2.2 HIERRO HEMO

Este tipo de hierro atraviesa la membrana celular como una metaloporfirina intacta después de haber sido separada de la globina a través de las proteasas endoluminales o de la membrana del enterocito. Este paso lo realiza a través de una proteína transportadora de grupo hemo descubierta recientemente (HCP1) (Heme Carrier Protein-1) (Shayeghi y cols., 2005).

Parece ser que el anillo de porfirina es el responsable de la alta absorción del hierro hemo en comparación con el hierro no hemo (South y cols., 2000). Sin embargo, otros autores (Fly y Czarnecki-Maulden, 2000) atribuyen este efecto a la porción proteica de la molécula de hemoglobina puesto que es posible que los péptidos de la digestión de la globina puedan mejorar la biodisponibilidad del hierro a través de un aumento en su solubilidad. Una vez en el citosol del enterocito, el hierro es liberado del anillo de porfirina a través de la acción de la hemoxigenasa (Carpenter CE y Mahoney, 1992).

Aunque el hierro hemo representa una pequeña proporción del hierro total de la dieta (10-15%), su absorción es mucho mayor y se ve menos afectada por los componentes de ésta (Hallberg y cols., 1991).

1.2.3 TRANSFERENCIA DEL HIERRO A LA CIRCULACIÓN SANGUÍNEA

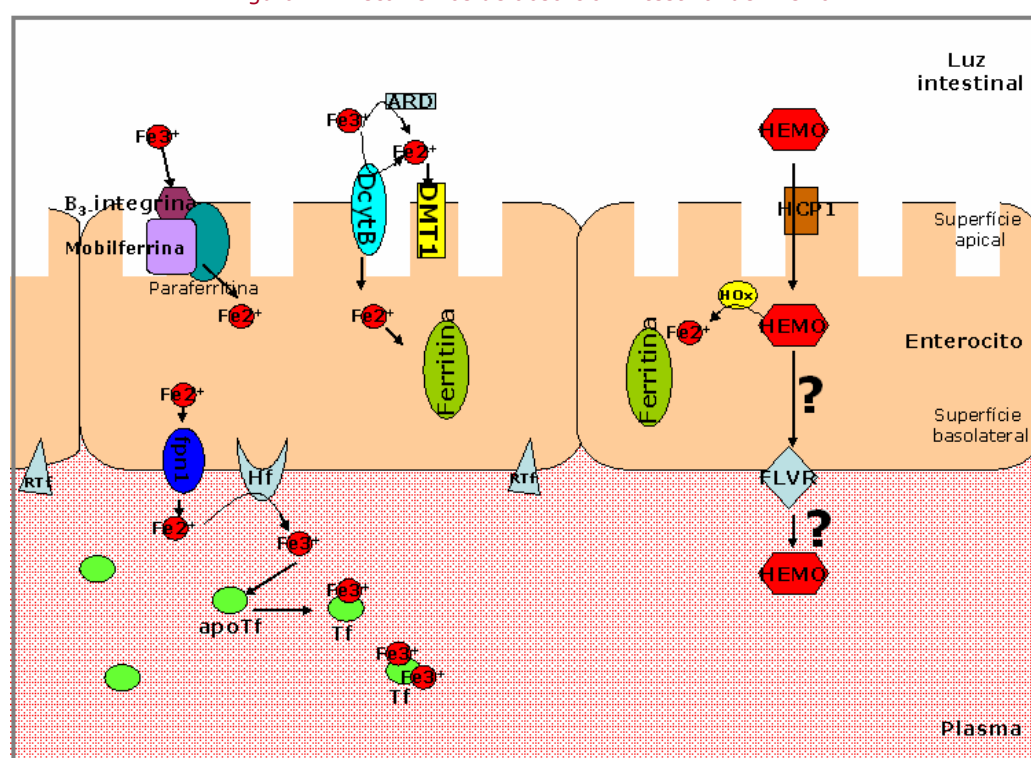
Una vez el hierro en su forma reducida está dentro del enterocito (Fe^{2+}), puede ser almacenado en forma de ferritina y excretado en las heces cuando se produce la descamación de los enterocitos senescentes o bien es transportado a través de la membrana basolateral hacia el plasma, a través de una proteína de membrana transportadora llamada Ferroportina (Fpn) (Donovan y cols., 2000), también encontrada en la literatura como IREG1 (Iron-Regulated transporter 1) (McKie y cols., 2000) o MTP1 (Metal Transporter Protein) (Abboud y Haile, 2000). Esta proteína es hasta el momento el único exportador de hierro no hemo conocido de las células animales.

La proteína de membrana Hefestina (Hf) o bien la proteína plasmática Ceruloplasmina (Cp) promueven la oxidación del hierro gracias a su actividad ferroxidasa, facilitando de esta manera su incorporación a la transferrina circulante (Vulpe y cols., 1999) (Figura 4).

Mientras que el paso del hierro hemo y el hierro no hemo desde el lumen del intestino al interior del enterocito es diferente entre ellos, se cree que la exportación basolateral del hierro a través del enterocito es común para ambos (Anderson y cols., 2005).

Sin embargo, lo que no está claro es si el grupo hemo se metaboliza totalmente a hierro inorgánico en las células epiteliales intestinales, o si existe una parte que pasa a la circulación intacto (Andrews, 2005). Si el grupo hemo intacto se exportara del enterocito a la circulación, lo podría hacer a través de la acción de uno de los dos nuevos exportadores de grupo hemo descubiertos recientemente: FLVCR o Bcrp (Krishnamurthy y cols., 2004; Quigley y cols., 2004) Si esto ocurriera, la consecuente disposición del grupo hemo en plasma, es todavía desconocida.

Figura 4.- Mecanismos de absorción intestinal del hierro



Elaboración propia

1.3 TRANSPORTE DE HIERRO

La concentración de hierro en plasma de un individuo adulto normal oscila alrededor de 1,5 µg/ml. Está predominantemente unido a la Transferrina sérica (Tf) y en pequeña proporción a la albúmina o a especies de bajo peso molecular.

El hierro es transportado por la Tf o siderofilina, que es una proteína plasmática que se encuentra también en otros fluidos de los vertebrados, tales como líquido cefalorraquídeo, leche y semen (Pérez y cols., 2005). Es una glicoproteína de aproximadamente 80 kDa de peso molecular, constituida por una única cadena polipeptídica a la que se unen hidratos de carbono formando dos ramas idénticas y casi simétricas (Figura 5). Se sintetiza en el hígado y posee 2 dominios homólogos de unión para el hierro férrico (Fe^{3+}) (Huebers y Finch, 1987).

La transferrina capta el hierro liberado por los macrófagos producto de la destrucción de los glóbulos rojos o el dietético procedente de la absorción intestinal, y lo transporta para hacerlo disponible a todos los tejidos que lo requieren (Wick y cols., 1996).

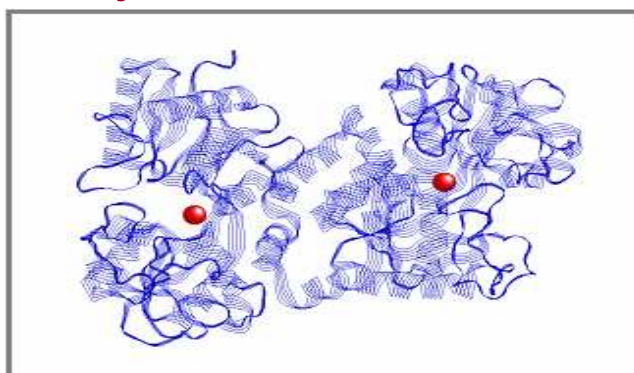
Para que la unión con hierro pueda establecerse, se requiere que simultáneamente se una un anión. Por cada ión férrico que se incorpora, se liga concomitantemente un anión carbonato o bicarbonato y se liberan, aproximadamente, tres protones (Pakdaman y El Hage Chahine, 1996). La existencia de una cooperatividad recíproca entre la unión del ión metálico y la del anión indica que la Tf tiene un estricto requerimiento del anión sinergista para facilitar la unión con el hierro. La función del anión sería la de actuar como ligando reforzador de la unión entre la proteína y el metal. A pH fisiológico, en presencia de ión bicarbonato y en ausencia de agentes quelantes, el hierro se une a cualquiera de los dos sitios de la Tf humana (Aisen y Listowsky, 1980).

Se le denomina apotransferrina (apoTf) a la proteína que no contiene hierro, transferrina monoférrica cuando contiene un átomo de hierro y diférrica cuando contiene dos.

Cuando todos los sitios de transporte están ocupados se habla de transferrina saturada y se corresponde con alrededor de 1,41 µg/mg de transferrina (Haupt y cols., 1990). Normalmente, el 70% de la Tf plasmática no está saturada con el metal esencial y, por lo tanto, la reserva total de esta proteína actúa como amortiguador frente a grandes cantidades de hierro absorbido o

liberado, las que de otra manera, resultarían tóxicas cuando el metal está libre en su estado oxidado.

Figura 5.- Estructura de la transferrina



Fuente: Protein Data Base (Berman y cols., 2000)

En situaciones de saturación de la capacidad de transporte de Tf, el hierro puede unirse a otros ligandos, como citrato, constituyendo el llamado pool de hierro no unido a Tf (NTBI, *non-transferrin bound iron*) (Pérez y cols., 2005).

La vida media normal de la molécula de Tf es de 8 a 10 días, aunque el hierro que transporta tiene un ciclo más rápido, con un recambio de 60 a 90 minutos como promedio (Lee y cols., 1998).

Del total de hierro transportado por la Tf, entre el 70 y el 90 % es captado por las células eritropoyéticas (Finch y cols., 1982) y el resto es captado por los tejidos para la síntesis de citocromos, mioglobina, peroxidasas y otras enzimas y proteínas que lo requieren como cofactor.

Además de la Tf sérica, existen otros dos tipos de transferrinas: la lactoferrina o lactotransferrina, presente en algunas secreciones de los mamíferos (leche, lágrimas, jugo pancreático) y en contenidos intracelulares de leucocitos y la ovotransferrina, presente en las secreciones de los oviductos de aves y reptiles y en la clara de huevo. Estos miembros de la familia desempeñan un rol importante en la defensa contra las infecciones, restringiendo la disponibilidad de hierro para el metabolismo microbiano (Van Eijk y De Jong, 1992).

1.4 CAPTACIÓN CELULAR DE HIERRO

Los mecanismos de entrada de hierro en las células presentan algunas diferencias dependiendo de su actividad biológica. Se ha visto como en el enterocito la entrada está mediada por DMT1. El resto de células utilizan un sistema de transporte específico que puede ser dependiente o independiente de transferrina.

1.4.1 VÍA DEPENDIENTE DE LA TRANSFERRINA

Todos los tejidos y células de los mamíferos poseen un Receptor específico para la Transferrina (RTf1), a través de cuya expresión en la superficie celular, regulan la captación del hierro de acuerdo con sus necesidades. Estos RTf1 se expresan en mayor número en las células hepáticas, de placenta y en los progenitores eritroides (eritroblastos) (Beguin, 1992). En los eritroblastos se encuentra el 80 % del total de los receptores del cuerpo, donde el hierro es captado por las mitocondrias para ser incluido en las moléculas de protoporfirina durante la síntesis del grupo hemo. A medida que se produce la maduración del glóbulo rojo, la cantidad de receptores va disminuyendo, debido a que las necesidades de hierro para la síntesis de la hemoglobina son cada vez menores (Gimferrer y cols., 1996).

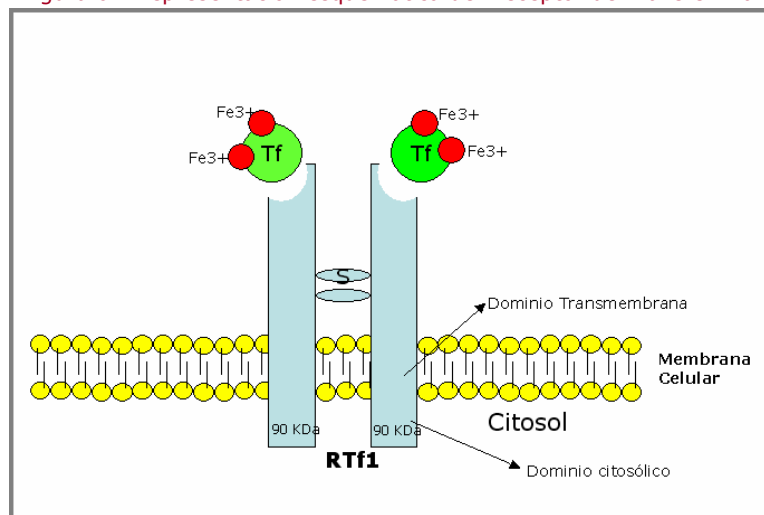
El número de receptores es aproximadamente constante en las células en reposo, pero aumenta marcadamente durante la proliferación celular.

El número y estabilidad de los receptores de transferrina (RTf1) en la superficie celular son los primeros determinantes de la captación del hierro. Estos receptores no sólo son importantes para facilitar el acceso del metal esencial a la célula sino que cumplen, además, un rol crítico en la liberación del hierro del complejo con Tf en el interior celular.

El RTf1 es una glicoproteína constituida por 2 subunidades, cada una de 90 kDa de peso molecular, unidas por dos puentes disulfuro. Cada subunidad posee un sitio de unión para la transferrina, por lo que cada molécula de RTf1 posee capacidad para unir dos moléculas de Tf

(Huebers y Finch, 1987). Estos receptores se encuentran anclados en la membrana a través de un dominio transmembrana, que actúa como péptido señal interno, y poseen además un dominio citosólico de aproximadamente 5 kDa (Pomka, 1999). (Figura 6).

Figura 6.- Representación esquemática del Receptor de Transferrina 1



Elaboración propia

Se ha observado la presencia de moléculas de receptor circulando en el plasma sanguíneo, que son incapaces de unir transferrina, puesto que carecen de sus porciones transmembranosa y citosólica. A estos receptores se les conoce como Receptores Solubles de Transferrina (RTfs). A pesar de su incapacidad de unirse a la transferrina, se ha encontrado una relación directa entre la concentración del RTfs y el grado de eritropoyesis. Así, en la deficiencia de hierro hay un aumento de la concentración de receptores solubles (Cook y cols., 1993; Thorstensen y Romslo, 1993).

El RTf desempeña un papel fundamental en el suministro de hierro a la célula, puesto que la afinidad del receptor por el complejo hierro-transferrina al pH ligeramente alcalino de la sangre, depende de la carga de hierro de la proteína. La afinidad máxima se alcanza cuando la Tf está en su forma diférrica (Wick y cols., 1996).

El hierro transportado por la Tf ingresa a las células a través de un proceso mediado por el RTf1 (Figura 7). El primer paso es la unión de Tf al receptor en la membrana. A pH 7,4, el RTf1 posee

muy baja afinidad por la apoTf, intermedia por la Tf monoférrica y cuatro veces más elevada por la Tf diférrica.

El complejo hierro-transferrina-receptor es internalizado en la célula a través de un proceso de endocitosis. El cambio de cargas resultante de la unión del hierro y el bicarbonato con liberación de protones, estaría relacionado con esta afinidad diferencial de los receptores por la Tf según su grado de saturación con hierro. El pH del interior de compartimiento endosomal oscila alrededor de 5,5 debido a la acción de una bomba de protones dependiente del ATP presente en su membrana, la cual bombea protones desde el citosol al interior del endosoma. A este pH, el hierro es liberado del complejo Tf-RTf1 como ión férrico. La unión cooperativa metal-bicarbonato no sólo es importante para la asociación del hierro a la Tf sino también, para su liberación. La unión anión-Tf, relativamente lábil, parece proveer un mecanismo para la remoción fisiológica del hierro. El carbonato se desaloja primero y, por ello, la unión metal-Tf es fácilmente desestabilizada, produciéndose la liberación del hierro mientras que la proteína permanece intacta (Aisen y Listowsky, 1980).

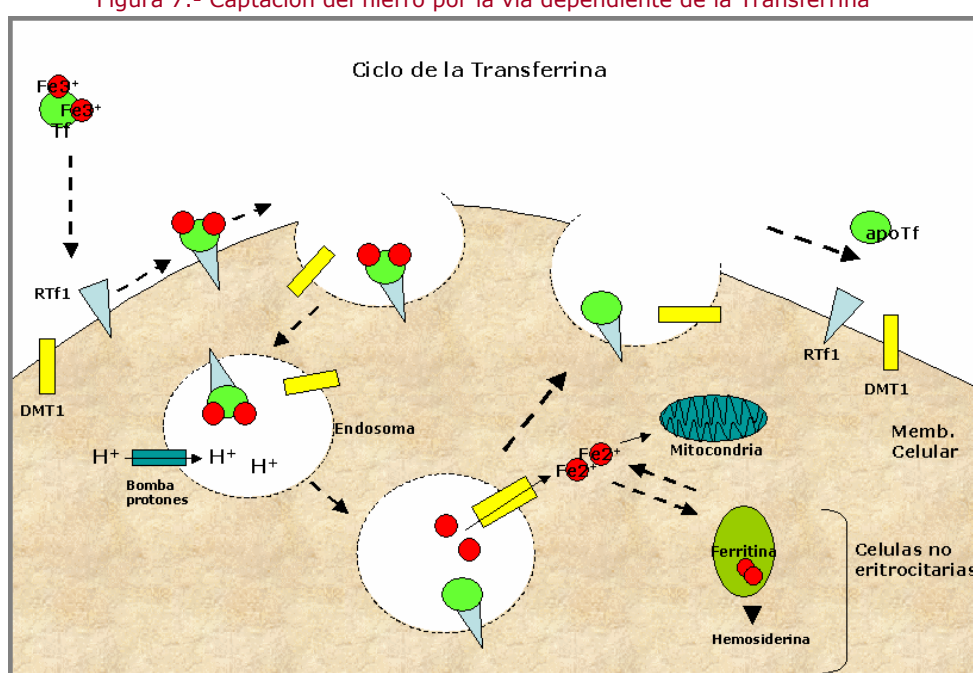
Posteriormente el metal es reducido por una ferrireductasa endosomal y transportado al citoplasma por el transportador de cationes divalentes DMT1 (Fleming y cols., 1998; Gruenheid y cols., 1999).

En contraste con la mayoría de los ligandos que se disocian de su receptor y entran en una ruta de fusión con lisosoma y degradación, la elevada afinidad del RTf1 por la apotransferrina a pH ácido los mantiene unidos (Young y Bromford, 1994). El complejo apoTf-RTf1 es transportado intacto hacia la membrana plasmática donde, al tomar contacto nuevamente con el medio extracelular de pH neutro, se disocia. La apoproteína queda entonces disponible para captar nuevamente hierro y comenzar otro ciclo de transporte e internalización (Wick y cols., 1996).

Una vez en el citoplasma, el ión ferroso incorporado puede seguir tres destinos:

- El pool de utilización, es decir, las proteínas celulares que requieren hierro
- El pool de almacenamiento, constituido principalmente por ferritina y hemosiderina
- El pool regulador, el cual incluye a las proteínas encargadas de detectar variaciones en los niveles intracelulares del metal.

Figura 7.- Captación del hierro por la vía dependiente de la Transferrina



Elaboración propia

Existe un segundo receptor de Tf, denominado RTf2 y que se expresa predominantemente en el hígado que codifica para una proteína de membrana que posee el 45% de identidad con el RTf1 en su dominio extracelular. Este receptor, también puede unir Tf a nivel de membrana y mediar la incorporación celular del hierro, pero esta afinidad por la transferrina es mucho menor (West y cols., 2000). La secuencia de internalización del RTf2 no es idéntica a la del RTf1, lo que sugiere diferentes mecanismos de endocitosis y, probablemente, un procesamiento intracelular diferente (Kawabata y cols., 1999), que todavía se desconoce.

Las diferencias en la distribución tisular del RTf1 y RTf2, así como también los distintos perfiles de expresión en células hepáticas y eritroides, sugieren funciones fisiológicas diferentes. Existen evidencias que nos llevan a creer que el RTf2 estaría involucrado en el metabolismo del hierro, la función del hepatocito y el proceso de diferenciación eritroide (Fleming y cols., 2000; Kawabata y cols., 2001).

Así pues, las células podrían controlar la captación del hierro mediante dos receptores para Tf diferentes: el RTf1, de mayor afinidad, cuya expresión es regulada por los niveles celulares de hierro y el RTf2, de baja afinidad, que se expresaría dependiendo del ciclo celular o del estatus proliferativo de las células (Kawabata y cols., 2000).

1.4.2 VÍA INDEPENDIENTE DE LA TRANSFERRINA

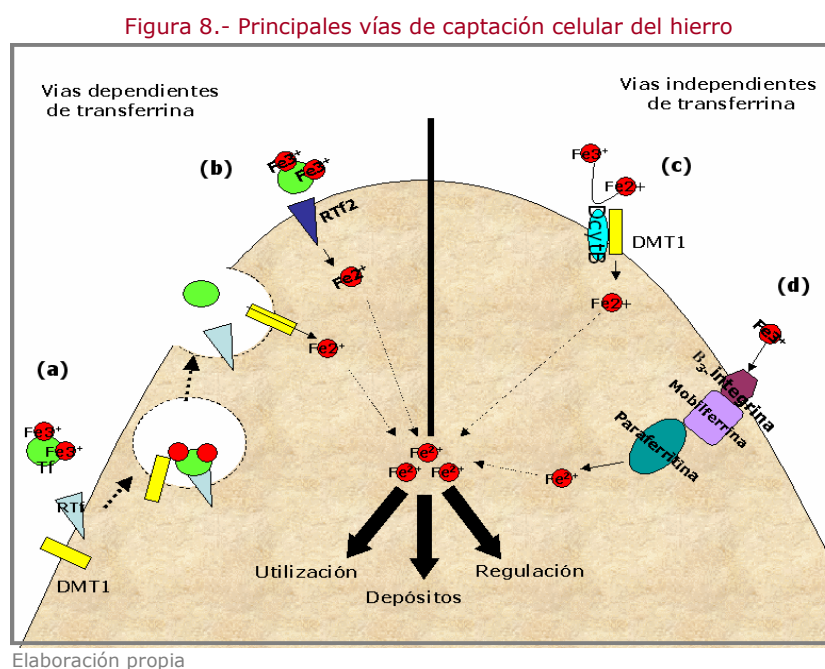
El mecanismo de incorporación de hierro mediado por la transferrina ha sido considerado durante mucho tiempo como la única vía de ingreso del metal a las células. Sin embargo, se ha demostrado la existencia de un sistema de captación de hierro independiente de Tf (Sturrock y cols., 1990).

Prácticamente todo el hierro plasmático circula unido a Tf y el hierro libre es prácticamente indetectable, pero en desórdenes caracterizados por la sobrecarga de hierro, los sitios de unión de la proteína al metal se encuentran saturados y, bajo estas condiciones, el nivel de hierro no unido a Tf puede alcanzar concentraciones micromolares. En estas situaciones, la disponibilidad de la apoTf es insuficiente para cumplir con la distribución de hierro a las células y, por ello, el metal circula en plasma en forma de complejos de bajo peso molecular y es removido mediante un sistema de transporte independiente de Tf (Sturrock y cols., 1990).

En el entorno celular, el hierro se encuentra generalmente presente en estado oxidado. Han sido aisladas e identificadas dos proteínas (una de membrana y otra citosólica) involucradas en la captación de iones férricos por la vía independiente de Tf. Éstas poseen tamaño molecular y características inmunológicas similares a las proteínas β 3-integrina y mobilferrina, caracterizadas como mediadoras de la captación de hierro en las células de la mucosa intestinal las cuales carecen de RTf en su superficie absorbiva (Conrad y cols., 1994) (ver absorción de hierro no hemo).

Por otra parte, se ha descrito un mecanismo para la incorporación de iones ferrosos, el cual también podría traslocar el hierro presente en estado férrico, dependiendo de un paso previo de reducción (Jordan y Kaplan, 1994; Attieh y cols., 1999). La actividad ferrireductasa sería, por tanto, la limitante de la velocidad del proceso (Randell y cols., 1994).

La proteína transportadora transmembrana ha sido identificada en células eritroides de ratones normales y anémicos como la DMT1, proteína ya descrita anteriormente como mediadora de la absorción de iones ferrosos dietéticos por parte de los enterocitos (Canonne-Hergaux y cols., 2001). En la figura 8 se muestran las principales vías de captación del hierro.



La incorporación de hierro no unido a Tf ha sido caracterizada como un proceso saturable, cuya actividad no es mediada por endocitosis y no parece ser afectada por cambios en la tasa de crecimiento celular (Kaplan y cols., 1991).

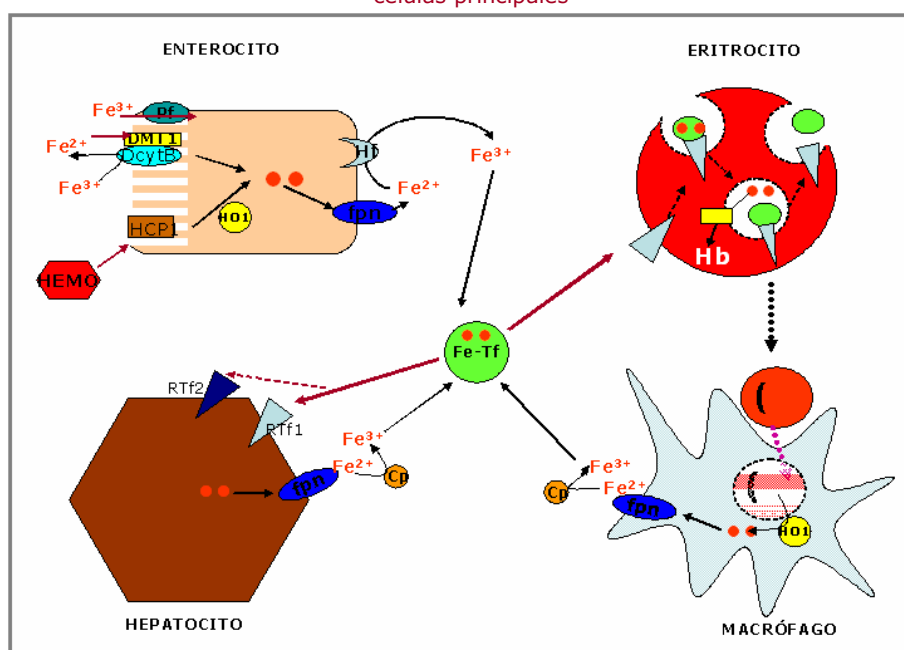
En presencia de concentraciones adecuadas de Tf, esta ruta probablemente transporte cantidades mínimas de hierro y sirva como un mecanismo para que otros metales ingresen en las células sin competir con él (Conrad y cols., 1994; Pérez y Pregi, 2005). Sin embargo, en aquellas situaciones en las que la concentración de hierro en plasma exceda la capacidad de unión de la Tf circulante, la vía independiente de Tf adquiriría un papel esencial para su remoción del entorno celular.

Se ha observado que en condiciones de sobrecarga de hierro, se produce un aumento de la captación del metal no unido a Tf por parte de los macrófagos. Al ser considerados los macrófagos como una forma de almacenamiento de hierro y debido a su implicación en la regulación de la disponibilidad del metal para otras células, varios autores han atribuido a la vía independiente de Tf una función detoxificadora, como una forma de prevenir posibles daños titulares debido al exceso de hierro (Kaplan y cols., 1991; Conrad y cols., 1994; Randell y cols., 1994; Olakanmi y cols., 1997).

A pesar de que la vía alternativa de captación de hierro ha sido identificada desde los años 90, existe aún discrepancia acerca de cuáles son los mecanismos involucrados, su mecanismo de regulación así como su función biológica.

En la figura 9 se observa la captación de hierro en el enterocito, macrófago, hepatocito y eritrocito.

Figura 9.- Representación esquemática de la incorporación del hierro en sus células principales



Adaptado de Anderson GJ y cols., 2005

1.5 DEPÓSITOS DE HIERRO

El volumen de las reservas de hierro es muy variable, pero generalmente se considera que un hombre adulto normal tiene entre 500 y 1500 mg y una mujer entre 300 y 1000 mg, aunque estos valores dependen enormemente del estado nutricional del individuo (Lee y Herbert, 1998).

El exceso de hierro se deposita intracelularmente asociado a ferritina y hemosiderina fundamentalmente en el sistema monocito-macrófago del bazo, del hígado y de la médula ósea (Andrews, 1999).

1.5.1 FERRITINA

La mayoría de las células del organismo contienen ferritina, pero su concentración es mayor en el parénquima y el Sistema Retículo Endotelial (SRE) del hígado y en los macrófagos del bazo y de la médula ósea. El metal almacenado en la ferritina hepática procede de la Tf, y en menor medida de los complejos hemoglobina, haptoglobina y hemopexina. El depósito del SRE procede de la depuración de los hematíes senescentes.

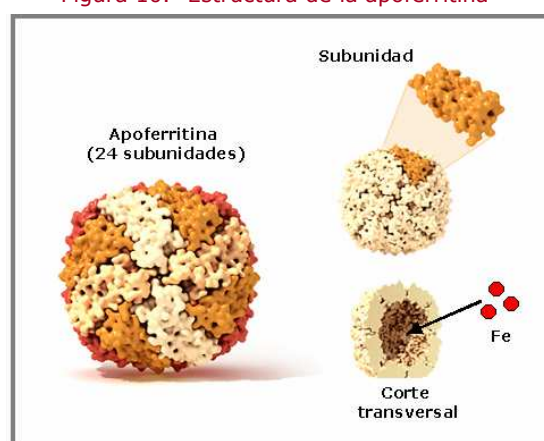
La ferritina es una proteína de depósito tisular de hierro que posee una forma esférica de unos 12nm de diámetro con un peso molecular superior a 440.000 dalton. Se compone de una capa proteica (apoferritina) constituida por 24 subunidades y un núcleo férrico con aproximadamente 2.500 iones de hierro. Cada molécula de ferritina puede contener hasta 4.500 átomos de hierro, aunque normalmente tiene alrededor de 2.500, almacenados como cristales de hidróxido fosfato férrico $[(\text{FeOOH})_8 \cdot \text{FeO} \cdot \text{PO}_3\text{H}_2]$ (Dallman y cols., 1993; Wick y cols., 1996).

La molécula de apoferritina es un heteropolímero de 24 subunidades de 2 tipos diferentes con un peso molecular de 20 kDa cada una, formadas por 4 cadenas helicoidales (Figura 10).

La apoferritina de las células contiene una cavidad hueca (núcleo férrico) en su interior de 7,5 nm que rodea a los cristales de hierro y es una mezcla de las dos subunidades de ferritina, la H (*Heavy*) o forma pesada con actividad ferroxidasa y la L (*Light*) o ligera cuya función es

nucleadora del hierro y es realmente la molécula de depósito (Jacobs, 1985). La ferritina H es absolutamente necesaria y su ausencia es incompatible con la vida. Su función ferroxidasa hace que el Fe^{2+} intracelular pase a Fe^{3+} y sea incorporado a los cristales de hidróxido fosfato férrico (Harrison y Arosio, 1996).

Figura 10.- Estructura de la apoferritina



Fuente: U.S Nacional Library of Medicine

Las variaciones en el contenido de las subunidades que componen la molécula de apoferritina determinan la existencia de diferentes isoformas, las cuales se dividen en 2 grandes grupos: a) las isoformas ácidas (ricas en cadenas H) localizadas en el corazón, los glóbulos rojos, los linfocitos y los monocitos, y b) las isoformas básicas (ricas en cadenas L) predominantes en el hígado, el bazo, la placenta y los granulocitos.

Se han observado diferencias entre la velocidad de captación de hierro por las diferentes isoformas. Las isoformas ricas en cadenas H tienen una mayor velocidad de captación y se ha demostrado que ésta es precisamente la función de este tipo de subunidad (Wagstaff y cols., 1978). No obstante, las cadenas H y L cooperan en la captación del hierro, las subunidades H promueven la oxidación del hierro y las L, la formación del núcleo férrico (Levi y cols., 1992). Tanto el depósito de hierro como su liberación a la circulación son muy rápidos, e interviene en este último proceso un flavinmononucleótido.

Cuando es necesario, el hierro (almacenado o no en la ferritina) es liberado desde la célula.

Para que este proceso tenga lugar es preciso que intervenga la actividad ferroxidasa de una glicoproteína sérica llamada Ceruloplasmina (Cp), ya que el hierro es liberado en forma ferrosa. En el plasma, esta glicoproteína transforma el hierro ferroso a hierro férrico facilitando así su incorporación a la transferrina que lo transporta y distribuye al resto del organismo. Si la Cp no funciona adecuadamente se produce un atesoramiento de hierro por imposibilidad de su liberación (Perez-Aguilar, 2002).

La función fundamental de la ferritina es garantizar el depósito intracelular de hierro para su posterior utilización en la síntesis de las proteínas y enzimas. En los animales, la ferritina no se encuentra solamente en el interior de la célula, sino también circulando en plasma. La ferritina sérica se encuentra en equilibrio con el hierro de depósito del organismo y por lo tanto indica la magnitud de dicho depósito (Lipschitz y cols., 1974, Finch y cols., 1986). Sin embargo, las concentraciones séricas pueden estar elevadas independientemente de los depósitos del metal en presencia de ciertos síndromes clínicos, entre los que se incluyen la enfermedad renal, la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), la infección o inflamación sistémica no asociada a VIH y los procesos neoplásicos (Lee y Means, 1995; Herbert y cols., 1997; Hernández y cols., 2000).

1.5.2 HEMOSIDERINA

La ferritina en la célula se encuentra en el citoplasma, pero puede pasar a los lisosomas que al digerirla forman a partir de ella estructuras paracristalinas peor definidas, constituidas en un 50% por agregados insolubles de hierro no movilizable y restos orgánicos de lípidos, fosfatos y péptidos. Estas estructuras constituyen la hemosiderina (Finch y cols., 1984).

La hemosiderina está químicamente emparentada con la ferritina, de la que se diferencia por su insolubilidad en agua. Aunque ambas proteínas son inmunológicamente idénticas, la hemosiderina contiene un porcentaje mayor de hierro (30 %) y al microscopio se observa en forma de agregados de moléculas de ferritina con conformación diferente de los cristales de hierro. La hemosiderina parece preservar a la célula de los efectos nocivos del hierro libre en situaciones de sobrecarga, pero a diferencia de la ferritina, el hierro que contiene es casi inmovilizable (O'Connell y cols., 1986).

1.6 EXCRECIÓN

La capacidad de excreción de hierro del organismo es muy limitada, por ello como se ha comentado anteriormente, es necesario un potente sistema regulador de la capacidad de absorción de la mucosa intestinal para alcanzar el equilibrio.

Con respecto a las pérdidas obligadas de hierro, las cantidades que se eliminan diariamente oscilan de 1 a 2 mg/día (Figura 2), lo que representa una pequeña parte de la cantidad total de hierro del organismo.

En el adulto, las pérdidas obligadas de hierro son entre 0,2-0,5 mg por descamación de la piel, entre 0,1-0,3 por orina y entre 0,6-0,7 por heces (Mataix y Llopis, 2002). El hierro eliminado por las heces procede fundamentalmente del que no se ha absorbido de la dieta y de la ferritina contenida en las células descamadas en el tracto intestinal (Petersen y cols., 1996).

Por otra parte, en las personas sanas, la eliminación de hierro en la orina es insignificante, debido a que circula unido a proteínas que no se filtran por los glomérulos renales. En determinados estados patológicos si se observa un aumento de la excreción urinaria, es el caso de la hemólisis intravascular, el síndrome nefrótico, la hemocromatosis y, excepcionalmente, las alteraciones en el metabolismo del hierro (Kildahl-Andersen y cols., 2000).

En la mujer, de la pubertad a la menopausia, hay que añadir las pérdidas relacionadas con las hemorragias menstruales que por término medio se calculan entre 0,4 y 0,5 mg/día. No obstante, estas pérdidas son difíciles de calcular, ya que pueden verse afectadas por muchos factores como el peso, talla, paridad y empleo de anticonceptivos. Así por ejemplo, los anticonceptivos orales pueden dar lugar a reducciones del 50% del volumen de las menstruaciones, mientras que los dispositivos intrauterinos son capaces de provocar incrementos de más de un 100%. Además de las pérdidas fisiológicas, se pueden producir en ocasiones otras por pequeñas hemorragias repetidas como en las neoplasias digestivas, hemorroides, úlceras, toma regular de algunos medicamentos (aspirina, anticoagulantes) y algunas parasitosis digestivas.

1.7 REGULACIÓN DEL METABOLISMO

El control del metabolismo del hierro requiere una red molecular compleja y estrictamente controlada ya que aunque el hierro es esencial para el metabolismo celular y la respiración aeróbica, su exceso conduce a toxicidad y muerte celular a consecuencia de la formación de especies reactivas de oxígeno (Britton y cols., 1994; Leonarduzzi y cols., 1997).

Hasta hace algo más de una década solo eran conocidas tres proteínas que intervenían en el metabolismo del hierro: a) la ferritina, proteína principal de reserva, b) la transferrina, principal transportador y c) el receptor de transferrina, fundamental para la internalización celular del hierro. En los últimos años se han producido importantes avances en el campo del metabolismo del hierro como consecuencia del descubrimiento de un número importante de nuevas proteínas involucradas en su metabolismo intracelular y sistémico.

La absorción del hierro se ve afectada por factores genéticos, dietéticos y biológicos que se detallan a continuación.

1.7.1 NUEVAS PROTEÍNAS IMPLICADAS EN LA REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL HIERRO

La regulación del metabolismo del hierro empieza a nivel de la absorción intestinal pero también implica al reciclaje de hierro de los macrófagos y a la movilización de hierro en los hepatocitos. En dicha regulación se encuentran implicadas varias proteínas.

Podemos encontrar diversas mutaciones en los genes que expresan dichas proteínas de forma que modificarán su mecanismo de acción disminuyendo o aumentando la absorción del hierro.

Las mutaciones en el gen de la proteína DMT1 conducen a un estado de déficit de hierro por disminución de su absorción. En cambio, las mutaciones en los genes que expresan las proteínas HFE, Hemojuvelina (HJV), Hpcidina (Hpc), y Receptor de Transferrina 2 (RTf2), nos llevarán a un estado de sobrecarga por un aumento de su absorción.

A continuación se describen las nuevas proteínas descubiertas en los últimos años cuyo papel parece ser fundamental en esta regulación (Tabla 3).

Tabla 3.- Nuevas proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro.

Gen	Proteína	Localización del gen	Principal sitio de expresión	Función en el metabolismo del hierro
HAMP	Hepcidina	19q13	Hígado	Hormona reguladora del hierro
HFE	HFE	6p21.3	Enterocitos y macrófagos	Media la incorporación celular del hierro unido a Tf Modula la expresión de la Hpc
TFR2	RTF2	7q22	Hígado y células mononucleares	Sensor de la Saturación de la Tf Modula la expresión de la Hpc
HJV	Hemojuvelina	1q21	Hígado, corazón, músculo esquelético	Modula la expresión de la Hepc
SLC40A1	Ferroportina	2q32	Placenta, Intestino, Hígado, bazo, músculo	Exportador de hierro que participa en la adquisición de hierro del medio y reciclaje de las reservas corporales
SLC11A2	DMT1	12q13	Enterocitos	Transportador de hierro y otros metales divalentes
Heph	Hefaestina	Xq11-q12	Intestino	Eflujo de hierro del enterocito

1.7.1.1 HEPCIDINA

Los estímulos conocidos que modulan los mecanismos homeostáticos del hierro son la eritropoyesis, la hipoxia, el déficit de hierro, la sobrecarga de hierro y la inflamación. Hoy sabemos que buena parte de esta regulación es controlada por una hormona peptídica circulante hepática recientemente descubierta llamada hepcidina (Hepc) (Frazer y Anderson, 2003).

La hepcidina, es una pequeña hormona peptídica de 20-25 aminoácidos perteneciente a la familia de las defensinas, péptidos antimicrobianos ricos en cisteínas. Se describió por primera vez como LEAP-1 (*Liver Expressed Antimicrobial Peptide 1*) en el año 2000 (Krause y cols., 2000) y un año más tarde se correlacionó con el metabolismo del hierro junto a otros genes y proteínas, ya como hepcidina (Pigeon y cols., 2001).

La hepcidina se denominó así al aislarse en orina humana un péptido sintetizado por el hígado (hep-) con propiedades antimicrobianas (antifúngica y antibacteriana) in vitro (-cidin) (Park y cols., 2001). Actualmente se la conoce también como HAMP (Hepcidin Antimicrobial Peptide). Dicha proteína está considerada un regulador central del metabolismo del hierro y se ha demostrado su implicación en desórdenes comunes a este metabolismo, como la hemocromatosis hereditaria (Lee y cols., 2001) y la anemia de los procesos crónicos.

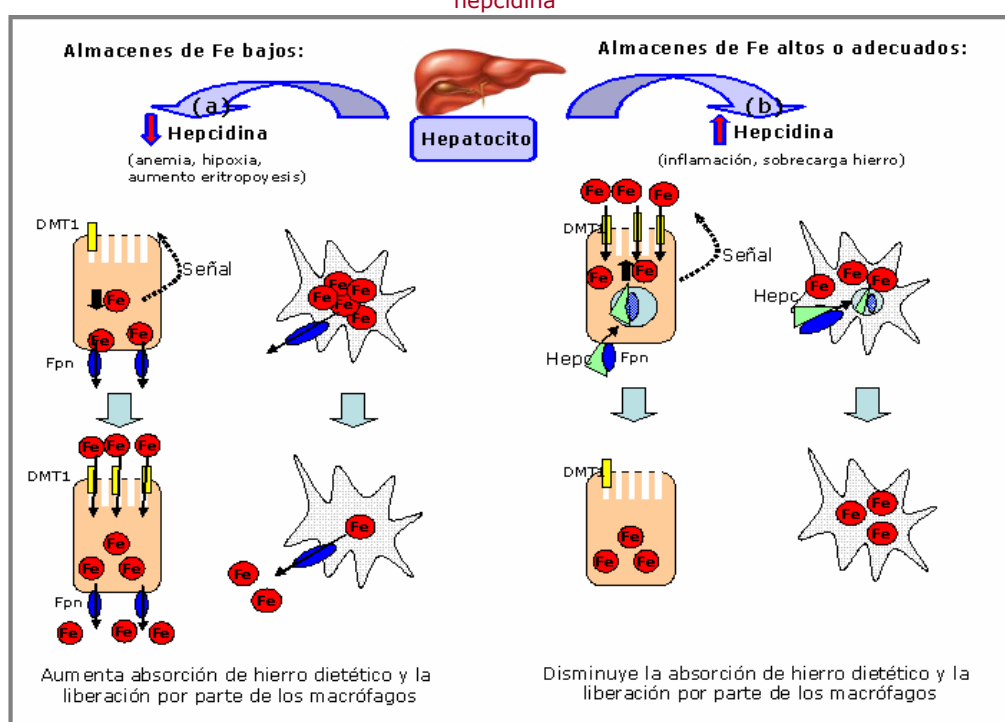
Se produce principalmente en el hígado y su expresión se altera en respuesta a cada uno de los estímulos conocidos que afectan a la homeostasis del hierro; así pues, su producción disminuye en respuesta déficit de hierro, hipoxia, y aumento de eritropoyesis (Nicolas y cols., 2002; Weinstein y cols., 2002) y aumenta en respuesta al aumento del hierro sérico, sobrecarga de hierro e inflamación (Pigeon y cols., 2001; Ganz, 2003).

En cuanto al mecanismo de acción, la Hpcp interrumpe la expresión en la superficie celular del exportador ferroportina en el epitelio intestinal y en los macrófagos (Merryweather-Clarke y cols., 2003; Bridle y cols., 2003). En estudios in vitro se ha observado que la Hpcp se une directamente al Fpn1 induciendo su internalización y degradación por los lisosomas (Nemeth y cols., 2004). A través de este mecanismo la Hpcp regula la exportación de hierro a la circulación. El aumento del exportador de hierro en el enterocito podría conducir a un aumento secundario de la expresión de genes implicados en la captación intestinal de hierro (ej: Dcytb, DMT1) de forma que aumentaría su absorción dietética (Figura 11).

De esta forma, la Hpcp controlaría la concentración plasmática del hierro y su distribución tisular, mediante la inhibición de la absorción dietética de hierro, el reciclaje del hierro por parte de los macrófagos y muy probablemente inhibiría también su movilización a partir de las reservas de hierro en los hepatocitos (Nemeth y Ganz, 2006).

No se ha demostrado aún que la Hpcp regule la actividad de la fpn en otro tipo de células, ya que además de en la superficie absorptiva de los enterocitos y en los macrófagos, la fpn también se encuentra en los hepatocitos y en las células de la placenta. Concretamente, no se ha establecido ningún papel definitivo para la fpn o la hepc en la movilización del hierro en los depósitos de los hepatocitos (Andrews y Schmidt, 2007), aunque hay indicios que conducen a creer que son una de las principales células diana de la hepcidina junto con los enterocitos y los macrófagos del sistema reticuloendotelial (Fleming y Bacon, 2005).

Figura 11.- Representación esquemática de la regulación del metabolismo del hierro por la hepcidina



(a) En situaciones de déficit de fe, hipoxia, y aumento de eritropoyesis, disminuye la Secreción de Hepc en el hígado, lo que provoca que no se anule la exportación de hierro y éste se exporta a la circulación. En el enterocito, al disminuir la cantidad de fe intracelular provoca una señal que hace que aumente la expresión en la membrana de los DMT1, de forma que aumenta la absorción dietética del hierro.

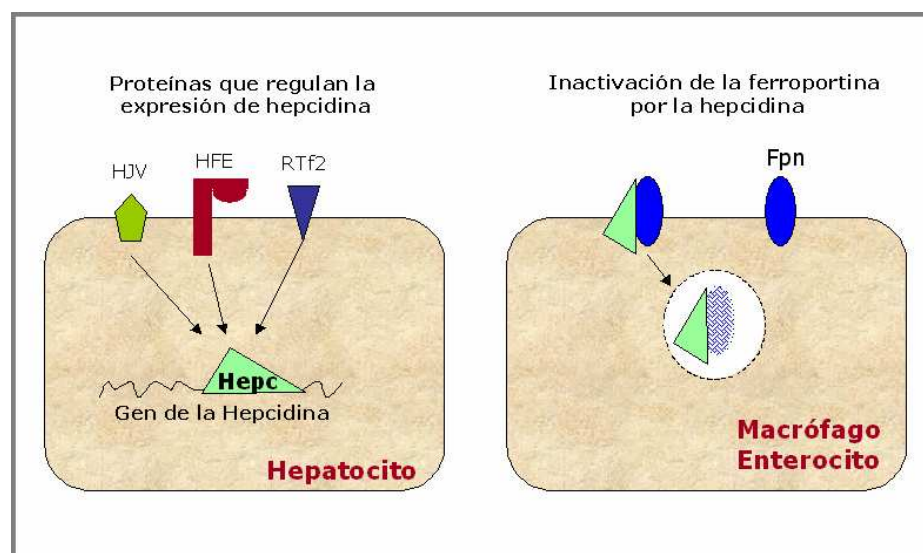
(b) En situaciones de sobrecarga de hierro e inflamación, aumenta la secreción de Hepc, que conduce a una disminución de la actividad del Fpn. De esta forma el hierro queda en el interior celular. En el enterocito, este aumento de hierro intracelular provoca una señal que disminuye la expresión de DMT1, como consecuencia disminuye la absorción de hierro dietético y no se libera el hierro de los macrófagos.

Elaboración propia

Varios autores afirman que la hepcidina es el principal (o único) regulador de la liberación del hierro al plasma, (Anderson y cols., 2007) pero el mecanismo exacto a través del cual la producción de Hepc es regulada por los requerimientos corporales de hierro todavía es desconocida. Lo que si se ha observado es que los factores conocidos que afectan la absorción de hierro como son los depósitos de hierro, el grado de eritropoyesis, hipoxia e inflamación, regulan también la expresión de hepcidina (Pigeon y cols., 2001; Nicolas y cols., 2002).

La expresión de hepcidina también podría estar regulada por tres proteínas descubiertas en los últimos años (HFE, RTf2 y HJV) que se detallan a continuación (Figura 12).

Figura 12.- Nuevas proteínas que podrían regular la expresión de la hepcidina.
Mecanismo de acción de la hepcidina.



Adaptado de Andrews, 2007

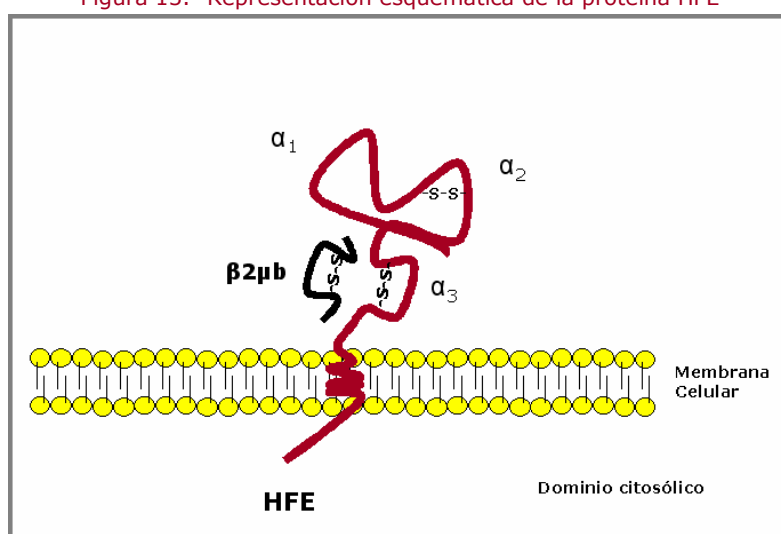
1.7.1.2 HFE

Es la primera molécula que se asoció con la regulación del balance sistémico de hierro. Esta proteína de membrana se identificó en el 1996 (Feder y cols., 1996) como producto del gen HFE o gen de la Hemocromatosis Hereditaria (HH) de tipo 1 situado en el brazo corto del cromosoma 6.

La proteína HFE pertenece a la familia de las moléculas de clase 1 de histocompatibilidad HLA (Gross y cols., 1998). Como ellas, es una glicoproteína de 343 aminoácidos que se sitúa en la membrana plasmática de algunas células. Está formada por tres asas extracelulares - α 1, α 2, α 3-, una porción transmembranosa y otra corta intracitoplásmica. Entre las asas α 1 y α 2 queda

un espacio por el que interactúa con los receptores de la transferrina (Bennet y cols., 2000). El asa α_3 se forma por existir un puente tiol entre dos moléculas de cisteína. Este asa es fundamental para su unión no covalente a la β_2 -microglobulina ($\beta_2\mu b$) y para su expresión en la superficie de las células (Ehrlich y Lemonnier, 2000) (Figura 13). Se le dio el nombre HFE por la abreviatura del término en inglés relacionado con HLA-H, que es la región del sistema HLA cercano al gen y FE como símbolo del hierro.

Figura 13.- Representación esquemática de la proteína HFE



Adaptado de Feder y cols., 1996

La proteína HFE se expresa en muchos tejidos en asociación con la proteína β_2 -microglobulina pero de forma mayoritaria se observa en el hígado y en el duodeno. En el duodeno, se expresa concretamente en las células de las criptas donde se encuentra en asociación con el RTf1 en los endosomas (Waheed y cols., 1999; Frazer y cols., 2001). Sin embargo, en un estudio reciente se ha identificado también HFE en los enterocitos de las vellosidades (West y cols., 2006).

Experimentos realizados en cultivos de células transfectadas con un plásmido de expresión de la HFE mostraron que disminuía el paso de hierro a las células y su contenido en hierro y ferritina, pero aumentaba el número de receptores de la transferrina 1 (RTf1). Por ello, parecía que la HFE se comportaba como un regulador negativo de la función del RTf1 (Corsi y cols., 1999; Roy y cols.,

1999) bloqueando el paso de hierro a las células compitiendo con la transferrina (Tf) por la unión con su receptor (RTf1) (Lebron y cols., 1999).

Sin embargo, estos experimentos han sido criticados, ya que la sobreexpresión exclusiva de HFE es ineficaz, puesto que para que se exprese en la superficie de las células es necesaria la presencia de la $\beta 2\mu b$. Cuando en las células se consigue la sobreexpresión de ambas proteínas, HFE y $\beta 2\mu b$, el contenido celular en hierro y en ferritina aumenta de forma llamativa (Waheed y cols., 2002).

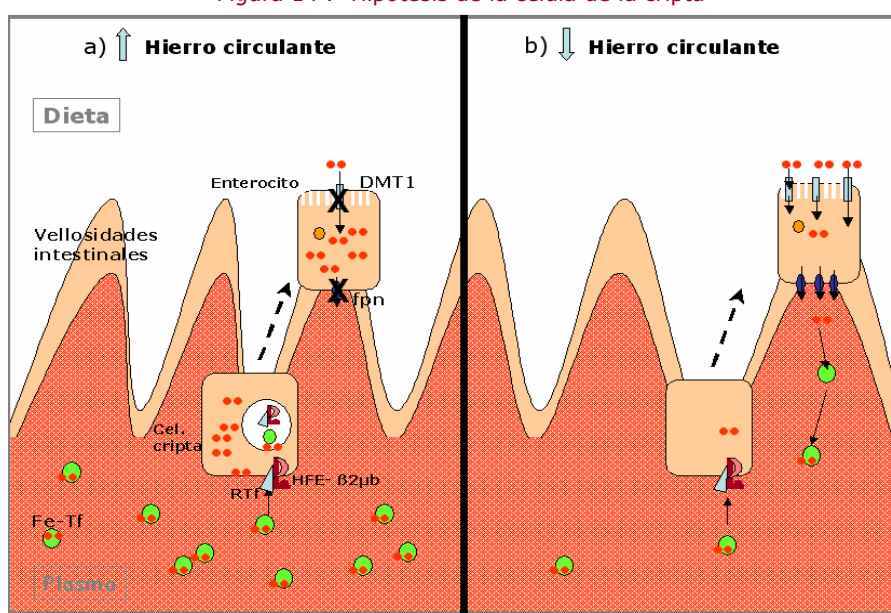
En la actualidad se admite que esta proteína juega un papel importante en el metabolismo del hierro, y desde que se descubrió que puede formar complejos con el RTf1, son varias las hipótesis que se han propuesto en cuanto a su efecto en la homeostasis del hierro.

Uno de los mecanismos que se ha propuesto durante hace tiempo y que en el último año está perdiendo fuerza, es el que implicaría al efecto directo de HFE en la regulación de la absorción dietética del hierro en el duodeno:

En este modelo se considera a las células de las criptas duodenales sensoras del contenido corporal de hierro (hipótesis de la célula de la cripta) (Fleming y Britton, 2006).

En la membrana basal de esas células se encuentra la HFE junto la $\beta 2\mu b$ y los RTfs. Cuando la Tf llega saturada de hierro, se incorpora al complejo HFE- $\beta 2\mu b$ -RTf y todo él se internaliza en un endosoma (Lebron y cols., 1998). La Tf libera el hierro que transporta en las células de las criptas duodenales. Estas células cuando maduran a enterocitos lo hacen como corresponde a una célula rica en hierro, es decir, reprimiendo la síntesis de todas las proteínas que favorecen el paso de hierro (Dcytb, DMT1, ferroportina, hefaestina). En estas condiciones, disminuye la absorción intestinal de hierro (Figura 14a). Por el contrario, cuando la Tf transporta poco hierro, es también poco el hierro que puede ceder a las células de las criptas duodenales. Estas células, cuando maduran a enterocitos, lo hacen como células pobres en hierro. Es decir, aumenta la síntesis de todas las proteínas que favorecen el paso del hierro (Figura 14b).

Figura 14 .- Hipótesis de la célula de la cripta



Elaboración propia

Sin embargo, recientemente se ha postulado un nuevo modelo en la regulación de la absorción intestinal del hierro en el que la hepcidina tiene el papel principal, (Hipótesis de la hepcidina).

Varios estudios en pacientes con HH asociada a HFE (Hemocromatosis Hereditaria, donde hay una pérdida funcional de la proteína HFE) (Bridle y cols., 2003; Gehrke y cols.,2003; Nemeth y cols.,2003) y en ratones HFE Knockout (Ahmad y cols., 2002) han demostrado claramente que la pérdida de HFE está asociada con la pérdida de la expresión de la hepcidina en el hígado (Fleming y Britton, 2006); Por lo que este modelo sugiere que el gen HFE es necesario para una correcta regulación de la síntesis de hepcidina y que los efectos nocivos de las mutaciones de HFE se deben en realidad al déficit de su expresión.

En este modelo, es la interacción del RTf2 con la proteína HFE la que da la señal para la síntesis de hepcidina. EL RTf2 es un homólogo del RTf1, y como él puede unir e internalizar a la transferrina transportadora del hierro aunque con menor afinidad (Kawabata y cols., 1999) así como a la proteína HFE.

Mientras que el RTf1 es un claro mediador de la captación celular del hierro, el papel del RTf2 parece ser que es principalmente regulador de la homeostasis del hierro. Ya se había sugerido con anterioridad que la proteína HFE junto con el RTf2 podrían formar parte del mismo proceso regulador (West y cols., 2000), pero no es hasta un estudio reciente donde se ha demostrado la interacción entre HFE-RTf2 y su implicación en la regulación de la homeostasis del hierro a través de la hepcidina (Gorwami y Andrews, 2006).

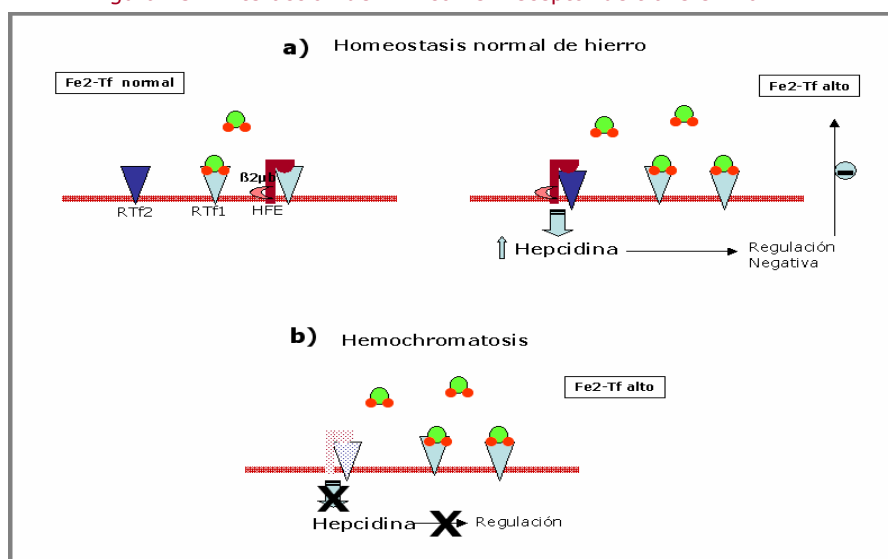
En condiciones basales, la proteína HFE y RTf1 se encuentran formando un complejo en la membrana plasmática. Cuando la transferrina diférrica aumenta, HFE compite con ella por su unión con el RTf1, pero debido a la mayor afinidad de la transferrina por él, HFE se disocia del complejo uniéndose entonces al RTf2 (Figura 15a). Incluso se ha observado que en condiciones de un aumento de la transferrina diférrica sérica aumenta la estabilidad y la expresión del RTf2 en el hepatocito a la vez que disminuye el RTf1 compitiendo los dos receptores por la unión con HFE. (Johnson y Enns, 2004; Goswami y Andrews, 2006).

Estos cambios favorecen la formación del complejo HFE-RTf2 sobre la formación de HFE-RTf1. El complejo HFE-RTf2 a través de una serie de señales que todavía se desconocen provoca el aumento de la síntesis de hepcidina en el hígado que a través de la inhibición del exportador Ferroportina impedirá el paso de más hierro a la circulación además de disminuir su absorción dietética en el enterocito (Figura 16) (Nemeth y cols., 2004).

En ausencia de HFE o RTf2, no se produce la señal para sintetizar la hepcidina (Figura 15b), de forma que no disminuirá la exportación de hierro a la circulación ni la absorción dietética causando un estado de exceso de hierro que conducirá a la sobrecarga de hierro en las células parenquimatosas.

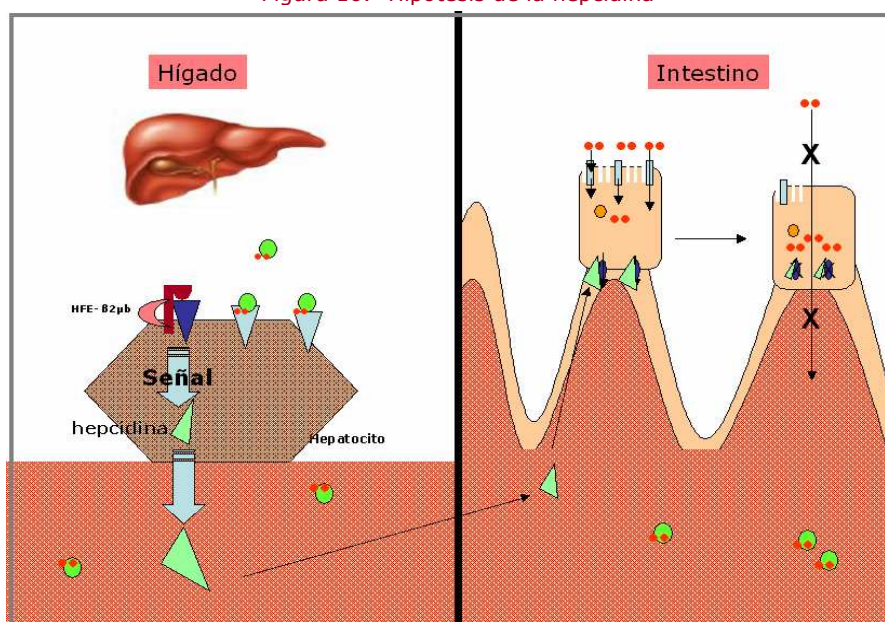
Debido a la enorme influencia de la hepcidina sobre la exportación del hierro en el enterocito, cualquier efecto directo que pueda tener la proteína HFE sobre las células intestinales (hipótesis de la célula de la cripta) sería mucho menos importante que la que pueda tener de forma indirecta a través de la expresión de la hepcidina.

Figura 15.- Interacción de HFE con el Receptor de transferrina 2



Elaboración propia

Figura 16.- Hipótesis de la hepcidina



Elaboración propia

Mientras que cambios en el estado de hierro parece tener un efecto pequeño sobre la expresión de HFE, la expresión de HFE si tiene un gran efecto sobre el estado celular del hierro (Fleming y Britton, 2006).

1.7.1.3 RECEPTOR DE TRANSFERRINA 2 (RTf2)

Es la segunda proteína que se ha asociado con la expresión de hepcidina. El RTf2 también se expresa de forma mayoritaria en los hepatocitos y los precursores eritroides y, al igual que su homólogo RTf1, puede captar el hierro unido a Tf de la circulación e incorporarlo a la célula a través de endocitosis (Kawabata y cols., 2000).

Sin embargo, mutaciones en el gen RTf2 conducen a una sobrecarga de hierro en el hepatocito, lo que lleva a pensar que la captación de hierro no es su principal función (Camaschella y cols., 2000). Estas mutaciones en RTf2 (mucho menos comunes que las del gen HFE), provocan una enfermedad de sobrecarga de hierro conocida como hemocromatosis hereditaria tipo 3, con síntomas muy parecidos a los que se observan en la hemocromatosis asociada a HFE (hemocromatosis hereditaria tipo 1).

Se ha observado que los niveles de RTf2 aumentan en respuesta a un aumento de los niveles de hierro circulante (Fe-Tf) (Robb y Wessling-Resnick, 2004; Johnson y Enns, 2004), por lo que podría actuar como un sensor del estado de hierro del organismo. El hecho que las mutaciones en el gen RTf2 conduzcan a la misma inapropiada disminución de los niveles de hepcidina que se observa en la pérdida funcional de HFE (Nemeth y cols., 2005) nos sugieren que RTf2 y HFE podrían formar parte del mismo proceso regulador.

1.7.2.4 HEMOJUVELINA (HJV)

Descubierta en el 2004, es la más reciente de las nuevas proteínas vinculadas al metabolismo del hierro (Dallaglio y cols., 2005). Se expresa en el músculo esquelético, el corazón y en menor grado en el hígado (Papanikolaou y cols., 2004). Está codificada por el gen HJV (también encontrado en la literatura como HFE2), cuyas mutaciones conducen a una severa sobrecarga de hierro que se manifiesta de forma temprana (normalmente antes de los 30 años) conocida como

Hemocromatosis juvenil o de tipo 2 (HJ) (Papanikolaou y cols., 2004).

Los pacientes con dicha enfermedad no producen niveles detectables de hepcidina en orina a pesar de que el hierro corporal esté muy aumentado. Por ello se piensa que la hemojuvelina es una proteína moduladora de la hepcidina, de manera que los descensos o inactividad de la primera se traducen en descensos de la última. Estos descensos serían los responsables del aumento de la absorción intestinal de hierro y de la sobrecarga de hierro que existe en los enfermos con HJ. Esta carencia de hepcidina se ha observado también en modelos animales modificados genéticamente a los que se les eliminó el gen HJV (Huang y cols., 2005; Niederkofler y cols., 2005).

Aunque su función fisiológica todavía se desconoce, se piensa que junto con HFE y RTf2, puede ser uno de los elementos de la cascada de señalización que controla la expresión de hepcidina.

1.7.2 FACTORES DIETÉTICOS

Entre los factores dietéticos que influyen en la absorción del hierro a nivel del lumen intestinal, tenemos los que la aumentan o activadores y aquellos que la disminuyen llamados inhibidores (Tabla 4).

Entre los factores dietéticos **activadores** de la absorción de hierro no hemo se encuentra el ácido ascórbico (vitamina C), que no solo favorece la reducción del hierro a su forma ferrosa (Agente Reductor de la Dieta, ARD), si no también su quelación, manteniendo de esta forma al hierro soluble y biológicamente disponible para ser absorbido. También existen otros ácidos orgánicos que producen un aumento de la absorción de hierro como el ácido cítrico, el málico y el tartárico (Siegenberg y cols., 1991; Lynch, 1997).

Alimentos como la carne y el pescado también producen un aumento en la absorción del hierro pero el mecanismo por el cual ocurre no ha sido claramente establecido. Sin embargo, existen evidencias experimentales que sugieren que se debe fundamentalmente a su composición en aminoácidos, asignándole a la cisteína, a los aminoácidos azufrados y a los péptidos que los contienen el efecto promotor (Martinez-Torres y cols., 1981; Layrisse y cols., 1984; Taylor y cols., 1986).

De todos los factores activadores de la absorción del hierro no hemo, el más importante es el ácido ascórbico. Esta vitamina puede aumentar entre 2 y 6 veces la absorción del hierro no hemo, siendo su efecto independiente de otros factores activadores e inhibidores de la absorción del hierro. El ácido ascórbico es efectivo desde 25 mg (un tercio de vaso de zumo de naranja) hasta 200 mg. A partir de esta cantidad ya no aumenta el efecto. La potencia de acción de 1 gramo de carne es equivalente a la de 1 mg de ácido ascórbico (Hallberg, 2001).

A lo largo del tiempo varios estudios han observado que la vitamina A al igual que los beta-carotenos aumentan la solubilidad del hierro contenido en el alimento además de disminuir el efecto inhibitor que provocan los fitatos y polifenoles presentes en la dieta. Si bien no se ha esclarecido el mecanismo por el cual producen este efecto, se cree que podría ocurrir a través de la formación de complejos que mantendrían soluble al hierro en el lumen intestinal, previniendo de esta forma los efectos inhibitorios de los taninos y polifenoles en la absorción del hierro (Suharno y cols., 1993; García-Casal y cols., 1998; García-Casal y cols., 2000). Sin embargo, no existen estudios concluyentes en cuanto a esta relación entre vitamina A y hierro dietético y de hecho, algún estudio es contradictorio (Walczyk y cols., 2003).

Entre los factores **inhibidores**, existen muchos estudios en los que se observa el claro efecto inhibitor del calcio sobre la absorción del hierro. La particularidad del calcio es que inhibe tanto el hierro no hemo como el hierro hemo (Hallberg y cols., 1991; Hallberg y cols., 1992). El mecanismo por el cual el calcio inhibe la absorción del hierro no está del todo clara pero al inhibir la absorción de los dos tipos de hierro y teniendo en cuenta que éstos pasan al enterocito a través de diferentes receptores en la mucosa intestinal, se cree que el calcio debe actuar en algún paso común entre la mucosa intestinal y la transferencia del hierro a la circulación (Hallberg, 1998). En los últimos años se ha demostrado que el efecto inhibitor del calcio depende de la dosis. Mientras que a dosis de calcio inferiores a 40 mg no parece observarse su efecto inhibitor, con una ingesta de alrededor de 300 mg, ya se observa una inhibición de la absorción del hierro de entre un 50 a un 60%.

Otros factores dietéticos que actúan como inhibidores son diversos polifenoles y taninos contenidos en el café, en algunos vinos, en productos vegetales e infusiones aromáticas y sobre todo en el té. La absorción disminuye proporcionalmente con el volumen de té o café consumidos, así se ha determinado que en presencia de té, la absorción del hierro disminuye hasta el 60% mientras que en la de café, la absorción se reduce hasta el 40%.

Por su parte, los fitatos (contenidos en la fibra dietética) del salvado, cereales y legumbres también tienen un claro efecto inhibitor, debido a la formación de quelatos insolubles. En este sentido, se ha calculado que de 5 a 10 mg de fitatos pueden reducir la absorción del hierro no hemo a la mitad, lo que puede ser evitado por el consumo de pequeñas cantidades de carne y vitamina C que impiden la formación de estos quelatos, lo que provoca un aumento de la absorción aún en presencia estos inhibidores.

Entre las proteínas que inhiben la absorción del hierro no hemo, encontramos una amplia variedad, tanto de origen animal como vegetal. Las proteínas de origen animal que poseen un efecto inhibitor más significativo son la caseína, las proteínas del suero de la leche, la seroalbúmina bovina y las proteínas de la yema de huevo. De las proteínas de origen vegetal la más importante es una fracción derivada de la proteína de soja denominada (7S conglucina) que demostró poseer un efecto inhibitor sobre la absorción del hierro no hemo similar al producido por los fitatos (Kane y Millar, 1984; Hurrell y cols., 1992; Lynch y cols., 1994)

Los fosfatos producen compuestos insolubles, principalmente con los iones férricos, inhibiendo consecuentemente su absorción (Brune y cols., 1992; Jackson y Lee, 1992; Sandberg y cols., 1999). También se ha sugerido que el cadmio y el cinc tienen cierto efecto inhibitor, pero su efecto en la absorción de hierro no hemo en humanos es mínimo (Hallberg, 2001).

El contenido de sustancias favorecedoras e inhibitoras de la absorción va a determinar la biodisponibilidad del hierro presente en la dieta.

Por último, el consumo de alcohol se asocia a un aumento de los niveles de hierro. El mecanismo por el cual se produce esta relación no se conoce de forma exacta aunque existen varias teorías. Una de ellas propone que el alcohol podría aumentar la permeabilidad de la mucosa intestinal al hierro, además de la influencia de la presencia de hierro en algunos vinos y cervezas (Moirand y cols., 1991), la otra teoría y más reciente indica que el alcohol podría activar la absorción dietética del hierro (Whitfield y cols., 2001) mediante la inhibición de la expresión de la proteína hepcidina (Flanagan y cols., 2007; Kowdley, 2007).

Tabla 4.- Factores dietéticos que afectan la absorción de hierro

Activadores	Inhibidores
Proteína animal (carne, pescado)	Fitatos (fibra dietética)
Ácido ascórbico (vit. C)	Calcio
Ácido cítrico, málico y tartárico	Taninos (café, té, vino)
Vit. A ?	Polifenoles (Algunos vegetales)
Alcohol ?	

1.7.3 FACTORES BIOLÓGICOS

Aunque está claro que los factores dietéticos y genéticos modifican la absorción dietética del hierro, se acepta generalmente que la absorción del hierro dietético es determinada por un mecanismo de regulación feedback o de retroalimentación (Hallberg y cols., 1997).

El enterocito desempeña un papel central en la regulación de la absorción de hierro, debido a que los niveles intracelulares adquiridos durante su formación determinan la cantidad del mineral que entra a la célula. El hierro del enterocito ingresa a la circulación de acuerdo con las necesidades orgánicas, y el resto permanece en su interior hasta su descamación. De este modo, las células mucosas protegen al organismo de la sobrecarga de hierro de origen dietético al almacenar el exceso del mineral como ferritina en las células intestinales que es posteriormente excretada durante el recambio celular normal (Wick y cols., 1996).

La absorción de hierro puede ser ajustada dentro de ciertos límites para cubrir los requerimientos de este metal. Aumenta cuando los depósitos de hierro son bajos (Finch, 1994), cuando la actividad eritropoyética es elevada (en una hemorragia), en condiciones de hipoxia, anemia o cuando el peso corporal aumenta (Hallberg, 2001).

También existen diferentes estados fisiológicos que producen un sustancial incremento en la absorción de este metal, como en el crecimiento y el embarazo, como consecuencia de un aumento de la síntesis de biomoléculas que poseen hierro en su estructura (Bezwoda y cols., 1979;

Cook, 1990; Hulten y cols., 1995).

El incremento en la absorción de hierro hemo respecto al no hemo es de menor proporción (Wick y cols., 1996) debido posiblemente a que la superficie absorptiva de la célula intestinal no reconoce al hemo como hierro, por lo que el incremento de su absorción se deberá solamente a la pérdida de la saturación de los receptores dentro de la célula y en las membranas basolaterales (Uzel y Conrad, 1998).

La absorción del hierro puede ser también afectada por una serie de factores intraluminales como la aquilia gástrica, el tiempo de tránsito acelerado y los síndromes de malabsorción (Andrews y Bridge, 1998).

1.7.4 BALANCE INTRACELULAR DE HIERRO

Las células del organismo deben mantener una homeostasis interna del hierro para asegurar la existencia de una cantidad de hierro necesario para realizar las funciones basales sin que quede hierro libre que pueda promover la formación de "especies reactivas de oxígeno" (ERO). Para ello las células cuentan con dos mecanismos:

Por una parte, todas las células de mamíferos producen ferritina, que actúa como molécula depósito, de forma que acoge al hierro cuando está en exceso, pero también promueve su movilización cuando éste se necesita.

El los últimos años se ha identificado un gen que codifica para una ferritina mitocondrial (Levi y cols., 2001), que se ha detectado en pacientes con anemia sideroblástica con acumulación de hierro eritrocítico mitocondrial (Cazzola y cols., 2000). Sin embargo, la función de la ferritina mitocondrial todavía se desconoce.

El segundo mecanismo protector implica a las proteínas reguladoras de hierro o *Iron Regulatory Proteins* (IRP) (Cazzola, 2002). La vía fundamental de captación celular de hierro es la unión y subsecuente internalización por su receptor de la transferrina cargada con hierro. La cantidad de hierro que penetra a la célula por esta vía está relacionada con el número de receptores de

transferrina presentes en la superficie celular. Una vez dentro, el hierro es utilizado para sus múltiples funciones o almacenado en forma de ferritina o hemosiderina. Tanto la expresión del receptor de transferrina como de la ferritina son reguladas en función de la disponibilidad y demanda de hierro para asegurar la homeostasia celular. Cuando las necesidades de hierro de la célula aumentan, se produce un incremento en la síntesis de receptores de transferrina y, en el caso contrario, cuando hay un exceso de hierro, ocurre un aumento de la síntesis de ferritina. Esto se logra mediante un estricto sistema de control al nivel postranscripcional (Klausner y cols., 1993).

El mecanismo de regulación es mediado por interacciones específicas entre secuencias IRE (*Iron Responsive elements* o elementos sensibles al hierro) localizados en los respectivos ARNm y las proteínas citoplasmáticas IRP.

Las IRE son secuencias de nucleótidos constituidas por 28 bases que forman una estructura secundaria en forma de horquilla, de forma que les permite interactuar con las IRP (Hentze y Kühn, 1996). Estas secuencias están localizadas en las regiones no codificantes o no traducidas (UTRs) situadas en los extremos 5' o 3' de los ARNm y, dependiendo de la posición, difiere el efecto que ocasiona su interacción con las IRP. Las IRE situadas en la región UTR 5' actúan regulando la unión del mensajero al ribosoma, es decir, controlando la iniciación de la traducción, y aquéllas ubicadas en la región UTR 3', modulan la estabilidad o degradación del ARNm por acción de endorribonucleasas.

Las proteínas citoplasmáticas IRP o proteínas reguladoras del hierro, actúan como sensores del contenido celular del hierro. En las células de mamíferos han sido identificadas 2 proteínas IRP (IRP1 e IRP2).

La IRP1 es una proteína bifuncional que puede actuar como aconitasa citoplasmática o unirse a secuencias IRE. Posee un cluster [4Fe-4S] y puede convertirse reversiblemente en su forma activa [3Fe-4S] o inactiva [4Fe-4S] en respuesta a modificaciones en la disponibilidad del hierro. Bajo condiciones de depleción del metal, el cluster se disocia y la apoIRP1 puede unirse con alta afinidad a las secuencias IRE del receptor de la transferrina y de la ferritina. Al contrario, cuando el aporte de hierro aumenta, la IRP1 incorpora un átomo del metal al cluster [4Fe-4S], adoptando una conformación con la cual es incapaz de interactuar con las secuencias del ARNm pero si adoptar su función enzimática como aconitasa citoplasmática (Kaptain y cols.,

1991).

La IRP2 posee un 62% de homología con la IRP1 pero, a diferencia de ella, carece del cluster [4Fe-4S] y no posee actividad aconitasa. Tiene capacidad de unirse con elevada afinidad a secuencias IRE localizadas en los mensajeros. En su región N-terminal contiene una secuencia rica en cisteína que es responsable de la degradación de la proteína vía proteasoma cuando los niveles intracelulares de hierro son altos (Iwai y cols., 1995). Por el contrario, cuando el aporte del metal disminuye, se produce la síntesis de novo de la IRP2.

La síntesis de las proteínas involucradas en el metabolismo del hierro es regulada a través de la interacción IRE-IRP, como se muestra en la Figura 17.

En la región UTR 3' del ARNm del RTf1, hay cinco secuencias IRE. En este caso, la interacción IRE-IRP protege al mensajero de la degradación, permitiendo, de esta manera, su traducción con la consecuente síntesis del receptor (Casey y cols., 1988). La UTR 5' de los ARNm de las cadenas ligera y pesada de la ferritina, contienen una única secuencia IRE. En este caso, la interacción de las IRP con esta secuencia bloquea la traducción (Leibold y Munro, 1988).

De esta forma, el sistema IRE-IRP permite a las células regular en forma coordinada la biosíntesis de las proteínas involucradas en la captación (RTf1) y almacenamiento (Ferritina) de hierro, durante las variaciones fisiológicas de su biodisponibilidad.

En un estado de depleción de hierro, el objetivo de la célula es incrementar la captación del metal y disminuir su almacenamiento. En este caso, Las IRP activas se unen a las secuencias IRE, aumentando la síntesis de RTf1 mientras que disminuyen la de la ferritina (Figura 17b).

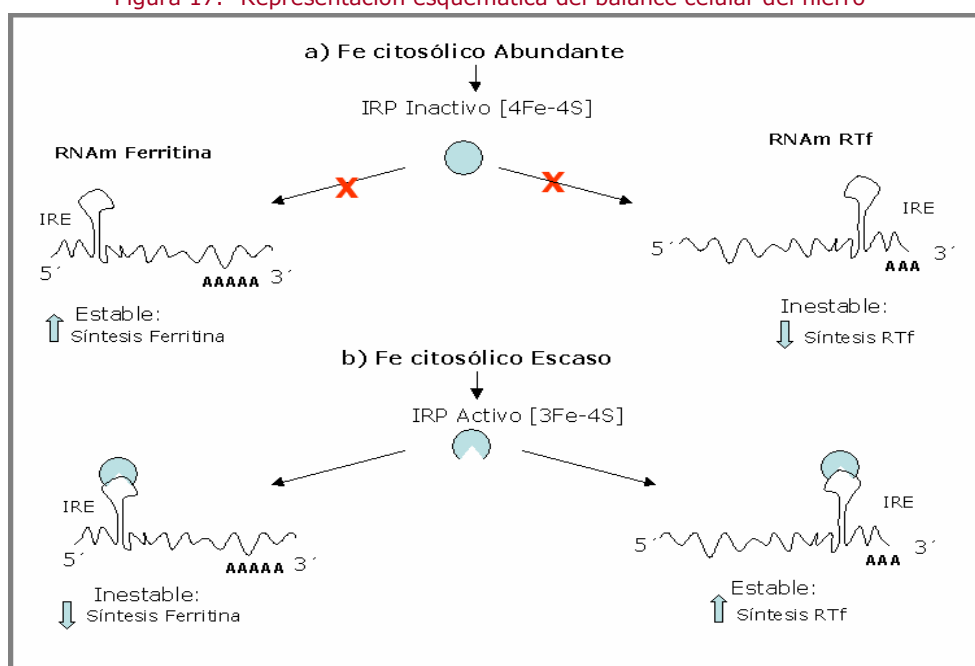
Por el contrario, cuando los niveles de hierro son altos, el metal es almacenado y su incorporación debe ser disminuida. Las IRP se disocian de las IRE y, como consecuencia, el ARNm del RTf1 es degradado y la síntesis de Ferritina aumenta (Figura 17a).

La participación del RTf2 en la homeostasis del hierro es menos conocida, pero se conoce que las regiones no codificantes del ARNm del RTf2 no poseen estructuras similares a las secuencias IRE (Kawabata y cols., 1999). Esto explicaría que, a diferencia de lo que sucede con el RTf1, la expresión del RTf2 no es afectada por los niveles de disponibilidad del hierro. En cambio, se ha

sugerido que podría ser regulada por el ciclo celular (Kawabata y cols., 2000).

Así, la interacción de IRP-IRE regula la expresión de las proteínas RTf1 y Ferritina en direcciones opuestas por dos mecanismos diferentes, con lo cual se logra mantener el equilibrio entre la captación y almacenamiento intracelular del hierro. Mecanismos similares están implicados en la regulación de otras proteínas que participan en el metabolismo del hierro.

Figura 17.- Representación esquemática del balance celular del hierro



a) En situaciones de hierro abundante, el IRE se encuentra en su forma inactiva [4Fe-4S] de esta forma no puede unirse a regiones IRE, de manera que el ARNm de la ferritina se estabiliza y aumenta su síntesis, mientras que en el caso del RTf, se inestabiliza, aumenta su degradación y por tanto disminuye su síntesis.

b) En una situación de falta de hierro, el IRP se activa [3Fe-4S], de forma que interacciona con las regiones IRE, en el caso del RNAm de la Ferritina se desestabiliza, bloqueando su transcripción y por tanto su síntesis, mientras que en el caso de la RTf aumenta su síntesis por estabilización de su ARNm. Elaboración propia

2. NECESIDADES Y RECOMENDACIONES DE HIERRO

Las necesidades de hierro en cada etapa de la vida están determinadas por los cambios fisiológicos a los que se enfrenta el organismo durante su desarrollo. Además, la absorción del hierro de la dieta variará dependiendo de una serie de factores como son el tipo de hierro, las reservas corporales y la presencia de determinados alimentos en la dieta que facilitarán o inhibirán la absorción (ver capítulo 1.7.2).

Para establecer las recomendaciones de hierro debe considerarse por una parte, la absorción limitada del hierro procedente de los alimentos, y por otra, las pérdidas diarias.

En las mujeres en edad fértil los requerimientos son similares a los de la adolescente, fundamentalmente debido a las pérdidas menstruales. Estos requerimientos pueden verse aumentados por el uso de dispositivos intrauterinos, que provocan aumentos imperceptibles de las pérdidas, unido en ocasiones a una dieta inadecuada; los embarazos y la lactancia pueden agravar la situación.

Actualmente, los expertos en nutrición consideran que una mujer sana con unas reservas normales de hierro puede cubrir sus necesidades durante el embarazo si realiza una dieta rica en hierro. Pero en la práctica, la elevada prevalencia de ingesta inadecuadas unida al elevado déficit bioquímico de hierro entre las mujeres en edad de procrear sugiere recomendar la suplementación con hierro durante el embarazo.

Los adultos ancianos no tienen necesidades aumentadas de hierro si tienen un buen estado de salud. El aumento de las necesidades está en relación con el aumento de la prevalencia de enfermedades y la mayor frecuencia de pérdidas de hierro patológicas.

En la tabla 5 se muestra la ingesta recomendada de hierro para la población española y americana.

En el 2001 el Instituto de Medicina de los EUA (Institute of Medicine, 2001) establece el nivel de ingesta máxima tolerable para el hierro en 45 mg/día en adultos para todas las fuentes de

hierro. Hasta el 2001 el límite era de 60 mg/día pero se redujo debido a su relación con efectos adversos gastrointestinales. Este valor puede ser superior en situaciones en las que los depósitos de hierro son bajos.

Se entiende por nivel de Ingesta máxima tolerable o UL (*Tolerable Upper Intake Level*) el nivel máximo de ingesta media diaria de un nutriente que no presenta riesgo de causar efectos negativos sobre la salud a todos los individuos de la población general a largo plazo (Institute of Medicine, 2005). Si la ingesta superase los niveles de UL, podría aumentar el riesgo potencial de efectos adversos.

Tabla 5.- Ingesta recomendada de hierro en la población española y americana

Categoría	Españolas		Americanas	
	Edad (años)	Hierro (mg/día)	Edad (años)	Hierro (mg/día)
Niños/as	0- 0,5	7	0-0,5	0,27 *
	0,5-1	7	0,5-1	11
	1-4	7	1-3	7
	4-6	9	4-8	10
	6-10	9	-	-
Hombres	10-13	12	9-13	8
	13-16	15	14-18	11
	16-20	15	19-30	8
	20-40	10	31-50	8
	40-50	10	50-70	8
	50-60	10	> 70	8
	60-70	10	-	-
	> 70	10	-	-
Mujeres	10-13	18	9-13	8
	13-16	18	14-18	15
	16-20	18	19-30	18
	20-40	18	31-50	18
	40-50	18	50-70	8
	50-60	10	> 70	8
	60-70	10	-	-
	> 70	10	-	-
Gestación	2ª mitad	+18		27
Lactancia		+18	<18	10
			>18	9

Fuente: Recomendaciones españolas: Departamento de nutrición de la Universidad Complutense, 1994 / Recomendaciones americanas: Institute of Medicine, Food and Nutrition Board, 2005 / * Ingesta adecuada

3. SOBRECARGA DE HIERRO

Durante muchos años, del metabolismo del hierro, la Salud Pública se ha preocupado casi exclusivamente del déficit, pero el aumento por el interés del papel de los pro-oxidantes en la enfermedad crónica y el descubrimiento de mutaciones en el gen HFE implicadas en la Hemocromatosis Hereditaria (HH), han hecho que en los últimos años se esté prestando atención al exceso de hierro y a sus efectos sobre la salud.

3.1 DEFINICIÓN

Un estado de sobrecarga en el contenido total de hierro resulta de un aporte del metal que excede los requerimientos. Como las necesidades son limitadas y los seres humanos carecen de un mecanismo fisiológico para la excreción del exceso de hierro, un incremento sostenido en su absorción puede, eventualmente, resultar en una acumulación del metal. Como consecuencia, si la capacidad del organismo para llevar a cabo su transporte y almacenamiento es excedida, el metal se puede acumular en distintos órganos causando daño parenquimal y disfunción orgánica (Dooley y Worwood, 2000). La sobrecarga parenquimal de hierro es muy peligrosa ya que conduce a daño tisular y a fibrosis (Andrews, 1999).

La hemocromatosis implica daño tisular por depósito de hierro (aunque al principio este daño tisular no sea evidente), bien sea primaria (hemocromatosis hereditaria o genética) o secundaria (hemocromatosis adquirida). La hemosiderosis cursa con depósito de hierro pero no implica daño tisular.

En cuanto a manifestaciones clínicas, la hemocromatosis al igual que muchas enfermedades hepáticas, puede ser bastante silenciosa en su inicio. Se puede manifestar por fatigabilidad, diabetes, alteración de las pruebas hepáticas, artralgias, impotencia, trastornos cardíacos, hiperpigmentación de la piel y mayor riesgo de ciertas infecciones. Estas manifestaciones

tóxicas de la sobrecarga de hierro dependen en parte de la magnitud del exceso, de la velocidad de acumulación y de la distribución del metal entre sitios de depósito relativamente benignos, como los macrófagos y los más perjudiciales, en las células parenquimatosas (Chapman, 1992; Crichton y cols., 2002). En el aspecto sistémico, dosis tóxicas de hierro pueden provocar diarrea, vómito, cianosis, somnolencia, acidosis, colapso cardiovascular, gastroenteritis hemorrágica y daño hepático.

La detección temprana así como el tratamiento con flebotomías previenen el daño orgánico y ayudan a mejorar la calidad de vida. Sin embargo, la variabilidad de la expresión fenotípica, así como la falta de especificidad en la naturaleza de los síntomas como letargia, artralgias y dolores abdominales hacen que el diagnóstico sea difícil de realizar (Waalén y cols., 2002).

Los individuos con alto riesgo de sobrecarga de hierro son aquellos con historia familiar de HH, aquellos con hepatomegalia, con test anormales de hierro y de función hepática, con porfiria cutánea tarda, diabetes mellitus tipo 2, artritis periférica, impotencia temprana, infertilidad y cardiomiopatías.

Los dos métodos biológicos más básicos y que se utilizan con mayor frecuencia en el diagnóstico de la sobrecarga férrica consisten en medir la saturación del hierro unido a la transferrina (STf) y la ferritina (FS) a través de un análisis sanguíneo.

El primer parámetro que se encuentra afectado en la hemocromatosis es la STf, que nos indica el estado de hierro circulante. Se considera que la STf es elevada, cuando se encuentra por encima de 45% en mujeres y por encima de 50% en hombres, sin embargo, el límite recomendado por la conferencia internacional de consenso celebrado en Sorrento para el cribado de la hemocromatosis es de 45% sin distinción de sexo (WHO, 2000). La STf > 45% se detecta en el 98% de los pacientes con sobrecarga de hierro (McLaren y cols., 1998; Olynyk y cols., 1999; Asberg y cols., 2001; Beutler y cols., 2002; McCune y cols., 2002; Waalén y cols., 2002).

En cuanto a la Ferritina sérica, nos indica el estado de hierro de los depósitos ya que correlaciona con el total del hierro almacenado en el organismo. Sin embargo no es tan sensible como la STf para detectar la enfermedad, ya que los niveles de FS pueden variar de forma significativa y fluctuar en presencia de inflamación, necrosis hepatocelular y tumores. Se puede hablar de sobrecarga férrica con unos niveles de ferritina sérica >300 µg/l en los hombres y >

200 µg/l en las mujeres (Fleming y cols., 2001), aunque ya se considera FS elevada y por tanto a riesgo de desarrollar hemocromatosis los niveles moderados a partir de 110 µg/l en mujeres y 200 µg/l en hombres (Distante, 2006). Mientras que un nivel de FS < a 1000 µg/l es un indicador negativo de fibrosis severa, existen casos de cirrosis y fibrosis progresiva en sujetos con HH con niveles mucho menores (Guyader y cols., 1998).

Si se observa alteración en estas pruebas debe valorarse la realización del test para la detección de alteraciones en el gen HFE y la biopsia hepática (Altés y cols., 2004b).

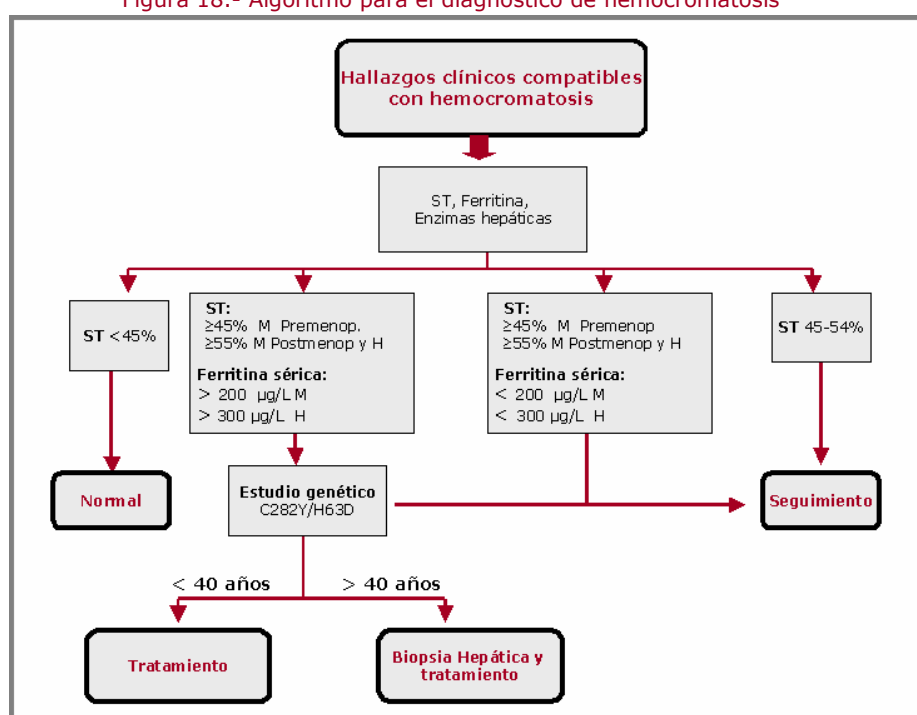
Mientras que la sobrecarga severa de hierro se asocia a hemocromatosis, donde la STf puede exceder el 90% y los niveles de Ferritina sérica pueden ser mayores de 1000 µg/l, muchos autores asocian los niveles moderados de hierro a enfermedades muy graves y frecuentes en la población como enfermedad cardiovascular y cáncer (Stevens y cols., 1988; Salonen y cols., 1992; Tuomainen y cols., 1998; Klipstein-Grobusch y cols., 1999; Burke y cols., 2001).

El diagnóstico es más beneficioso cuando se realiza en individuos con la mutación C282Y en su forma homocigota así como en mayores de 40 años, ya que durante los primeros 40 años de vida pueden tener los almacenes de hierro relativamente normales, y empezar a desarrollar la sobrecarga de hierro significativa y el daño orgánico a partir de la quinta década (Olynyk y cols., 2004).

En el hígado es donde más cantidad de hierro se acumula y por ello para confirmar el diagnóstico se puede realizar una biopsia hepática, aunque actualmente se están utilizando métodos menos invasivos como la resonancia magnética que nos permite a su vez, valorar la sobrecarga de hierro de otros órganos como el bazo, el páncreas y el corazón (Bacon y cols., 1999).

En los últimos años, también se ha desarrollado y difundido el test genético para la hemocromatosis genética debido a que actualmente se conocen las mutaciones que más frecuentemente la producen. En la figura 18 se puede observar uno de los algoritmos propuestos para el diagnóstico de hemocromatosis.

Figura 18.- Algoritmo para el diagnóstico de hemocromatosis



Fuente: Grupo MBE Galicia, 2005.

3.2 FACTORES CAUSALES

La sobrecarga de hierro se puede producir fundamentalmente por dos causas:

a) por un aumento de la absorción de hierro y b) por un aumento del catabolismo eritrocitario. En el primer caso, la eritropoyesis es normal pero el contenido de hierro del plasma excede a la capacidad de unión de la transferrina de forma que el hierro se deposita en las células parenquimatosas del hígado, corazón y en algunos tejidos endocrinos. Cuando el aumento de la absorción de hierro se debe a factores genéticos se denomina hemocromatosis hereditaria o primaria. Concretamente en la población caucásica, del 80 al 100% de los casos con hemocromatosis son debidas a alteraciones en el gen HFE.

En la segunda situación, la sobrecarga de hierro procede del aumento del catabolismo de los eritrocitos, aspecto que puede observarse en personas que han recibido transfusiones múltiples de glóbulos rojos o personas con anemias hemolíticas. En este caso la eritropoyesis es anormal y el hierro primero se acumula en los macrófagos del SER y más tarde en las células parenquimatosas. En estas situaciones se tiende a hablar de hemocromatosis adquirida o secundaria.

En los países desarrollados el déficit de hierro es, en la mayoría de casos, el resultado de una inadecuada nutrición, mientras que la sobrecarga de hierro se asocia fundamentalmente a alteraciones genéticas.

Sin embargo, la dieta podría tener un papel importante en dicha sobrecarga, ya que en los últimos años, el problema del déficit de hierro ha conducido a un aumento en la fortificación con hierro de muchos alimentos que, en los casos cuyo estado de hierro sea el correcto, podría conducir a una situación de desequilibrio en el que el exceso de hierro sea el problema. Además, una dieta enriquecida en hierro podría ser especialmente peligrosa en aquellas personas portadoras de alguna alteración genética relacionada con la sobrecarga de hierro.

El riesgo de exceso de hierro es mayor en los hombres que en las mujeres, ya que la menstruación en ellas ejerce de mecanismo protector, también aumenta con la edad aproximadamente a partir la sexta década de vida donde la diferencia de los niveles de hierro

entre sexos desaparece (Yip, 1994).

Además existen otras situaciones menos frecuentes que conducen a sobrecarga de hierro que se muestran en la tabla 6.

Tabla 6.- Situaciones más comunes de sobrecarga férrica

Hemocromatosis Primarias	Factores Genéticos	Hemocromatosis Hereditaria	Tipo 1 (asociada a HFE)
			Tipo 2a (asociado HJV)
			Tipo 2b (asociado a HAMP)
			Tipo 3 (asociado a RTF2)
			Tipo 4 (Enfermedad de la Ferroportina)
Hemocromatosis Secundarias	Factores Dietéticos	Sobrecarga de hierro asociada a la subunidad H de la Ferritina	
		Aceruloplasminemia Hereditaria	
		Atransferrinemia Hereditaria	
	Otros factores	Sobrecarga de la ingesta férrica	
		Enfermedades hematológicas	
		Enfermedades hepáticas	
		Hemocromatosis Neonatal	
Transfusiones repetidas			
Síndrome dismetabólico con sobrecarga férrica			

3.2.1 ALTERACIONES GENÉTICAS ASOCIADAS A SOBRECARGA DE HIERRO

El término de hemocromatosis primaria engloba a aquellas anomalías hereditarias en proteínas implicadas en el transporte y regulación de la absorción de hierro que conllevan a una acumulación progresiva de hierro tisular.

Dentro de las alteraciones genéticas que se asocian a sobrecarga de hierro, la forma más común y principal es la Hemocromatosis Hereditaria clásica o de tipo 1 (HH) que se asocia a mutaciones en el gen HFE. Con el tiempo y el descubrimiento de las nuevas proteínas implicadas en el metabolismo del hierro, han ido identificándose nuevas mutaciones que han dado lugar a nuevas enfermedades de menor prevalencia que describiremos en este apartado (Tabla 7).

Tabla 7.- Principales alteraciones genéticas asociadas a sobrecarga de hierro

Enfermedad		Gen afectado	Proteína afectada	Función en el metabolismo del hierro
Hemocromatosis Hereditaria	Clásica o de tipo 1 (HH)	HFE	HFE	Media la incorporación celular del hierro unido a Tf Modula la expresión de la Hpc
	Juvenil (HJ) o HH tipo 2a	HJV	Hemojuvelina (Hjv)	Modula la expresión de la Hpc
	Juvenil (HJ) o HH tipo 2b	HAMP	Hepcidina (hepc)	Regula la exportación de hierro de los macrófagos, enterocitos y placenta
	Asociada al RTf2 o HH tipo 3	RTf2	RTf2	Sensor de la Saturación de la Tf Modula la expresión de la Hpc
	Enfermedad de la Ferroportina o HH tipo 4	SLC40A1	Ferroportina (Fpn)	Esportador de hierro no Hemo
Sobrecarga de hierro asociada a la subunidad H de la Ferritina		Región IRE de la subunidad H Ferritina	Ferritina (subunidad H)	Depósitos de hierro (Actividad Ferroxidasa)
Aceruloplasminemia Hereditaria		Ceruloplasmina	Ceruloplasmina (Cp)	Actividad Ferroxidasa
Atransferrinemia Hereditaria		Transferrina	Transferrina (Tf)	Transportadora de hierro

3.2.1.1 HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA CLÁSICA (HH) O DE TIPO 1

La Hemocromatosis clásica o de tipo 1 es la forma más común de sobrecarga de hierro y está asociada al gen HFE (Roy y Andrews, 2001).

Se trata de un trastorno genético autonómico recesivo que conlleva a un aumento de la absorción de hierro a nivel intestinal provocando un exceso de hierro en el organismo. A largo plazo, el aumento de la absorción provoca una acumulación progresiva del metal en las células epiteliales del hígado, hipófisis, páncreas y músculo cardiaco que acaba provocando fibrosis e insuficiencia funcional en los órganos afectados (Bell y cols., 2000; Pietrangelo, 2004).

Las consecuencias descritas por primera vez en el siglo XIX fueron diabetes, pigmentación bronceada de la piel y cirrosis, sin embargo no fue hasta 1935, cuando el término "hemocromatosis" se usó por primera vez. Aunque previamente ya se había descrito que la enfermedad era hereditaria y que era causada por un exceso de los depósitos de hierro en los tejidos, no fue hasta los años 70-80 que se reconoció que era un desorden autosómico recesivo ligado a la región del brazo corto del cromosoma 6, y finalmente en 1996, se identificó el gen HFE como el gen de la Hemocromatosis Hereditaria (HH) (Feder y cols., 1996).

La HH afecta a los hombres con una frecuencia aproximadamente 5 veces mayor que a las mujeres. La menstruación y el embarazo actuarían como mecanismos protectores de la sobrecarga de hierro, explicando probablemente esta diferencia entre sexos (Sullivan, 1981). Es particularmente común en personas descendientes de caucásicos de Europa occidental (Lucotte G y cols., 2003) donde se encuentra en uno de cada 300 individuos (Edwards y cols., 1988; Bismuth y cols., 2003).

HFE ejerce su acción en la regulación del metabolismo del hierro a nivel del hepatocito y de los enterocitos situados sobre todo en el nivel intestinal superior. El gen HFE codifica la síntesis de la proteína transmembrana (pHFE) que se une a la beta2-microglobulina ($\beta 2\mu b$) (Feder y cols., 1996; Feder y cols., 1997) y regula la absorción intestinal de hierro de forma directa en el enterocito (hipótesis de la célula de la cripta) o de forma indirecta a nivel hepático (hipótesis de hepcidina) en función de la cantidad de hierro que transporta la transferrina (ver apartado 1.7.1.2) (Chua y cols., 2006; Pietrangelo y Trautwein, 2004).

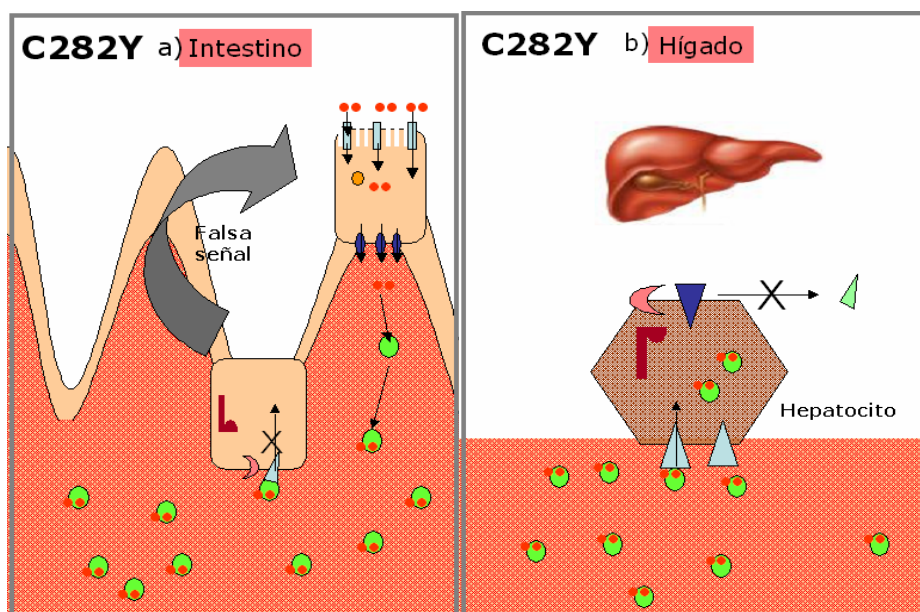
La presencia de mutaciones en el gen de HFE conlleva a una disfunción total o parcial de la proteína HFE y por tanto a una modificación de todos estos procesos que regulan de cerca el estado del hierro del cuerpo. Como resultado se observa un aumento de la absorción intestinal del hierro que conduce a una sobrecarga de hierro sistémica (Anderson y cols., 2005; Beutler, 2006). Este mecanismo es también el que se observa en el déficit de hierro o cuando los niveles del hepcidina son bajos (West y cols., 2006).

Se han detectado tres alteraciones en el gen HFE (C282Y, H63D y S65C) relacionadas con el aumento de la absorción del hierro. La primera y principal es la alteración C282Y, se trata de una sustitución en el nucleótido 845 del exón 5 del gen, de guanina por adenina, lo que provoca la sustitución en la síntesis proteica de cisteína por tirosina en la posición 282. Esta mutación

destruye un enlace disulfuro implicado en la unión de la proteína $\beta 2\mu b$ y HFE de forma que ésta última no se expresa en la membrana. Esta falta de proteína HFE provoca que no entre hierro a la célula de la cripta de forma que se crea una falsa señal de depósitos de hierro bajos lo que conduce a un aumento inapropiado de la absorción de hierro en los enterocitos (Feder y cols., 1997; Waheed y cols., 1997; Waheed y cols., 2002) (Figura 19a).

A nivel hepático, la pérdida de HFE conduciría a una disminución de la expresión de hepcidina lo que provocaría un aumento de la exportación del hierro al plasma por parte de la ferroportina tanto a nivel de los enterocitos duodenales como de las células del SER. De esta forma, las concentraciones de hierro circulante aumentan y la transferrina se empieza saturar, por lo que aparece en la circulación el hierro no unido a transferrina (NTBI) que es captado por aquellos tejidos con alta capacidad para hacerlo, como es el caso del hígado (Fleming y Britton, 2006) (Figura 19b).

Figura 19.- Posibles mecanismos del aumento de la absorción de hierro en presencia de la mutación C282Y



Elaboración propia

La mayoría de las personas con HH tienen la mutación C282Y en su forma homocigota (un 80-90% aproximadamente) (Jouanolle y cols., 1997; Hanson y cols., 2001). Concretamente en España, el 85% de pacientes con hemocromatosis son homocigotos para la mutación C282Y (Altés y cols., 2004), mientras que solamente un 3,6 % de los sujetos con esta enfermedad presentan la mutación C282Y en su forma heterocigota, definiendo así su expresión fenotípica. 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 (Merryweather-Clarke y cols., 1997).

Una segunda mutación, la H63D (Jouanolle y cols., 1997), localizada en el exón 2 del gen HFE, supone la sustitución de citosina por guanina en el nucleótido 187, que reemplaza el aminoácido histidina por ácido aspártico en la posición 63 en su síntesis proteica. Dicha mutación provoca la alteración de la estructura terciaria de la proteína HFE, lo cual afecta también la regulación de la absorción del hierro, aunque en esta ocasión la expresión fenotípica es mucho más leve o moderada que la observada con la mutación C282Y homocigota (Beutler y cols., 1996; Feder y cols., 1997; Merryweather-Clarke y cols 1997; Waheed y cols., 1997). En una importante revisión se observó que aproximadamente un 5% de los individuos con HH fueron portadores del compuesto heterocigoto (C282Y/H63D), un 1,5% homocigotos para H63D y un 5,2 % heterocigotos para H63D (Hanson y cols., 2001).

La tercera mutación asociada a la HH es la S65C (Mura C y cols., 1999) que consiste en el cambio de una adenina por una timidina en la posición nucleótida 193 lo que produce el intercambio de serina por cisteína en la posición 65 (S65C) (Barton y cols., 1999). Aunque esta mutación está mucho menos estudiada que las anteriores, también ha sido asociada a una sobrecarga moderada o leve de hierro (Holmström y cols., 2002).

3.2.1.2 HEMOCROMATOSIS JUVENIL (HJ) O HH TIPO 2

Ya en 1932, se describió en Francia el caso de un joven de 20 años que presentaba cirrosis hepática, infantilismo, insuficiencias endocrinas múltiples y que murió por insuficiencia cardiaca (Bezançon y cols., 1932). Más tarde, en el 1975 y 1979 se describieron casos similares (Goossens, 1975; Lamon y cols., 1979).

En la actualidad se admite la existencia de una forma rara y grave de hemocromatosis hereditaria que afecta a niños o adultos jóvenes de ambos sexos menores de 30 años. Está originada por una sobrecarga de hierro secundaria a una excesiva absorción intestinal de hierro (Cazzola M y cols., 2000). Se presenta en sujetos de raza caucásica y procedencia Europea y se caracteriza clínicamente por la presencia de hipogonadismo hipogonadotrofo, cardiomiopatía, hepatomegalia, cirrosis hepática y pigmentación melánica de la piel (Lamon y cols., 1979; Kaltwasser, 2000; Solís y Solís, 2005).

A esta forma de hemocromatosis se la ha denominado Hemocromatosis Juvenil (HJ) o hemocromatosis hereditaria tipo 2 y también se trata de un desorden autosómico recesivo. El gen HJV (también llamado HFE2), responsable de la HJ se encuentra en el brazo largo del cromosoma 1 (Roetto y cols., 1999). Este gen codifica la síntesis de una proteína que se cree crucial en el metabolismo del hierro, llamada hemojuvelina (Papanikolaou y cols., 2004). En la actualidad se sabe que bajo el mismo fenotipo se ocultan defectos genéticos diferentes. En la mayoría de casos, la HJ está ligada al cromosoma 1q (gen HJV) y es lo que se ha denominado hemocromatosis tipo 2^a. En una minoría de casos, la enfermedad está ligada al cromosoma 19 (gen HAMP) y se ha denominado hemocromatosis tipo 2b.

La HJ afecta a ambos sexos por igual y diferencia de la HH aparece a edades tempranas, normalmente entre la segunda y tercera década de la vida. El curso de la enfermedad es rápida y severa, lo que nos indica que la proteína hemojuvelina (HJV) es importante en la regulación de la absorción del hierro (ver apartado 1.7.1.4) (De Gobbi y cols., 2002). No se conoce el mecanismo de acción de la proteína HJV pero parece íntimamente ligado al de la hepcidina, ya que en presencia de mutación en el gen HJV, disminuye la presencia de hepcidina en orina (Papanikolaou y cols., 2004).

3.2.1.3 HEMOCROMATOSIS ASOCIADA AL RTf2 O HH TIPO 3

La hemocromatosis provocada por mutaciones en el gen RTf2 es fenotípicamente muy similar a la HH clásica o de tipo 1. No obstante es frecuente que presenten sintomatología a edades más tempranas, incluso antes de los 30 (Mattman y cols., 2002; Le Gac y cols., 2004; Pietrangelo y cols., 2005). Se trata de un desorden autosómico recesivo que conduce a una mayor absorción del hierro y por tanto a una sobrecarga férrica.

El RTf2 es una glicoproteína transmembrana que posee una larga porción extracelular. El 60% de los aminoácidos de esta región molecular es similar a la porción extracelular del receptor de la transferrina 1 (RTf1). En esta zona es donde se establece el contacto con la transferrina portadora del hierro (ver apartado 1.4).

El mecanismo del RTf2 no se conoce pero las mutaciones en su gen conducen a la pérdida de su expresión, y al igual que las mutaciones en el gen HJV, se observa una disminución de los niveles de hepcidina (Kawabata y cols., 2004; Nemeth y cols., 2005), por lo que se sugiere que el RTf2 podría ser un regulador de la expresión de hepcidina y por ello su pérdida funcional podría ocasionar sobrecarga de hierro.

3.2.1.4 ENFERMEDAD DE LA FERROPORTINA O HH TIPO 4

Se trata de un trastorno autonómico dominante a diferencia de los anteriores. Ya hace años que se sabe que los habitantes de las Islas Salomón (Oceanía) presentan frecuentemente una sobrecarga anormal de hierro cuya característica es que se hereda de forma autonómica dominante y que no intervienen mutaciones en el gen HFE (Eason y cols., 1990). Otros autores han descrito características similares en familias italianas, holandesas y canadienses (Pietrangelo y cols., 1999).

La enfermedad de la ferroportina o HH tipo 4, es causada por mutaciones en el gen SLC11A3 localizado en el cromosoma 2q32 y que codifica para la proteína exportadora de hierro ferroportina (Wallace y cols., 2002; Arden y cols., 2003).

En estos pacientes es común que la tasa de ferritina en sangre esté muy elevada sin que se acompañe con un aumento de la transferrina (Devalia y cols., 2002; Roetto y cols., 2002; Jouanolle y cols., 2003). Esta desproporción entre las tasas de FS y STf es especialmente marcada en las fases iniciales de la enfermedad.

En la biopsia hepática se observa una gran cantidad de hierro depositado en el hígado, tanto en los hepatocitos como en las células del SRE (Devalia y cols., 2002; Wallace y cols., 2002; Jouanolle y cols., 2003). Por ello se cree que las mutaciones en el gen SLC11A3 causan la pérdida funcional de la proteína Fpn en los macrófagos, conduciendo a la retención de hierro en ellos. De esta forma

se impide el reciclaje en las células del SRE lo que conduce a una disminución de la disponibilidad del hierro circulante afectándose la eritropoyesis. Por ello la saturación de transferrina no aumenta en la misma proporción que la ferritina sérica (Siah y cols., 2005).

En este tipo de HH la siderosis es bien tolerada y la fibrosis hepática es leve o inexistente (Arden y cols., 2003) por lo que es una forma menos agresiva de hemocromatosis.

3.2.1.5 SOBRECARGA DE HIERRO ASOCIADA A LA SUBUNIDAD H DE LA FERRITINA

Hasta ahora se ha publicado una única familia japonesa con sobrecarga de hierro originada por una mutación de la subunidad H de la ferritina (Kato y cols., 2001). Las mutaciones en la subunidad L dan lugar al síndrome de hiperferritinemia hereditaria–cataratas en el que no existe sobrecarga de hierro (Beaumont y cols., 1995; Levi y cols., 1998; Ladero y cols., 2004).

Se trata de una mutación autonómica dominante en el gen que codifica para la subunidad H de la ferritina. La H-ferritina tiene función ferroxidasa la cual es necesaria para que el hierro pueda incorporarse a las cápsulas que forma la L-Ferritina (ver apartado 1.5.1). La mutación en esta subunidad provoca la disminución de la incorporación del hierro a la L-Ferritina (Kato y cols., 2001) y por lo tanto se acumula el metal en el citoplasma de las células. En un estudio realizado en ratones se observó que aquellos que no expresaban la H-Ferritina, morían en fase embrionaria por acumular exceso de hierro en el organismo (Ferreira y cols., 2000).

3.2.1.6 ACERULOPLASMINEMIA HEREDITARIA

Se trata de una rara sobrecarga de hierro genética que provoca diabetes y enfermedades degenerativas. La enfermedad sigue un patrón de herencia autonómica recesiva y es causada por mutaciones en el gen de la ceruloplasmina (Cp).

La Cp es una proteína extracelular con actividad ferroxidasa esencial para la salida del hierro de las células y para que la Tf lo pueda transportar a los órganos donde es necesario (Yang y cols., 1990). La presencia de mutaciones en el gen de la Cp provoca la pérdida de función o la desaparición de la Cp. En su ausencia, el hierro no solo no puede ser transportado por la Tf, si

no que no puede salir de las células del SRE y queda retenido en ellas (Ragan y cols., 1969). Además, el Fe^{2+} presente en el plasma no unido a Tf, se deposita en los tejidos preferentemente en el hígado, el páncreas y el cerebro (Gitlin, 1998).

Las lesiones neurológicas son producidas por el depósito de hierro preferentemente en los astrocitos. La Cp no puede atravesar la barrera hematoencefálica, pero normalmente es sintetizada por estas células. En la aceruloplasminemia, los astrocitos no sintetizan Cp y se produce la retención de hierro en esas células (Klomp y cols., 1996).

3.2.1.7 ATRANSFERRINEMIA HEREDITARIA

Se trata de otro raro defecto genético en el que no se expresa la transferrina debido a mutaciones en su gen.

Aunque existen muy pocos estudios de esta enfermedad en humanos, se sabe que la falta de transferrina conduce a un déficit de hierro en la médula ósea, y por tanto, a una anemia ferropénica severa (Goya y cols., 1972). Secundario a la anemia se produce un aumento de la absorción intestinal de hierro y su depósito en los tejidos (Beutler y cols., 2000), por ello el hierro y la transferrina en sangre suelen ser muy bajos, sin embargo, encontramos la ferritina sérica muy elevada. La enfermedad sigue un patrón de herencia autonómica recesiva, y los pacientes necesitan infusiones periódicas de transferrina para poder sobrevivir (Hayashi y cols., 1993).

3.2.2 FACTORES DIETÉTICOS

Si bien la ingesta observada de hierro a través de la dieta no implicaría por si sola un riesgo de sobrecarga en hierro en nuestra población, la contribución de factores genéticos que aumentan la absorción del hierro, junto con el consumo de suplementos que incluyen hierro en su composición, podría contribuir a un aumento del estado de hierro especialmente en aquellos individuos con un mayor de sufrir un exceso del metal.

Teóricamente existe un nivel de ingesta de hierro asociado con unos adecuados pero no

excesivos depósitos de hierro en el organismo. Esta cantidad debe ser suficiente para proteger al organismo de la depleción de hierro pero no debe excederse para evitar el daño producido por el exceso de hierro. Establecer un rango de ingesta óptimo de hierro requiere la consideración de muchas variables como las necesidades fisiológicas y los factores dietéticos que activan o inhiben su absorción (Swanson, 2003).

La forma correcta de prevenir o solucionar el déficit de hierro es por medio de una dieta adecuada que contenga hierro en cantidad y calidad apropiada para cubrir los requerimientos de la persona de acuerdo a los requerimientos fisiológicos. De no ser esto posible, la fortificación de alimentos y/o la suplementación farmacológica han resultado ser estrategias efectivas para solucionar la deficiencia nutricional en este elemento (Salgueiro y cols., 2006).

Sin embargo, en el caso de la suplementación farmacológica deben extremarse las precauciones, puesto que si bien el hierro es un elemento esencial que participa en múltiples procesos fisiológicos del organismo, cuando se encuentra en la célula de forma iónica y en elevada concentración es tóxico, ya que en medio acuoso y en presencia de oxígeno puede producir radicales libres de elevada reactividad como veremos mas adelante en el apartado 3.4.1.

3.2.2.1 INGESTA DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

En un estudio realizado en la población de Reus (Cataluña) en el que se estudió la evolución de la ingesta de energía y nutrientes desde el año 1983 al año 1993 en población adulta de 18 a 65 años (Arija y cols., 1996) se observó una disminución en la ingesta media de hierro, siendo de 11,8 mg/día en el año 1983 (13,3 en hombres y 10,3 en mujeres) a 10,1 mg en el año 1993 (11,3 mg en hombres y 8,8 mg en mujeres) (Datos no publicados).

Según la segunda encuesta nutricional de Cataluña (Generalitat de Catalunya, ENCAT 1992) realizado dentro del programa de Alimentación y Salud de la Generalitat de Cataluña, en el que se evalúa el estado nutricional de la población catalana en el año 1992-1993 en una muestra representativa de 10 a 80 años, la ingesta media de hierro fue de 13,4 mg/día. La tercera encuesta de Cataluña realizada en el 2002-2003, reflejó una media de 12,2 mg/día (Generalitat de Catalunya, ENCAT 2003). Por lo que aunque la ingesta ha tendido a disminuir, este consumo continúa

siendo superior a la ingesta recomendada en el grupo de los hombres y de mujeres mayores de 40 años (ver tabla 5), hecho a tener en cuenta ya que precisamente son éstos los grupos en los que el estado de hierro es mayor y por ello también, mayor es el riesgo de la acumulación del metal (Sullivan, 1981).

Existe una gran controversia en cuanto a la relación del efecto del hierro dietético (no suplementado) sobre el riesgo del exceso de hierro. Hallberg y cols. (1997) han sugerido a lo largo del tiempo que el hierro dietético no supondría ningún riesgo de provocar sobrecarga debido a que la absorción del hierro está fuertemente regulada por un mecanismo de retroalimentación o regulación feedback (Gleerup y cols., 1995; Hulten y cols 1995). Sin embargo, en el 2002 se publica por primera vez un estudio en el que se observa una relación significativa entre la dieta y el riesgo de aumento de los depósitos de hierro (Fleming y cols., 2002) después de un riguroso control de los factores confusores. Dicho estudio realizado en población anciana, concluye que la ingesta de hierro hemo y de fruta (que contiene altas dosis de vitamina C) promueve la elevación de los depósitos de hierro, mientras que los fitatos los disminuyen. En otro estudio realizado también sobre población anciana (Milman y cols., 2004) se observó una correlación positiva de la ferritina sérica con la ingesta de hierro dietético, de carne y de alcohol y negativa con el consumo de té. Estos estudios parecen indicar que el mecanismo de regulación feedback de la absorción dietética del hierro podría no proteger a los ancianos de su acumulación.

También se ha observado un aumento significativo de mortalidad general en aquellos individuos con niveles de hierro circulante elevados (STf) que consumen más de 18 mg de hierro dietético al día o cantidades altas de carnes rojas (Mainous y cols., 2004). Cade y cols. (2005) también observan una asociación positiva entre ingesta de hierro hemo y niveles de ferritina sérica en las mujeres, esta asociación fue aún mayor en las mujeres menopáusicas con alteraciones en el gen HFE. Con el consumo de alcohol también observó una asociación positiva con la ferritina sérica. El efecto del hierro hemo y el alcohol sobre el aumento de los depósitos de hierro ya se había descrito en estudio anteriores (Legget y cols., 1990; Rossi y cols, 2001). A diferencia del hierro hemo, el efecto del hierro no hemo en el aumento de los niveles de hierro en individuos con alteraciones en el gen HFE parece ser pequeño.

Un claro caso de enfermedad de sobrecarga de hierro causado por su ingesta oral es la llamada "Siderosis de los bantúes" que se observa en África Subsahariana. Está provocada por una

ingesta excesiva de hierro oral debido al consumo regular de la cerveza casera que fermentan en recipientes de hierro. Esta siderosis cursa con cirrosis hepática (Isaacson y cols., 1961) y diabetes (Seftel y cols., 1961). Sin embargo, estos efectos adversos podrían confundirse con la ingesta crónica de alcohol (Tsukamoto y cols., 1995) y posiblemente por algún desorden genético distinto a la Hemocromatosis ligada a HFE que afecte a los individuos bantúes (Gordeuk y cols., 1992; McNamara y cols., 1998). Aunque existen contradicciones a la hora de saber cómo estos individuos desarrollan sobrecarga de hierro, está claro que el agente causal de la cirrosis y la diabetes en la siderosis de los bantúes es el hierro.

El consumo de alcohol se ha asociado de forma insistente al aumento de los niveles de hierro. Es bien sabido que su consumo de forma abusiva deriva en un aumento de la acumulación hepática del hierro. El mecanismo por el cual se produce este efecto no se conoce de forma exacta, pero si se ha demostrado que los pacientes con cirrosis alcohólica tiene aumentados los niveles de hierro (Fletcher y cols., 2003). En un estudio realizado sobre individuos alcohol dependientes se observó que el consumo crónico duplicaba los niveles de hierro respecto a los no consumidores (Duane y cols, 1992) Incluso se ha visto un aumento de la expresión de los receptores de transferrina en los individuos con alcoholismo crónico (Suzuki y cols, 2002). No sólo el aumento del estado en hierro se ha observado con el consumo abusivo de alcohol. En un estudio transversal realizado en Australia observaron que el consumo de alcohol moderado (incluso bajo) provocaba un aumento de los niveles del hierro sérico y ferritina sérica (Whitfield y cols., 2001) este aumento se observó de forma más acusada con la ingesta de cerveza.

3.2.2.2 SUPLEMENTACIÓN CON HIERRO EN LA POBLACIÓN.

Las desordenadas pautas alimentarias provocadas por el frenético ritmo de vida en las sociedades modernas rompen con frecuencia nuestro equilibrio nutricional y ocasionan déficits que pretendemos suplir con aportes extras de vitaminas y minerales.

Según el informe SESPAS 2002 (Serra Majem y cols., 2002) el 16% de la población Española consume habitualmente complejos vitamínicos y minerales. Existe en el mercado una alta variedad de complejos multivitamínicos EFP (Especialidad Farmacéutica Publicitaria) que se pueden adquirir sin necesidad de receta médica. Estos suplementos multivitamínicos y minerales incorporan, en la mayoría de ellos, una cantidad considerable de hierro en forma de sulfato ferroso (Tabla 8),

que en los grupos con riesgo de sufrir exceso de hierro como son los hombres, mujeres posmenopáusicas, o personas portadoras de alguna alteración genética podría ser perjudicial.

Existen pocos estudios que valoren el riesgo sobre la salud de una dieta rica en hierro o la toma de suplementos de hierro en individuos cuyo estado en hierro sea adecuado.

Los efectos secundarios de las preparaciones orales de hierro a dosis terapéuticas de 50-220 mg hierro/día incluyen efectos gastrointestinales como vómitos, diarrea, estreñimiento y malestar gástrico (Brock y cols., 1985; Coplin y cols., 1991). Estos efectos son debidos a la irritación de la mucosa, a la alteración de la motilidad gastrointestinal y/o a la rápida transferencia del hierro a la circulación (Engle y cols., 1987; Cook y cols., 1990). Se han publicado casos de pacientes que han desarrollado hemocromatosis secundarias y han muerto por cirrosis, diabetes o fallo cardiaco después de ingerir dosis de 160-1200 mg de hierro al día durante un largo período de tiempo (Green y cols., 1989). Una dosis tóxica de hierro llega a producir la muerte aproximadamente en el 45% de los casos graves de intoxicación accidental que no son tratados a tiempo. Una dosis oral de 60 mg/kg de hierro puede ser letal.

Mientras que los pacientes con hemocromatosis deben evitar la toma de cualquier suplemento que contenga hierro en su composición (Barton y cols., 1998), esta suplementación en personas sanas está muy discutida.

Fleming y cols. (2002) observaron en el estudio Framingham (*Framingham Heart Study cohort*) que los individuos de edad entre 68-93 que tomaron ≥ 30 mg de suplementos de hierro al día, tuvieron los depósitos de hierro (FS) significativamente mayores que aquellos que no los tomaron. En otro estudio longitudinal se obtuvieron similares resultados con dosis menores (≥ 18 mg) también en población de la misma edad (60-93 años) (Garry y cols., 2000). También en el estudio de las enfermeras (*Nurse's Health Study*) se observó unos niveles mayores de forma significativa en la ferritina sérica de las mujeres posmenopáusicas que se suplementaron con dosis de hierro diarias de ≥ 21 mg (Liu y cols., 2003). En un artículo publicado sobre población del estudio NHANES (*Nacional Health and Nutrition Examination Survey*) además de observar un aumento de los depósitos en los hombres mayores de 30 años y en las mujeres posmenopáusicas que se suplementaron con ≥ 32 mg/día, en los hombres jóvenes de 19 a 31 años observan un aumento del hierro circulante medido con la saturación de la transferrina (STf) en aquellos que se suplementaron con la misma dosis de ≥ 32 mg/día respecto a lo que no

se suplementaron o lo hicieron con dosis menores (Blanck y cols., 2005).

En cuanto a la suplementación preventiva de hierro en el embarazo, es bien sabido que con la finalidad de evitar las carencias de hierro durante el mismo y prevenir las consecuencias negativas para la salud materna y neonatal se realiza a nivel clínico la suplementación preventiva con hierro durante el embarazo. Sin embargo, no todos los estudios han observado claramente un efecto beneficioso sobre el peso de nacimiento, ni una disminución de las complicaciones del embarazo. Posiblemente esta falta de evidencia pueda responder a factores que forman parte del proceso de mantenimiento u obtención de un estado de hierro óptimo durante la gestación que no han sido controlados en los estudios previos.

Uno de estos factores puede ser la presencia de alteraciones genéticas que aumenten la absorción del hierro suplementado, ante lo cual tendríamos un grupo de mujeres con riesgo de exceso de hierro. Por otra parte, la pauta de la suplementación no está bien establecida respecto a la dosis, frecuencia y momento de inicio. A pesar que la evidencia científica apoya la importancia de la suplementación durante el embarazo (Allen y cols., 2000) se han observado mayores perjuicios cuando la suplementación se realizaba con dosis altas, en mujeres no anémicas y en buenas cumplidoras de la prescripción (Beard y cols., 2000; Beaton y cols., 2000). Estas observaciones ponen de manifiesto el posible inconveniente del exceso de hierro durante el embarazo.

En un estudio que está realizando nuestro grupo de investigación con mujeres embarazadas, los resultados preliminares muestran que si bien la suplementación con hierro en el embarazo puede prevenir la anemia, esta suplementación en las embarazadas con depósitos de hierro normales puede no resultar inocua, ya que se observó en ellas un mayor grado de estrés oxidativo (1,93 vs 1,14 puntos de estrés oxidativo; $p < 0,05$) (datos no publicados).

En otro estudio pendiente de publicación de nuestro grupo de investigación realizado sobre otro grupo de mujeres embarazadas examinadas desde el estado preconcepcional, se analizó el efecto de la suplementación con hierro respecto a los niveles de hierro de la mujer antes de la concepción, y sólo se observó efecto beneficioso sobre el peso del recién nacido en aquellas mujeres suplementadas cuyo estado de hierro preconcepcional fue deficitario en hierro (García y cols., Sometido a revisión, Br J Nutr).

Tabla 8.- Especialidades farmacéuticas publicitarias más vendidas en oficina de farmacia que incorporan hierro en su composición.

EFP	Dosis de hierro (mg/comprimido)
Pharmaton complex	10
Multicentrum	14
Supradyn	8
Vital50	5,6
Micebrina	15
Dayamineral	34
Redoxon complex	12,5
Rochevit	50

Datos facilitados por la Farmacia Central, Tarragona.

3.2.3 OTROS FACTORES

Además de la dieta y la genética existen otros factores que conducen a sobrecargas de hierro secundarias como algunas enfermedades hematológicas que cursan con una inefectiva eritropoyesis como en los casos de las talasemias, anemias sideroblásticas o algunos síndromes mielodisplásicos. En estos casos, esta eritropoyesis inefectiva estimula el aumento de la absorción de hierro conduciendo a la sobrecarga de hierro clínica debido a la correlación directa entre el nivel de eritropoyesis y la absorción del hierro (Pootrakul y cols., 1988).

Otro caso de sobrecarga de hierro secundaria es el que se produce en algunas enfermedades hepáticas crónicas, como en la cirrosis debida a alcoholismo, en la hepatitis viral crónica o en la esteatohepatitis no alcohólica. El mecanismo por el cual el hierro se acumula en el hígado en estas condiciones no se conoce con exactitud, pero parece ser que la heterocigosis para la mutación C282Y podría jugar algún papel (Tung y cols., 2003). En la cirrosis, hay una disminución de la síntesis de transferrina y un aumento en plasma de los niveles de hierro no unido a transferrina (NTBI) lo que podría conducir a la sobrecarga hepática de hierro y toxicidad.

La hemocromatosis neonatal, se trata de una rara y fatal tipo de sobrecarga de hierro en la que existe una siderosis hepática ya desde el interior del útero o inmediatamente en el periodo

neonatal. Es conocido como hemocromatosis neonatal o perinatal y su etiología es desconocida. Aunque se cree que tiene un fuerte componente genético (Kelly y cols., 2001; Murray y Kowdley, 2001), no se ha visto que tenga relación con otros tipos de hemocromatosis conocidas hasta el momento (Silver y cols., 1987; Flynn y cols., 2003).

También en los casos de terapias con transfusiones repetidas se observa una sobrecarga de hierro que inicialmente se acumula en los macrófagos del sistema retículo endotelial y más tarde se deposita en las células parenquimatosas del hígado, corazón, páncreas y tejidos endocrinos de la misma forma que en la HH tipo 1 (Siah y cols., 2006).

El virus de la Hepatitis C, también puede producir sobrecarga de hierro ya que el daño en los hepatocitos hace que se libere el hierro acumulado en éstos (Farinati y cols., 1995).

Por último, en 1997, se describió la coexistencia del síndrome dismetabólico con sobrecarga férrica (Moirand y cols., 1997). Este síndrome es un proceso adquirido que aparece en personas mayores y que se caracteriza por la presencia de diversos trastornos de tipo metabólico (diabetes, hipercolesterolemia, hipertensión y obesidad). En un estudio realizado en Barcelona en el 2003 en el que se estudió 150 individuos con sobrecarga férrica, se diagnosticó el síndrome dismetabólico con sobrecarga férrica en el 15% de los pacientes (Altés y cols., 2003).

3.3 PREVALENCIA Y PENETRANCIA DE LAS MUTACIONES EN EL GEN HFE EN LA POBLACIÓN

PREVALENCIA

Hemos realizado una revisión de los estudios publicados sobre la prevalencia de mutaciones en el gen HFE en población adulta europea (Tabla 9) y hemos encontrado muy pocos realizados en población general.

En cuanto a la alteración C282Y en su forma homocigota no supera al 1,5%, mientras que en su forma heterocigota se puede encontrar hasta el 28,4% de la población en algunos países, observándose las mayores prevalencias en el norte europeo. Este aumento de la alteración C282Y en el norte europeo podría tener su explicación, ya que en un estudio de la prevalencia de esta mutación realizado en 42 poblaciones de distintos países, ha determinado que el alelo C282Y tiene su origen en las poblaciones de origen céltico y nórdico (Lucotte y cols, 2003). Este defecto genético, que no causó ningún obstáculo serio a la reproducción y pudo incluso haber conferido algunas ventajas, como son la resistencia a la deficiencia dietética del hierro y a ciertas enfermedades infecciosas, fue extendido a través de la migración de dicha población. En la actualidad, la mutación C282Y de forma homocigota se encuentra en aproximadamente 5 de cada 1000 personas en los descendientes del norte de Europa aunque parece no afectar de forma importante a nuestra zona geográfica.

En cuanto a la alteración H63D como podemos observar en la tabla 9, en Europa presenta una prevalencia mayor que la anterior, ya que se puede encontrar hasta el 7,8 % en su forma homocigota y hasta casi el 40% en su forma heterocigota. Para esta mutación la mayor prevalencia se ha observado en el sur europeo y concretamente España, es uno de los países que con mayor frecuencia se encuentra esta mutación. En cuanto al compuesto C282Y/H63D, su prevalencia no supera el 4% de la población, según los estudios observados en Europa.

En un estudio realizado en EUA y Canadá sobre individuos de diferentes razas, se observó la mayor prevalencia de la alteración C282Y en los individuos de raza blanca y la menor en los de raza asiática. En cuanto la alteración H63D, la mayor prevalencia se encontró en individuos de raza blanca, nativos americanos e hispanos (Adams y cols., 2005).

Respecto a la tercera alteración (S65C) existen muy pocos estudios que muestren su prevalencia, pero parece ser que es poco frecuente (Tabla 9). En España, en un valioso estudio realizado en neonatos se observó que la frecuencia alélica de la mutación C282Y fue del 3%, de la mutación H63D el 22 %, y de la S65C del 1% (Altés y cols., 2004)

A pesar del interés de conocer a nivel poblacional su prevalencia, no existen estudios de prevalencia de las mutaciones C282Y, H63D y S65C en la población adulta mediterránea del noreste español realizados en población general elegida al azar.

Tabla 9 (a).- Frecuencia de las alteraciones del gen HFE en el norte de Europa

Población de estudio	n	Pobl. General	C282Y /C282Y %	H63D /H63D %	S65C /S65C %	C282Y /X %	H63D /X %	S65C /X %	C282Y /H63D %	C282Y /S65C %	H63D /S65C %
Norte de Europa											
Dinamarca (Merryweather-Clarke y cols., 1999)	219	Si	1,4	0	*	13,7	12,3	*	0	*	*
Dinamarca (Islas Feroe) (Milman y cols., 2005)	200	No	0	1,5	0	14	29,9	2	2	0	0
Escocia (Campbell y cols., 2003)	493	No	1	2	*	16,2	23,3	*	3	*	*
Francia (Bretaña) (Jezequel y cols., 1998)	254	No	0,8	2,4	*	13,8	25,6	*	3,5	*	*
Irlanda (Ryan y cols., 1998)	109	No	0	3,7	*	28,4	24,8	*	3,7	*	*
Irlanda del Norte (Murphy y cols., 1998)	404	No	1,2	1,5	*	14,8	22,8	*	2,5	*	*
Noruega (Oslo) (Distante y cols., 1999)	505	No	0,4	1,4	*	12,7	18	*	2,2	*	*
Reino Unido (Gales) (Jackson y cols., 2001)	10556	No	0,7	2,4	*	12,7	23,6	*	2,4	*	*
Dinamarca (Copenhague) (Andersen y cols., 2004)	9174	Si	0,25	1,7	*	9,2	20,5	*	1,4	*	*
Francia (Bretaña) (Jouanolle y cols., 1997)	139	Si	0	3,6	*	3,6	23,7	*	2,2	*	*
Francia (Bretaña) (Jouanolle y cols., 1998)	1000	No	0,5	*	*	12	*	*	*	*	*
Francia (Bretaña) (Mura y cols., 1999)	410	-	0,5	0,7	*	12,2	24,4	*	2,2	*	*
Islandia (Merryweather-Clarke y cols., 1999)	231	Si	0,4	0,4	*	6,5	19,5	*	1,7	*	*
Suecia (Estocolmo) (Holmström y cols., 2002)	250	No	0,4	2,8	0	10,4	16	2,4	0,8	0,4	0,4

*No Determinado, - No Especificado. Estudios con más de 100 individuos

Tabla 9 (b).- Frecuencia de las alteraciones del gen HFE en el centro y sur de Europa

Población de estudio	n	Pob. General	C282Y /C282Y %	H63D /H63D %	S65C /S65C %	C282Y /X %	H63D /X %	S65C /X %	C282Y /H63D %	C282Y /S65C %	H63D /S65C %
Centro de Europa											
Alemania (Gottschalk y cols, 1998)	153	No	0	2	*	3,3	19	*	2	*	*
Austria (Koppel y cols, 2004)	296	No	0	1,4	*	7,1	22,7	*	1,8	*	*
Sur de Europa											
España (Barcelona) (Sánchez y cols, 1998)	420	No	0,2	4,1	*	4,5	33,8	*	1,4	*	*
España (Barcelona) (Sánchez y cols, 2003)	5370	No	0,1	4,6	*	4,6	31	*	1,4	*	*
España (Cantabria) (Fábrega y cols, 1999)	213	No	0	*	9	*	*	*	*	*	*
España (Donosti) (De Juan y cols, 2001)	213	No	0	7,8	0	6,9	38,8	4,3	3,4	0	0
España (Islas Baleares)											
Mallorca	192	No	0	1,6	*	4,7	34,9	*	1	*	*
Ibiza	169	No	0	4,7	*	6,5	31,4	*	1,8	*	*
Menorca	167	No	0	3,6	*	1,2	27,5	*	0	*	*
Mallorca ^(a) (Guix y cols., 2002)	137	No	0	5,1	*	0	43,1	*	0	*	*
España (Madrid) (Alvarez y cols, 2001)	125	No	0	1,6	*	4	28,8	*	*	*	*
España (Madrid) (Ropero y cols., 2006)	1000	No	0	3,2	*	3,1	26,4	*	0,2	*	*
España (Mallorca) (Guix y cols, 2000)	210	No	0	*	*	2,8	*	*	*	*	*
España (Murcia) (Muro y cols., 2007)	740	No	0	5,4	0	1,4	43,2	4,1	-	-	-
Grecia (Merryweather-Clarke y cols, 1997)	196	No	0	3,1	*	2,6	20,9	*	0	*	*
Italia (Módena) (Cassanelli y cols, 2001)	2100	No	0	2,5	*	3,1	21,5	*	2	*	*
Italia (Apulian) (Pietrapertosa y cols, 2003)	500	Si	0	1	0	3	26	1	*	*	*
Portugal (Cardoso y cols., 2001)	Norte: 126	Si	0,8	6,2	*	7,7	24	*	2,3	*	*
	Sur: 116	Si	0	6	*	0	19,8	*	1,7	*	*

*No Determinado, - No Especificado, ^(a) El estudio se realizó en Judíos (Chuetas). Estudios con más de 100 individuos

PENETRANCIA

La transferencia duodenal de hierro al plasma es inapropiadamente alta para el organismo en los pacientes con HH, de forma que su absorción intestinal excede a su excreción.

La primera manifestación bioquímica en todas las formas de HH es la elevación de la STf, lo que refleja una incontrolada afluencia de hierro a la circulación sanguínea proveniente de los enterocitos y los macrófagos.

El aumento de la absorción de hierro dietético por los enterocitos duodenales juega un papel esencial en el aumento del hierro corporal total, pero también los macrófagos son una buena fuente del hierro que se encuentra en plasma (Bothwell, 1995). En la HH parece ser que los enterocitos y macrófagos exportan más hierro de lo normal a la circulación, de forma que aumenta la cantidad de hierro en plasma pero disminuye en su interior celular (Pietrangelo, 2004).

La expresión clínica de la HH clásica es muy variable entre pacientes ya que los depósitos de hierro pueden variar hasta en 10 veces debido al tipo de alteración genética, a factores medioambientales como la dieta, y a personales como las pérdidas de hierro a través de hemorragias o donaciones de sangre. Mientras que muchos estudios han observado que la mayoría de los individuos homocigotos para C282Y desarrollan sobrecarga de hierro reflejado por un aumento de los niveles de STf y FS, un 20-30% de los individuos homocigotos podrían no desarrollarla (Olynyk y cols., 1999; McCune y cols., 2002; Waalen y cols., 2002).

En un estudio realizado en Australia, se observó que el 94% de los individuos que fueron homocigotos para C282Y tenían niveles de STf >45% y se detectó fibrosis o cirrosis hepáticas en más del 25% (Olynyk y cols., 1999). En estudios realizados en Estados Unidos y Noruega esta afectación hepática se observó tan solo en el 1-5% de los individuos homocigotos (Asberg y cols., 2001; Beutler y cols., 2002; Waalen y cols., 2002).

Rossi y cols. (2001) observaron un aumento del hierro sérico y de la STf en las mujeres con el compuesto heterocigoto C282Y/H63D respecto al salvaje, y en los hombres además del compuesto C282Y/H63D, se observó con el heterocigoto para C282Y. En cuanto a los depósitos medidos con la ferritina sérica, no se observaron diferencias respecto a los diferentes genotipos ni en hombres ni en mujeres.

Introducción

En un estudio realizado sobre población descendiente anglo-celta se observó que solo 1 de cada 700 individuos con sobrecarga de hierro clínica no presentó ningún tipo de mutación en el gen HFE (Olynyk y cols., 1999). Sin embargo, en un estudio realizado en Italia se demostró que las mutaciones en el gen HFE solo se observaron en la tercera parte de su población con sobrecarga de hierro (Piperno y cols., 1998).

3.4 MECANISMOS FISIOPATOLÓGICOS DEL EXCESO DE HIERRO

3.4.1 EL HIERRO Y LA TEORÍA OXIDATIVA

El estrés oxidativo es un estado de desequilibrio del sistema prooxidante-antioxidante del organismo. En un estado de equilibrio oxidativo, el sistema antioxidante del organismo es capaz de eliminar las especies reactivas de oxígeno (ERO) que produce el individuo. Sin embargo, en una situación de estrés oxidativo, este sistema antioxidante es incapaz de eliminar las ERO totalmente y es cuando se produce el daño oxidativo. Esta situación se puede producir o bien por un aumento de la agresión por parte de las ERO o por una disminución de los antioxidantes que se encargan de neutralizarlas (Mallol J y cols., 2004).

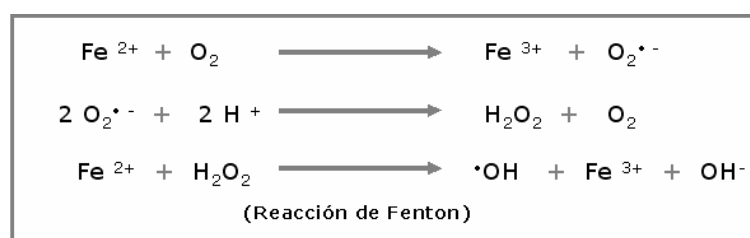
Varios autores han propuesto la hipótesis de que cúmulos de hierro inferiores a la sobrecarga severa que se observan en la HH, es decir una sobrecarga moderada o leve de hierro, pudieran estar relacionados con la aparición de ciertas enfermedades crónicas, muy graves y frecuentes en nuestra población, como enfermedad cardiovascular o cáncer (Sullivan, 1981; Salonen y cols., 1992; Morrison y cols., 1994; Araujo y cols., 1995; Weinberg, 1996; Tuomainen y cols., 1998; De Valk y Marx, 1999; Day y cols., 2003; Huang, 2003; Yuan y Li, 2003; Kallianpur y cols., 2004). Estos autores indican que el exceso de hierro puede provocar, incluso cuando es moderado, un aumento del estrés oxidativo y mediante este mecanismo actuaría como un factor de riesgo promotor de estas enfermedades.

La hipótesis de la teoría oxidativa del hierro está basada en que el hierro es un mineral prooxidante y a través del estrés oxidativo podría aumentar la lipoperoxidación de las lipoproteínas de baja densidad que promoverían la aterogénesis o el daño miocárdico después de un acontecimiento isquémico mediante el aumento de las ERO. Del mismo modo, dichas ERO podrían oxidar proteínas y ácidos nucleicos pudiendo conducir a mutaciones derivando en procesos cancerosos (Weinberg, 1996; McCord, 1998; Huang, 2003; Kallianpur y cols., 2004; Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

El hierro contiene electrones desapareados y puede ser considerado como un radical (Halliwell y Gutteridge, 1990). En condiciones aeróbicas, el hierro ferroso (Fe^{2+}) se oxida conduciendo, a través de la pérdida de un electrón que es recibido por el oxígeno, a la formación del radical anión superóxido ($\text{O}_2^{\bullet-}$). La generación de $\text{O}_2^{\bullet-}$ da origen a peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que a su

Introducción

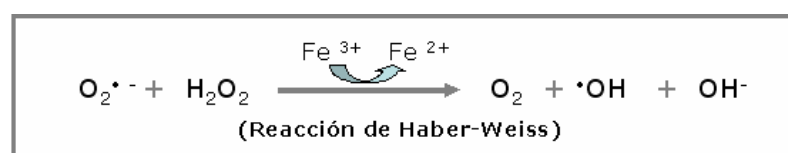
vez puede reaccionar con el Fe^{2+} a través de la reacción de Fenton (Wardman y Candeias, 1996), produciendo el radical hidroxilo ($\cdot\text{OH}$) que es el agente oxidante más potente y reactivo de todos los que se conocen (Pré, 1991). De esta forma el hierro resulta un catalizador de la producción de intermediarios de la reducción parcial del oxígeno de alta reactividad:



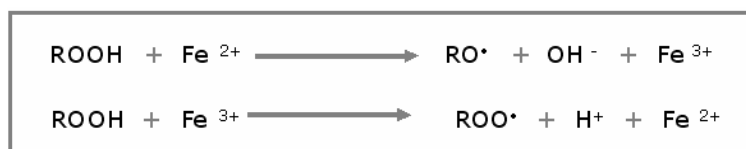
El factor limitante de la reacción lo marcaría la disponibilidad de iones ferrosos, pero debido al reciclaje del hierro gracias a un agente reductor que transforma el hierro férrico a ferroso, es posible el mantenimiento de la reacción de Fenton. Un posible agente reductor es el anión superóxido:



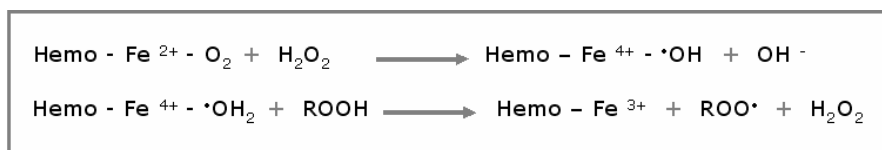
De esta forma, en presencia de hierro, la reacción del superóxido con el peróxido de hidrógeno generará los peligrosos radicales hidroxilo que a su vez iniciarán la oxidación de sustratos orgánicos:



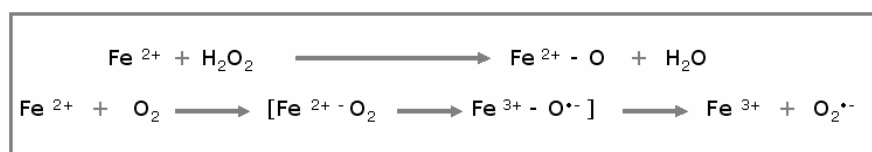
El hierro no solo es capaz de catalizar la generación de radicales hidroxilo, también interviene en la peroxidación lipídica aumentando la velocidad de oxidación de lípidos a través de la conversión de los hidroperóxidos lipídicos (ROOH) en radicales alcoxilos ($\text{RO}\cdot$) y peroxilos ($\text{ROO}\cdot$):



También se ha sugerido que el hierro hemo (tanto libre como formando parte de hemoproteínas) podría catalizar la formación de ERO principalmente a través de la vía de formación de intermediarios de oxoferril (Ryter y Tyrrell, 2000):



Finalmente, el hierro ferroso (Fe^{2+}) también puede contribuir, como reactante más que como catalizador, a la formación de ERO mediante la interacción directa con el oxígeno vía intermediarios del hierro ferril ($\text{Fe}^{2+} - \text{O}$) o perferril ($\text{Fe}^{2+} - \text{O}_2$):



En resumen, las ERO son especies altamente reactivas y pueden promover la oxidación de proteínas, la peroxidación de los lípidos de membrana y la modificación de los ácidos nucleicos (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

Además del aumento de hierro en el organismo que puede ocasionar los factores genéticos o dietéticos, existen una serie de mecanismos que precipitarán la liberación del hierro por parte de la ferritina, como son la presencia de sustancias como el superóxido (Thomas y cols., 1985), la disminución de la actividad ferroxidasa de la cadena H cuando se produce un descenso del medio aeróbico (Ellervik y cols., 2001) y las concentraciones bajas de antioxidantes. La disminución de antioxidantes aumenta el potencial reductor y la anaerobiosis, lo que facilita la reducción del

hierro a forma ferrosa y su liberación por la ferritina (Sakaida y cols., 1990; Reif, 1992). El hierro liberado participa a su vez, en la formación de radicales libres a través de las reacciones que hemos visto anteriormente.

Por lo tanto, la ferritina puede actuar por una parte como mecanismo protector frente a los procesos oxidativos (Juckett y cols., 1995) ya que el estrés oxidativo induce la síntesis de ferritina de forma directa o indirecta para que a través de su estructura "secuestre" el hierro oxidado evitando de esta forma su toxicidad; pero por otra parte la ferritina es una potencial fuente de hierro inductora de estos procesos oxidativos que causan daño celular a través de la liberación del hierro de su estructura (Reif, 1992).

3.4.2 PATOLOGÍAS ASOCIADAS A SOBRECARGA DE HIERRO

3.4.2.1 ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Desde el estudio llevado a cabo por Sullivan (Sullivan, 1981) en el que se propuso la hipótesis de la relación entre los depósitos de hierro y la arterosclerosis, muchos investigadores han estudiado el papel del hierro en la Enfermedad Cardiovascular (ECV) (Ascherio, 1994; Morrison, 1994; Sempos, 1994; Kiechl, 1997).

Sin embargo, a lo largo de la literatura existen resultados contradictorios, una de las razones podría ser la gran controversia a la hora de determinar el mejor parámetro para diagnosticar el exceso de hierro, ya que existen autores que creen que es mejor la saturación de transferrina (Mc Cullen y cols., 2002; Wells y cols., 2004), otros apuestan por la ferritina sérica (Salonen y cols., 1992; Araujo y cols, 1995), y otros por determinar el hierro no unido a transferrina (NTBI) (Gackowski y cols., 2001). Otra de las razones de la discrepancia en los resultados podría ser el hecho de no tener en cuenta el papel de la oxidación de la LDL que podría ser un cofactor necesario a la hora de inducir la aterogénesis por el hierro.

El nivel de lipoproteínas de baja densidad (LDL) por encima de 100 mg/dl se ha relacionado con el desarrollo de enfermedad cardiovascular (NCEP, 2002). Sin embargo, la reducción en la

mortalidad al tratar este aumento de LDL no fue tan importante como en un principio se creyó (Pignone y cols, 2000). Por lo que a través de diferentes estudios los investigadores concluyeron que la medida de LDL total no correlacionaba tan bien con la ECV como la determinación de la LDL oxidada.

Existen evidencias que la LDL oxidada es un culpable importante en la progresión de la ECV (Iuliano, 2001). De hecho, varios estudios han encontrado niveles altos de LDL oxidada tanto en el suero como en las placas ateroscleróticas de individuos con ECV extendida (Ehara, 2001; Tsimikas, 2001).

El hierro juega un papel muy importante en la formación de las células espumosas mediante la oxidación de las LDL y su aumento podría contribuir a la patogénesis de la arterosclerosis (Kraml PJ, 2005). Esta relación ya la describió Wells y cols. (2004) en el estudio de mortalidad NANHES II donde observaron que los individuos que tenían los niveles de LDL altos junto con niveles elevados de STf tuvieron un aumento significativo de muerte por enfermedad cardiovascular y mortalidad general respecto de aquellos que tuvieron solo uno de los dos parámetros alterados, y concluyen que, el elevado LDL combinado con un elevado STf es fuertemente predictivo de mortalidad Cardiovascular en un intervalo de 12 años.

En un estudio anterior realizado en conejos (Araujo y cols, 1995), ya habían observado el mismo efecto ya que demostraron que la sobrecarga de hierro medida con la FS aumentó la formación de lesiones ateromatosas en los conejos hipercolesterolémicos. En otro estudio in vitro se observó que al añadir LDL a las células de cultivo, se produjo un aumento de los niveles de hierro libre intracelular, lo que indicaba una relación directa entre LDL y el metabolismo del hierro (Van Lenten y cols, 1995). Más recientemente Gackowski y cols. (2001) observaron unos altos niveles de hierro libre en los linfocitos de los pacientes con arteriosclerosis respecto a los individuos control, lo que refuerza la hipótesis de la relación del hierro con la placa aterosclerótica a través de la hipótesis de la teoría oxidativa.

Como hemos comentado anteriormente, existe una gran controversia a la hora de determinar cual es el parámetro más indicado para el diagnóstico de la sobrecarga de hierro como factor de riesgo cardiovascular. Según Moirand y cols. (1997) son necesarios tanto la STf como la FS para detectar todos los tipos de sobrecarga de hierro, ya que existen casos de exceso de hierro en los que tan solo un parámetro se encuentra alterado, manteniendo al otro en los niveles

normales.

En el estudio de Kuopio (Salonen y cols., 1992), observaron que unos niveles moderadamente altos de ferritina sérica en hombres (≥ 200 $\mu\text{g/l}$) se asociaban a un aumento del riesgo de infarto de miocardio 2.2 veces mayor que aquellos que tuvieron los niveles normales. Esta asociación fue más fuerte en los hombres con LDL-colesterol ≥ 5 mmol/l. Esta relación también la encontramos en un estudio realizado por Wolf y cols. (2004), donde observan un aumento de la prevalencia de placa de ateroma a medida que aumenta la ferritina sérica en los hombres. En las mujeres esta relación se observaba a partir de la menopausia, lo que apoya la hipótesis de que los bajos depósitos de hierro en las mujeres debido a pérdidas menstruales y a factores hormonales, sería un factor protector de la aterogénesis en ellas (Sullivan, 1981). Esta hipótesis se refuerza en el estudio de Brunek (Kiechl, 1997) donde se vió que las mujeres con mayor acumulación de hierro por la menopausia, tuvieron la mayor incidencia de arterosclerosis carotídea. Hallazgos similares se observaron en un estudio reciente, donde los niveles altos de ferritina sérica se han asociado con un aumento del riesgo de embolia isquémica en las mujeres posmenopáusicas (van der y cols., 2005).

En una reciente publicación, se ha observado una disminución del riesgo cardiovascular en los individuos donantes de sangre habituales (Zheng y cols., 2005) respecto a los no donantes. En los individuos donantes se observaron unos depósitos de hierro más bajos, así como un menor estrés oxidativo y una mejor función vascular. También en una cohorte de hombres mayores de 50 años a los que se les realizó flebotomías para disminuir los depósitos de hierro (medidos con la FS) se observó una disminución significativa de la susceptibilidad de oxidación de las LDL (Salonen y cols., 1995).

En cuanto a la dieta, Lee y cols. (2005) han observado en un reciente estudio una estrecha relación entre la ingesta de hierro hemo con la mortalidad por enfermedad cardiovascular, proponiendo al hierro hemo como un posible factor prooxidante.

3.4.2.2 CÁNCER

A diferencia de otros metales, el hierro no tiene propiedades carcinogénicas per se, sin embargo, la sobrecarga de hierro está claramente asociada con un alto riesgo de carcinogénesis

(Huang, 2003). Es bien sabido que una de las complicaciones más comunes de la hemocromatosis hereditaria es el desarrollo de carcinoma hepático (Deugnier y Turlin, 2001) afectando aproximadamente al 30% de los pacientes con acumulación de hierro patológica en los tejidos parenquimatosos. También se ha asociado a la HH otras formas de cáncer como el esofágico, de piel y a la leucemia aguda mieloide. Además, en un estudio realizado sobre mujeres con cáncer de mama, se observó un aumento de la frecuencia del alelo C282Y del gen de la HH (Kallianpur y cols., 2004).

Además de la relación del cáncer con los pacientes con HH, el aumento de los niveles de hierro se ha asociado diversos cánceres como cáncer colorrectal, hepático, de riñón, de estómago y pulmón (Huang y cols, 2003). En un importante estudio realizado sobre mujeres menopáusicas se observó una estrecha relación entre ingesta de hierro hemo y mayor riesgo de cáncer de pulmón (Lee y Jacobs, 2005c) y de cáncer del tracto digestivo superior (Lee y cols., 2005b).

El efecto del estado del hierro sobre la incidencia de cáncer no siempre se ha observado claramente en todos los grupos de población, por ejemplo en el estudio de intervención SUVIMAX realizado en Francia no se observó ninguna relación entre el estado del hierro y riesgo de cáncer en hombres, pero sí en las mujeres con ferritina sérica > 160 µg/l (Hercberg y cols., 2005).

El mecanismo a través del cual el hierro induce la transformación neoplásica está poco estudiada pero existen varias teorías, una de ellas propone que el hierro al interrumpir el balance redox celular y generar estrés oxidativo, podría modular la señal relacionada con la transformación neoplásica (Benhar y cols., 2002). Además de la producción de especies reactivas de oxígeno por parte del hierro, otros factores que relacionan al exceso de hierro con el cáncer es la reducción de los mecanismos protectores para combatir el estrés oxidativo y la facilitación del crecimiento del tumor debido a que las células necesitan hierro para su crecimiento (Dayani y cols., 2004).

3.4.2.3 DIABETES

El aumento de los niveles de hierro también se ha asociado a Diabetes Mellitus de tipo 2 (DM2). Varios estudios han observado un aumento de ferritina sérica en aquellos pacientes con DM2 o con intolerancia a la glucosa (Ford y Cogswell, 1999). Incluso se ha sugerido que la concentración de

ferritina podría predecir el desarrollo de la DM2 (Salonen y cols., 1998; Jiang y cols., 2004). En un principio se pensó, que al ser la FS un reactante de fase aguda, su aumento podría deberse a la inflamación ligada a la DM2, pero estudios posteriores han descartado que el aumento de la ferritina sérica observada en la DM2 sea producido por la inflamación (Ford y Cogswell, 1999; Jiang y cols., 2004). Incluso en un estudio reciente se ha observado un aumento del hierro no unido a la transferrina (NTBI) en pacientes con DM2 (Lee y cols., 2005).

También se ha observado un aumento de la prevalencia de la mutación C282Y de la HH en pacientes con DM2 caucásicos frente a controles (Kwan y cols., 1998; Moczulski y cols., 2001). En España, los sujetos con DM2 tienen un aumento de la prevalencia de la mutación H63D que se acompaña en el 45% de los casos de hiperferritinemia (Fernández-Real y cols., 1999). Sin embargo, en un reciente metaanálisis no se pudo demostrar asociación significativa entre mutaciones en el gen HFE y DM2 (Halsall y cols., 2003).

Los depósitos de hierro se han asociado a diferentes componentes del síndrome de resistencia a insulina o síndrome metabólico. Existe una clara asociación entre dismetabolismo, DM2 e hiperferritinemia, sin embargo, a día de hoy todavía no está claro si el aumento de los depósitos de hierro tiene un papel causal en la aparición de DM2 o si es una de las varias anomalías que aparecen en el desarrollo de la diabetes (Jehn y cols., 2007).

Altés y cols. (2005) barajan dos hipótesis para explicar esta relación. Una de ellas sería la "hipótesis radicalaria", en la que una elevación de los depósitos férricos causaría daño radicalario permanente y con los años, podría estar relacionada con la generación de diabetes. La segunda o "hipótesis inflamatoria" apuntaría a una causa inflamatoria de la diabetes, y la elevación de ferritina sería meramente consecuencia del proceso inflamatorio. Aunque existen datos que apuntan a que el aumento de la ferritina es previa a la DM2 y al dismetabolismo (Jiang y cols., 2004; Mascitelli y Pezzeta, 2006), por el momento no se debe descartar ninguna de las dos hipótesis.

3.4.2.4 ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

Recientemente se ha asociado la alteración de la regulación del metabolismo del hierro en el sistema nervioso central (SNC) a varias enfermedades neurodegenerativas (Ponka, 2004).

Se ha observado altas concentraciones de hierro en el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer (Rottkamp y cols., 2001), Parkinson (Jellinger, 1999), y otras enfermedades menos comunes como enfermedad de Huntington o ataxia de Friedreich (Berg y Youdim, 2006). En estas enfermedades, la inducción de estrés oxidativo por parte del hierro combinado con una defectuosa capacidad antioxidante del organismo promovería la muerte neuronal y la neurodegeneración (Papanikolaou y Pantopoulos, 2005).

Sin embargo, no se ha establecido aún si la acumulación del hierro en el cerebro es el proceso desencadenante de la enfermedad o si es un efecto secundario.

En un estudio reciente se ha observado un aumento de la frecuencia de enfermedad de Parkinson en individuos homocigotos para la mutación C282Y del gen de la HH (Dekker y cols, 2003). En cuanto al Alzheimer, existen evidencias de que el hierro podría actuar junto con otros factores en la producción de radicales libres. Mainous III apoyándose en un estudio anterior lanza la hipótesis de que el hierro podría no ser el único factor que actuara en la producción de placas seniles, debido a que existen estudios que observan una correlación positiva entre niveles elevados de colesterol sérico y desarrollo de Alzheimer (Evans, 2000). Esta relación, lleva a este autor a realizar un estudio que relaciona el colesterol, la saturación de transferrina y el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, llegando a la conclusión de que el riesgo de desarrollar la enfermedad es mucho mayor cuando se encuentran los dos parámetros alterados que cuando existe uno solo (Mainous y Eschenbach, 2005).

3.5 PREVALENCIA DE SOBRECARGA DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

En los últimos años los investigadores están poniendo cada vez más interés en el estudio de la sobrecarga férrica en los países occidentales.

Altés y cols. (2004) observaron en un estudio sobre la población Catalana que un 9.3% de la población adulta (14.7 % los hombres y 3.8 % las mujeres) presentaban sobrecarga férrica con valores de ferritina sérica superior a 300 µg/l y 200µg/l en hombres y mujeres respectivamente. En mayores de 50 años este porcentaje fue aún mayor, llegando al 20,4% de los hombres y 9,4% de las mujeres. En cuanto a la saturación de la transferrina que es el método de cribado de elección para la hemocromatosis, se encontró elevada (>45%) en el 9% de la población (11.7 % de hombres y 6.3 % de las mujeres). Estos resultados coinciden con otros estudios realizados en países occidentales (Milman y cols., 2002; Milman y cols., 2003a).

En la evaluación del estado férrico de una población de 1016 ancianos pertenecientes al estudio Framingham Heart Study, un 13% presentaron sobrecarga férrica medidos con la ferritina sérica (Fleming y cols., 2001).

En otro estudio realizado en Méjico sobre donantes de sangre (Baptista-Gonzalez y cols., 2005) en el que se estudió la prevalencia de sobrecarga férrica medida con la ferritina sérica (>200 µg/l mujeres, >300 µg/l en hombres), la prevalencia de sobrecarga fue de 12% en hombres y 4,8% en las mujeres.

En un intento de conocer las causas que provocan sobrecarga férrica, Altés y cols. (2003) realizaron un estudio sobre 150 individuos con sobrecarga férrica diagnosticada con la STf y FS. Como causa principal observaron mutaciones en el gen HFE, y el resto de las causas fueron el virus de la hepatitis C, la presencia de enfermedades inflamatorias en las que la ferritina actuaría como reactante de fase aguda y el síndrome de sobrecarga férrica ligado a alteración metabólica descrita por Moirand y cols. (1997), en el que el aumento de ferritina sérica se asocia a las alteraciones propias del síndrome metabólico como la obesidad, dislipemia y las alteraciones del metabolismo de los hidratos de carbono. Sin embargo, existen varios estudios en los que no se ha observado que este aumento de ferritina sérica sea debido a inflamación.

Por ejemplo, en un estudio realizado sobre población anciana, se observó una alta prevalencia de hiperferritinemia, sin embargo, menos del 1% presentaban signos de inflamación medido por la velocidad de sedimentación globular (Fleming y cols., 2001). En otro estudio reciente tampoco se observó que la elevación de ferritina sérica en pacientes con síndrome metabólico fuese debida a la inflamación (medida por la proteína C reactiva) (Jehn y cols., 2004).

Es importante resaltar un estudio en el que se realizó la evolución de la prevalencia de sobrecarga de hierro durante una década en la población danesa. Se observó que la sobrecarga férrica en los varones aumentó entre 1984 y 1994 del 11,3 al 18,9%, y en las mujeres posmenopáusicas del 2,4 al 5,5% (Milman y cols., 2002; Milman y cols., 2003a).

4. MÉTODOS DE VALORACIÓN

4.1 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS DEL ESTADO EN HIERRO

Existen diferentes parámetros que están relacionados con el metabolismo del hierro y que reflejan su estado en el organismo. Los más utilizados son los siguientes:

COMPARTIMENTO FUNCIONAL

HEMOGLOBINA (HB): La hemoglobina es la proteína que transporta el oxígeno a la sangre y se encuentra en los glóbulos rojos. Las anomalías de los valores de la hemoglobina indican defectos en la homeostasis de los glóbulos rojos y tanto los valores altos como los bajos son indicadores de estados patológicos.

La hemoglobina es el pigmento rojo que se encuentra en los hematíes, cuya función principal está relacionada con el transporte de oxígeno. El hierro es un componente esencial de la hemoglobina, por lo que cambios en el estado del hierro en el organismo afectará en los niveles de hemoglobina. Así por ejemplo, una concentración baja de hemoglobina produce hipocromía, la cual es una característica relacionada con la anemia por déficit de hierro.

El uso de la hemoglobina como un indicador del estado del hierro posee algunas limitaciones debido a que existen determinadas condiciones que afectan sus niveles, como en el caso de la deshidratación, procesos inflamatorios crónicos, policitemia, hábito de fumar, infección crónica, hemorragias, deficiencia de vitamina B₁₂ y ácido fólico, malnutrición proteico-energética, embarazo y hemoglobinopatías.

Al considerar los valores normales para este parámetro es necesario tener en cuenta las variaciones existentes que dependen de la edad, el sexo y la raza de la persona, ya que estos valores presentan pequeñas pero significativas variaciones en cada caso particular. En la tabla 10 se muestran los valores normales de hemoglobina respecto al sexo así como de todos los parámetros que se van a describir a continuación.

HEMATOCRITO (HTO): Es el porcentaje del volumen total de sangre compuesto de glóbulos rojos y sus valores normales dependen de la edad, sexo y raza del individuo.

La utilización del hematocrito para determinar el estado del hierro posee algunas desventajas ya que al igual que en el caso de la determinación de la concentración de la hemoglobina, el hematocrito se ve afectado por diferentes factores. Otra desventaja de este método es la falta de precisión, especialmente cuando se utilizan muestras obtenidas de sangre capilar. Sin embargo, pese a estas limitaciones el hematocrito tiene como ventaja ser un método económico, simple y rápido.

ÍNDICES ERITROCITARIOS: Estos índices están constituidos por el volumen corpuscular medio (VCM), la hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM).

Estos parámetros sirven para determinar el tamaño, el contenido y la concentración de hemoglobina de los glóbulos rojos, pudiéndose calcular a partir de la determinación de los valores de concentración de hemoglobina, hematocrito y número de glóbulos rojos. El VCM es el volumen medio de los eritrocitos y se calcula como la relación entre el valor del hematocrito y el número de células rojas. La HCM es el contenido promedio de hemoglobina de los eritrocitos y se calcula como la relación entre el valor de la concentración de hemoglobina y el número de células rojas. La CHCM es la concentración media de hemoglobina en un volumen determinado de glóbulos rojos y se calcula como la relación entre la concentración de hemoglobina y el valor del hematocrito.

Los valores normales de estos parámetros están tabulados y varían fundamentalmente en función de la edad y el sexo del individuo. Las desviaciones de estos parámetros con respecto a sus valores normales son especialmente útiles para la caracterización de los distintos tipos morfológicos de anemias.

COMPARTIMENTO DE TRANSPORTE

SIDEREMIA O HIERRO SÉRICO (HS): El hierro del compartimento de transporte representa menos del 1% del hierro corporal. La interpretación de los niveles de hierro puede llevar a error ya que la sideremia experimenta grandes fluctuaciones puesto que fisiológicamente depende de un ritmo

circadiano (durante la noche disminuye de un 20 a un 30%) y además, con la ingesta de alimentos hay un incremento de hierro en la etapa postprandial.

Existen otras situaciones que interfieren en los niveles de hierro, por ejemplo, disminuye en la segunda mitad de embarazo, menstruación, lactancia o adolescencia, en procesos inflamatorios, en el déficit de hierro o la anemia de los procesos crónicos (asociada al bloqueo de hierro en el sistema reticuloendotelial) y aumenta en el caso de transfusiones, intoxicación férrica, hemocromatosis primaria o secundaria y citolisis.

TRANSFERRINA SÉRICA Y CAPACIDAD DE FIJACIÓN DEL HIERRO A LA TRANSFERRINA (CFHT): Junto con la Saturación de la Transferrina (STf) son parámetros que se relacionan con el intercambio de hierro entre el sistema reticuloendotelial y la médula ósea.

La transferrina es la proteína que transporta el hierro en la circulación y casi todo el hierro plasmático se encuentra unido a ella. Como consecuencia de ello, el contenido de hierro en el suero refleja el número de átomos de hierro unidos a la transferrina.

Cada molécula de transferrina puede unir hasta dos átomos de hierro, razón por la cual la CFHT está relacionada con la fracción de sitios libres que posee la transferrina para el transporte de hierro, por lo que la CFHT es realmente una medida de nivel de la transferrina sérica ya que mide la cantidad de proteínas que fijan el hierro. Se calcula multiplicando la transferrina sérica en g/l por 20. Los niveles de transferrina y CFHT aumentan en el déficit de hierro y disminuyen en la sobrecarga de hierro y en la anemia de los trastornos crónicos.

SATURACIÓN DE LA TRANSFERRINA (STf): La STf nos indica el porcentaje de sitios de unión de la transferrina ocupados por el hierro. Se calcula como la relación entre la sideremia y la CFHT multiplicada por 100 ($HS/CFHT \times 100$). La STf está directamente relacionada con los depósitos de hierro en los individuos sanos y junto con el HS y la CFHT son particularmente útiles para diferenciar los estados deficitarios de hierro de causas nutricionales con respecto de aquellos que son consecuencia de diferentes patologías (asociadas a procesos de infección e inflamación crónicos).

Los valores normales para estos parámetros están tabulados y dependen fundamentalmente de la edad y sexo del individuo. La STf, igual que la FS suele ser mayor en hombres que en

mujeres (Mclaren y cols., 2001). Cuando la STf es baja, hay una aportación pobre de hierro desde el compartimento de transporte a las células que lo necesitan (Bainton y Finch, 1964) además de haber una baja proporción de transferrina diférrica que es la que tiene mayor afinidad por el receptor de transferrina celular. Cuando la STf es elevada puede existir sobrecarga de hierro. En la HH, la sideremia y la STf se elevan antes que la FS y por ello son más útiles para detectar de forma precoz la sobrecarga. Es por ello que la STf es considerado el marcador fenotípico de *screening* más útil para la HH.

COMPARTIMENTO DE DEPÓSITO

FERRITINA SÉRICA (FS): La FS tiene una estructura similar a la ferritina intracelular pero está glicosilada. Probablemente se trata de una proteína de excreción aunque su función es desconocida.

La FS se encuentra en equilibrio con su forma intracelular y es proporcional al contenido de hierro de los depósitos. Por lo que en los casos de sobrecarga de hierro, la FS se encuentra elevada. Sin embargo, la FS es un reactante de fase aguda y por ello existen diferentes factores como la infección aguda o crónica, deficiencia de vitamina B₁₂ y ácido fólico, consumo excesivo de alcohol, leucemia o enfermedades hepáticas que producen un aumento significativo de FS. Por ello, una concentración alta de FS no confirma la sobrecarga de hierro, pero unos niveles normales si permiten descartarla.

Mientras que los valores altos de FS no nos pueden dar un diagnóstico claro de sobrecarga de hierro, los valores bajos están asociados a un déficit de hierro en los depósitos, no habiéndose detectado valores falsamente reducidos como consecuencia de otra causa.

La concentración de FS suele aumentar con la edad (Zacharski y cols., 2000), y es mayor en hombres que mujeres (Mclaren y cols., 2001). También el sobrepeso y obesidad pueden aumentar la FS (síndrome metabólico) (Moirand y cols., 1997).

OTROS PARÁMETROS

RECEPTOR SOLUBLE DE TRASFERRINA (RTfs): Las concentraciones de RTfs correlacionan fundamentalmente con la actividad eritropoyética medular y aumentan sensiblemente en la anemia por déficit de hierro, hemólisis y en general cuando hay un estímulo eritropoyético (Beguín, 2003).

A diferencia de lo que ocurre con otros parámetros, su concentración no está significativamente afectada por la inflamación, infección o enfermedad hepática, por lo que su utilidad clínica radica en su utilización para diferenciar la anemia por déficit de hierro con respecto a otros tipos de anemia como en la enfermedad crónica (Suominen y cols., 2000) principalmente en los países y regiones donde la prevalencia de infecciones es elevada.

HEPCIDINA (Hepc): Se trata de una hormona clave en la regulación del metabolismo del hierro. Se detecta en orina y sus niveles se encuentran disminuidos en respuesta al déficit de hierro, hipoxia, y aumento de eritropoyesis (Nicolas y cols., 2002; Weinstein y cols., 2002) y aumentados en respuesta al aumento del hierro sérico, sobrecarga de hierro e inflamación (Pigeon y cols., 2001; Ganz, 2003).

En la actualidad, todavía no se ha encontrado ninguna técnica fiable para detectar la hepcidina en suero. En un estudio reciente en el que se determinó mediante la técnica ELISA el precursor de hepcidina en suero (prohepcidina) no se observó ninguna correlación con el estado en hierro en el organismo ni con su absorción dietética (Roe y cols., 2007), por lo que parece ser que la determinación de prohepcidina que es el marcador de hepcidina en suero, no es un buen parámetro para relacionar con el metabolismo del hierro.

PROTEÍNA C REACTIVA (PCR): La PCR es un componente habitual de la sangre humana, su concentración puede aumentar rápidamente hasta unas 1000 veces como respuesta al daño tisular, inflamación, infección, necrosis tisular o neoplasia (Seaton y cols., 1999). Cuando la causa de su aumento desaparece, su concentración vuelve a la normalidad con rapidez. Ello convierte a la PCR en un buen marcador para el diagnóstico y monitorización de una gran variedad de enfermedades infecciosas e inflamatorias.

Debido a que la FS aumenta en presencia de inflamación, la determinación de la PCR es útil para evitar falsos positivos de diagnóstico de sobrecarga de hierro.

PROTOPORFIRINA ERITROCITARIA (PE): Las bases fisiológicas de la utilización de la concentración de la PE para evaluar el metabolismo del hierro se basa en que la protoporfirina IX es el precursor del hemo. En condiciones normales la concentración de PE en los hematíes es baja pero cuando disminuye la cantidad de hierro disponible para la síntesis de hemoglobina ésta aumenta proporcionalmente con la disminución de la disponibilidad de este metal. Los valores normales dependen de diversos factores como la edad, sexo y raza del individuo. Si bien un aumento en la concentración de protoporfirina eritrocitaria se asocia a un estado deficitario de hierro, existen otros factores como ciertas enfermedades crónicas, como infección, inflamación y cáncer, que están asociados con niveles elevados de protoporfirina eritrocitaria.

Tabla 10.- Valores normales de los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo del hierro

Parámetros	Hombre	Mujer
Hemoglobina (g/dl)	14 -17	12 -15
Hematocrito (Hto)	41 -53	37 - 45
VCM (fl)	82-97	82-97
HCM(pg/cél)	25-35	25-35
CHCM (g/dl)	32-36	32-36
Hierro Sérico (µg/dl)	60 - 170	60 - 170
CFHT µg/dl)	240 - 450	240 - 450
Transferrina sérica (mg/dl)	215 - 360	245 - 370
ST (%)	20-50	20-45
Ferritina sérica (µg/L)	12-300	12-150
RTfs (mg/dl)	4,5-6,2	4,5-6,2
PCR (mg/L)	< 10	< 10
PE(µg/g de hemoglobina)	<3	<3

VCM: volumen corpuscular medio/ HCM: hemoglobina corpuscular media/CHCM:concentración de hemoglobina corspucular media/ RTfs: receptor soluble de transferrina/ PCR: Proteína C Reactiva/ PE: protoporfirina eritrocitaria. (McPherson y Pincus, 2007; Hoffman y Benz, 2005; Arija y cols., 1997, Arija y cols., 1999)

Aunque existen muchos parámetros que nos indican y orientan en el estudio del estado de hierro del organismo, para el diagnóstico de la sobrecarga de hierro los que se usan con mayor frecuencia son la ferritina sérica y la saturación de transferrina.

4.2 CONSUMO ALIMENTARIO

En realidad, no existe un método ideal que valore de forma exacta la ingesta alimentaria. Sin embargo, existen diversos métodos de valoración del consumo que analizan la ingesta con diferentes grados de exactitud. Así, encontramos métodos colectivos e individuales.

Para conocer el consumo alimentario individual o de un grupo de población se dispone de unos instrumentos denominados encuestas alimentarias que estiman el consumo durante un período de tiempo determinado.

Los métodos colectivos analizan el consumo medio de una población en su conjunto, lo que supone una buena manera de conocer la ingesta de una forma global. Por otro lado, este método tiene la limitación de desconocer por completo la ingesta de una persona de forma individualizada. Dentro de este grupo, los más usados son:

- Las hojas de balance alimentario (Serra Majem y cols., 2006)
- Las encuestas familiares (Román y cols., 2006)

Los métodos individuales (Bingham y cols., 1988) permiten relacionar la dieta con otras variables de la persona como la edad, el sexo, la situación económica, los estilos de vida, la situación nutricional a nivel bioquímico y el estado de salud, ya que valoran el consumo alimentario a escala individual. Son los métodos más exactos y el tipo de información que se obtiene varía en función del grado de precisión y validez. Los métodos individuales más utilizados son (Tabla 11):

- El diario dietético
- El cuestionario de frecuencia de consumo
- La historia dietética
- El recordatorio de 24 horas

DIARIO O REGISTRO DIETÉTICO: Es un método prospectivo que consiste en que el sujeto entrevistado anote durante 3,5, 7 o más días los alimentos y bebidas que va consumiendo. Todos los alimentos deben pesarse antes de ser ingeridos, anotándose su peso y después se pesan también los desperdicios, de forma que restándole a la cantidad inicial obtengamos la

cantidad exacta consumida.

Este método requiere que, el entrevistado se familiarice con el uso de medidas caseras antes de proceder a la recogida de información.

Como variación de este método, existe el método de la doble pesada. Éste se utiliza en colectivos institucionalizados, en hospitales, o en poblaciones con elevado índice de analfabetismo, donde el entrevistado no es capaz de pesar los alimentos, y lo hace el entrevistador. El entrevistador debe estar presente en cada comida, pesará los alimentos a ingerir y luego pesará los restos.

Existe otro tipo de registro dietético que es el registro alimentario por estimación de las cantidades de alimentos consumidas. El encuestado debe registrar diariamente durante el periodo de estudio lo ingerido en cada comida y entre horas. Las cantidades de alimentos son estimadas en medidas caseras y describen la forma de preparación de los platos, los ingredientes utilizados y la hora de la ingesta.

A la parte de alimentos registrada por estimación se añaden los consumos realizados fuera de casa, los cuales serán estimados por el encuestador para obtener el consumo diario completo (Aranceta y Rodrigo, 2006).

CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO ALIMENTARIO: Consiste en un método directo de estimación de la ingesta alimentaria de un individuo a partir de un formato estructurado o lista de alimentos. Es un método de recuerdo, retrospectivo y cualitativo (Gorgojo y Martín-Moreno, 2006) que pretende obtener la frecuencia habitual de ingesta de un alimento o grupos de alimentos durante un período de tiempo.

HISTORIA DIETÉTICA: Consiste en una extensa entrevista con el fin de obtener información sobre los hábitos alimentarios actuales y pasados. Incluye uno o más recordatorios de 24 horas y un cuestionario de frecuencia de consumo. Esta técnica debe evaluar el consumo global de alimentos del individuo, facilitar información sobre el patrón alimentario y los hábitos dietéticos y estimar el tamaño de las raciones consumidas.

La historia dietética valora cuantitativamente la ingesta global de un individuo y sus hábitos con

relación al consumo de alimentos, distribución de las comidas a lo largo del día, etc. durante el último mes, los últimos 6 meses o el último año. También estima la prevalencia de ingesta inadecuada. Este método permite obtener un buen patrón de la ingesta en el pasado, es útil en estudios epidemiológicos sobre enfermedades crónicas, no requiere la alfabetización del entrevistado y puede diseñarse para valorar la dieta total o sólo de algunos nutrientes (Aranceta y Serra Majem, 2006).

RECORDATORIO DE 24 HORAS: Es un método de valoración del consumo alimentario mediante entrevista, retrospectivo y cuantitativo (Serra Majem y Ribas, 2006). Este método pretende valorar la ingesta real del individuo en las 24 horas anteriores. Para ello, un encuestador hace recordar a un individuo todos los alimentos e ingredientes consumidos el día anterior a la entrevista. El entrevistador debe estimar la cantidad ingerida por el encuestado utilizando diferentes técnicas de ayuda (Balogh y cols., 1971).

Tabla 11.- Métodos más utilizados de valoración del consumo alimentario individual

Métodos	Características y aplicaciones	Limitaciones
Registro dietético	<ul style="list-style-type: none"> -Estima la ingesta real de forma cuantitativa -Al aumentar el número de días, la estimación de aproxima a la ingesta habitual -Es útil en estudios epidemiológicos y para el consejo dietético 	<ul style="list-style-type: none"> -Requiere buena colaboración del participante -Debe saber leer y escribir
Cuestionario de frecuencia de consumo alimentario	<ul style="list-style-type: none"> -Estima cualitativamente la ingesta habitual por grupos de alimentos -Puede cuantificar raciones de consumo habitual -Útil en estudios epidemiológicos para clasificar a los sujetos por categorías de consumo y para el consejo dietético -Rápido, sencillo y no requiere encuestadores expertos -No modifica en patrón de consumo -Bajo coste de aplicación 	<ul style="list-style-type: none"> -Menor precisión que los métodos cuantitativos -Difícil en niños, ancianos y sujetos de bajo nivel intelectual -Requiere memoria -Es cualitativo o semicuantitativo
Historia Dietética	<ul style="list-style-type: none"> -Estima la ingesta real de forma cuantitativa -Es útil en estudios epidemiológicos y para el consejo dietético -No modifica el patrón de consumo -Puede utilizarse en sujetos analfabetos 	<ul style="list-style-type: none"> -Largo, costoso y requiere encuestadores expertos
Recordatorio de 24 horas	<ul style="list-style-type: none"> -Estima la ingesta real de forma cuantitativa -Al aumentar el número de días, la estimación de aproxima a la ingesta habitual -Es útil en estudios epidemiológicos y para el consejo dietético -Rápido, bajo coste y fácil de usar -Facilita la alta colaboración -No modifica en patrón de consumo -Puede utilizarse en sujetos analfabetos 	<ul style="list-style-type: none"> -Fallos de memoria (dificultad en ancianos y niños) -Dificultad de cuantificar el tamaño de la ración consumida

Arija y Fernández-Ballart, 2000

4.3 DETECCIÓN DE MUTACIONES

Hoy en día, el estudio del material genético es uno más de los elementos en los cuales se fundamenta la medicina para distinguir entre salud y enfermedad y de esta manera emitir un diagnóstico de certeza.

El estudio del material genético también ha abierto la posibilidad de determinar el origen de muchas de las enfermedades complejas como cáncer, diabetes, hipertensión y patología cardiovascular.

Desde que se reconoció que muchas de estas enfermedades con frecuencia se presentan en individuos de una misma familia, fue claro que estas entidades patológicas tenían un fondo genético asociado con la aparición y el desarrollo de la enfermedad. Esto llevó a postular que la patología es el resultado de la disfunción de más de un gen e incluso, que en diferentes individuos afectados el desarrollo de una misma enfermedad se debe a alteraciones de diferentes genes.

Entre los tipos de técnicas para detectar alteraciones genéticas, las más utilizadas son (Mas, 2004) (Tabla 12):

PCR (POLIMERASE CHAIN REACTION): Significa reacción en cadena de la polimerasa. Esta técnica permite amplificar "in vitro" una secuencia específica de DNA, es decir, permite obtener un gran número de copias a partir de una o unas secuencias iniciales llamadas DNA molde. Esta amplificación la lleva a cabo la enzima taq polimerasa que como todas las polimerasas, son enzimas capaces de sintetizar DNA a partir de un DNA molde.

Una vez amplificado el DNA, podremos utilizar una de las diferentes técnicas que existen para detectar mutaciones que se describen brevemente a continuación:

RESTRICCIÓN ENZIMÁTICA O RFLP (RESTRICCIÓN DE FRAGMENTOS DE LONGITUD POLIMÓRFICA): Esta técnica desarrollada a finales de los 70, se basa en la detección de fragmentos de DNA de distinto peso molecular formados a partir de enzimas de restricción. Estas enzimas tienen una

gran especificidad para el reconocimiento de las secuencias específicas de 4 a 10 nucleótidos consecutivos. Una vez se han formado los fragmentos, se separan por electroforesis para la visualización de las bandas. Esta técnica se le conoce también como PCR-RFLP.

TÉCNICA SSCP (POLIMORFISMOS DE CADENA SENCILLA DEL DNA): Esta estrategia permite el análisis preliminar dinámico, de posibles diferencias de secuencia en un fragmento determinado del DNA (por ejemplo el exón de un gen) en un gran número de individuos. Combinando las condiciones de electroforesis y la composición del tampón de carga, podremos diferenciar cambios en un solo nucleótido. Se trata de una técnica de rastreo para la identificación de mutaciones que permite una reducción del número de muestras finales a secuenciar.

TÉCNICA CSGE (CONFORMATION SENSITIVE GEL ELECTROPHORESIS): El objetivo es detectar principalmente variantes genéticas heterocigotas aunque también detecta homocigotas. La presencia de una variante heterocigota en un fragmento amplificado del genoma crea un heterodúplex que puede tener una movilidad inferior que los correspondientes homodúplex en un gel de electroforesis. Esta diferencia de movilidad es muy importante cuando las variantes corresponden a inserciones o deleciones de más de 2 pares de bases (pb), pero es muy pequeña cuando las variantes corresponden a cambios de base o a inserciones o deleciones de 1 par de bases. Para favorecer esta diferencia de movilidad en el gel, se puede hacer correr el producto con un tampón parcialmente desnaturalizado. Si se realiza la PCR del fragmento con un exceso de dna y se corre con un tampón desnaturalizante, parte del dna formará heterodúplex (hdx) y homodúplex, y parte se quedará en forma de cadena simple formando un patrón diferente en presencia o ausencia de la variante igual que el la técnica SSCP. De esta forma se pueden detectar tanto las variantes en heterocigosis como en homocigosis.

TÉCNICA HDX, HETERODÚPLEX: Es una técnica de detección de mutaciones heterocigotas. Separa el DNA según las diferencias conformacionales entre los heterodúplex y los homodúplex.

SECUENCIACIÓN AUTOMÁTICA DEL DNA: permite determinar la secuencia nucleotídica de una región concreta del genoma. se realiza una pcr asimétrica (solo con un primer) y con una mezcla de nucleótidos y dideoxinucleótidos (análogos a los nucleótidos que no permiten la incorporación de mas moléculas y por lo tanto, son finalizantes de la reacción).

En esta reacción se generan cadenas de longitud múltiple, desde el oligonucleótido ("primer") más una base, hasta la longitud máxima que suele ser unos 800 pb. Estos fragmentos se separan por electroforesis capilar. Cada una de las cadenas lleva un finalizador a la última base que es la que detecta el láser y a partir de la cual se da la secuencia. Con esta técnica se pueden identificar mutaciones o polimorfismos nuevos o ya descritos por comparación de la secuencia analizada o las descritas en las bases de datos.

TÉCNICA SNAPSHOT: Es una variante de la técnica de PCR que permite identificar el cambio de una pareja de bases (conocido como SNP, *Single Nucleotide Polymorphism*) que se presenta en una región conocida del DNA. Para ello se utiliza un oligonucleótido complementario a la secuencia inmediatamente anterior al SNP y dideoxinucleótidos marcados con fluorescencia. Para la lectura de las bandas se realiza electroforesis capilar con detección láser.

PCR-CTPP (POLYMERASE CHAIN REACTION WITH CONFRONTING TWO-PAIR PRIMERS): Es una nueva variante de la PCR que permite la detección de un polimorfismo utilizando dos parejas de primers. Se obtienen bandas de DNA específicas de cada alelo con tamaños diferentes, siendo posible el genotipaje por electroforesis sin necesidad de realizar ningún paso posterior de los que hemos comentado anteriormente.

HIBRIDACIÓN DEL DNA (SOUTHERN): En esta técnica, el DNA genómico se digiere con alguna enzima de restricción o una mezcla de varias de estas enzimas y se separa de acuerdo con el tamaño de los fragmentos generados en un sistema de electroforesis horizontal en geles de agarosa.

Los fragmentos de DNA se transfieren por capilaridad o por electrotransferencia a una membrana de nitrocelulosa, a la cual se unen de manera covalente por exposición a luz ultravioleta. Los fragmentos del DNA unidos a la membrana de nitrocelulosa se sumergen en una mezcla que los desnaturaliza. En este estado extendido y de cadena sencilla, los fragmentos del DNA pueden hibridarse o aparearse con un fragmento del DNA, cDNA, o el RNA (de secuencia conocida) complementario a la secuencia de interés, al cual se denomina sonda.

Esta sonda se marca normalmente con isótopos radioactivos o compuestos fluorescentes. Una vez hibridada, la membrana se lava para eliminar la sonda unida a ella y es expuesta a una película fotográfica donde se visualizan él o los sitios (bandas) donde ocurrió la hibridación.

Esta técnica se utiliza para identificar genes o fragmentos génicos de un tamaño anormal o ausentes como consecuencia, por ejemplo de deleciones, o bien para detectar mutaciones puntuales entre el DNA utilizado como sonda y el que se encuentra unido a la membrana.

Tabla 12.- Principales técnicas de detección de mutaciones

Técnica		Detección
PCR	Restricción enzimática (RFLP)	Electroforesis
	SSCP	
	CSGE	
	Heteroduplex (HDX)	
	Secuenciación Automática	Fluorescencia
SnapShot		
PCR-CTPP		Electroforesis
Hibridación del DNA (Southern)		Electroforesis

4.4 ESTRÉS OXIDATIVO

El desequilibrio entre la producción de Especies Reactivas de Oxígeno (EROS) y la defensa antioxidante provoca un daño orgánico conocido como estrés oxidativo que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos los cuales ocasionan el deterioro y muerte celular (Seddon y cols., 1994).

La implicación que se ha observado del estrés oxidativo sobre la aparición y promoción de muchas enfermedades ha llevado a lo largo del tiempo a investigar métodos para valorar dicho estrés. Se entiende por índice, al valor que da como resultado algún ensayo, por ejemplo, la concentración de una molécula, la actividad de una enzima, la capacidad de una muestra para eliminar EROS etc. (Romeu, 2006). Actualmente existen más de cien métodos para valorar el estrés oxidativo, ya que un índice puede ser valorado por más de un método.

Las EROS son capaces de reaccionar con casi cualquier tipo de molécula orgánica, ya sea lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. Este hecho se ha tenido en cuenta a la hora de diseñar métodos de valoración del estado oxidativo en individuos.

En los últimos tiempos se ha intentado buscar un único marcador para valorar el estrés oxidativo. Sin embargo, cada vez se refuerza más la hipótesis que no es posible medir el estado oxidativo general si no es con múltiples biomarcadores (Abuja y cols., 2001; Dotan y cols., 2004).

Dotan y cols. en el 2004 propusieron un criterio de clasificación de los diferentes biomarcadores del estrés oxidativo en tres categorías (Tabla 13):

- Métodos basados en la medida de las concentraciones de los productos de oxidación de lípidos, proteínas y DNA, así como las concentraciones de antioxidantes (PRODUCTOS DEL ESTRÉS OXIDATIVO)
- Métodos que valoran la oxidación de las estructuras expuestas a una fuente de radicales libres (SUSCEPTIBILIDAD DE OXIDACIÓN)
- Métodos para valorar la capacidad antioxidante de los líquidos biológicos (CAPACIDAD ANTIOXIDANTE)

Tabla 13.- Principales biomarcadores del estrés oxidativo

Productos del estrés oxidativo	Promotores	Producción de RLO	-ESR -Luminal
	Inhibidores	Antioxidantes de bajo peso molecular	-Vit C y E -Ácido úrico -Carotenos -GSH
		Enzimas y macromoléculas	-SOD -GR -GST -CAT -GPx
	Productos de la peroxidación	Peroxidación de lípidos	-MDA -Dienos conjugados
		Peroxidación de proteínas	-Proteínas carboniladas
		Daño en el DNA	-Fragmentación del DNA -Productos del daño (8-OHdG)
Susceptibilidad de oxidación		Resistencia de los lípidos	-Hemólisis -Lagtime
Capacidad antioxidante		Capacidad antioxidante	-ORAC
		Radicales totales atrapados	-TRAP
		Capacidad antioxidante relativa al trolox	-TEAC
		Poder reductor antioxidante del hierro	-FRAP

Adaptado de Dotan y cols., 2004

De todos estos métodos, el más empleado por su sencillez y sensibilidad es la determinación plasmática de TBARS (del inglés *thiobarbituric acid reactive substances*) (Pré, 1991) que es una medida de peroxidación lipídica.

PEROXIDACIÓN LIPÍDICA. TBARS: La peroxidación de los lípidos de las membranas celulares es una consecuencia típica del ataque de las EROS. Entre los productos de la lipoperoxidación destacan el malondialdehído (MDA), los dienos conjugados (Esterbauer y cols., 1989) y los hidroperóxidos cuyo incremento es sinónimo de aumento de la peroxidación lipídica.

En general, los derivados de la lipoperoxidación pueden determinarse en plasma, eritrocitos y biopsias de tejido, mediante la técnica del ácido tiobarbitúrico. Los TBARS aumentan progresivamente con la edad del individuo, la obesidad, tras la exposición solar, en fumadores y en diversas patologías como enfermedad cardiovascular, enfermedades neurodegenerativas como alzheimer y parkinson, insuficiencia renal etc. (Romeu, 2006)

El tratamiento con antioxidantes y anti-ERO normaliza los valores elevados de TBARS

eritrocitarios. Asimismo, la mejoría de la causa patológica que motiva el aumento de TBARS, hace disminuir sus niveles (Jacob K y cols., 2007).

En cuanto a la valoración de la capacidad antioxidante total, se han diseñado diferentes métodos para evaluarla que se basan en la capacidad de los antioxidantes presentes para inhibir o retrasar la oxidación inducida mediante alguna molécula. Uno de los métodos más utilizados es el conocido como ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity* o capacidad para absorber radicales de oxígeno).

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE. ORAC: La capacidad antioxidante total de una muestra para eliminar radicales libres se usa cada vez más para valorar de forma global el estado oxidativo del individuo (Widlansky y cols., 2005).

Muchos de estos métodos se diseñaron inicialmente para valorar la capacidad antioxidante de productos alimentarios. Sin embargo, existen estudios que valoran la capacidad antioxidante tanto de muestras biológicas, por ejemplo del plasma, (Cao y cols., 1998; Gheldolf y cols., 2003) como de muestras de alimentos, especialmente de frutas, y verduras (Prior y cols., 2003).

Con el método ORAC, la capacidad antioxidante se cuantifica calculando la protección neta durante cierto tiempo de una gráfica de degradación de la fluorescencia de fluoresceína en presencia del antioxidante en plasma.

Se emplea un generador de radicales peroxilo como lo es el 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidrocloruro (AAPH). La medición de ORAC combina tanto tiempo de inhibición como porcentaje de inhibición de la acción de radicales libres por los antioxidantes usando un área bajo la curva para la cuantificación.

La aplicación de este método a diferentes frutas y verduras ha hecho que se conozca que la fruta con más capacidad antioxidante es la mora azul y en cuanto a vegetales, el ajo. En bebidas, las que tienen mayor capacidad antioxidante son el té blanco, el vino tinto y la cerveza. Los extractos de especias, hierbas y algunas cascarillas también han demostrado actividad antioxidante, es el caso de la pimienta, albahaca, perejil, romero, salvia, menta, mejorana, laurel, etc.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

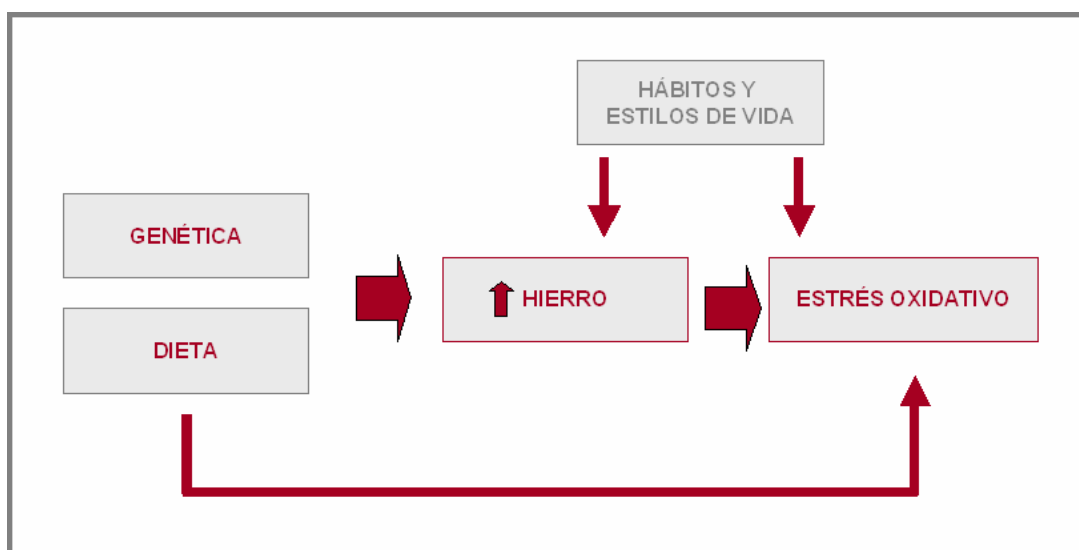
ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

HIPÓTESIS

Las alteraciones en el gen HFE provocan un aumento de la absorción de hierro, que al margen de la producción de la hemocromatosis hereditaria en un pequeño porcentaje de la población, pueden llegar a provocar un aumento ligero o moderado de hierro en el organismo. Este efecto también puede verse potenciado por factores dietéticos.

Por tanto, el estudio en la población general de los factores genéticos que más afectan a los niveles de hierro, conjuntamente con la dieta y otros factores ambientales relacionados con el estado de hierro nos permitirá determinar la prevalencia de alteraciones genéticas y sobrecarga de hierro en nuestra población y analizar estas relaciones.

Además, los niveles moderadamente altos de hierro se han asociado a un aumento de enfermedades crónicas y prevalentes relacionadas con el estrés oxidativo. Por tanto, el estudio del estrés oxidativo nos permitirá explorar su asociación.



OBJETIVOS

GENERAL

Analizar el efecto de las alteraciones genéticas en el gen HFE de la HH y de la ingesta dietética sobre el exceso de hierro y su implicación en el estrés oxidativo en la población general adulta del área mediterránea.

ESPECÍFICOS

1. Determinar el estado de hierro en la población y la prevalencia de sujetos con sobrecarga de hierro moderada y severa
2. Determinar la prevalencia de las mutaciones C282Y, H63D y S65C del gen HFE y su expresión fenotípica en la población.
3. Determinar el consumo alimentario y la ingesta de energía y nutrientes según el estado de hierro en la población.
4. Analizar la influencia de las alteraciones en el gen HFE y de la dieta sobre los niveles de hierro en la población.
5. Analizar el efecto del exceso de hierro sobre el estrés oxidativo en la población.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

SUJETOS Y MÉTODOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

El diseño del estudio consistió en un estudio epidemiológico transversal.

1. SUJETOS

El estudio se realizó en 815 sujetos de edades comprendidas entre 18 a 75 años. La muestra se extrajo al azar mediante los padrones municipales de la Poble de Mafumet, el Morell y Cambrils de 1996, teniendo en cuenta la proporción de edades y sexo para poder tener una muestra representativa de toda la población.

Se calculó que para estimar la prevalencia de los diferentes genotipos de la mutación de interés al menos con una precisión del 3% y con un riesgo tipo 1 del 5% era necesario estudiar a 800 individuos. El tamaño de la muestra se determinó considerando la prevalencia de la mutación más frecuente en la población, que es alrededor del 22% para la mutación H63D. Cada individuo, de los 800 seleccionados en primera instancia, disponía de dos sustitutos de la misma población y del mismo grupo de edad y sexo.

Se consideraron causas de exclusión del estudio:

- No ser de raza caucásica, europeo mediterráneo.
- Ser menor de 18 años o mayor de 75.
- No otorgar el consentimiento informado o presentar incapacidad para comprender las características del estudio.
- Enfermedades graves que impidan la participación o que alteren el metabolismo del hierro.
- Embarazo y durante los 6 meses post-parto.

Se seleccionaron un total de 1953 individuos al azar, de los cuales se excluyeron a 628 porque no cumplían los criterios de inclusión. De los 1325 sujetos aptos para participar, aceptaron entrar en el estudio 817. Por lo que el porcentaje de participación fue del 61,5%. Fueron excluidos en el análisis de datos 2 sujetos por presentar anemia y exceso de hierro, signos de padecer anemia hemolítica.

Sujetos y Métodos

Se contactó con los individuos seleccionados mediante el envío de una carta personal indicándole que había sido seleccionado para participar en un estudio y explicándole brevemente las características del mismo. Posteriormente se le telefoneó para concretar su participación.

Para aumentar la participación ciudadana previamente se realizó una campaña publicitaria en diversos medios de comunicación de prensa y radio.

Los motivos principales de la no participación fueron motivos laborales (por falta de tiempo), el hecho de estar en tratamiento farmacológico y el miedo a la extracción sanguínea.

A las personas que aceptaron, se les citó a una primera entrevista en el Área básica de Salud (ABS) donde se realizó:

- Lectura de la hoja de información al paciente.
- Firma del formulario del consentimiento informado en prueba de su aceptación.
- Recogida de datos sociodemográficos, historia clínica y la valoración antropométrica.
- Explicación de cómo deberá cumplimentar el participante en su domicilio el cuestionario de "registro alimentario por estimación" durante tres días.

Dos citas posteriores para:

- Realizar una extracción sanguínea en el ABS
- Realizar la recogida del cuestionario de "registro alimentario" especificando las cantidades consumidas mediante una entrevista personal en el ABS.

El estudio fue aprobado por el comité de ética del Hospital Universitario St. Joan de Reus (Tarragona) y de la Fundación Jordi Gol Gorina. Todos los individuos que entraron en el estudio firmaron el consentimiento informado de acuerdo con la Declaración de Helsinki.

Todos los datos recogidos se introdujeron en una base de datos con una variable común que fue el número de estudio que se asignó a cada sujeto para garantizar la confidencialidad del participante.

2. MÉTODOS UTILIZADOS

2.1 HISTORIA CLÍNICA

Tres médicos de familia del Área Básica de Salud (ABS) de Cambrils y 1 uno del ABS de La Pobra de Mafumet realizaron la historia clínica que contenía los siguientes datos:

- Datos sociodemográficos: edad, sexo, raza y nivel socioeconómico y cultural
- Antecedentes clínicos, personales y familiares
- Medidas antropométricas:
 - Peso (báscula con precisión de 100g)
 - Altura (tallímetro con precisión de 1 mm)
 - Con estos dos datos se calculó el Índice de Masa Corporal: $IMC = \text{peso (kg)} / \text{altura}^2 \text{ (m)}$
- Estilos de vida
 - Ejercicio físico: horas de actividad física a la semana
 - Tabaco: nº de cigarrillos al día
 - Consumo de alcohol: gramos de alcohol al día (entre semana y fin de semana)
- Características relativas a la menstruación
- Toma de suplementos de hierro en los últimos 6 meses (sí o no)

Para la realización de la Historia clínica, los médicos entrevistadores siguieron un método de estandarización de recogida de las variables de interés en el estudio.

2.2 VALORACIÓN DEL CONSUMO ALIMENTARIO, INGESTA ENERGÉTICA Y NUTRICIONAL

El consumo alimentario e ingesta energética y nutricional se valoró mediante el "registro alimentario por estimación". Este cuestionario consiste en anotar todo lo que se consume (incluyendo bebidas, caramelos etc.) a lo largo de tres días no consecutivos, uno de ellos, festivo (Bingham y cols., 1998).

Mediante la entrevista dietética personal, el encuestador determinó de forma precisa las cantidades de alimento consumido. Para ello, se insistió mucho en averiguar la cantidad realmente consumida y no la que se sirvió en el plato.

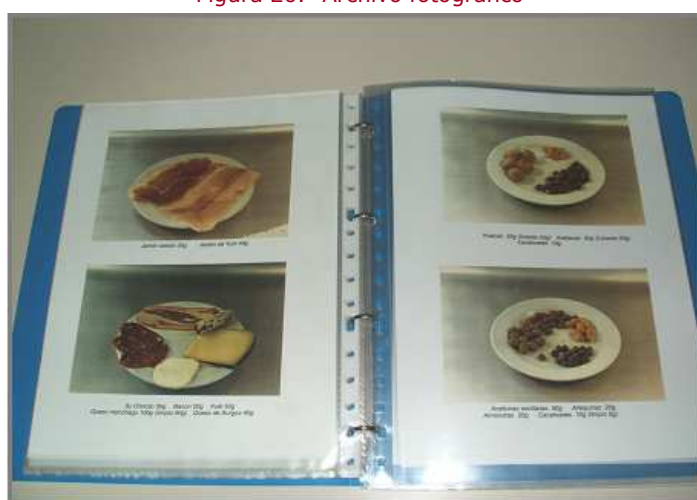
Para cuantificar los alimentos, se pidió a los sujetos que estimasen las cantidades mediante medidas caseras tales como vasos, raciones, cucharas etc. Para ello, se utilizó un archivo fotográfico de alimentos previamente pesados (Figura 20), en los que se conocía el porcentaje comestible y el peso real. Además se realizaron preguntas sistemáticas sobre la cantidad de aceite consumido, así como de otros aliños, de alimentos preparados, azúcar añadido y se intentó hacer recordar los alimentos consumidos entre horas.

Una vez recopilada la información, cada entrevistador tradujo las encuestas alimentarias en gramos de alimentos y codificó cada uno de ellos en una hoja de codificación.

Para calcular la ingesta de nutrientes se utilizó la tabla de composición francesa REGAL "*Répertoire Général des Aliments*" (Favier y cols., 1997) complementada con una tabla de composición de alimentos Española (Mataix, 1995.).

Todos los alimentos se distribuyeron en 15 grupos: 1 Carne, que incluye todos los tipos incluso vísceras y embutidos, 2 Huevos, 3 Pescado (incluido el marisco), 4 Leche, 5 Derivados lácteos (yogur, quesos, flanes...), 6 Grasas visibles (aceites, margarina, mantequilla...), 7 Cereales (pan, arroz, pasta alimentaria, bollería...), 8 Patatas, 9 Legumbres, 10 Verduras, 11 Fruta, 12 Azúcares (azúcar de mesa, chocolate, caramelos...), 13 Bebidas azucaradas, 14 Bebidas alcohólicas, 15 Vino.

Figura 20.- Archivo fotográfico



La ingesta de alimentos se expresó en g/día o ml/día, la energía en Kcal/día y los nutrientes en unidades todos ellos \pm su desviación estándar asumiendo un error del 5%.

Todos los encuestadores realizaron un aprendizaje y estandarización del método. Se efectuó una prueba piloto de comprobación de resultados antes y durante la realización del estudio.

2.3 OBTENCIÓN, PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS

La extracción sanguínea se realizó en el ABS a primera hora de la mañana. Los participantes debieron acudir en ayunas desde las 22h del día anterior, durante la extracción se verificó el ayuno y en caso de no haberlo cumplido, se registraron los alimentos consumidos.

Se obtuvieron 30 ml de sangre por venopunción en la flexura del brazo estando el individuo sentado. Esta sangre se recogió en tres tubos de 10 ml cada uno, uno de ellos (T1) con anticoagulante EDTA-K2, otro sin anticoagulante (T2) y el tercero (T3) con heparina.

Inmediatamente tras la extracción, las muestras se mezclaron por inversión 10 veces antes de guardarlas en una nevera portátil para transportarlas desde el ABS al Centro de Investigación Biomédica (Hospital St. Joan de Reus). Se registró la hora exacta de extracción y de procesamiento para cada muestra que no debió nunca de superar las 2 horas.

Del tubo 1 (T1 EDTA-K2) se determinó el hematocrito, la hemoglobina, los índices eritrocitarios, los leucocitos y los linfocitos en sangre total. El plasma y los eritrocitos se separaron centrifugando durante 15 minutos a 2000 revoluciones y a 4°C. El plasma sobrenadante se extrajo con cuidado de no aspirar la capa fina de leucocitos que la separa de los eritrocitos, posteriormente se alicuotó en criotubos y se guardó a -80°C hasta el momento de las determinaciones de TBARS plasmáticos y test de ORAC. Los leucocitos también se guardaron hasta el aislamiento de ADN.

Del tubo 2 (T2), el suero se separó y guardó de la misma forma explicada para el tubo 1. En el suero se realizaron las determinaciones de ferritina sérica, hierro sérico y transferrina sérica.

Del tubo 3 (T3) se aislaron los linfocitos y se guardaron a -150°C para realizar las determinaciones genéticas (alteraciones C282Y, H63D y S65C del gen HFE). El resto de la muestra se repartió en alícuotas de plasma en criotubos a -80°C hasta el momento de las determinaciones (Figura 21).

Figura 21 .- Alícuotas de plasma



2.4 DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS DEL ESTADO EN HIERRO

Para los análisis de la ferritina, hierro y transferrina séricos se utilizó el analizador automático Shimadzu 7200 (CL 7200) (Figura 22). El equipo está controlado por un ordenador que constituye la unidad de gestión, con la que el analizador puede estar conectado online con el sistema informático general del laboratorio. También permite la identificación positiva de muestras por código de barras, lo que nos permite la ventaja de trabajar con el tubo primario.

Mediante esta técnica determinamos:

- La ferritina sérica: mediante reacción inmunoquímica (inmunoturbidimetría latex): El reactivo de ferritina es una suspensión de partículas de latex de poliestireno, recubiertas de anticuerpos de la fracción Ig G de un sérum específico anti-ferritina humana. En contacto con una muestra que contenga ferritina, ésta aglutina y se realiza la lectura por inmunoturbidimetría a 570 nm (Gomez y cols., 2000).
- Hierro II y Hierro III en suero: Mediante la reacción química de Ferene: El reactivo contiene hidroxilamina, tiourea y ferene (5,5´(3-(2-pyridil)-1,2,4-triazine-5,6 diyl)-bis-2-furansulfonic acid, disodium salt). El pH ácido libera el hierro de la transferrina en medio ácido y se reduce de Fe³⁺ a Fe²⁺ mediante la hidroxilamina. El Fe²⁺ reacciona con el compuesto Ferene formando un complejo coloreado que absorbe la luz a 600 nm (ITC Diagnostics y Biokit S.A Barcelona, respectivamente).
- Transferrina sérica: Mediante inmunoprecipitación en fase líquida con una lectura turbidimétrica a punto final (510 nm). Un antisuero antitransferrina se diluye en tampón y se incuba con el suero del paciente. El descenso en la transmisión de la luz causada por la formación de complejos antígeno-anticuerpo es directamente proporcional a la concentración de transferrina de la muestra (Biokit S.A., Barcelona).

Mediante un autoanalizador Coulter, se determinó la Hemoglobina (Hb), el Hematocrito (Hto), el Volumen Corpuscular Medio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) y la Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM).

Sujetos y Métodos

El receptor soluble de transferrina (RTfs) se determinó mediante un inmunensayo por turbidimetría látex (Biokit S.A., Barcelona, Spain) en la mitad de la población debido a su elevado coste. Al no observarse asociación con los niveles de hierro elevados, ya no se determinó en el resto de la población

Como la ferritina puede verse aumentada en estados inflamatorios o infecciosos, se determinó la Proteína C Reactiva (PCR) mediante la técnica PCR ultra sensible que consiste en un inmunensayo por turbidimetría látex (Biokit S.A., Barcelona, Spain) para eliminar esta causa en el aumento de los niveles de la ferritina.

Se generaron las siguientes variables:

-Capacidad total de Fijación del Hierro a la Transferrina (CFHT): Se calculó multiplicando la transferrina sérica (expresada en g/l) por 20, expresándose en micromol/l.

-Capacidad de Saturación de la Transferrina (STf): Se calculó, una vez obtenida la CFTH, multiplicando el cociente hierro sérico / CFTH y multiplicándolo por 100 expresándose, por tanto, en porcentaje.

Figura 22.- Autoanalizador utilizado para las determinaciones bioquímicas



2.4.1. CRITERIOS UTILIZADOS DE SOBRECARGA Y DÉFICIT DE HIERRO

Se definió **Sobrecarga de hierro**:

-Sobrecarga de hierro **moderada** cuando se cumplió cualquiera de estas tres situaciones: Saturación de transferrina (STf) superior al 45 % en ambos sexos (WHO, 2000), Ferritina sérica (FS) mayor de 110 µg/l en mujeres y mayor de 200 µg/l en hombres (Distante, 2006) o ST superior a 45% y FS moderada (entre 110-200µg/l en mujeres y entre 200-300µg/l en hombres).

-Sobrecarga de hierro **severa**: Saturación de transferrina (STf) superior al 45 % en ambos sexos y Ferritina sérica (FS) mayor de 200 µg/l en mujeres y mayor de 300 µg/l en hombres (ferritina severa) (WHO, 2000).

Se definió **Déficit de hierro**:

Cuando se encontró disminuida la ferritina sérica (< 12) o cuando encontramos dos de los siguientes parámetros alterados: Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina (CFHT>55 µg/dl), Saturación de la transferrina STf (<16%), Ferritina sérica (FS <12 µg/l), VCM < 80 fl (Arija y cols., 1997; Arija y cols., 1999).

En presencia de inflamación, la FS puede dar falsos positivos en el diagnóstico de sobrecarga, mientras que el hierro sérico, la capacidad de fijación del hierro a la transferrina y el VCM pueden dar falsos negativos en el diagnóstico de déficit de hierro. Por ello, puesto que la sensibilidad de la FS, la Sideremia, la CFHT y el VCM disminuyen en presencia de inflamación, al diferenciar los grupos según su estado en hierro eliminamos los sujetos con inflamación, definiendo inflamación cuando los niveles de Proteína C Reactiva fueron superiores a 10 mg/l.

Tabla 14.- Niveles límite para el diagnóstico de sobrecarga y déficit de hierro

ESTADO DE HIERRO	PARÁMETROS	MUJERES	HOMBRES	
SOBRECARGA DE HIERRO	Saturación de la Transferrina (%)	> 45	> 45	
	Ferritina sérica (µg/l)	Moderada	110-200	>200
		Severa	>200	>300
DÉFICIT DE HIERRO	Hemoglobina (g/l)	< 12	< 13	
	Saturación de Transferrina (%)	< 16	< 16	
	Ferritina sérica (µg/l)	<12	<12	
	Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina (µg/dl)	> 55	> 55	
	Volumen Corpuscular Medio (fl)	< 80	< 80	

Tabla 15.- Criterios diagnósticos utilizados

ESTADO EN HIERRO	CRITERIO
SOBRECARGA DE HIERRO MODERADA	-ST elevada -FS moderada -FS severa -ST elevada +FS moderada
SOBRECARGA DE HIERRO SEVERA	-ST elevada + FS severa
DÉFICIT DE HIERRO	-FS disminuida -Dos de los siguientes parámetros alterados por déficit: CFHT, ST, FS, VCM.

2.5 DETERMINACIÓN DE MUTACIONES EN EL GEN HFE

Se determinaron los polimorfismos C282Y (mutación G845A), H63D (mutación C187G) (Jouanolle y cols. 1997) y S65C (mutación A193T) (Mura y cols. 1999) del gen HFE de la HH, mediante la técnica de PCR (Polimerase Chain Reaction). La ausencia de mutaciones se definió como genotipo salvaje WT (*Wild Type*).

El análisis del gen HFE se realizó mediante el DNA extraído de los leucocitos de sangre periférica conservados con *Cell Lysis Solution* y a temperatura ambiente, obtenidos a partir de 10 mL de sangre periférica total recogida en tubos de EDTA.

Para la obtención de los genotipos recurrimos a la técnica de PCR (Polimerase chain reaction) mediante el termociclador *DNA thermal cycler 2400, Perkin Elmer* (Figura 23), con el fin de amplificar "in vitro" los exones correspondientes a la regiones del gen portadoras de las mutaciones. Esta amplificación la lleva a cabo la enzima taq polimerasa junto con el resto de elementos que, generalmente intervienen en la reacción: DNA molde, oligonucleótidos, tampón de PCR, MgCl₂, dNTPs y H₂O estéril.

Figura 23.- Termociclador utilizado para la técnica de PCR



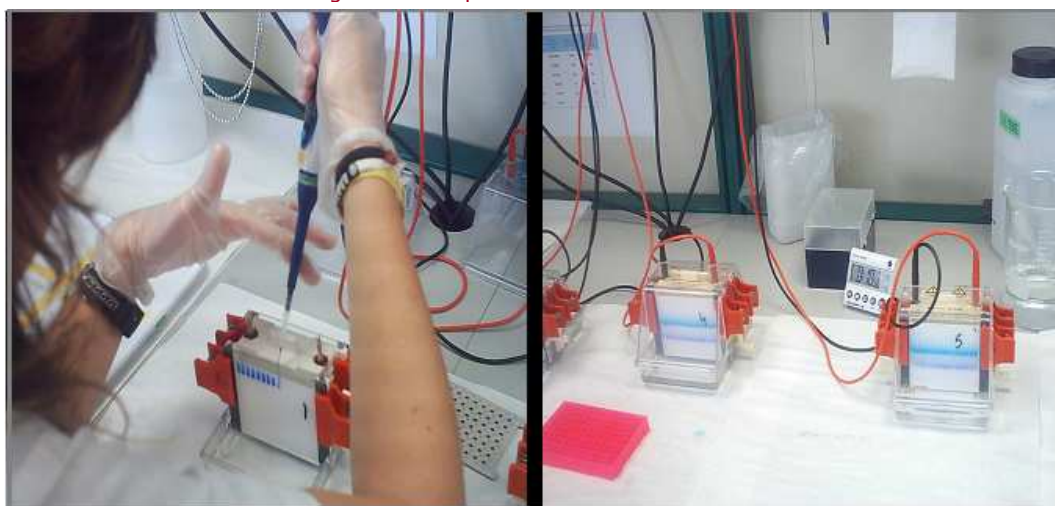
Sujetos y Métodos

Una vez ampliada nuestra secuencia, realizaremos una digestión enzimática mediante enzimas de restricción (en la tabla 16 se muestra los diferentes primers y enzimas de restricción utilizados en la amplificación y digestión enzimática para cada una de las tres mutaciones), posteriormente realizamos una separación electroforética mediante geles del 12 % de poliacrilamida al 12% (29: 1,25 Acril-bis) (Figura 24)

Tabla 16.- Primers y enzimas de restricción utilizados en cada digestión enzimática

	C282Y	H63D	S65C
Forward primer	5´-TGGCAAGGTA AACAGATCC-3´	5´-ACATGGTTAA GGCCTGTTGC-3´	5´-ACATGGTTAA GGCCTGTTGC-3´
Reverse primer	5´-CTCAGGCAC TCCTCTCAACA-3´	5´-GCCACATCTGG CTTGAAATT-3´	5´-GCCACATCTGG CTTGAAATT-3´
Enzima restricción	RsaI	MboI	InfI

Figura 24.- Separación electroforética

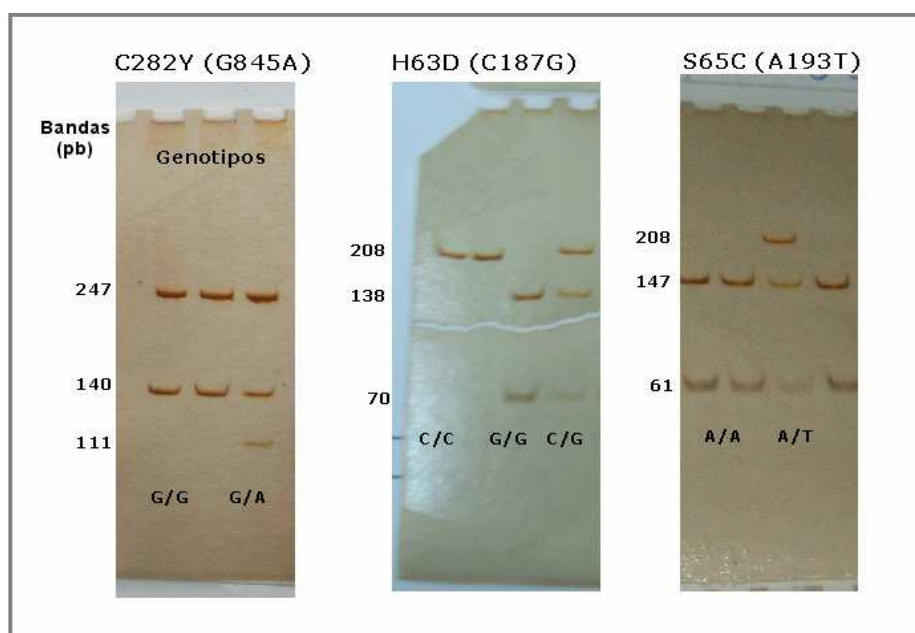


Sujetos y Métodos

En cada electroforesis pusimos marcadores de peso molecular apropiados al tamaño de la banda que quisimos amplificar, en este caso se utilizó únicamente marcadores de peso molecular 50 kb. Finalmente, se realizó una tinción del gel con Nitrato de Plata, que se basa en la reducción de los iones de plata, de forma que nos permite visualizar los diferentes fragmentos de DNA para así observar los diferentes genotipos (Figura 25).

Los *primers* utilizados para las mutaciones H63D y S65C son los mismos, debido a la cercanía de dichas mutaciones en el gen.

Figura 25.- Visualización de los genotipos del gen HFE en el gel de poliacrilamida



2.6 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO

TBARS PLASMÁTICOS

Los TBARS se determinaron con el método de Buege y Aust (1978), pero modificado para medida de fluorescencia (Richard y cols., 1992).

Para ello se realizó una dilución 1:50 de las muestras con suero fisiológico, luego se mezcló 1ml de la muestra diluida con 2 ml de una solución TCA-TBA-HCl: ácido tricloracético al 15 %, ácido tiobarbitúrico al 0,37 % (Merck ref.8180) y ácido clorhídrico 0,25 N (Probus ref.17750 35 %). Esta mezcla se llevó a ebullición durante 15 min a 100°C y posteriormente se enfrió con hielo. Una vez la muestra enfriada, se centrifugó durante 10 min a 1900 xg a 4°C. Por último el sobrenadante se leyó en el fluorímetro a 515 nm de longitud de onda de excitación y 548 de longitud de onda de emisión (Richard y cols., 1992)

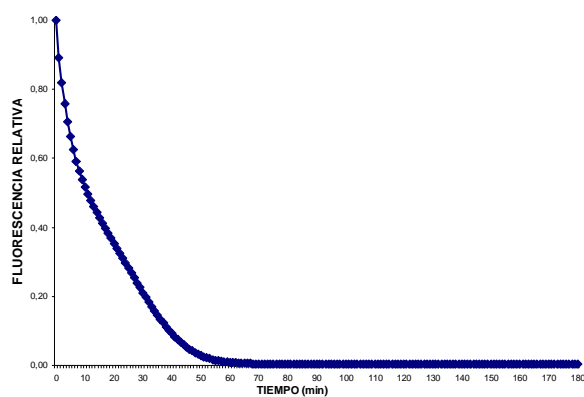
Como estándar se utilizó el bis-dietilacetal malonaldehído a diferentes concentraciones. La recta obtenida sirvió para determinar la concentración de la muestra. Los resultados se expresaron en nmol/ml plasma.

TEST DE ORAC

Cao y cols. (1998) desarrollaron la técnica de ORAC, en la que se mide la capacidad de una muestra para atrapar radicales peroxilos (ROO*) inducidos por 2,2'-azobis (2-amidinopropano) dihidroclorido (AAPH) a 37°C (Sigma, ref. 4409/4). Inicialmente esta técnica fue descrita utilizando la B-ficoeitrina (B-PE) como proteína que recibe el daño oxidativo de los peroxilos, y es marcadora de la pérdida de fluorescencia. No obstante, el método se modificó posteriormente debido a la inestabilidad de la fluorescencia de esta proteína, y actualmente se utiliza la fluoresceína (FL) como marcador de fluorescencia (Ou y cols., 2001).

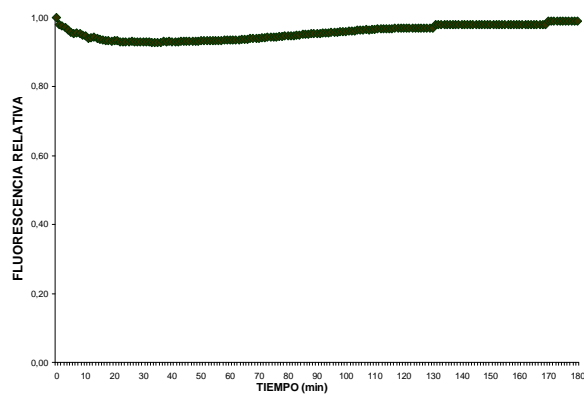
La valoración de la capacidad antioxidante se desarrolló en un espectrofluorímetro a 485 nm de excitación y 538 nm de emisión, en placas de 96 pocillos.

Como podemos ver en el siguiente gráfico, los radicales peroxilos inducidos por el AAPH son los responsables de la pérdida de fluorescencia a lo largo del tiempo.



Fuente: Romeu, 2006

Esta desaparición no se produce si en la reacción, no se incluye el generador de radicales libres, el AAPH. Por ello la fluorescencia se mantiene a lo largo del tiempo como podemos ver a continuación.



Fuente: Romeu, 2006

Sujetos y Métodos

Cuando añadimos a la reacción un antioxidante, la pérdida de fluorescencia se retrasa en el tiempo. En el método del ORAC, el antioxidante usado como referencia es el Trolox (6-Hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico). Así, las unidades en las que se mide la capacidad antioxidante de una muestra problema son: mmoles equivalentes de Trolox / l de muestra

Por lo tanto, la capacidad antioxidante de la muestra problema se cuantifica midiendo la protección que ésta ejerce sobre la desaparición de la fluorescencia, y los resultados se expresan en relación a la protección que ofrece una concentración conocida de Trolox.

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables estudiadas se almacenaron en una base de datos del programa ACCESS y se trataron con el paquete estadístico SPSS PC para Windows versión 13.0.

Los resultados se presentan como porcentajes e intervalos de confianza al 95% y como medias y desviación estándar. Se utilizaron los tests de la t de Student y análisis de la varianza con la prueba de Scheffé para la comparación de medias, el chi-cuadrado para comparar variables categóricas y la correlación lineal de Pearson para observar asociaciones entre variables.

En los casos en los que no se cumplieron los criterios de aplicación se aplicaron las pruebas no paramétricas correspondientes.

Se aplicó la ley de Hardy-Weinberg para observar si la distribución genotípica de HFE se encontraba en equilibrio en la población estudiada.

Al agrupar a la población según su estado en hierro se eliminaron del análisis los sujetos con inflamación (PCR>10mg/l) para evitar posibles falsos positivos de la FS.

Se realizaron 2 modelos de Regresión Lineal Múltiple (RLM) para explicar el efecto de las mutaciones genéticas sobre los niveles de hierro, uno con la STf como variable independiente y otro con la ferritina-log. Se realizó la transformación logarítmica de la ferritina debido a que el histograma y el test de normalidad señalaban una marcada asimetría. Además, debido que la ferritina puede verse aumentada en estados inflamatorios o infecciosos se ajustó por la proteína C reactiva.

Las variables genéticas se agruparon en 5 grupos: a) C282Y heterocigotos, b) H63D heterocigotos, c) S65C heterocigotos, d) H63D homocigotos, e) compuestos heterocigotos H63D/S65C y C282Y/H63D. Se crearon variables *dummy* con estos 5 grupos de mutaciones con la finalidad de comparar cada una de ellas con el genotipo salvaje. En ambos modelos se utilizó el método "Introducir o *Enter*" para las variables *dummy* genéticas (no,si) y el método "paso a paso o *step wise*" para las variables dietéticas relacionadas con el metabolismo del hierro:

energía en Kcal, hierro hemo y no hemo (mg/día), proteínas (g/día), fibra (g/día), calcio (mg/día), vitamina C (mg/día), alcohol (g/día). Además, los modelos se ajustaron por el hábito tabáquico (cigarrillos/día), el nivel de actividad física (horas/semana), suplementos de hierro (no, si), el sexo (mujer, hombre), la edad (años) y el BMI (Kg/ m²).

Posteriormente se crearon estos mismos modelos separando por género la muestra y por tanto excluyendo la variable sexo del análisis. También se realizó el mismo modelo para la ferritina-log en individuos mayores de 50 años para observar el efecto de las mutaciones a lo largo del tiempo.

Para observar el efecto de los niveles de hierro sobre el estrés oxidativo, se crearon 2 modelos de Regresión Lineal Múltiple, uno con los TBARS plasmáticos como variable independiente y otro con la variable ORAC. En ambos modelos se utilizó el método "Introducir" para las variables de los niveles de hierro (STf y FS) y el método "paso a paso" para las variables que pudieran tener relación con el estrés oxidativo: Edad (años), sexo (mujer, hombre), hierro hemo y no hemo (mg/día), retinol (µg/día), betacaroteno (µg/día), vit.D(µg/día), vit.E (µg/día), vit.C (mg/día), alcohol (g/día), tabaco (cig/día), suplementos de hierro (no, si) y proteína C reactiva (mg/l) . Posteriormente se crearon los mismos modelos separando por genero la muestra y por tanto excluyendo la variable sexo del análisis.

En todos los casos se aceptó un nivel de significación de $p < 0,05$.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

RESULTADOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

1.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

El estudio se realizó a un total de 817 sujetos de entre 18 y 75 años de los municipios de Cambrils (n=408) y de la Poble de Mafumet y el Morell (n=409).

En la tabla 17 y figura 26 se describe la población participante en el estudio según grupos de edad y sexo en comparación con la población total de estas ciudades. También se describe el nivel socioeconómico y cultural de la población estudiada (Tabla 18).

Tabla 17.- Representación de los sujetos de la población de estudio por grupos de edad y sexo

GRUPOS EDAD (años)	HOMBRES % (n)		MUJERES % (n)		TOTAL % (n)	
	Estudio	Censo*	Estudio	Censo*	Estudio	Censo*
18-29	11,2 (91)	13 (2657)	13,1 (107)	12,65 (2591)	24,3 (198)	25,6 (5248)
30-44	17,4 (142)	17,7 (3622)	17,2 (140)	17,16 (3513)	34,6 (282)	34,8 (7135)
45-64	13,7 (112)	14,92 (3055)	15,2 124	14,51 (2972)	29 (236)	29,4 (6027)
65-75	5,5 (45)	4,97 (1018)	6,6 (54)	5,09 (1043)	12,1 (99)	10,1 (2061)
TOTAL	47,9 (390)	50,6 (10352)	52,1 (425)	49,4 (10119)	100 (815)	100 20471

* Total de la población censada en Cambrils, El Morell y La Poble de Mafumet.
 Datos obtenidos del Instituto de Estadística de Cataluña: <http://www.idescat.net>

Figura 26.- Comparativa de la población estudiada y la censada

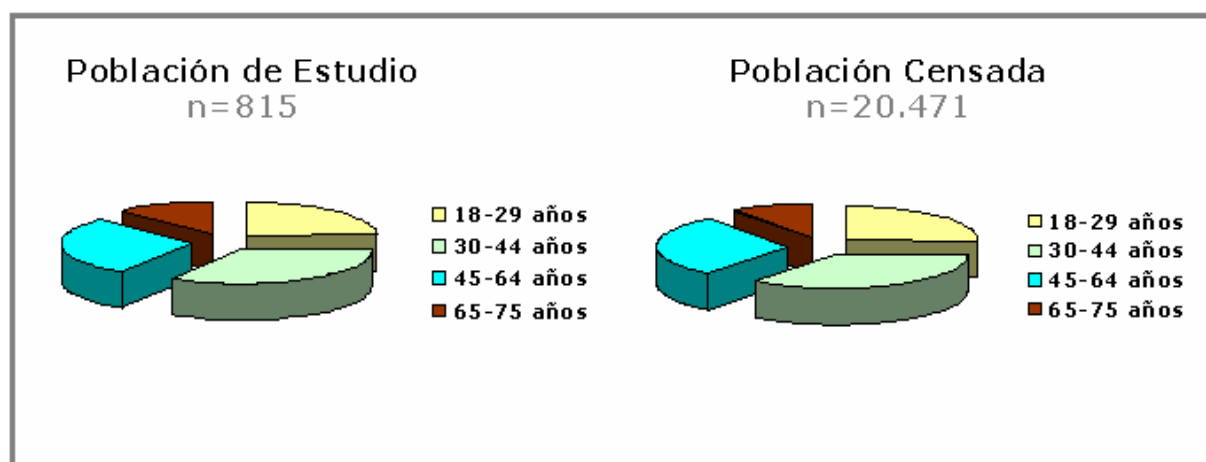


Tabla 18.- Porcentaje de la población según el nivel socioeconómico

NIVEL SOCIOECONÓMICO		MUJERES n=425 %	HOMBRES n=390 %	TOTAL n=815 %
Nivel de estudios	Sin estudios	4	2,3	3,2
	Primaria, ESO, EGB	49,6	50	49,8
	Secundaria, BUP, EFP	32,9	35,9	34,4
	Universitarios	13,4	11,8	12,6
Profesión	Sin cualificación	68,9	58,2	63,8
	Profesión de grado medio o pequeño negocio	27,3	36,7	31,8
	Profesión de grado superior, técnico, mediana o grandes empresas	3,8	5,1	4,4

1.2 PARÁMETROS BIOQUÍMICOS SEGÚN EDAD Y SEXO

En las tablas siguientes de la 19 a la 23 se describen los parámetros bioquímicos del estado en hierro según grupos de edad y sexo. El RTfs solo se determinó en una parte de la población debido a su elevado coste.

Se observa que la ferritina sérica y la PCR aumentan con la edad en hombres y mujeres. El aumento de los niveles ferritina sérica es a partir de los 45 años en las mujeres y a partir de los 30 en los hombres. En general, los hombres tienen niveles más elevados de hierro corporal que las mujeres (Tabla 21).

Tabla 19.- Parámetros bioquímicos del estado en hierro en las mujeres por grupos de edad

	18-29 ^a n=107		30-44 ^b n=140		45-64 ^c n=124		65-75 ^d n=54		p	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT		
Hematocrito (%)	39,5	2,8	39,6	2,9	40,7	2,8	41,1	2,6	ac*, ad*, bc*, bd**	
Hemoglobina (g/dl)	14,5	12,5	13,3	1,0	13,6	1,0	13,7	0,9		
VCM (fl)	88,8	4,9	90,0	4,4	88,7	5,4	90,3	3,3		
HCM (pg/cél)	29,8	1,9	30,2	1,7	29,8	1,9	30,2	1,1		
CHCM (g/dl)	33,6	0,8	33,5	0,8	33,5	0,7	33,5	0,5		
Hierro sérico (µg/dl)	16,0	6,6	14,2	6,6	14,6	4,8	14,4	4,6		
Transferrina (mg/dl)	2,7	0,5	2,6	0,4	2,7	1,4	2,5	0,3		
CFHT (mg/dl)	54,6	9,6	52,7	8,1	54,8	28,2	49,9	5,6		
STf (%)	30,5	14,7	27,8	13,5	28,8	11,1	29,1	9,4		
Ferritina sérica (µg/l)	35,4	21,2	38,1	39,0	68,0	52,2	92,9	65,2		ac***, ad***bc*** ,bd***cd**
PCR (mg/l)	2,8	5,9	2,1	3,7	3,3	4,0	4,2	4,1		bd*
	n=42		n=53		n=42		n=20			
RTfs (mg/l)	2,2	1,3	2,3	1,5	1,9	1,0	3,1	1,5		cd*

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos a,b,c,d
 VCM: Volumen Corpuscular Medio, HCM: Hemoglobina Corpuscular Media, CHCM: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media, CFHT: Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina, STf: Saturación de la Transferrina, PCR: Proteína C Reactiva, RTfs: Receptor soluble de Transferrina, DT: Desviación Típica.

Resultados

Tabla 20.- Parámetros bioquímicos del estado en hierro en los hombres por grupos de edad

	18-29 ^a n=91		30-44 ^b n=142		45-64 ^c n=112		65-75 ^d n=45		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Hematocrito (%)	45,5	2,4	45,5	2,7	46,2	3,4	45,0	3,4	
Hemoglobina (g/dl)	15,4	0,9	15,4	0,9	15,6	1,1	15,1	1,2	
VCM (fl)	89,7	3,1	90,6	4,4	91,5	4,0	91,9	4,4	ac*, ad*
HCM (pg/cél)	30,3	1,3	30,8	1,4	30,8	1,6	30,9	1,6	ab*
CHCM (g/dl)	33,7	0,9	33,9	0,8	33,7	0,8	33,6	0,7	
Hierro sérico (µg/dl)	18,7	7,1	19,8	6,6	19,1	9,2	17,0	6,2	
Transferrina (mg/dl)	2,6	0,3	2,4	0,3	2,5	0,4	2,4	0,4	
CFHT (mg/dl)	51,1	7,0	48,9	6,5	50,3	7,1	47,8	7,7	
STf (%)	37,2	14,8	41,0	14,3	39,6	25,6	36,9	16,0	
Ferritina sérica (µg/l)	103,3	68,0	173,7	201,5	153,4	126,6	181,2	156,9	ab**, ad*
PCR (mg/l)	1,0	1,6	2,6	3,3	2,9	3,3	4,7	6,8	ab**, ac**, ad***, bd*, cd*
	n=43		n=60		n=49		n=21		
RTfs (mg/l)	2,7	1,2	2,8	1,3	2,8	1,4	2,1	1,0	

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos a,b,c,d
 VCM: Volumen Corpuscular Medio, HCM: Hemoglobina Corpuscular Media, CHCM: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media, CFHT: Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina, STf: Saturación de la Transferrina, PCR: Proteína C Reactiva, RTfs: Receptor soluble de Transferrina, DT: Desviación Típica.

Tabla 21.- Parámetros bioquímicos del estado en hierro por sexos

	MUJERES n=425		HOMBRES n=390		p	TOTAL n=815	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
Hematocrito (%)	40,1	2,8	45,7	3,0	***	42,8	4,0
Hemoglobina (g/dl)	13,7	6,3	15,4	1,0	***	14,5	4,7
VCM (fl)	89,4	4,7	90,8	4,1	***	90,1	4,5
HCM (pg/cél)	30,0	1,8	30,7	1,5	***	30,3	1,7
CHCM (g/dl)	33,5	0,7	33,8	0,8	***	33,6	0,8
Hierro sérico (µg/dl)	14,8	5,9	19,0	7,5	***	16,8	7,0
Transferrina (mg/dl)	2,7	0,8	2,5	0,4	***	2,6	0,7
CFHT (mg/dl)	53,5	16,8	49,7	7,0	***	51,6	13,2
STf (%)	28,9	12,7	39,3	18,5	***	33,9	16,6
Ferritina sérica (µg/l)	53,1	48,5	152,3	154,9	***	100,7	123,2
PCR (mg/l)	2,9	4,5	2,6	3,8		2,7	4,2
	n=157		n=173			n=330	
RTfs (mg/l)	2,3	1,3	2,7	1,3	**	2,5	1,3

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos a,b,c,d. VCM: Volumen Corpuscular Medio, HCM: Hemoglobina Corpuscular Media, CHCM: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media, CFHT: Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina, STf: Saturación de la Transferrina, PCR: Proteína C Reactiva, RTfs: Receptor soluble de Transferrina, DT: Desviación Típica.

Resultados

Para eliminar el efecto que la inflamación puede tener sobre los niveles de FS, en las tablas 22 y 23 se describen los niveles de FS y de PCR una vez eliminados los individuos con PCR>10mg/l (n=16 mujeres y 19 hombres) se describen los niveles de ferritina sérica y de PCR por grupos de edad (Tablas 22 y 23).

Se observa que los valores medios de estos parámetros son similares a los de las tablas 19, 20 y 21, donde no se habían eliminados los sujetos con inflamación.

Tabla 22.- Niveles séricos de ferritina y proteína C reactiva en los individuos sin inflamación por grupos de edad en mujeres y hombres.

	18-29 ^a		30-44 ^b		45-64 ^c		65-75 ^d		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Mujeres n=409	n=101		n=137		n=118		n=53		
Ferritina sérica (µg/l)	34,6	21,4	36,5	36,8	66,4	50,6	91,9	65,4	ac***,ad*** bc***bd***cd*
PCR (mg/l)	1,7	2,2	1,6	1,9	2,6	2,0	3,7	2,7	ac*ad***bc** bd***cd*
Hombres n=371	n=90		n=134		n=107		n=40		
Ferritina sérica (µg/l)	103,4	68,4	175,2	206,5	154,0	128,3	160,6	129,2	ab**
PCR (mg/l)	0,9	1,0	1,8	1,5	2,4	2,1	2,8	2,5	ab**ac*** ad***bd*

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación. PCR: Proteína C Reactiva, DT: Desviación típica. Eliminados los individuos con inflamación: PCR>10mg/L (Mujeres=16, Hombres=19)

Tabla 23.- Niveles séricos de ferritina y proteína C reactiva en los individuos sin inflamación por sexos.

	MUJERES n=409		HOMBRES n=371		p	TOTAL n=780	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
Ferritina sérica (µg/l)	51,9	47,6	150,1	154,0	***	98,7	122,0
PCR (mg/l)	2,2	2,3	1,9	1,9	*	2,0	2,1

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación. PCR: Proteína C Reactiva, DT: Desviación típica. Eliminados los individuos con inflamación: PCR>10mg/L (Mujeres=16, Hombres=19)

1.3 CONSUMO ALIMENTARIO, INGESTA ENERGÉTICA Y NUTRICIONAL SEGÚN EDAD Y SEXO

En las tablas 24 y 25 se describe el consumo alimentario por grupos de edad. Se observa un menor consumo de carne, cereales, dulces y bebidas azucaradas en el grupo de 65-75 años en comparación con los grupos de edad más jóvenes, principalmente con el de 18-29 años, tanto en mujeres como en hombres.

En la tabla 26 se describe la diferencia entre sexos y observamos que los hombres consumen mayor cantidad de carne, pescado, huevos, cereales, tubérculos, dulces, bebidas azucaradas y alcohólicas; y menos de leche y productos lácteos, verduras y frutas que las mujeres.

Tabla 24.- Consumo alimentario en las mujeres por grupos de edad

Alimentos (g/ml/día)	18-29 ^a n=107		30-44 ^b n=140		45-64 ^c n=124		65-75 ^d n=54		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Carne	140,0	61,5	146,8	69,0	124,8	62,1	105,6	60,5	ad*bd**
Pescado	60,6	54,1	65,1	56,3	67,0	53,8	73,7	42,9	
Huevos	22,2	20,3	26,7	27,5	22,8	22,6	18,0	15,8	
Leche	201,2	150,9	241,5	149,0	232,9	166,5	210,9	148,5	
Productos lácteos	108,4	73,0	100,7	77,0	107,3	85,8	79,3	72,2	
Aceites	42,9	18,7	44,4	17,1	41,1	15,6	40,6	17,0	
Frutos secos	3,3	6,4	4,9	8,6	4,5	10,7	6,0	12,8	
Cereales	163,5	72,6	155,6	72,8	140,3	74,1	126,2	59,4	ad*
Patatas	77,9	59,1	63,1	56,3	53,8	43,9	59,4	40,0	ac**
Legumbres	11,4	18,0	12,6	18,0	17,1	22,5	15,1	23,7	
Verduras	166,2	101,9	178,8	110,9	189,3	89,1	199,5	92,2	
Frutas	156,6	154,9	227,9	199,3	245,6	154,8	247,6	131,1	ab*ac***ad*
Dulces	40,6	32,7	31,2	29,3	17,9	18,8	11,8	11,9	ab*ac***ad*** bc**bd***
Bebidas azucaradas	96,3	169,2	79,0	145,3	33,1	83,1	34,7	100,7	ac***bc*
Bebidas alcohólicas	28,7	77,6	140,0	61,5	146,8	69,0	124,8	62,1	bc*
Vino	14,6	42,9	60,6	54,1	65,1	56,3	67,0	53,8	

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d} DT: Desviación típica

Resultados

Tabla 25.- Consumo alimentario en los hombres por grupos de edad

Alimentos (g,ml/día)	18-29 ^a n=91		30-44 ^b n=142		45-64 ^c n=112		65-75 ^d n=45		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Carne	220,9	106,3	210,9	88,5	189,0	89,9	144,2	82,5	ad***bd**
Pescado	78,6	64,0	76,1	65,1	101,8	80,1	91,7	76,8	
Huevos	32,7	28,0	28,3	27,2	26,6	24,4	23,9	21,6	
Leche	203,2	157,3	177,2	120,9	172,2	169,8	149,3	110,2	
Productos lácteos	128,2	94,1	107,7	78,7	86,1	78,2	58,5	60,3	ac**ad*** bd**
Aceites	55,5	21,6	54,2	18,3	53,9	19,0	52,0	18,7	
Frutos secos	4,8	9,4	9,4	22,0	6,6	12,5	8,1	16,0	
Cereales	263,8	103,6	235,8	89,2	206,5	83,8	170,5	75,0	ac***ad***bd**
Patatas	77,2	53,2	72,6	51,9	71,6	56,3	77,6	67,3	
Legumbres	16,1	23,5	14,9	17,6	19,2	30,5	20,7	28,8	
Verduras	165,1	110,0	191,8	111,4	205,4	108,1	204,0	104,9	
Frutas	187,8	216,3	203,1	159,5	244,4	160,3	259,7	154,2	ab*ac***ad***
Dulces	55,1	39,2	41,8	36,2	21,6	25,5	20,6	27,1	bc***bd**
Bebidas azucaradas	149,6	207,1	128,6	212,2	51,6	119,8	47,4	87,7	ac**ad*bc*
Bebidas alcohólicas	82,2	137,5	192,7	305,6	159,1	301,6	60,5	182,3	ab*bd*
Vino	50,2	115,7	94,5	124,1	131,9	180,0	117,9	137,5	ac**

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d} DT: Desviación típica

Tabla 26.- Consumo alimentario por sexos

Alimentos (g,ml/día)	MUJERES n=425		HOMBRES n=390		p	TOTAL n=815	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
Carne	133,8	65,3	198,9	95,2	***	164,4	87,0
Pescado	65,5	53,5	86,0	71,6	***	75,2	63,4
Huevos	23,4	23,2	28,3	26,0	**	25,7	24,7
Leche	225,1	155,1	178,4	144,5	***	203,1	151,9
Productos lácteos	102,1	78,4	100,2	83,0		101,2	80,6
Aceites	42,6	17,1	54,1	19,3	***	48,0	19,0
Frutos secos	4,5	9,4	7,4	16,5	**	5,8	13,3
Cereales	149,6	72,5	225,9	93,9	***	185,5	91,5
Patatas	63,7	52,6	74,0	55,3	**	68,5	54,1
Legumbres	13,9	20,2	17,1	24,6	*	15,4	22,4
Verduras	181,1	100,6	191,1	110,0		185,8	105,2
Frutas	217,2	171,9	218,4	175,1		217,8	173,3
Dulces	27,4	27,9	36,4	35,7	***	31,6	32,1
Bebidas Azucaradas	64,7	134,7	101,2	181,0	**	81,9	159,1
Bebidas alcohólicas	22,9	61,0	141,8	265,8	***	78,8	196,6
Vino	22,4	61,7	98,1	145,2	***	58,0	115,5

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre sexos
 DT: Desviación Típica

Resultados

En las tablas 27 y 28 se describe la ingesta de energía y nutrientes por grupos de edad. Se observa menor ingesta de energía y macronutrientes en el grupo de 65-75 años en comparación con los grupos de edad más jóvenes, principalmente con el de 18-29 años, tanto en mujeres como en hombres.

Con respecto a los micronutrientes, la ingesta de hierro, tiamina, niacina y piridoxina es menor en el grupo de mujeres mayores respecto al más joven. En los hombres, la ingesta de calcio, hierro, tiamina, niacina, piridoxina y cianocobalamina es menor en el grupo de mayor edad respecto al de menor edad.

Tabla 27.- Ingesta energética y nutricional en las mujeres por grupos de edad

Unidades/día	18-29 ^a n=107		30-44 ^b n=140		45-64 ^c n=124		65-75 ^d n=54		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Energía, Kcal	1984,7	469,7	1977,6	517,3	1738,0	464,8	1608,7	438,8	ac**ad***bc**bd***
Proteínas, g	80,8	18,8	83,1	20,1	78,4	21,0	71,7	20,2	bd*
Glúcidos, g	193,3	57,9	192,6	67,2	169,8	56,6	159,0	50,3	ac*ad*bc*bd*
Fibra alimentaria, g	15,5	5,8	16,1	6,7	16,6	5,3	16,8	5,4	
Lípidos, g	96,3	27,5	93,1	26,9	80,5	26,6	74,0	26,1	ac***ad***bc**bd**
AGS, g	28,5	9,3	26,5	9,2	21,2	8,4	17,7	7,1	ac***ad***bc**bd***
AGMI, g	46,8	14,6	46,4	14,5	40,7	13,7	38,9	15,0	ac*ad*bc*bd*
AGPI, g	12,2	5,4	11,4	5,1	10,4	5,4	10,1	7,9	
Colesterol, mg	321,1	103,4	354,6	137,1	286,1	125,2	238,3	83,0	ad**bc***bd***
Alcohol, g	3,0	6,8	5,3	11,7	2,9	5,2	2,9	6,1	
Calcio, mg	773,3	300,1	783,8	258,0	774,2	292,8	678,6	242,3	
Hierro total, mg	10,8	3,8	10,3	4,1	9,9	3,7	8,9	4,4	ad*
Hierro hemo, mg	3,4	2,1	3,3	2,4	3,1	1,9	2,7	2,5	
Hierro no hemo, mg	7,5	3,0	7,1	2,9	6,8	3,3	6,1	2,5	
Retinol, µg	322,8	384,5	381,4	791,4	465,0	1616,1	272,0	765,5	
Bcaroteno, µg	3369,9	3495,2	3512,3	3299,6	3919,9	3554,3	3714,7	2801,0	
Vit.D, µg	2,1	2,5	2,1	2,1	2,0	2,1	1,2	1,0	
Vit.E, µg	11,3	5,0	11,3	4,9	10,7	5,0	11,0	6,7	
Vit.C, mg	94,3	73,4	106,3	85,0	119,7	61,3	111,9	66,2	
Tiamina, mg	1,4	0,4	1,3	0,4	1,2	0,4	1,0	0,3	ac**ad***bd**
Riboflavina, mg	1,6	0,4	7,3	26,9	6,9	41,0	7,2	31,8	
Niacina, mg	17,7	5,4	18,2	5,6	16,8	5,5	14,6	4,4	ad*bd**
Piridoxina, mg	1,7	0,5	1,7	0,5	1,6	0,5	1,4	0,4	ad*bd**
Cobalamina, µg	4,6	3,3	4,9	3,8	5,1	6,7	4,0	3,5	
Folatos, µg	261,8	116,3	277,5	113,5	296,8	102,0	279,1	87,3	

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d} DT: Desviación Típica, AGS: Ácidos Grasos Saturados, AGMI: Ácidos Grasos Monoinsaturados, AGPI: Ácidos Grasos Poliinsaturados, Vit: Vitamina

Resultados

Tabla 28.- Ingesta energética y nutricional en los hombres por grupos de edad

Unidades/día	18-29 ^a n=91		30-44 ^b n=142		45-64 ^c n=112		65-75 ^d n=45		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Energía, Kcal	2783,3	736,8	2708,5	601,4	2416,5	600,3	2093,1	556,9	ac**ad***bc***cd*
Proteínas, g	114,4	32,3	107,9	24,3	104,4	25,6	85,8	22,9	ad***bd***cd**
Glúcidos, g	277,5	90,8	254,1	72,5	219,0	65,2	194,6	67,5	ac***ad***bc**bd***
Fibra alimentaria, g	19,2	8,0	19,9	7,2	20,0	7,2	20,3	7,1	
Lípidos, g	127,3	37,5	124,3	34,2	108,0	33,1	95,2	30,3	ac**ad***bc**bd***
AGS, g	38,1	14,1	35,1	11,3	28,3	10,0	22,5	7,6	ac***ad***bc***bd***
AGMI, g	60,4	18,4	60,5	17,1	56,1	18,5	51,0	17,4	ad*bd*
AGPI, g	16,4	7,1	17,0	10,0	14,2	6,7	12,9	6,9	bd*
Coolesterol, mg	461,1	181,7	426,0	155,2	377,0	139,1	302,8	100,7	ac**ad***bd***
Alcohol, g	9,9	16,0	20,8	25,4	21,7	27,3	16,6	17,4	ab*ac**
Calcio, mg	943,1	399,1	864,2	357,2	777,8	334,4	619,8	248,1	ac*ad***bd**
Hierro total, mg	12,2	4,2	11,5	4,4	11,1	3,3	9,3	2,4	ad**bd*
Hierro hemo, mg	4,2	2,6	4,2	3,0	4,0	2,0	3,0	1,7	
Hierro no hemo, mg	8,0	3,1	7,3	2,7	7,1	2,5	6,3	1,9	ad**
Retinol, µg	552,4	1300,9	376,3	690,7	369,2	931,7	171,7	80,9	
Bcaroteno, µg	2712,7	3205,4	2947,2	2697,3	3124,2	2728,6	3520,5	4721,6	
Vit.D, µg	3,1	2,7	2,6	2,4	3,3	3,5	2,7	2,6	
Vit.E, µg	14,7	6,7	15,4	9,3	13,3	5,6	12,7	5,4	
Vit.C, mg	97,3	87,3	99,4	63,0	107,0	62,0	118,2	80,1	
Tiamina, mg	1,8	0,6	1,7	0,5	1,5	0,5	1,3	0,4	ac*ad***bd**
Riboflavina, mg	6,2	22,7	2,0	0,5	2,6	6,8	6,3	32,0	
Niacina, mg	25,6	9,3	25,2	8,1	24,2	7,8	18,9	5,9	ad***bd***cd**
Piridoxina, mg	2,3	0,7	2,3	0,7	2,2	0,7	1,8	0,4	ad**bd***cd**
Cobalamina, µg	7,4	6,3	6,0	3,6	7,0	6,9	4,5	2,4	ad*
Folatos, µg	307,7	131,6	328,2	124,5	333,4	132,5	310,5	94,7	

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d} DT: Desviación Típica, AGS: Ácidos Grasos Saturados, AGMI: Ácidos Grasos Monoinsaturados, AGPI: Ácidos Grasos Poliinsaturados, Vit: Vitamina

Resultados

En general, la ingesta de energía y nutrientes es menor en las mujeres que en los hombres, siendo esta diferencia significativo para la gran mayoría como se observa en la tabla 29.

Tabla 29.- Ingesta energética y nutricional por sexos

Unidades/día	MUJERES n=425		HOMBRES n=390		p	TOTAL n=815	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
Energía, Kcal	1865,8	500,5	2567,1	666,9	***	2195,1	681,1
Proteínas, g	79,8	20,3	105,7	27,7	***	92,0	27,3
Glúcidos, g	182,1	61,3	242,1	79,3	***	210,3	76,4
Fibra alimentaria, g	16,1	5,9	19,8	7,4	***	17,9	6,9
Lípidos, g	88,0	28,0	116,7	35,8	***	101,5	35,0
AGS, g	24,4	9,5	32,3	12,4	***	28,1	11,6
AGMI, g	44,0	14,7	58,0	18,1	***	50,6	17,8
AGPI, g	11,2	5,7	15,6	8,3	***	13,2	7,4
Colesterol, mg	312,3	125,7	405,0	159,0	***	355,9	149,5
Alcohol, g	3,7	8,4	18,0	23,7	***	10,4	18,8
Calcio, mg	765,9	278,8	828,0	361,8	**	795,1	321,7
Hierro total, mg	10,1	4,0	11,3	4,0	***	10,7	4,0
Hierro hemo, mg	3,2	2,2	4,0	2,5	***	3,6	2,4
Hierro no hemo, mg	7,0	3,0	7,3	2,7		7,1	2,9
Retinol, µg	378,2	1039,1	390,3	905,6		383,9	978,1
Bcaroteno, µg	3619,4	3368,8	3013,3	3122,4	*	3334,9	3267,4
Vit.D, µg	2,0	2,1	2,9	2,9	***	2,4	2,5
Vit.E, µg	11,1	5,2	14,3	7,4	***	12,6	6,5
Vit.C, mg	107,8	73,9	103,4	71,1		105,8	72,6
Tiamina, mg	1,2	0,4	1,6	0,6	***	1,4	0,5
Riboflavina, mg	5,7	29,2	3,6	15,9		4,8	23,9
Niacina, mg	17,2	5,5	24,3	8,3		20,5	7,8
Piridoxina, mg	1,6	0,5	2,2	0,7		1,9	0,7
Cobalamina, µg	4,8	4,7	6,4	5,4		5,5	5,1
Folatos, µg	279,3	108,6	322,9	125,4		299,8	118,7

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d}
 DT: Desviación Típica, AGS: Ácidos Grasos Saturados, AGMI: Ácidos Grasos Monoinsaturados, AGPI: Ácidos Grasos Poliinsaturados, Vit: Vitamina

1.4 MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS Y ESTILOS DE VIDA SEGÚN EDAD Y SEXO

Las medidas antropométricas y estilos de vida se describen en las tablas 30, 31 y 32 según grupos de edad y sexo.

Como se observa en las tablas, el peso y el IMC aumentan con la edad tanto en mujeres como hombres. En las mujeres, la ingesta de alcohol es estable por grupos de edad mientras que el consumo de tabaco es mayor en los grupos de menor edad, de hecho no hemos encontrado mujeres fumadoras en el grupo de 65-75 años. Respecto a la actividad física se observa una tendencia ascendente al aumentar la edad aunque las diferencias no son significativas.

En los hombres, la ingesta de alcohol es mayor en los grupos intermedios (de 30 a 64 años), mientras que el consumo de tabaco sigue siendo mayor en los grupos de menor edad. Respecto a la actividad física se observa es mayor en el grupo de mayor edad.

Los suplementos de hierro tienen una frecuencia ocasional tanto en hombres como en mujeres y no se observan diferencias significativas en cuanto a grupos de edad.

Tabla 30.- Medidas antropométricas y estilos de vida en las mujeres por grupos de edad

	18-29 ^a n=107		30-44 ^b n=140		45-64 ^c n=124		65-75 ^d n=54		p ¹
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Peso (kg)	60,2	10,6	64,3	13,6	70,5	12,7	74,2	12,8	ac***ad*** bd*** bc**
Altura (m)	1,61	0,07	1,60	0,07	1,56	0,06	1,53	0,06	ac***ad***bc***bd***cd*
IMC (kg/m²)	23,2	3,7	25,2	4,9	29,1	5,2	31,9	5,2	ab*ac***ad***bc***bd***cd**
Alcohol (g/día)#	3,9	8,1	2,7	7,4	2,3	5,9	3,1	6,0	
Tabaco (cig/día) #	7,1	8,9	5,8	8,2	1,2	4,4	0	0	ac***ad***bc***bd***
Actividad física (h/sem)#	1,9	3,8	2,2	5,1	2,6	3,4	3,8	6,1	
Suplementos de hierro (%)#	5,6		6,4		4,8		1,9		p ²

p¹, Análisis de la varianza con prueba de Scheffe 's para comparaciones múltiples, p²: X² = 1,73 p = 0,63; *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001: nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d}, IMC: Índice de Masa Corporal, DT: Desviación Típica. # Resultados según la encuesta de hábitos y estilos de vida.

Resultados

Tabla 31.- Medidas antropométricas y estilos de vida en los hombres por grupos de edad

	18-29 ^a n=91		30-44 ^b n=142		45-64 ^c n=112		65-75 ^d n=45		p ¹
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Peso (kg)	75,9	12,5	81,4	13,4	82,0	12,6	77,5	11,3	ab*ac*
Altura (m)	1,76	0,06	1,73	0,07	1,67	0,06	1,65	0,07	ab**ac***ad*** bc***bd***
IMC (kg/m²)	24,4	3,5	27,3	4,1	29,3	3,9	28,4	14,1	ab***ac***ad***bc**
Alcohol (g/día)#	11,4	14,3	21,6	28,4	21,8	26,5	17,6	21,2	ab*ac*
Tabaco (cig/día) #	6,9	10,2	8,7	12,2	5,6	11,5	0,9	3,4	ad*bd*
Actividad física (h/sem)#	4,9	6,7	3,0	6,0	3,8	5,9	10,7	9,5	ad***bd***cd***
Suplementos de hierro (%) #	1,1		1,4		0		0		p ²

p¹, Análisis de la varianza con prueba de Scheffé's para comparaciones múltiples, p²: X² =2,107 p=0,55, *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d}, IMC: Índice de Masa Corporal, DT: Desviación Típica. # Resultados según la encuesta de hábitos y estilos de vida.

Tabla 32.- Medidas antropométricas y estilos de vida por sexos

	MUJERES n=425		HOMBRES n=390		p ¹	TOTAL n=815	
	Media	DT	Media	DT		Media	DT
Peso (kg)	66,3	13,4	79,8	12,9	***	72,7	14,8
Altura (m)	1,58	0,07	1,71	0,08	***	1,64	0,10
IMC (kg/m²)	26,7	5,6	27,4	4,3		27,0	5,0
Alcohol (g/día)#	2,9	7,0	18,8	24,7	***	10,5	19,5
Tabaco (cig/día) #	4,1	7,4	6,5	11,1	***	5,2	9,4
Actividad física (h/sem)#	2,4	4,5	4,6	7,0	***	3,5	5,9
Suplementos de hierro (%) #	5,2		0,8		p ²	3,1	

p¹, Análisis de la varianza con prueba de Scheffé's para comparaciones múltiples, p²: X²=2,43 P=0,48; *p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d} IMC: Índice de Masa Corporal, DT: Desviación Típica, # Resultados según encuesta de hábitos y estilos de vida.

1.5 PARÁMETROS DE ESTRÉS OXIDATIVO SEGÚN EDAD Y SEXO

Las tablas 33 y 34 presentan los resultados de la valoración del estrés oxidativo en mujeres y hombres respectivamente. Observamos que el nivel de estrés oxidativo medido con los TBARS plasmáticos aumenta con la edad, tanto en hombres como mujeres de forma significativa. Lo mismo ocurre con la capacidad antioxidante del plasma medida con el test de ORAC. No se observan diferencias significativas en los parámetros de estrés oxidativo estudiados entre sexos.

Tabla 33.- Parámetros de estrés oxidativo en las mujeres por grupos de edad

	18-29 ^a n=107		30-44 ^b n=140		45-64 ^c n=124		65-75 ^d n=54		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
TBARS (nmol/ml)	0,91	0,24	0,99	0,31	1,01	0,32	1,05	0,29	ab*ac***ad***
Test de ORAC (mmol eq Trolox /l)	9,08	6,96	9,20	7,19	9,99	6,73	10,99	8,05	bd*

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d} DT:Desviación Típica, TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, Test de ORAC:Capacidad antioxidante del plasma

Tabla 34.- Parámetros de estrés oxidativo en los hombres por grupos de edad

	18-29 ^a n=107		30-44 ^b n=140		45-64 ^c n=124		65-75 ^d n=54		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
TBARS (nmol/ml)	0,87	0,27	0,96	0,30	1,02	0,33	0,99	0,26	ac**
Test de ORAC (mmol eq Trolox /l)	9,62	7,12	8,35	5,59	9,24	6,48	12,06	10,11	bd*

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b,c,d} DT:Desviación Típica, TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, Test de ORAC:Capacidad antioxidante del plasma

Tabla 35.- Parámetros de estrés oxidativo por sexos

	MUJERES n=425		HOMBRES n=390		TOTAL n=815	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
TBARS (nmol/ml)	0,98	0,30	0,96	0,30	0,97	0,30
Test de ORAC (mmol eq Trolox /l)	9,62	7,12	9,33	6,92	9,48	7,02

DT:desviación típica, TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, ORAC:capacidad antioxidante del plasma. No se han observado diferencias significativas

2. PREVALENCIA DE SOBRECARGA DE HIERRO

En la tabla 36 se describe los porcentajes de sujetos con parámetros del estado de hierro alterados tanto por déficit como por exceso de hierro.

Tabla 36.- Porcentaje de sujetos con parámetros del estado de hierro alterados por grupos de edad.

Mujeres	Parámetros	18-29 n=101	30-44 n=137	45-64 n=118	65-75 n=53	n=409
Déficit de hierro	Hb < 12 g/l Mujeres	6,9	12,4	5,1	1,9	7,6
	STf < 16 %	10,9	18,4	11,9	1,9	12,5
	FS < 12µg/l	8,9	12,6	5,1	1,9	8,1
	CFHT > 55 µg/dl	40,6	35,3	31,4	18,9	33,3
	VCM < 80 fl	4	3,6	3,4	0	3,2
Exceso de hierro	STf > 45 %	11,9	10,3	7,6	3,8	9,1
	FS (µg/l)	1	0,7	10,2	18,9	5,9
	110-200 Mujeres					
	FS (µg/l) >200 Mujeres	0	1,5	3,4	5,7	2,2
Hombres	Parámetros	18-29 n=90	30-44 n=134	45-64 n=107	65-75 n=40	n=371
Déficit de hierro	Hb < 13 g/l Hombres	1,1	0,7	0,9	2,5	1,1
	STf < 16 %	5,6	1,5	1,9	2,5	2,7
	FS < 12µg/l	1,1	0	1,9	0	0,8
	CFHT > 55 µg/dl	23,3	19,4	26,2	20	22,4
	VCM < 80 fl	0	0,7	0	0	0,3
Exceso de hierro	STf > 45 %	18,9	34,3	25,2	25	27
	FS (µg/l)	2,2	13,4	12,1	10	10
	200-300 Hombres					
	FS (µg/l) >300 Hombres	2,2	11,2	10,3	12,5	8,9

Hb: Hemoglobina, STf: Saturación de Transferrina, FS: Ferritina Sérica, CFHT: Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina, VCM: Volumen Corpuscular Medio. Los sujetos con inflamación (PCR>10mg/L) se han eliminado del análisis (Mujeres=16, Hombres=19)

El porcentaje de sujetos con parámetros alterados por déficit de hierro medido por la hemoglobina, la STf, la FS, CFHT y el VCM es sensiblemente superior en mujeres que en hombres, principalmente de los 18 a los 45 años de edad. En el grupo de 65 a 75 años, los porcentajes se igualan en hombres y mujeres.

Resultados

Respecto al porcentaje de parámetros por encima de los niveles de normalidad observamos mayores porcentajes de mujeres con STf alterada en los grupos de menor edad (de 18 a 44 años) que en los otros grupos de edad. Respecto a la FS ocurre lo contrario ya que el porcentaje de mujeres con este marcador alterado aumenta con la edad.

En los hombres observamos porcentajes similares con STf elevada según los grupos de edad y aumento de los niveles de FS a partir de los 30 años, con mantenimiento posterior.

Los porcentajes globales de marcadores alterados por exceso de hierro es superior en hombres que en mujeres.

En la tabla 37 se describe la prevalencia tanto de déficit de hierro como de sobrecarga por grupos de edad

Tabla 37.- Prevalencia de déficit y sobrecarga de hierro por grupos de edad

Mujeres	18-29 n=101 %(IC95%)	30-44 n=137 %(IC95%)	45-64 n=118 %(IC95%)	65-75 n=53 %(IC95%)	p ¹	Total n=409 %(IC95%)
Déficit^a	12,9 (6,3-19,4)	20,7 (13,7-27,2)	11,1 (5,3-16,7)	1,9 (0,4-10,1)	0,033	13,5 (10,1-16,8)
Normal	75,2 (66,8-83,7)	67,4 (58,5-74,3)	69,2 (60,3-77)	73,6 (59,7-84,7)		70,9 (65,7-74,6)
Sobrecarga Moderada^b	11,9 (5,5-18,2)	11,1 (5,7-16,2)	18,8 (11,6-25,7)	24,5 (13,8-38,3)		14,9 (11,7-18,6)
Sobrecarga Severa^c	0	0,7 (0,1-4)	0,9 (0,1-4,6)	0		0,5 (0,05-1,7)
Hombres	18-29 n=85 %(IC95%)	30-44 n=139 %(IC95%)	45-64 n=104 %(IC95%)	65-75 n=44 %(IC95%)	p ²	Total n=371 %(IC95%)
Déficit^a	2,2 (0,3-8,2)	0	3,8 (1-9,5)	2,5 (0,05-12)	0,006	1,9 (0,7-3,8)
Normal	76,7 (71,2-88,8)	53,7 (43,5-60,1)	58,5 (50,2-69)	65 (43,3-73,7)		61,9 (56,8-6,7)
Sobrecarga Moderada^b	20 (13,1-31,4)	40,3 (30,7-47)	33 (24,6-42,7)	20 (8,2-32,7)		31 (26,3-35,7)
Sobrecarga Severa^c	1,1 (0,03-6,4)	6 (2,5-11)	4,7 (1,6-10,9)	12,5 (3,8-24,6)		5,1 (3,1-7,8)

^(a)FS alterada o 2 o más de los siguientes parámetros alterados: VCM, CFHT, STf, FS ^(b) STf elevada, FS elevada, o ST elevada + FS moderada, ^(c) STf elevada + FS severa. p¹: X²=18,193 p=0,033. p²: X²=23,073 p=0,006. Los sujetos con inflamación (PCR>10mg/L) se han eliminado del análisis (Mujeres=16, Hombres=19)

Resultados

Se observan diferencias significativas en el estado de hierro según la edad en las mujeres ($X^2=18,193$ $p=0,033$). En los grupos donde más se afecta son en el grupo de 18 a 29 años donde hay menos casos de sobrecarga de hierro y déficit de los esperados y en el grupo de 30 a 44 años, donde hay más casos de déficit de los esperados .

También se observan diferencias significativas del estado de hierro según la edad en los hombres ($X^2=23,073$ $p=0,006$) Los grupos mas afectados son el de 18-29 años, donde se observa menos casos de sobrecarga de hierro moderada de lo esperados, y el grupo de 30-44 años en el que al contrario se observa más casos de lo esperado.

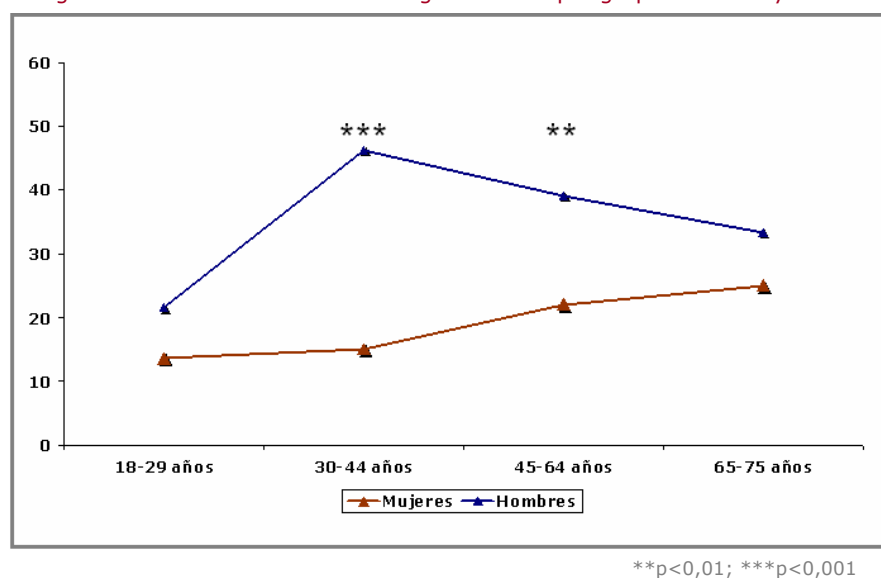
En el conjunto de la población, un 25,3 % de los sujetos (15,4% de las mujeres y 36,1% de los hombres) presentan algún tipo de sobrecarga de hierro.

La prevalencia de sujetos con sobrecarga de hierro moderada es de 22,6% (IC95%: 19,8-25,6), 14,9% (IC95%: 11,7-18,6) en mujeres y 31 % (IC95%: 26,3-35,7) en hombres.

La prevalencia de sobrecarga severa en el conjunto de la población es de 2,7% (IC95%: 1,7-4,1), siendo inferior en las mujeres, con un 0,5% (IC95%: 0,05-1,7) que en los hombres, con un 5,1% (IC95%: 3,1-7,8) (Tabla 37).

Como se observa en la figura 26, la prevalencia de sobrecarga de hierro es significativamente mayor en los hombres respecto a las mujeres en los grupos de edad intermedios (de 30-44 años y de 45-64 años). En los grupos de edad extremos, aunque la prevalencia de sobrecarga es mayor en los hombres, la diferencia no es significativa.

Figura 26.- Prevalencia de sobrecarga de hierro por grupos de edad y sexo



En las tablas 38 y 39 se describen los niveles de hierro en mujeres y hombres de la población, valorados por distintos parámetros bioquímicos en el grupo con el estado de hierro normal y los grupos con sobrecarga.

En ambos sexos se observan niveles significativamente más alterados en la mayoría de marcadores del estado en hierro en el grupo que presenta sobrecarga de hierro en comparación con los sujetos con el estado de hierro normal. Los niveles de hematocrito y de hemoglobina no varían según el estado de hierro.

Tabla 38.- Parámetros bioquímicos en las mujeres según su estado en hierro

	Normal ^(a)		Sobrecarga moderada ^(b)		Sobrecarga severa ^(b)		p
	n=291		n=61		n=2		
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Hematocrito (%)	40,5	2,6	40,9	2,2	40,2	3,2	
Hemoglobina (g/dl)	14,0	7,5	13,8	0,7	13,6	1,0	
VCM (fl)	90,2	3,7	90,4	3,7	90,9	4,8	
HCM (pg/cél)	30,3	1,4	30,6	1,4	30,8	2,0	
CHCM (g/dl)	33,6	0,7	33,8	0,7	33,8	0,6	ab*
Hierro sérico (µg/dl)	14,5	4,3	21,8	6,1	24,7	9,0	ab***
Transferrina (mg/dl)	2,6	0,4	2,5	0,3	2,3	0,3	ab*
CFHT (mg/dl)	51,4	7,4	49,5	6,4	45,7	5,6	ab*
STf (%)	28,5	8,5	44,8	14,2	53,2	12,1	ab***
Ferritina sérica (µg/l)	48,3	28,2	101,6	82,0	187,8	77,4	ab***
PCR (mg/l)	3,0	4,2	2,0	2,0	1,8	2,3	ab***
	n=117		n=17		n=0		
RTfs (mg/l)	2,2	1,4	1,6	0,8	-	-	

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos a,b. VCM: Volumen Corpuscular Medio, HCM: Hemoglobina Corpuscular Media, CHCM: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media, CFHT: Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina, STf: Saturación de la Transferrina, PCR: Proteína C Reactiva, RTfs: Receptor soluble de Transferrina, DT: Desviación Típica.

Tabla 39.- Parámetros bioquímicos en los hombres según su estado en hierro

	Normal ^(a)		Sobrecarga moderada ^(b)		Sobrecarga severa ^(b)		p
	n=230		n=115		n=19		
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Hematocrito (%)	45,6	3,1	46,0	2,7	45,8	2,6	
Hemoglobina (g/dl)	15,3	1,0	15,6	0,9	15,6	0,9	
VCM (fl)	90,3	3,5	92,1	5,0	91,5	3,6	ab**
HCM (pg/cél)	30,4	1,4	31,3	1,5	31,3	1,3	ab***
CHCM (g/dl)	33,6	0,8	33,9	0,8	34,2	0,7	ab***
Hierro sérico (µg/dl)	16,2	4,1	23,1	6,6	26,6	6,0	ab***
Transferrina (mg/dl)	2,5	0,3	2,3	0,3	2,3	0,4	ab***
CFHT (mg/dl)	51,0	6,1	46,5	6,0	46,7	7,2	ab***
STf (%)	31,9	7,4	50,2	14,6	57,4	11,3	ab***
Ferritina sérica (µg/l)	102,5	53,3	197,9	207,5	381,6	198,9	ab***
PCR (mg/l)	2,8	4,3	2,0	2,3	2,4	2,7	ab***
	n=135		n=35		n=0		
RTfs (mg/l)	2,7	1,3	2,5	1,2	-	-	

*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre los grupos a,b. VCM: Volumen Corpuscular Medio, HCM: Hemoglobina Corpuscular Media, CHCM: Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media, CFHT: Capacidad de Fijación del Hierro a la Transferrina, STf: Saturación de la Transferrina, PCR: Proteína C Reactiva, RTfs: Receptor soluble de Transferrina, DT: Desviación Típica.

3. PREVALENCIA MUTACIONES EN EL GEN HFE

En las tablas 40 y 41 se presentan las prevalencias de las mutaciones en el gen HFE de la HH según sexo. No se han observado diferencias significativas entre sexos. En nuestra población no hemos detectado sujetos con los genotipos C282Y/C282Y ni S65C/S65C.

Un 46% de la población presenta algún tipo de mutación en el gen HFE de la HH (Figura 28). Los genotipos más frecuentes son el H63D/WT y el H63D/H63D (Tabla 40 y figura 29). No se observan diferencias significativas en la distribución genotípica respecto a sexos ($\chi^2=7,82$ $p=0,251$).

La distribución genotípica de HFE de la población estudiada se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg ($\chi^2=4,5$, $gl=9$, $p=0,87$).

Tabla 40.- Prevalencia de alteraciones en el gen HFE según sexo

Genotipo HFE	Mujeres n=423 % (IC 95%)	Hombres n=389 % (IC 95%)	Total n=812 % (IC 95%)
C282Y/C282Y	0	0	0
C282Y / Wild Type	4,7 (2,9 a 7,2)	3,9 (2,2 a 6,3)	4,3 (3 a 5,9)
C282Y / S65C	0	0	0
C282Y /H63D	1,2 (0,4 a 2,7)	2,8 (1,4 a 5)	2 (1,1 a 3,2)
H63H / H63D	5,9 (3,9 a 8,6)	3,6 (2 a 6)	4,8 (3,4 a 6,5)
H63D / WT	32,9 (28,4 a 37,3)	31,7 (27 a 36,2)	32,3 (29,1 a 35,5)
H63D / S65C	0,7 (0,1 a 2,1)	0,5 (0,07 a 1,8)	0,6 (0,2 a 1,4)
S65C / S65C	0	0	0
S65C / WT	1,7 (0,7 a 3,4)	2,3 (1,1 a 4,3)	2 (1,1 a 3,2)
WT/WT	53 (48,2 a 57,7)	55,4 (50,3 a 60,2)	54 (50,6 a 57,5)

IC: Intervalo de confianza, WT: Wild Type (Genotipo salvaje). $p: \chi^2=7,82$ $p=0,251$

Tabla 41.- Frecuencias alélicas del gen HFE según sexo

	Mujeres n=423 % (IC 95%)	Hombres n=389 % (IC 95%)	Total n=812 % (IC 95%)
C282Y	2,9 (1,9 a 4,3)	3,3 (2,2 a 4,9)	3,1 (2,3 a 4,1)
H63D	23,4 (20,6 a 26,2)	20,9 (18,2 a 23,9)	22,3 (20,2 a 24,3)
S65C	2,4 (1,4 a 3,4)	1,4 (0,7 a 2,5)	1,2 (0,8 a 2)

IC: Intervalo de confianza,

Figura 28.- Prevalencia de alteraciones en el gen HFE en la población

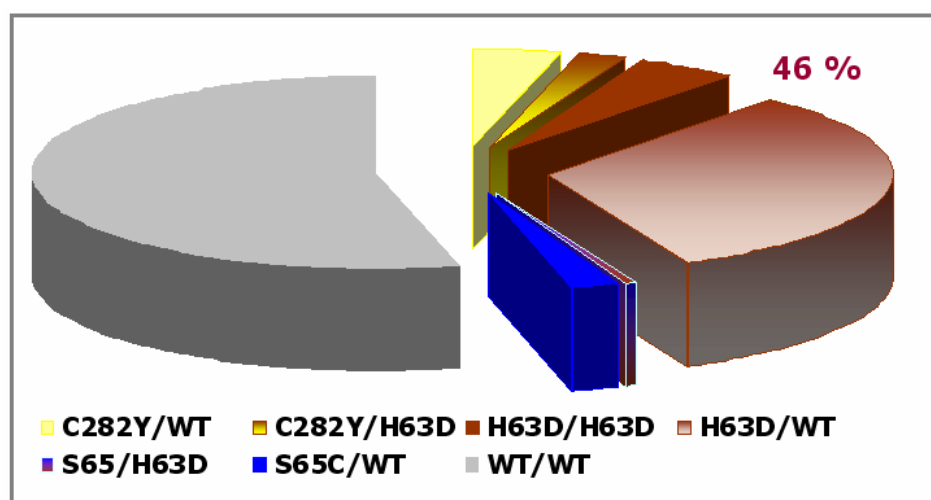
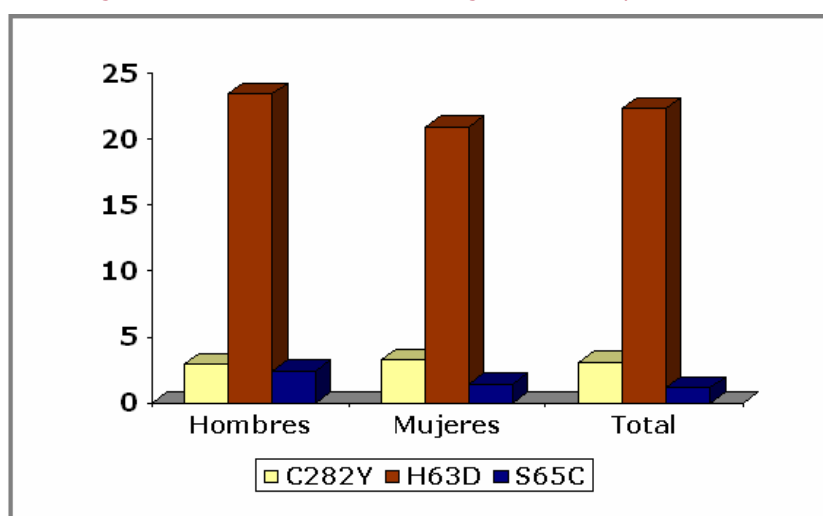


Figura 29.- Frecuencias alélicas del gen HFE en la población



4. GENÉTICA, DIETA, ANTROPOMETRÍA, ESTILOS DE VIDA Y ESTRÉS OXIDATIVO EN LA SOBRECARGA DE HIERRO

Para observar las relaciones entre las variables de estudio y el estado en hierro se han eliminado los sujetos con inflamación (PCR>10 mg/l) para evitar falsos positivos de sobrecarga de hierro (16 mujeres y 19 hombres).

4.1 MUTACIONES EN EL GEN HFE SEGÚN EL ESTADO EN HIERRO

En la tabla 42 se describen los niveles de hierro según las mutaciones en el gen HFE de la HH.

En las mujeres, se observan niveles aumentados STf con los genotipos C282Y/WT, H63D/WT, H63D/H63D y C282Y/H63D. En los hombres la STf se ve aumentada con el genotipo C282Y/H63D.

En la ferritina sérica se observa una tendencia a la elevación de sus niveles con los genotipos compuestos C282Y/H63D y C282Y/S65C.

La comparación de los valores bioquímicos entre los sujetos con cualquiera de estas mutaciones y los sujetos con genotipo salvaje indica niveles superiores de STf tanto en mujeres como en hombres. En la ferritina sérica no se observan diferencias significativas.

Los niveles de hemoglobina no se ven influidos por la presencia de mutaciones en el gen HFE.

No se observan diferencias significativas en la frecuencia de mutaciones según los criterios de sobrecarga de hierro respecto a los que presentan niveles normales de hierro (Tabla 43).

Tabla 42.- Niveles de hierro según genotipo y sexo

Sujetos (%)	Genotipo HFE			Hemoglobina (g/dl)		STf (%)		FS(µg/l)	
	C282Y	H63D	S65C	Media	DT	Media	DT	Media	DT
Mujeres n=425									
52,8	-/-	-/-	-/-	13,33	1,01	26,7	11,2	50,8	45,9
1,7	-/-	-/-	+/-	12,92	1,1	26,5	11	45,5	43,6
4,7	+/-	-/-	-/-	13,9	1,22	32,7	11,9*	68,2	58,9
32,8	-/-	+/-	-/-	13,44	0,95	30,6 **	14,5	53,5	46
6,1	-/-	+/+	-/-	13,89	0,92	34,9	13,1**	45,2	24,7
0,7	-/-	+/-	+/-	13,86	0,68	26,8	10,3	61,7	30,4
1,2	+/-	+/-	-/-	13,88	0,77	40,5 **	5,4	64,5	55,8
100				13,43	1,0	28,9	12,7	52,3	45,5
47.2 [#]				14.18	9.13	31,38 *	13,84	53,96	45,09
Hombres n=390									
55,5	-/-	-/-	-/-	15,35	0,95	37,7	20,8	148,2	167,4
2,3	-/-	-/-	+/-	15,4	1,1	40,9	12,2	120,6	112,9
3,9	+/-	-/-	-/-	15,5	1,01	41,9	14,5	133,5	67,7
31,6	-/-	+/-	-/-	15,5	1,03	39,7	13,3	157,5	142,3
3,3	-/-	+/+	-/-	15,16	1,02	40,0	20,9	142,6	67,5
0,5	-/-	+/-	+/-	16,15	0,91	65,9	42,9	204,1	103,9
2,8	+/-	+/-	-/-	15,7	0,9	53,4	19	232,6	225,1
100				15,4	0,98	39,3	18,5	152,4	155,1
44.5 [#]				15.49	1,02	41,18*	15,16	157,69	138,5

STF:Saturación de la Transferrina, FS: Ferritina Sérica- Genotipo salvaje (WT); + Alelo mutado; DT = desviación típica, [#] Sujetos con mutaciones en el gen HFE *p<0,05 **p<0,01 vs genotipo salvaje (WT).

Tabla 43.- Mutaciones en el gen HFE según el estado en hierro

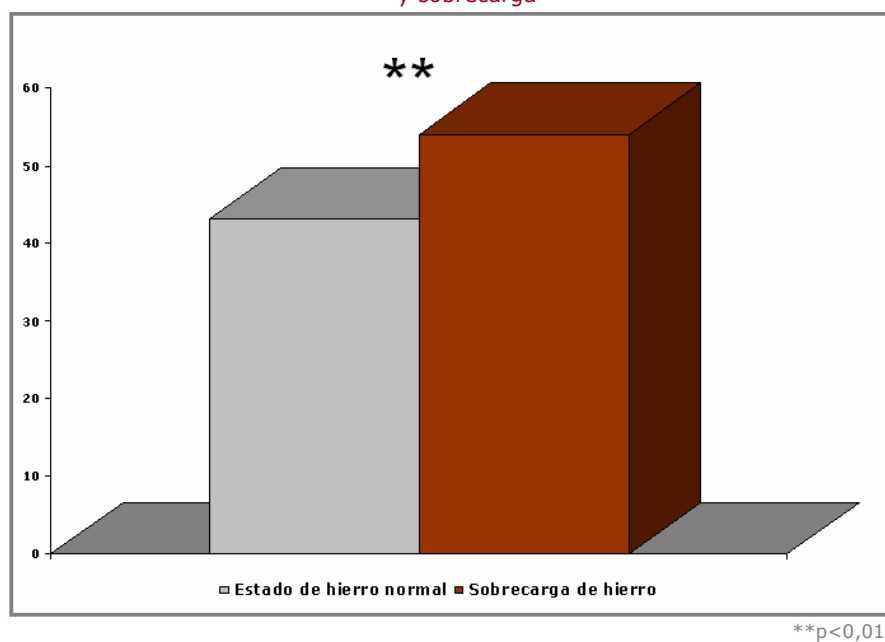
Genotipo HFE	Déficit	Normal	Sobrecarga moderada	Sobrecarga severa	Total
Mujeres¹	n=55 % (IC 95%)	n=291 % (IC 95%)	n=61 % (IC 95%)	n=2 % (IC 95%)	n=409 % (IC 95%)
C282Y / WT	3,6 (0,4-12,5)	4,2 (2,1-7,1)	4,9 (1-13,7)	50 (1,3-98,7)	4,4 (2,6-6,8)
C282Y / H63D	0	1 (0,02-3)	3,3 (0,4-11,3)	0	1,2 (0,4-2,8)
H63H / H63D	1,8 (0,04-9,7)	7,3 (4,5-10,8)	6,6 (1,8-15,9)	0	6,4 (4,2-9,2)
H63D / WT	27,3 (16,1-41)	31,4 (25,6-36,2)	39,3 (27,1-52,7)	50 (1,3-98,7)	32,1 (27,3-36,3)
H63D / S65C	0	1 (0,2-3)	0	0	0,7 (0,1-2,1)
S65C / WT	3,6 (0,04-12,5)	1,4 (0,4-3,5)	0	0	1,5 (0,5-3,2)
WT / WT	63,6 (49,6-76,2)	53,7 (47,2-58,7)	45,9 (33,1-59,1)	0	53,6 (48,2-57,9)
Hombres²	n=7 % (IC 95%)	n=230 % (IC 95%)	n=115 % (IC 95%)	n=19 % (IC 95%)	n=371 % (IC 95%)
C282Y / WT	14,3 (0,4-57,9)	3,9 (1,8-7,3)	3,5 (0,9-8,6)	0	3,8 (2-6,2)
C282Y / H63D	0	1,3 (0,3-3,8)	3,5 (0,9-8,6)	10,5 (1,3-33,1)	2,4 (1,1-4,5)
H63H / H63D	14,3 (0,4-57,9)	2,6 (0,9-5,6)	3,5 (0,9-8,6)	0	3 (1,4-5,2)
H63D / WT	28,6 (3,7-71)	28,9 (22,8-34,5)	39,1 (30,2-48,1)	36,8 (16,3-61,6)	32,5 (27,6-37,1)
H63D / S65C	0	0	1,7 (0,2-6,1)	0	0,5 (0,07-2)
S65C / WT	0	2,6 (0,9-5,6)	1,7 (0,2-6,1)	5,3 (0,3-26)	2,4 (1,1-4,5)
WT / WT	42,9 (9,8-81,6)	60,5 (53,7-66,3)	47 (37,8-56,1)	47,4 (24,4-71,1)	55,3 (50,2-60,3)

- Genotipo salvaje (WT); p¹: X²=22,983 p=0,191 p²: X²=24,551 p=0,138

En la figura 30 se muestran los porcentajes de mutaciones en los grupos con estado de hierro normal y sobrecarga.

Se observa una presencia mayor de mutaciones genéticas en los individuos con sobrecarga de hierro respecto a los que tienen el estado de hierro normal ($X^2=7,19$, $p=0,007$)

Figura 30.- Mutaciones en los individuos con estado de hierro normal y sobrecarga



4.2 CONSUMO ALIMENTARIO, INGESTA ENERGÉTICA Y NUTRICIONAL SEGÚN EL ESTADO EN HIERRO

En las tablas 44 y 45 se compara la ingesta entre el grupo de con niveles normales de hierro y con sobrecarga en las mujeres y los hombres respectivamente.

Tabla 44.- Consumo alimentario en las mujeres según su estado en hierro

Alimentos (g,ml/día)	Normal ^(a) n=291		Sobrecarga moderada ^(b) n=61		Sobrecarga severa ^(b) n=2		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Carne	134,0	63,5	122,3	61,7	217,8	83,2	ab*
Pescado	63,7	52,7	77,5	53,1	58,4	27,2	
Huevos	24,3	24,0	20,2	18,0	18,3	25,9	
Leche	226,5	162,9	203,5	121,5	125,0	16,5	
Productos lácteos	105,9	79,7	78,8	63,7	130,8	185,0	
Aceites	42,2	16,7	42,1	18,3	48,8	2,7	
Frutos secos	4,7	9,3	4,8	11,2	5,8	8,1	
Cereales	143,7	69,4	151,8	76,5	176,3	52,3	
Patatas	60,9	52,8	63,9	49,5	66,7	33,0	
Legumbres	14,1	19,5	17,1	27,6	6,9	9,7	
Verduras	173,9	96,8	186,5	92,9	258,7	21,7	
Frutas	213,7	171,2	199,5	161,1	132,5	187,4	
Dulces	28,1	28,5	17,1	18,3	17,4	21,1	
Bebidas azucaradas	65,3	143,4	46,5	97,3	33,3	47,1	
Bebidas alcohólicas	21,8	58,0	25,4	72,0	110,0	155,6	
Vino	21,3	65,8	22,4	51,0	156,7	127,3	

*p<0,05 nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b}

Tabla 45.- Consumo alimentario en los hombres según su estado en hierro

Alimentos (g,ml/día)	Normal ^(a) n=230		Sobrecarga moderada ^(b) n=115		Sobrecarga severa ^(b) n=19	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
Carne	193,6	95,0	208,4	92,6	196,5	107,1
Pescado	89,6	75,1	79,1	61,5	95,5	103,7
Huevos	29,0	25,0	27,1	26,9	15,2	18,6
Leche	190,9	156,5	161,8	129,0	168,0	126,3
Productos lácteos	101,3	86,5	99,6	79,4	83,8	59,8
Aceites	54,8	19,4	53,4	20,2	49,1	12,0
Frutos secos	6,3	12,0	10,0	23,7	3,6	8,0
Cereales	230,7	96,3	220,7	82,4	204,4	84,9
Patatas	75,7	53,2	66,4	51,1	66,6	43,1
Legumbres	18,6	28,0	14,4	18,8	13,5	14,2
Verduras	189,4	104,2	195,8	123,1	158,1	100,9
Frutas	210,7	181,8	220,4	174,2	213,5	135,3
Dulces	39,1	37,3	35,1	34,5	28,8	29,6
Bebidas azucaradas	120,0	197,0	88,2	169,6	37,9	88,5
Bebidas alcohólicas	133,7	231,3	164,1	330,3	193,1	323,1
Vino	82,9	127,3	123,7	172,2	165,6	177,4

No se observan diferencias significativas entre los grupos ^{a,b}

Resultados

No se observa ninguna diferencia significativa en los grupos de alimentos descritos excepto en el vino en las mujeres. No obstante, se observan tendencias en el menor consumo de leche y de productos lácteos en las mujeres con sobrecarga de hierro, que se confirman como significativas al agrupar estos alimentos (Figura 31).

De la misma forma en los hombres se observan tendencias respecto al mayor consumo de bebidas alcohólicas y vino con sobrecarga de hierro, que también se confirman al agrupar estos alimentos (Figura 32).

Figura 31.- Consumo alimentario en las mujeres con estado de hierro normal y sobrecarga

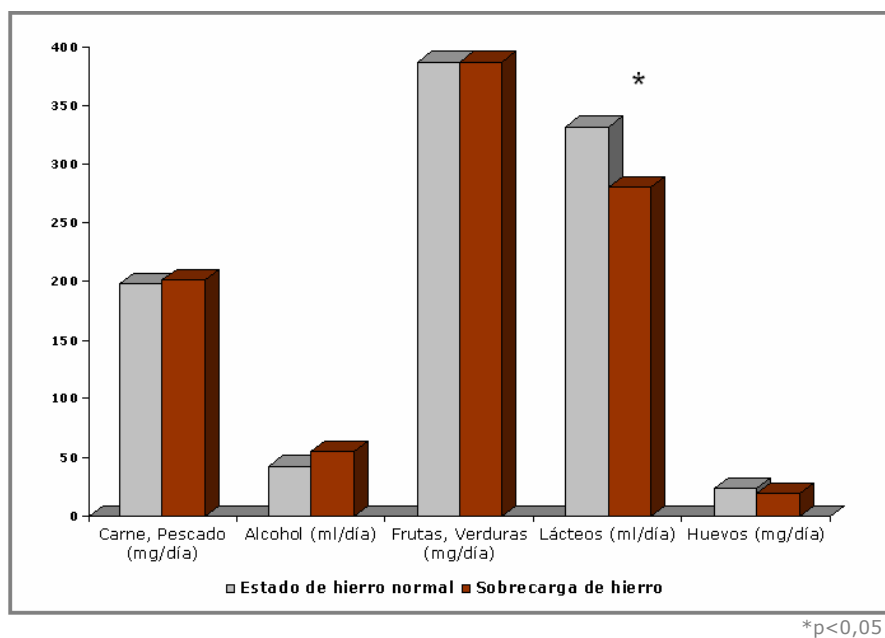
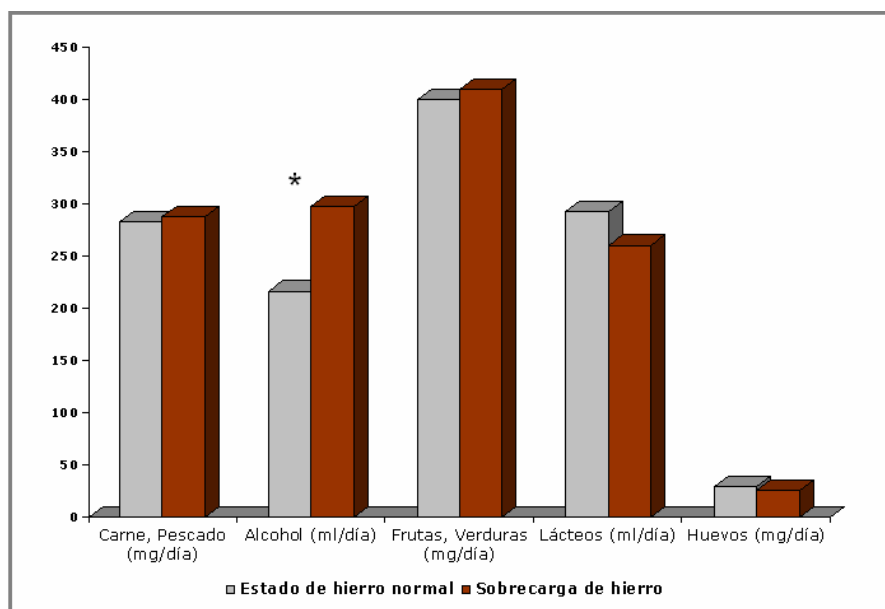


Figura 32.- Consumo alimentario en los hombres con estado de hierro normal y sobrecarga



*p<0,05

En las siguientes tablas y figuras se describe la ingesta energética y nutricional según en estado en hierro en hombres y mujeres.

En las tablas 46 y 47 se observa que la ingesta de energía y nutrientes no es significativamente diferente por grupos de estado en hierro, excepto para la menor ingesta de calcio en las mujeres con sobrecarga de hierro y para la mayor ingesta de alcohol en los hombres con sobrecarga de hierro (Figuras 33 y 34).

Resultados

Tabla 46.- Ingesta energética y nutricional en las mujeres según su estado en hierro

	Normal ^(a) n=291		Sobrecarga moderada ^(b) n=61		Sobrecarga severa ^(b) n=2		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Energía, Kcal	1848,9	500,1	1772,8	444,4	2035,0	368,4	ab*
Proteínas, g	79,4	19,2	77,9	19,4	91,4	22,0	
Glúcidos, g	178,8	60,8	171,5	56,9	168,8	14,9	
Fibra alimentaria, g	15,7	5,7	16,4	6,4	15,6	0,2	
Lípidos, g	87,8	28,8	83,3	25,2	95,4	32,2	
AGS, g	24,4	10,1	22,5	7,7	23,4	8,4	
AGMI, g	43,6	14,8	42,4	14,4	48,7	11,4	
AGPI, g	11,3	6,0	10,9	5,7	11,1	3,5	
Colesterol, mg	312,3	129,7	291,1	105,5	297,7	153,8	
Alcohol, g	3,7	9,2	3,7	6,7	18,9	6,8	
Calcio, mg	775,1	288,5	683,5	185,8	702,8	315,7	
Hierro total, mg	10,1	4,1	10,4	4,2	6,9	4,1	
Hierro hemo, mg	3,2	2,2	3,3	2,5	3,1	2,3	
Hierro no hemo, mg	6,9	3,1	7,1	2,6	3,8	1,8	
Retinol, µg	343,4	699,2	339,5	883,6	189,3	144,5	
Bcaroteno, µg	3592,0	3437,0	3484,3	2882,0	6990,9	5955,7	
Vit.D, µg	2,0	2,1	2,1	2,0	3,3	4,0	
Vit.E, µg	11,1	5,4	11,2	5,0	10,9	1,8	
Vit.C, mg	104,6	70,8	101,0	58,5	119,3	29,9	
Tiamina, mg	1,2	0,4	1,2	0,4	1,2	0,5	
Riboflavina, mg	5,7	31,5	6,3	22,3	1,6	0,5	
Niacina, mg	17,2	5,2	16,3	5,6	23,8	7,3	
Piridoxina, mg	1,6	0,5	1,6	0,4	2,0	0,3	
Cobalamina, µg	4,7	3,8	4,5	4,0	5,7	0,3	
Folatos, µg	274,7	105,6	276,8	96,6	312,3	50,8	

*p<0,05 nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b}

Tabla 47.- Ingesta energética y nutricional en los hombres según su estado en hierro

	Normal ^(a) n=230		Sobrecarga moderada ^(b) n=115		Sobrecarga severa ^(b) n=19	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
Energía, Kcal	2590,9	675,1	2557,1	672,2	2453,3	459,0
Proteínas, g	106,0	28,3	105,5	27,7	103,8	21,6
Glúcidos, g	247,1	81,4	238,2	73,4	218,4	73,5
Fibra alimentaria, g	19,8	7,0	19,6	7,2	17,2	5,8
Lípidos, g	118,9	36,3	114,3	36,1	107,1	27,2
AGS, g	33,4	13,0	30,7	11,4	29,9	11,1
AGMI, g	59,0	18,0	56,7	18,0	52,1	15,0
AGPI, g	15,4	7,2	16,3	10,8	15,5	7,1
Colesterol, mg	411,6	158,9	389,4	156,6	362,4	135,5
Alcohol, g	15,7	20,0	22,1	29,4	28,5	29,6
Calcio, mg	847,4	376,2	807,7	348,3	785,8	362,1
Hierro total, mg	11,4	3,9	11,4	3,9	10,1	5,9
Hierro hemo, mg	4,0	2,5	4,1	2,5	3,7	3,5
Hierro no hemo, mg	7,4	2,7	7,3	2,7	6,5	2,9
Retinol, µg	413,5	982,2	329,5	645,3	263,5	140,4
Bcaroteno, µg	3226,6	3125,4	2551,4	2078,5	2217,4	1390,6
Vit.D, µg	2,8	2,7	3,0	3,1	2,7	3,0
Vit.E, µg	13,9	5,9	15,3	10,1	13,4	6,0
Vit.C, mg	101,0	72,0	107,6	66,8	89,5	76,6
Tiamina, mg	1,6	0,5	1,7	0,6	1,6	0,5
Riboflavina, mg	3,6	15,9	4,5	18,9	1,8	0,4
Niacina, mg	23,7	8,1	25,2	8,9	24,0	7,7
Piridoxina, mg	2,2	0,7	2,3	0,7	2,2	0,7
Cobalamina, µg	6,3	5,0	6,2	4,4	5,1	2,3
Folatos, µg	320,9	125,2	328,2	126,4	284,6	89,2

No se observan diferencias significativas entre los grupos

Resultados

Figura 33.- Ingesta energética y nutricional en las mujeres con estado de hierro normal y sobrecarga

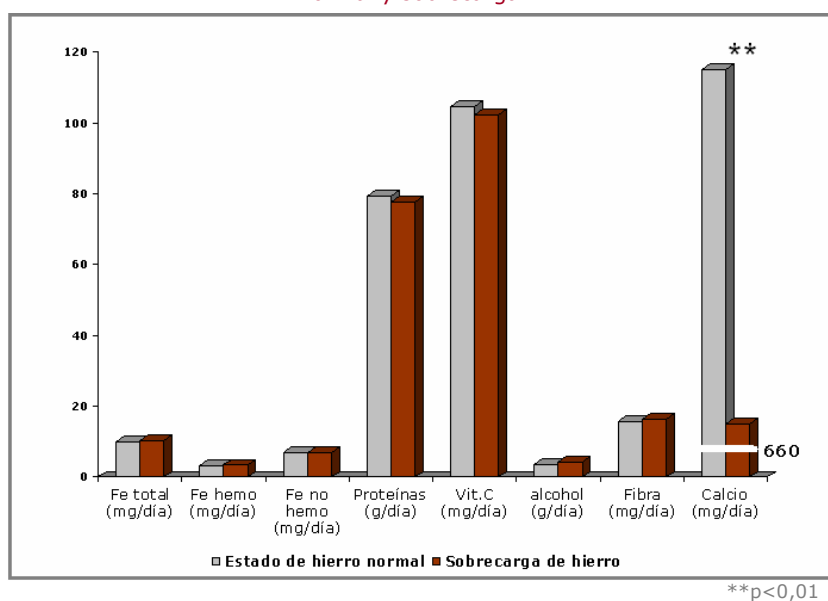
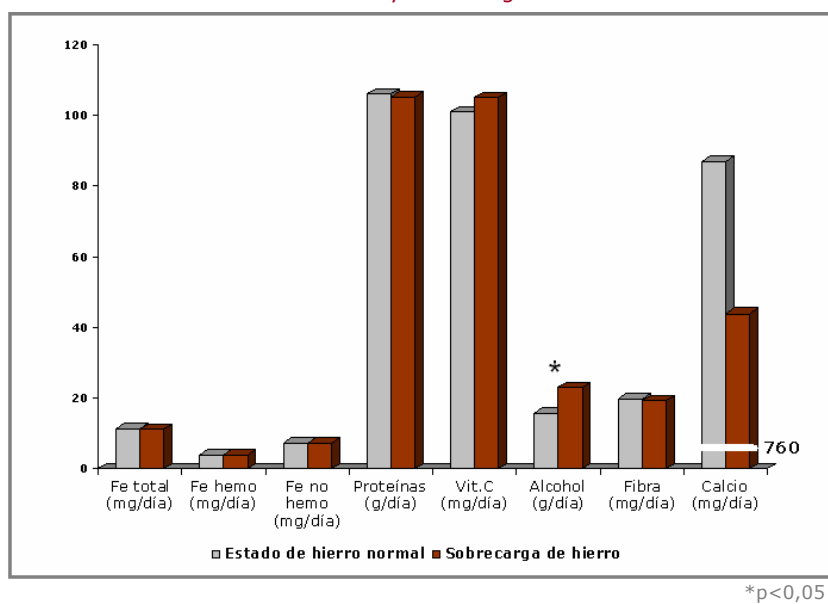


Figura 34.- Ingesta energética y nutricional en los hombres con estado de hierro normal y sobrecarga



4.3 MÉDIDAS ANTROPOMÉTRICAS Y ESTILOS DE VIDA SEGÚN EL ESTADO EN HIERRO

No se observan diferencias significativas en las medidas antropométricas, ni con el consumo de tabaco, actividad física ni en la toma de suplementos farmacológicos de hierro según el estado en hierro, excepto en el hábito de consumo de alcohol en los varones (Tablas 48, 49 y figuras 35 y 36). Los individuos con sobrecarga de hierro consumen significativamente más alcohol que aquellos cuyo estado de hierro es normal. El grupo de población que más frecuentemente toma suplementos de hierro son los sujetos deficientes en hierro (9,1% de mujeres y 14,3% de hombres).

Tabla 48.- Medidas antropométricas y estilos de vida en las mujeres según su estado en hierro

	Normal n=291		Sobrecarga moderada n=61		Sobrecarga severa n=2	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
Peso (kg)	66,0	13,3	67,2	13,2	84,6	17,5
Altura (m)	1,58	0,07	1,57	0,06	1,51	0,01
IMC (kg/m²)	26,5	5,5	27,4	5,3	36,8	7,3
Alcohol (g/día)#	2,5	6,6	4,3	7,8	10,0	14,1
Tabaco (cig/día) #	4,2	7,6	4,0	7,1	15,0	21,2
Actividad física (h/sem)#	2,4	3,8	2,8	5,4	0	0
Suplementos de hierro (%)#	5,6		1,6		0	

IMC: Índice de Masa Corporal, DT: Desviación Típica, # según encuesta de hábitos y estilos de vida. No se observan diferencias significativas entre los grupos

Tabla 49.- Medidas antropométricas y estilos de vida en los hombres según su estado en hierro

	Normal (a) n=230		Sobrecarga moderada (b) n=115		Sobrecarga severa (b) n=19		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
Peso (kg)	79,6	13,3	80,1	11,6	80,4	12,8	ab**
Altura (m)	1,71	0,08	1,71	0,07	1,68	0,07	
IMC (kg/m²)	27,1	4,4	27,5	3,6	28,3	3,9	
Alcohol (g/día)#	15,0	19,7	25,2	31,6	26,8	29,7	
Tabaco (cig/día) #	5,6	9,8	8,5	12,5	1,9	6,9	
Actividad física (h/sem)#	4,5	6,9	4,5	7,6	3,4	4,2	
Suplementos de hierro (%)#	0,4		1		0,9		

IMC: Índice de Masa Corporal, DT: Desviación Típica, # según encuesta de hábitos y estilos de vida. **p<0,001 nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b}

Figura 35.- Medidas antropométricas y estilos de vida en las mujeres con estado de hierro normal y sobrecarga

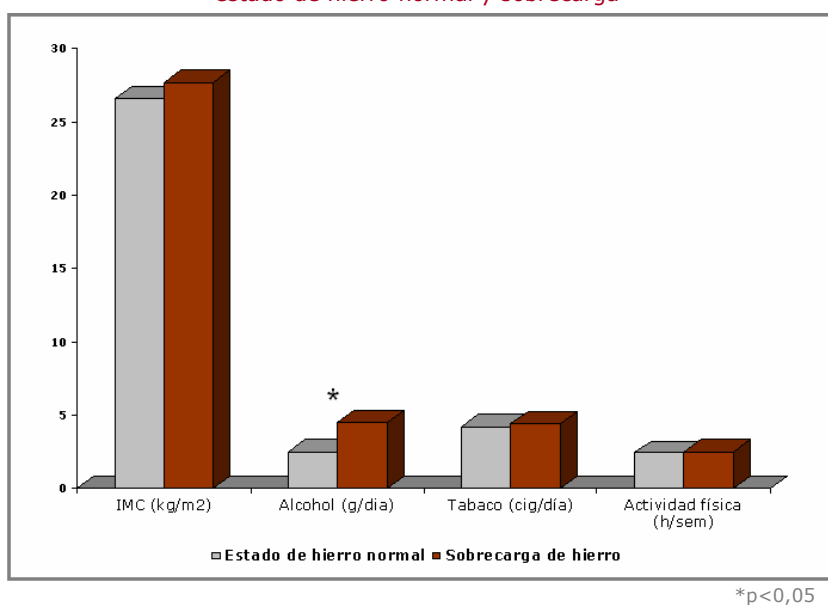
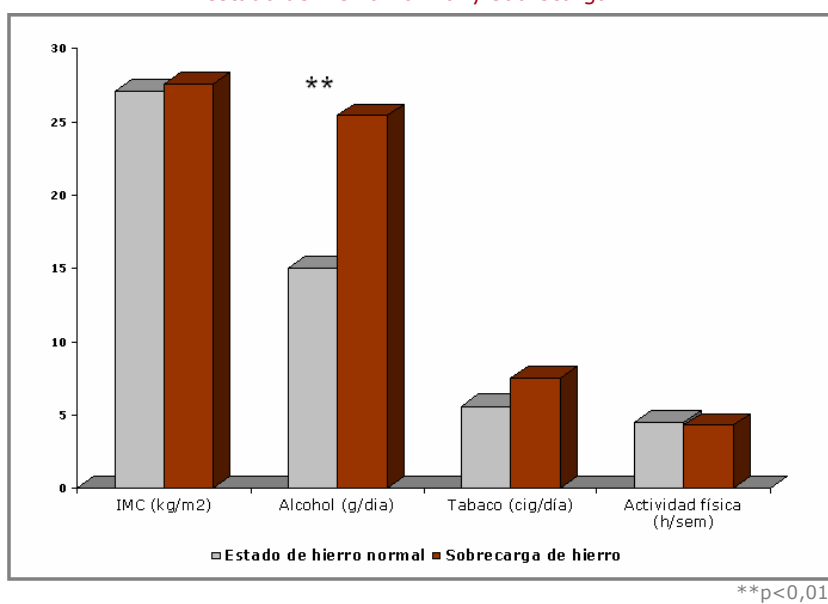


Figura 36.- Medidas antropométricas y estilos de vida en los hombres con estado de hierro normal y sobrecarga



4.4 ESTRÉS OXIDATIVO SEGÚN EL ESTADO EN HIERRO

Como se observa en la tabla 50 y las figuras 37 y 38, las mujeres con sobrecarga de hierro presentan niveles significativamente mayores de TBARS y de ORAC respecto a aquellas con estado de hierro normal. En varones se observan niveles mayores en el test de ORAC aunque no son significativos (Tabla 51 y figuras 37 y 38).

Tabla 50.- Parámetros de estrés oxidativo en las mujeres según su estado en hierro

	Normal ^(a) n=291		Sobrecarga moderada ^(b) n=61		Sobrecarga severa ^(b) n=2		p
	Media	DT	Media	DT	Media	DT	
TBARS (nmol/ml)	0,98	0,27	1,10	0,45	0,81	0,001	ab*
ORAC (mmol eq Trolox /l)	9,20	6,63	11,38	8,24	18,30	4,57	ab*

*p<0,05: nivel de significación estadística entre los grupos ^{a,b} DT: Desviación Típica, TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, Test de ORAC: Capacidad antioxidante del plasma.

Tabla 51.- Parámetros de estrés oxidativo en los hombres según su estado en hierro

	Normal ^(a) n=230		Sobrecarga moderada ^(b) n=115		Sobrecarga severa ^(b) n=19	
	Media	DT	Media	DT	Media	DT
TBARS (nmol/ml)	0,96	0,30	0,97	0,32	0,89	0,29
ORAC (mmol eq Trolox /l)	8,97	6,82	9,21	5,96	13,38	8,46

DT: Desviación Típica, TBARS: sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, Test de ORAC: Capacidad antioxidante del plasma. No se observan diferencias significativas entre los grupos

Figura 37.- TBARS plasmáticos en mujeres y hombres con estado de hierro normal y sobrecarga

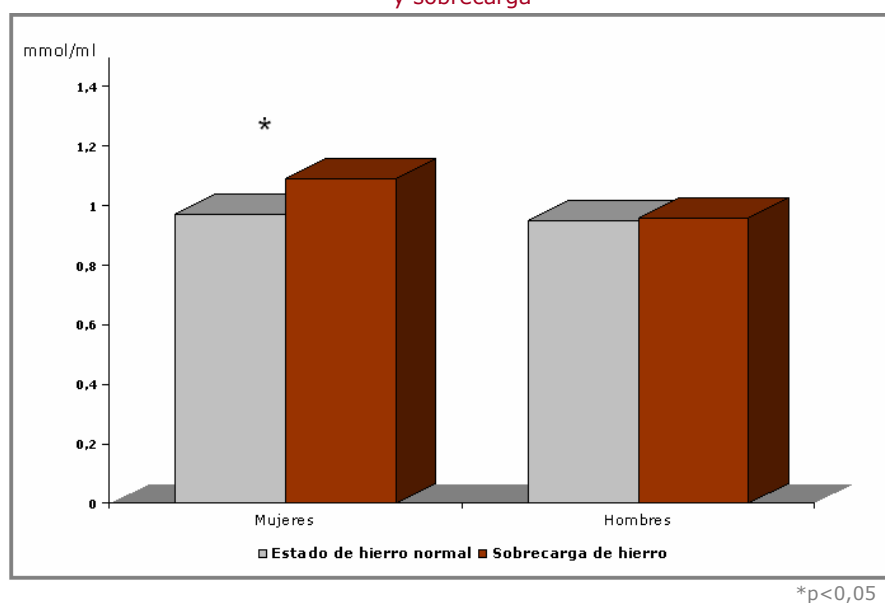
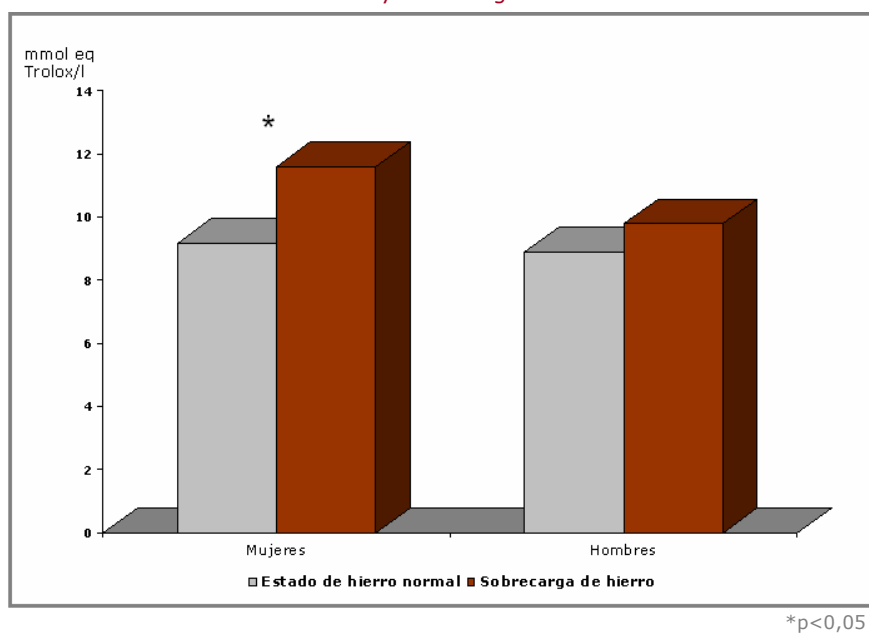


Figura 38.- Test de ORAC en mujeres y hombres con estado de hierro normal y sobrecarga



5. EFECTO DE LA GENÉTICA Y LA DIETA SOBRE LOS NIVELES DE HIERRO

En las tablas siguientes se presentan los resultados de los análisis de RLM realizados para explicar el efecto de las mutaciones genéticas sobre los niveles de hierro medidos con la STF (Tabla 52) y la FS (Tabla 53), utilizando como variables de ajuste diversas variables dietéticas, personales y de estilos de vida.

Tabla 52.- Efecto de las mutaciones en el gen HFE y de la dieta sobre los niveles de saturación de transferrina

	Total (n=815)			Mujeres (n=425)			Hombres (n=390)		
	β	DT	p	β	DT	p	β	SD	p
C282Y/ X	5,75	2,75	0,037	6,41	2,95	0,030	4,48	4,9	0,360
H63D/ X	3,00	1,24	0,015	4,02	1,36	0,003	2,76	2,14	0,198
H63D /H63D	7,26	2,66	0,006	8,73	2,6	0,001	3,86	5,45	0,480
S65C/ X	0,77	4,05	0,850	-0,25	4,74	0,958	-0,22	6,62	0,970
C282Y/H63D; H63D/S65C	16,8	3,71	0,0001	11,0	4,74	0,021	19,74	5,67	0,001
Hierro (mg/d)	0,58	0,17	0,001				0,87	0,24	0,001
Calcio (mg/d)	-0,40	0,002	0,042						
Alcohol (g/d)	0,07	0,03	0,042						
Tabaco (cig/d)	0,17	0,06	0,007	0,22	0,08	0,006			
Sexo (0:Mujer; 1:Hombre)	8,04	1,27	0,0001						
Suplementos de hierro (0:no; 1:Si)							-22,64	10,82	0,037
	$R^2_{c.100} = 15.3$ $F_{10, 757} = 14,9 p < 0,001$			$R^2_{c.100} = 6.1$ $F_{6, 400} = 5,4 p < 0,001$			$R^2_{c.100} = 5.5$ $F_{7, 353} = 4,0 p < 0,001$		
	Genética: $R^2_{c.100} = 2,2$ $F_{5, 806} = 4,6 p < 0,001$			Genética: $R^2_{c.100} = 3,4$ $F_{5, 417} = 3,9 p = 0,002$			Genética: $R^2_{c.100} = 1,7$ $F_{5, 385} = 2,4 p = 0,039$		
	Dieta: $R^2_{c.100} = 5,0$ $F_{7, 739} = 6,6 p < 0,001$			Dieta: NS			Dieta: NS		

Ajustado por sexo -excepto en la regresiones realizadas en mujeres o hombres-, edad (años), IMC (Kg/ m²), energía (Kcal), hierro dietético (mg/día), proteínas (g/día), fibra (g/día), calcio (mg/día), vitamina C (mg/día), alcohol (g/día), hábito tabáquico (cigarrillos/día), actividad física (horas/semana), suplementos de hierro. β : Coeficiente beta, DT: Desviación Típica, p: Significación estadística. NS: No significativo. Se muestran solo los resultados que entran en la regresión.

Como se observa en la tabla 52, los niveles de STF aumentan significativamente en los sujetos con las mutaciones C282Y heterocigota, H63D homo y heterocigota, y los compuestos heterocigotos C282/H63D y S65C/H63D, con la ingesta de hierro, de alcohol, el hábito

Resultados

tabáquico y el sexo masculino respecto al femenino y disminuye con la ingesta de calcio.

El mismo modelo de MLR realizado en las mujeres, describe un aumento significativo de la STf en presencia de los heterocigotos compuestos C282Y/H63D y H63D/S65C, las alteraciones H63D homocigota, H63D heterocigota, C282Y heterocigota y el hábito tabáquico. En los hombres, la STf aumenta significativamente con las mutaciones heterocigotas compuestas C282Y/H63D y H63D/S65C, la ingesta de hierro y disminuye con la toma de suplementos de hierro.

Tabla 53.- Efecto de las mutaciones en el gen HFE y de la dieta sobre los niveles de ferritina sérica

	Total (n=815)				Mujeres (n=425)				Hombres (n=390)			
	β	DT	p	%v	β	DT	p	%v	β	SD	p	%v
C282Y/ X	0,281	0,127	0,027	32,4	0,212	0,154	0,170	23,6	0,262	0,208	0,209	29,5
H63D/ X	0,051	0,056	0,362	5,23	0,118	0,072	0,102	12,5	-0,028	0,084	0,734	-2,76
H63D /H63D	-0,009	0,117	0,940	-0,9	0,052	0,133	0,697	5,3	-0,005	0,217	0,983	-0,5
S65C/ X	-0,064	0,183	0,728	-6,2	-0,035	0,241	0,884	-3,4	-0,192	0,270	0,479	-17,47
C282Y/H63D; H63D/S65C	0,334	0,166	0,045	39,65	0,299	0,241	0,216	34,85	0,442	0,226	0,049	55,58
Calcio (mg/d)	$-3 \cdot 10^{-3}$	0,0001	<0,001	-0,03	-	0,0001	0,002	-0,04	-	0,0001	0,021	-0,03
Proteínas (g/día)	$5 \cdot 10^{-3}$	0,002	0,001	0,5								
Energía (kcal/día)	$-1 \cdot 10^{-3}$	$7 \cdot 10^{-7}$	0,018	-0,02								
Alcohol (g/d)	$8 \cdot 10^{-3}$	0,002	<0,001	0,8					0,008	0,002	<0,001	0,8
Tabaco (cig/d)					0,013	0,005	0,004	1,31				
Edad (años)	$9 \cdot 10^{-3}$	0,002	<0,001	0,9	0,023	0,002	<0,001	2,33				
Sexo (0: Mujer; 1: Hombre)	0,9	0,065	<0,001	145,9								
IMC (Kg/ m²)	0,014	0,006	0,016	1,4					0,026	0,009	0,005	29,69
Suplementos de hierro (0:no; 1:Si)	-0,315	0,154	0,041	-27								
	R²_{c,100} = 44,7 F_{13, 709} = 45,84 p<0,001				R²_{c,100} = 24,7 F_{8, 375} = 16,66 p<0,001				R²_{c,100} = 11,4 F_{8, 330} = 6,43 p<0,001			
	Genética: NS				Genética: NS				Genética: NS			
	Dieta: R ² _{c,100} = 18,1 F _{6,732} = 28,2 p<0,001				Dieta: R ² _{c,100} = 6,5 F _{7,378} = 4,9 p<0,001				Dieta: R ² _{c,100} = 9,5 F _{7,345} = 6,3 p<0,001			

Ferritina sérica ajustada por la proteína C reactiva y posterior transformación logarítmica.
 Ajustado por sexo -excepto en la regresiones realizadas en mujeres o hombres-, edad (años), IMC (Kg/ m²), energía (Kcal), hierro dietético (mg/día), proteínas (g/día), fibra (g/día), calcio (mg/día), vitamina C (mg/día), alcohol (g/día), hábito tabáquico (cigarrillos/día), actividad física (horas/semana), suplementos de hierro. β : Coeficiente beta, DT: Desviación Típica, p: Significación estadística, %v: porcentaje de variación. NS: No significativo. Se muestran solo los resultados que entran en la regresión.

Como se observa en la tabla 53, la FS aumenta significativamente en presencia de la mutación heterocigota C282Y y los heterocigotos compuestos C282Y /H63D y H63D/S65C, con la mayor ingesta de proteínas, de alcohol, al aumentar la edad, en el sexo masculino respecto al femenino y al aumentar el IMC; por otro lado disminuye con la ingesta de calcio, de energía y con la toma de suplementos de hierro.

Al realizar la RLM en las mujeres, la SF no está relacionada con las mutaciones genéticas en el gen HFE de la HH, pero si está directamente relacionada con el hábito tabáquico y la edad e inversamente relacionada con la ingesta de calcio. En los hombres, la SF aumenta significativamente con los heterocigotos compuestos C282Y/H63D y H63D/S65C y el IMC e inversamente proporcional a la ingesta de calcio.

Al observar el efecto de la genética y la dieta de forma individual sobre los niveles de hierro, observamos que la genética influye más que la dieta sobre los niveles de hierro circulante medidos con la STf aunque esta influencia es pequeña. Por el contrario sobre los depósitos de hierro medidos con la FS, es la dieta la que tiene una mayor influencia frente a la genética.

No hemos observado diferencias significativas en el efecto de la dieta sobre los niveles de hierro según la presencia o no de las mutaciones estudiadas.

Para observar el efecto del paso del tiempo sobre la ferritina sérica, hemos realizado el mismo análisis en los sujetos mayores de 50 años. Como se observa en la tabla 54, la FS aumenta significativamente con los genotipos compuestos C282Y/H63D y H63D/S65C, la ingesta de hierro y de alcohol, el ser hombre respecto a mujer, y disminuyen los niveles con la ingesta de calcio y la toma de suplementos de hierro.

En las mujeres mayores de 50 años no se observan relaciones entre las mutaciones genéticas en el gen HFE de la HH y la FS, pero sí con la ingesta de hierro, el hábito tabáquico y la edad de forma directamente proporcional e inversamente con la ingesta de calcio y la toma de suplementos farmacológicos de hierro.

En los varones mayores de 50 años, la FS aumenta significativamente con las mutaciones compuestas C282Y/H63D y H63D/S65C y la ingesta de alcohol.

Resultados

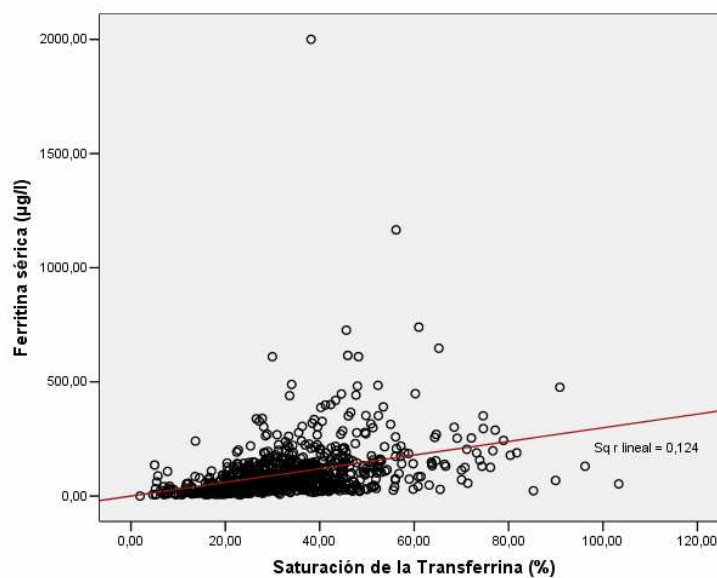
Tabla 54.- Efecto de las mutaciones en el gen HFE y de la dieta sobre los niveles de ferritina sérica en mayores de 50 años

	Total (n=271)				Mujeres (n=143)				Hombres (n=128)			
	β	DT	p	%v	β	DT	p	%v	β	DT	p	%V
C282Y/ X	0,435	0,247	0,080	54,5	0,418	0,243	0,088	51,89	0,416	0,748	0,580	51,59
H63D/ X	0,013	0,098	0,896	1,3	0,070	0,127	0,583	7,25	-0,09	0,154	0,549	-8,88
H63D /H63D	0,041	0,197	0,835	4,19	-0,201	0,244	0,412	-18,2	0,187	0,319	0,559	20,56
S65C/ X	-0,466	0,395	0,239	-37,25	-0,854	0,471	0,072	-57,4	-0,13	0,755	0,857	-12,72
C282Y/H63D	0,817	0,264	0,002	126,37	0,554	0,622	0,375	74,02	0,771	0,317	0,017	116,19
H63D/S65C												
Hierro (mg/d)	0,043	0,015	0,005	4,36	0,062	0,020	0,002	6,4				
Calcio (mg/d)	-0,001	0,0015	0,0001	-0,1	-0,001	-	0,0001	-,1				
						0,0002						
Alcohol (g/d)	0,009	0,003	0,001	0,9					0,009	0,003	0,004	0,9
Tabaco (cig/d)					0,041	0,018	0,023	4,19				
Edad (años)					0,017	0,008	0,021	1,71				
Sexo (0: Mujer; 1: Hombre)	0,290	0,107	0,007	33,64								
Suplementos de hierro (0: no; 1: Si)	-0,926	0,345	0,008	-60,39	-0,807	0,318	0,013	-55,3				
	$R^2_{c.100} = 28,6$ $F_{10,233} = 10,7$ $p < 0,001$				$R^2_{c.100} = 23,6$ $F_{10,119} = 4,99$ $p < 0,001$				$R^2_{c.100} = 7,3$ $F_{6,107} = 2,5$ $p = 0,027$			
	Genética: $R^2_{c.100} = 3,1$ $F_{5,241} = 2,6$ $p = 0,027$				Genética: NS				Genética: $R^2_{c.100} = 5,6$ $F_{5,112} = 2,4$ $p = 0,043$			
	Dieta: $R^2_{c.100} = 15,4$ $F_{7,224} = 7,1$ $p < 0,001$				Dieta: NS				Dieta: NS			

Ferritina sérica ajustada por Proteína C Reactiva y posterior transformación logarítmica. Ajustado por sexo -excepto en la regresiones realizadas en mujeres o hombres-, edad (años), IMC (Kg/ m²), energía (Kcal), hierro dietético (mg/día), proteínas (g/d), fibra (g/d), calcio (mg/d), vitamina C (mg/d), alcohol (g/d), hábito tabáquico (cigarrillos/día), actividad física (horas/semana) y suplementos de hierro. β : Coeficiente beta, DT: Desviación Típica, p: Significación estadística, %v: porcentaje de variación. NS: No significativo. Se muestran solo los resultados que entran en la regresión.

En la figura 39 se observa que la STf correlaciona de forma positiva y estadísticamente significativa con la FS (correlación de Pearson= 0,352; $p < 0,001$) .

Figura 39- Correlación entre la ferritina sérica y la saturación de la transferrina



6. EFECTO DE LOS NIVELES DE HIERRO SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO

En las tablas 55 y 56 se muestran los valores medios de TBARS y ORAC según los terciles de FS y de STf .

Como se observa en la tabla 55, al aumentar los niveles de STf, aumenta de forma significativa los TBARS en las mujeres y el test de ORAC en el total de la población y en las mujeres. Como se muestra en la tabla 56, al aumentar los niveles de Ferritina sérica aumentan los niveles de TBARS de forma significativa en el total de la población y en las mujeres, y del test de ORAC en el total de la población, en las mujeres y los hombres.

Tabla 55.- Valores medios de TBARS y ORAC según los terciles de saturación de transferrina

		STf (%)						
		T ₁	DT	T ₂	DT	T ₃	DT	p
TBARS (mmol/ml)	Todos	0,95	0,29	0,98	0,30	0,99	0,31	1-3*
	Mujeres	0,93	0,24	0,99	0,34	1,03	0,31	
	hombres	0,97	0,33	0,97	0,26	0,94	0,31	
ORAC (mmol eq Trolox /l)	Todos	8,98	6,81	9,33	7,4	10,16	6,79	1-3*
	Mujeres	9,09	6,69	8,94	6,51	10,89	7,94	1-3*
	hombres	8,65	7,05	9,42	6,84	9,93	6,86	

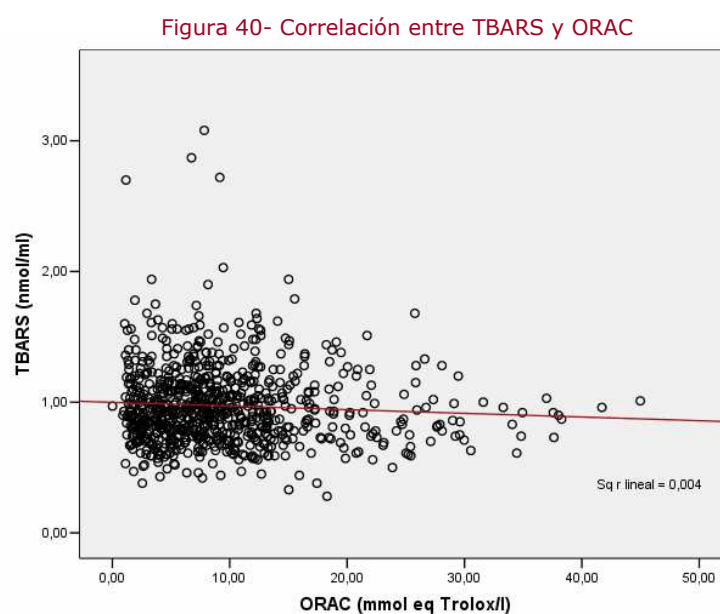
Eliminados los sujetos con inflamación. DT:desviación típica. T₁:tercil 1, T₂: tercil 2, T₃:tercil 3, TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, Test de ORAC: Capacidad antioxidante del plasma*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre terciles 1,2,3.

Tabla 56.- Valores medios de TBARS y ORAC según los terciles de ferritina sérica

		FS (µg/l)						
		T ₁	DT	T ₂	DT	T ₃	DT	p
TBARS (mmol/ml)	Todos	0,93	0,29	0,97	0,29	1,01	0,33	1-3*
	Mujeres	0,93	0,26	1,00	0,30	1,02	0,33	1-3*
	hombres	0,94	0,33	0,94	0,26	0,99	0,32	
ORAC (mmol eq Trolox /l)	Todos	8,16	5,62	9,32	7,17	10,84	7,50	1-3*** 2-3*
	Mujeres	8,74	6,41	8,88	6,57	11,32	7,90	1-3* 2-3*
	hombres	7,53	4,54	9,82	7,77	10,32	7,04	1-2*1-3**

Eliminados los sujetos con inflamación. DT:desviación típica. T₁:tercil 1, T₂: tercil 2, T₃:tercil 3, TBARS: Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, Test de ORAC: Capacidad antioxidante del plasma*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001: Nivel de significación estadística entre terciles 1,2,3.

Hemos querido observar la correlación entre la capacidad antioxidante y los niveles de TBARS, y como se observa en la figura 40, aunque existe una tendencia a la disminución de los TBARS al aumentar el test de ORAC, esta correlación no es significativa (correlación de Pearson= -0,066; $p=0,063$).



Para observar el efecto de los niveles de hierro sobre el estrés oxidativo, se ha realizado una RLM ajustando el modelo por diversas variables dietéticas, personales y de estilos de vida que pudieran estar relacionadas con dicho estrés.

Como se observa en la tabla 57, los TBARS plasmáticos aumentan de forma significativa en la población general con la edad y la ingesta de hierro hemo, mientras que disminuyen con la ingesta de hierro no hemo. En las mujeres aumenta con la STf, la edad y la ingesta de vitamina D, mientras que disminuyen con la ingesta de hierro no hemo. En los hombres también aumentan con la edad además del hierro hemo y el tabaco.

Tabla 57.- Efecto de los niveles de hierro (STf y FS) sobre la peroxidación lipídica (TBARS plasmáticos)

	Total (n=815)			Mujeres (n=425)			Hombres (n=390)		
	β	DT	p	β	DT	p	β	DT	p
STf (%)	0,001	0,001	0,069	0,004	0,001	0,006	1.10^{-5}	0,001	0,801
Ferritina sérica ($\mu\text{g/l}$)	$-1,7.10^{-4}$	$9,5.10^{-5}$	0,067	$-4,2.10^{-4}$	$3,6.10^{-4}$	0,240	$-3,8.10^{-5}$	1.10^{-5}	0,713
Edad (años)	0,003	0,001	<0,001	0,003	0,001	0,014	0,004	0,001	<0,001
Hierro hemo (mg/día)	0,012	0,005	0,013				0,019	0,006	0,002
Hierro no hemo (mg/día)	-0,009	0,004	0,022	-0,014	0,005	0,009			
Vit.D ($\mu\text{g/día}$)				0,017	0,008	0,028			
Tabaco (cig/día)							0,004	0,002	0,010
	$R^2_{c.100} = 3,1$ $F_{5,711} = 5,55 \text{ p} < 0,001$			$R^2_{c.100} = 4,7$ $F_{5,364} = 4,67 \text{ p} < 0,001$			$R^2_{c.100} = 5,8$ $F_{5,341} = 5,27 \text{ p} < 0,001$		

Ajustado por edad (años), sexo (0,mujer;1,hombre), Hierro hemo (mg/día), hierro no hemo (mg/día),retinol ($\mu\text{g/día}$), betacaroteno($\mu\text{g/día}$), vit.D ($\mu\text{g/día}$), vit.E ($\mu\text{g/día}$), vit.C (mg/día), tabaco (cigarrillos/día), alcohol (g/día), PCR (mg/L) β : Coeficiente beta, DT: Desviación Típica, p: Significación estadística. Se muestran solo los resultados que entran en la regresión.

En cuanto a la capacidad antioxidante medida con el test de ORAC, en la población total aumenta con la ferritina sérica y la ingesta de vitamina C, además de aumentar en los hombres respecto a las mujeres como se observa en la tabla 58. En las mujeres solo se observa un aumento significativo con la ferritina sérica, mientras que en los hombres, además de la ferritina, influyen la ingesta de vitamina D y la proteína C reactiva.

Tabla 58.- Efecto de los niveles de hierro (STf y FS) sobre la capacidad antioxidante plasmática (test de ORAC)

	Total (n=815)			Mujeres (n=425)			Hombres (n=390)		
	β	DT	p	β	DT	P	β	DT	P
STf (%)	0,030	0,019	0,123	0,026	0,029	0,364	0,036	0,026	0,163
Ferritina sérica ($\mu\text{g/l}$)	0,008	0,002	0,001	0,020	0,007	0,008	0,005	0,002	0,021
Sexo (0,mujer;1,hombre)	1,492	0,571	0,009						
Vit.C (mg/día)	0,008	0,004	0,017						
Vt.D ($\mu\text{g/día}$)							0,262	0,127	0,040
PCR (mg/l)							0,314	0,096	0,001
	$R^2_{c.100} = 2,7$ $F_{4,712} = 6,03 \text{ p} < 0,001$			$R^2_{c.100} = 2,2$ $F_{2,367} = 5,15 \text{ p} = 0,006$			$R^2_{c.100} = 6$ $F_{4,342} = 6,5 \text{ p} < 0,001$		

Ajustado por edad (años), sexo (0,mujer;1,hombre), Hierro hemo (mg/día), hierro no hemo (mg/día), retinol ($\mu\text{g/día}$), betacaroteno($\mu\text{g/día}$), vit.D ($\mu\text{g/día}$), vit.E ($\mu\text{g/día}$), vit.C (mg/día), tabaco (cigarrillos/día), alcohol (g/día), PCR (mg/L) . β : Coeficiente beta, DT: Desviación Típica, p: Significación estadística. Se muestran solo los resultados que entran en la regresión.

DISCUSIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

1. SUJETOS

Nuestro estudio se ha realizado sobre 815 sujetos elegidos al azar y representativos de la población adulta de la costa catalana española. Todos los individuos tuvieron las mismas posibilidades de ser elegidos para formar parte de la muestra, ya que las bases de datos fueron los padrones municipales estratificados por edad y sexo con el objetivo de representar a la población. Esta finalidad se ha conseguido ya que los porcentajes de participación por grupos de edad y sexo son similares a los de la población origen de la muestra según datos del *Institut d'Estadística de Catalunya* (IDESCAT) (<http://www.idescat.net>).

Como uno de los objetivos del estudio era realizar pruebas genéticas se excluyó de la muestra a los individuos que no fueran de raza caucásica. Esto permite inferir los resultados del estudio a la población general de raza caucásica de nuestra área geográfica.

La difusión previa del estudio, junto con la forma personalizada de contactar con los sujetos seleccionados influyó en la buena participación en el estudio, del 61,5%. El porcentaje de participación obtenido es similar al de otros estudios realizados en población general (Alvarez y cols., 2000).

El estudio fue aprobado por los Comités de Ética del Hospital Universitario Sant Joan de Reus y el de la Fundación Jordi Gol Gorina. Todos los individuos firmaron un consentimiento informado de acuerdo con la declaración de Helsinki.

2. MÉTODOS

Las variables socioeconómicas y culturales describen las características de nuestra población.

La forma de realizar las medidas antropométricas, así como la manera de realizar las preguntas referentes al estilo de vida y otras variables fue estandarizada entre los médicos que realizaban la historia clínica para disminuir la variabilidad entre ellos.

El consumo alimentario fue valorado por un registro dietético cuantitativo reconocido internacionalmente como un método que estima la ingesta habitual de los sujetos con la

adecuada exactitud como para permitir la realización de asociaciones con su estado nutricional (Pekarinen, 1970; Beaton y cols., 1979). Los encuestadores fueron entrenados y estandarizados en el método de valoración hasta obtener resultados similares entre ellos.

El procedimiento de obtención, extracción y conservación de las muestras de sangre para determinar las variables bioquímicas y genéticas, siguió el protocolo establecido y aceptado por estamentos internacionales.

Para determinar el estado de hierro hemos utilizado una amplia batería de parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo del hierro.

Para los parámetros bioquímicos que valoran la sobrecarga severa de hierro se utilizaron los límites de normalidad aceptados internacionalmente (WHO, 2000).

La definición de sobrecarga severa de hierro utilizada en nuestro estudio fue exigente por tratarse de población general, al necesitar la concurrencia de dos parámetros alterados a la vez (saturación de transferrina y ferritina sérica) ya que es la forma de diagnosticar la hemocromatosis hereditaria. De esta manera se redujo la probabilidad que en el grupo seleccionado hubiesen falsos positivos. Otros autores, sin embargo han utilizado un solo criterio para realizar el diagnóstico de sobrecarga de hierro en población general (Altés y cols, 2004, Fleming y cols., 2001; Baptista-gonzález y cols., 2005). Según Moirand y cols. (1997) son necesarios utilizar los dos parámetros para detectar todos los tipos de sobrecarga de hierro, ya que existen casos de exceso de hierro en los que tan solo un parámetro se encuentra alterado, manteniendo al otro en los niveles normales.

Como sobrecarga de hierro moderada se han usado niveles de STf y FS que a través de algunos estudios se ha visto que están relacionados con un riesgo para la salud (Salonen y cols., 1992; Distante, 2006). En todo momento se ha tenido en cuenta el efecto de la inflamación sobre los parámetros del hierro y por ello hemos determinado la proteína C reactiva para controlar el efecto confusor de la inflamación sobre la ferritina sérica. De esta forma se evita clasificar a un sujeto como exceso de hierro de forma falsa.

Para las determinaciones genéticas se ha procedido a realizar el método de reacción en cadena de la polimerasa, utilizado ampliamente en la literatura científica, ya descrito para cada una de

las alteraciones que hemos analizado del gen HFE (Jouanolle y cols. 1997; Mura y cols. 1999).

Para determinar el grado de estrés oxidativo hemos recurrido a dos parámetros ampliamente utilizados y cuya determinación se podía realizar en muestra congelada (Galleano y Puntarulo, 1995; Cao y cols., 1998; Gheldof y cols., 2003). Hemos utilizado los TBARS plasmáticos como forma de medir la peroxidación lipídica por su sencillez y sensibilidad; y el test de ORAC que es uno de los métodos más fiables y utilizados para medir la capacidad antioxidante total del organismo. Esto nos informa de una visión general en los dos sentidos de la oxidación, un marcador prooxidante y otro preventivo.

3. RESULTADOS

En nuestra población, un 2,7% de los sujetos (0,5% mujeres y un 5,1% en hombres) presentan sobrecarga de hierro severa, medida por la FS y la STf. Esta prevalencia es menor a la descrita por Altés y cols. (2004) en la población adulta catalana que obtuvo una prevalencia de sobrecarga de hierro en el 9,3%. Sin embargo, en este estudio se valoró la sobrecarga férrica a través únicamente de la ferritina sérica y no se tuvo en cuenta el grado de inflamación que puede elevar de forma errónea los niveles de ferritina dando falsos positivos por ser un reactante de fase aguda.

Como ya habían observado otros autores, los niveles de ferritina sérica aumentan con la edad (Fleming y cols., 2001; Milman y cols., 2002; Milman y cols., 2003a), resultado que esperábamos debido a la falta de un mecanismo de excreción del hierro que conduce al cúmulo del metal con el paso del tiempo. Sin embargo, los niveles saturación de transferrina en nuestro estudio no se afectan con el paso del tiempo, como ya habían descrito anteriormente Zacharski y cols. (2000) en el estudio NANHES III.

También hemos observado que los niveles de hierro corporal son superiores en los hombres que en las mujeres, evidencia que ha sido suficientemente relacionada con las pérdidas de sangre menstruales y factores hormonales (Sullivan y cols., 1981).

Debido a la cantidad de estudios que observan una relación de los niveles moderados de hierro medidos o bien con la FS o bien con la STf con la aparición de enfermedades crónicas y

frecuentes a través de la hipótesis de la teoría oxidativa del hierro, hemos querido definir un criterio de sobrecarga moderada, que engloba a aquellos niveles tanto de de FS como de STf en los que se ha descrito algún perjuicio o algún riesgo para la salud.

Con este criterio, un 14,9% de las mujeres y un 31% de los hombres de nuestra población tienen sobrecarga moderada de hierro medida con la FS y/o STf. Estas personas, por lo tanto, aunque no tienen una sobrecarga de hierro propiamente dicha o severa, definida con los niveles descritos internacionalmente, si tienen un riesgo aumentado de sufrir todas aquellas enfermedades relacionadas con el aumento del estrés oxidativo e incluso podría ser el paso previo a la sobrecarga severa.

En total, un 25,3 % de los sujetos de nuestra población (15,4% las mujeres y 36,1% de los hombres) tienen algún tipo de sobrecarga de hierro. De confirmarse la hipótesis de la teoría oxidativa que considera al hierro como un radical libre y por tanto promotor de la oxidación celular, esta alta prevalencia de exceso de hierro observada en la población debería de ser un factor a tener en cuenta a la hora de definirla como uno más de los múltiples factores de riesgo para la salud general que existen hoy en día.

Hemos determinado el Receptor soluble de Transferrina (RTfs) en una parte de la población debido a que se ha observado que es un marcador útil para diferenciar anemia ferropénica de anemia de la enfermedad crónica ya que no se afecta en presencia de inflamación (Suominen y cols., 2000). A pesar de que es cierto que existe una tendencia a la disminución de su concentración en caso de sobrecarga férrica, no se ha comunicado que esta determinación sea especialmente útil en el diagnóstico del exceso de hierro, de hecho en nuestra población no hemos observado diferencias significativas entre los sujetos con estado de hierro normal y sobrecarga, lo que nos indica que mientras que es una herramienta útil para evaluar el déficit de hierro, no parece que lo sea para evaluar su exceso. De hecho en ningún algoritmo de los múltiples propuestos para el diagnóstico de la HH u otros procesos por sobrecarga férrica se ha propuesto la determinación del RTfs. Debido a su elevado coste y a los escasos resultados obtenidos no continuamos analizándolo en el resto de la población

Las principales causas del aumento de los niveles de hierro son las alteraciones genéticas que afectan al metabolismo del hierro, principalmente las relacionadas al gen HFE o gen de la hemocromatosis hereditaria Clásica o de tipo I (HH) y una ingesta excesiva de hierro, bien sea

dietética o farmacológica.

La HH es la forma más común de sobrecarga de hierro (Roy y Andrews, 2001) y se trata de una enfermedad autosómica recesiva causada por mutaciones en el gen HFE que provocan un aumento de la absorción dietética del hierro a nivel intestinal que conlleva a un exceso de hierro en el organismo.

Desde el descubrimiento del gen HFE en 1996 (Feder y cols., 1996), muchos han sido los investigadores que han descrito la prevalencia de sus alteraciones principales (C282Y, H63D y S65C). Sin embargo, pocos son los que se han realizado sobre población general y concretamente en España, ésta es la primera vez que se describe la prevalencia de las tres mutaciones en una muestra representativa de la población general adulta de nuestra área mediterránea.

La mutación C282Y parece ser que tiene su origen en un solo antepasado de origen celta en el norte de Europa hace unos 2000 años (Lucotte y cols. 2003, Milman y cols., 2003b). Este defecto genético, que no causó ningún obstáculo serio a la reproducción y pudo incluso haber conferido algunas ventajas como son la resistencia a la deficiencia dietética del hierro y a ciertas enfermedades infecciosas, fue extendido a través de la migración de dicha población. En la actualidad, la mutación C282Y de forma homocigota se encuentra en aproximadamente 5 de cada 1000 personas de los descendientes del norte de Europa, aunque parece no afectar a nuestra zona geográfica. Aproximadamente el 80-90 % de los individuos con hemocromatosis hereditaria clínica son homocigotos para C282Y y un 5% son heterocigotos compuestos C282Y/H63D (Jouanolle y cols. 1997; Hanson y cols. 2001). El resto de genotipos tienen una expresión fenotípica más leve o moderada (Beutler y cols., 1996; Feder y cols., 1997; Waheed y cols., 1997).

No obstante, existe un pequeño porcentaje de individuos con HH en los que no se ha identificado ninguna de estas alteraciones en el gen HFE. Esto podría indicar la existencia de otros desórdenes genéticos como alteraciones en la ferroportina, la hepcidina, hemojuvelina o receptor de transferrina 2 (Beutler, 2006) o la implicación de otros factores como la dieta, el consumo de alcohol o la toma de alimentos enriquecidos o suplementos de hierro (Barton y cols., 2004; Gordeuk y cols., 2003).

En nuestra población, no hemos encontrado homocigotos para la mutación C282Y al igual que

otros estudios realizados en nuestro país en muestras de donantes de sangre o de laboratorios de análisis clínicos de atención primaria (Fábrega y cols., 1999; Guix y cols., 2000; De Juan y cols., 2001; Guix y cols., 2002). En España, los estudios que observan una mayor prevalencia de homocigotos C282Y están realizados sobre donantes de sangre, lo que explicaría este hecho ya que la donación de sangre excluye a las personas con anemia ferropénica, las cuales, en teoría tendrían menos probabilidad de presentar estas alteraciones genéticas que aumentan la absorción del hierro (Sánchez y cols., 1998; Sánchez y cols., 2003). En cuanto a la mutación C282Y en su forma heterocigota la encontramos en el 4,3% de nuestra población.

Al estudiar la prevalencia de la mutación C282Y en Europa, hemos observado que sigue un gradiente norte-sur (Merryweather-Clarke y cols., 2000; Hanson y cols., 2001; Milman y cols., 2004) excepto en el noroeste de la Península Ibérica donde es similar al norte de Europa (Fábrega y cols., 1999; Soto y cols., 2000; Cardoso y cols., 2001; De Juan y cols., 2001). Esto tendría su explicación en la emigración de la población de origen celta al noroeste peninsular (Milman, 2003b).

En estudios realizados fuera de Europa sobre población caucásica, se ha observado una prevalencia de la mutación C282Y parecida a la del norte de Europa (Bradley y cols., 1998; Burt y cols., 1998; Olynyk y cols., 1999; Beutler y cols., 2000), sin embargo, es considerablemente menor en otros grupos étnicos como en las razas asiática y negra (Beutler y cols., 2000; Adams y cols., 2005). A pesar que la sobrecarga de hierro afecta a un 10% de los individuos de raza negra, estudios llevados a cabo en el sur de África han concluido que la causa no está asociada a mutaciones en el gen HFE (McNamara y cols., 1998, Gordeuk y cols., 2003).

En cuanto a la mutación H63D, en nuestro estudio hemos encontrado una de las mayores prevalencias de Europa, con un 4.8 % de forma homocigota y un 32.3% de forma heterocigota. Este resultado es parecido a otros realizados en el noreste español sobre caucásicos donantes de sangre (Sánchez y cols., 1998; Sánchez y cols., 2003). La distribución geográfica de la mutación H63D en Europa es contraria a la observada en la C282Y, ya que existen mayores prevalencias en el sur de Europa que en el norte, por lo que sigue un gradiente sur-norte (Adams y cols., 2000; Merryweather-Clarke y cols., 2000; Hanson y cols., 2001; Deugnier y cols., 2002; Beutler, 2006).

En España, las mayores prevalencias de individuos con la mutación H63D las encontramos en el noreste y concretamente en un grupo específico de individuos descendientes de judíos mallorquines llamados Chuetas, los cuales han logrado mantener a través del tiempo un bloque

genéticamente homogéneo como consecuencia de la endogamia (Guix y cols., 2002).

No hemos encontrado individuos homocigotos para la mutación S65C, y en cuanto a su forma heterocigota la encontramos en un 2% de nuestra población. Dichas prevalencias son parecidas a las que se han encontrado en estudios realizados en las Islas Faroe (Milman y cols., 2004) y Suecia (Holmström y cols., 2002), pero diferentes a un estudio realizado en el noreste Español (De Juan y cols., 2001), donde se encontró el doble de heterocigotos, aunque tampoco se observó ningún individuo portador de la mutación en su forma homocigota.

Respecto a los compuestos heterocigotos, el formado por C282Y/H63D lo hemos encontrado presente en un 2% de nuestra población. Esta prevalencia es menor que la observada en el noroeste de Europa (entre un 2.6% y un 3.7%) (Merryweather-Clarke y cols., 2000; Hanson y cols., 2001; Jackson y cols., 2001; Campbell y cols., 2003) y en el norte de Portugal (3%) (Cardoso y cols., 2001). Los compuestos heterocigotos con S65C son menos frecuentes. En nuestra población no hemos encontrado individuos con los genotipos C282Y/S65C, y el H63D/S65C se encuentra en un 0.6%, resultados parecidos a los observados en un estudio realizado en las Islas Faroe sobre donantes de sangre (Milman y cols., 2005).

En nuestro estudio, un 46% de la población es portadora de alguna de las tres mutaciones estudiadas, siendo la H63D la más frecuente. No hemos detectado homocigotos para las mutaciones C282Y, S65C ni heterocigotos compuestos por C282Y/S65C. No hemos observado diferencias significativas entre sexos para las mutaciones estudiadas.

Debido a la alta prevalencia observada en nuestra población de las alteraciones en el gen HFE, nos planteamos estudiar su efecto sobre los niveles de hierro, teniendo en cuenta la dieta y diversos factores que pueden interferir en el metabolismo del hierro.

Los primeros estudios que relacionan la presencia de las mutaciones del gen HFE y el estado de hierro en poblaciones fueron realizados a partir de muestras de sujetos donantes de sangre, aspecto que puede interferir los resultados por ser una característica relacionada con el metabolismo del hierro como se ha comentado anteriormente (Cassanelli y cols., 2001; Jackson y cols., 2001).

Otros investigadores seleccionaron los participantes a partir de su centro de trabajo (Distante y cols., 1999; McDonnell y cols., 1999; Delatycki y cols., 2005). También existen estudios valiosos que aportan

datos de sujetos no enfermos, pero que no han sido seleccionados de la población general, como el HEIRS, que es un estudio muticéntrico realizado en USA, Inglaterra y Canadá, que valoraron 99.711 pacientes y un grupo de familiares sin mutación HH, los cuales fueron considerados como sujetos control (Adams y cols., 2005; Barton y cols., 2006).

Recientemente, amplios estudios longitudinales han permitido observar el efecto de la presencia de las mutaciones C282Y del gen HFE sobre el estado de hierro en poblaciones, como el estudio realizado en la cohorte de Brusselton, Australia (Fox y cols., 2002), el de la cohorte de *Copenhague City Heart Study*, correspondiente a una muestra representativa de la población general danesa (Andersen y cols., 2004) y el de la *Women`s Cohort Study* en UK (Greenwood y cols., 2005), todos ellos realizados en un amplio número de población.

Sin embargo nuestro estudio es el único que estima las 3 mutaciones del gen HFE junto con la valoración de consumo alimentario como principales factores causales del estado bioquímico del hierro en una muestra representativa de la población general.

El modelo de regresión lineal múltiple (RLM) construido permite estimar el efecto de las mutaciones del gen HFE sobre los niveles de hierro en nuestra población general presumiblemente sana, independiente de la dieta y otros estilos de vida.

En estos modelos se ha observado un efecto consistente de las mutaciones heterocigotas compuestas C282Y/H63D y H63D/S65C sobre el aumento de los niveles circulantes medidos con la STf y los depósitos de hierro medidos con la FS.

La mutación C282Y en su forma heterocigota así como la mutación H63D en su forma heterocigota y homocigota tienen menor efecto que los genotipos compuestos, ya que solamente se ha detectado su efecto sobre la elevación de la STf en la población general y específicamente en el subgrupo de mujeres. No obstante, aunque la mutación H63D tenga menor efecto sobre el estado en hierro, su repercusión en nuestra población es muy importante debido a su elevada frecuencia entre nuestra población (38,2%).

Para analizar si el efecto de las mutaciones sobre los depósitos de hierro se realizó el análisis de RLM sobre los individuos mayores de 50 años. Entonces observamos que el efecto del heterocigoto compuesto C282Y/ H63D aumentaba los niveles de FS en los mayores de 50 años

tanto en hombres como en mujeres, pero seguía sin aparecer efecto en el resto de mutaciones. Posiblemente el cúmulo de hierro debido a una absorción aumentada causada por las mutaciones del gen HFE, necesitan tiempo de actuación para elevar significativamente los depósitos de hierro orgánicos en los individuos.

Con nuestro estudio es la primera vez que se aportan datos de la prevalencia de la mutación heterocigota S65C en una población general del área mediterránea y su relación con el estado en hierro. Aunque Mura y cols. (1999) sugirió que la presencia de esta mutación podría estar asociada con una expresión fenotípica leve de la HH, su presencia entre nuestra población no parece tener ningún efecto sobre los niveles de hierro medidos con la STf y la FS, tal como hemos podido observar en todas los análisis realizados. Además, es poco frecuente en nuestro entorno.

El diferente efecto de las mutaciones sobre los niveles de STf y FS concuerda con lo observado por otros autores (Distante y cols., 1999; Cassanelli y cols, 2001). Según ha indicado Health y Fairweather-Tait (2003), los individuos portadores de alteraciones en el gen HFE, aunque no sean los genotipos que más frecuentemente se observan en la HH, presentan una mayor susceptibilidad a aumentar la absorción de hierro y por lo tanto un riesgo de presentar sobrecarga de hierro.

El efecto más directo de las mutaciones del gen HFE sobre el aumento de la absorción de hierro, implica en un primer paso, un aumento de los niveles de hierro circulante, por lo cual la transferrina sérica sería el parámetro bioquímico que se vería primero afectado tal y como hemos observado en nuestro estudio. Por ello en la HH el primer parámetro que se encuentra afectado es la STf (McLaren y cols., 1998; Waalen y cols., 2002).

Un importante porcentaje de los sujetos con sobrecarga de hierro presentaron genotipo salvaje para las mutaciones estudiadas lo que nos indica que existen otros factores que contribuyen en la homeostasis del hierro (Anderson y cols., 2007; Beutler, 2007) entre los que se encuentran la edad, el sexo, los hábitos y estilos de vida, el estado fisiológico o la presencia de infecciones entre otros. También la presencia de alteraciones en genes que codifican proteínas recientemente descubiertas como la ferroportina, hepcidina, hemojuvelina y el receptor de transferrina 2 (Beutler, 2006). Por último, otro factor que contribuye a la modificación de los niveles de hierro es la dieta, y principalmente componentes concretos como el hierro hemo, el calcio, la vitamina C y

en especial el consumo de alcohol habitual.

Los modelos de RLM también han permitido estimar el efecto de la dieta en presencia de las mutaciones HFE sobre los niveles de hierro. Hemos observado que los factores dietéticos contribuyen a modular los niveles de STf y FS en el sentido esperado, según su comportamiento sea favorecedor o inhibidor de la absorción del hierro. De esta forma, la ingesta de hierro dietético y de alcohol incrementan los niveles STf mientras que el calcio que es un inhibidor de la absorción del hierro los disminuye. En cuanto a la FS, la ingesta energética, de proteínas y alcohol se asocian con unos mayores depósitos de hierro mientras que el calcio los disminuye. En los sujetos mayores de 50 años, es la ingesta de hierro dietético junto con el alcohol los factores dietéticos que se asocian a unos mayores depósitos de hierro como ya había observado anteriormente Milman y cols. (2004).

Muchos autores sugieren que el hierro hemo es el responsable del aumento de los niveles de hierro en portadores de mutaciones HFE, mientras que el hierro no hemo parece tener poco efecto entre estos sujetos. Varios son los estudios que no han encontrado un aumento de la absorción del hierro no hemo en los individuos portadores de alguna mutación en el gen HFE respecto a los salvajes (Rossi y cols., 2001; Greenwood y cols., 2005; Roe y cols., 2005;) por lo que parece ser que la fortificación de alimentos así como la toma de suplementos no podría en riesgo la salud de los portadores de mutaciones en el gen HFE (Hunt y Zeng, 2004).

Sin embargo en el análisis de los datos de nuestro estudio se ha observado que al introducir el hierro hemo en el modelo de RLM en vez del hierro total ingerido, el hierro hemo era una variable excluida del análisis. Tampoco observamos diferencias en el efecto de la dieta en presencia o no de mutaciones.

El mecanismo de la absorción de hierro en presencia de mutaciones es complejo y parece ser que cuando la dieta contiene alta cantidad de hierro y factores favorecedores de su absorción se produce una disminución del control de su absorción en los sujetos heterocigotos C282Y (Roe y cols., 2005; Singh y cols., 2006), lo que implicaría un aumento no directamente lineal con la cantidad de hierro absorbido en este grupo de sujetos. Sin embargo no se ha comprobado si este mecanismo se desarrolla igual en las demás mutaciones.

A pesar de los estudios que relacionan la toma de suplementos con un aumento de los niveles

de hierro (Garry y cols., 2000; Fleming y cols., 2002; Liu y cols., 2003; Blanck y cols., 2005), en nuestro estudio se ha observado una asociación contraria en la toma de dichos suplementos. Este hecho puede haber ocurrido porque en la encuesta de hábitos se preguntó específicamente por la toma de suplementos de hierro y no se tuvo en cuenta aquellos complejos multivitamínicos que incorporan hierro en su composición, con lo cual las personas que contestaron probablemente fueron aquellas que tomaban un suplemento de hierro de forma específica y muy probablemente prescrito por su médico debido a un problema de carencia de hierro. Esto lo pudimos comprobar ya que analizando nuestros datos, hemos constatado que tan solo el 3,2% de nuestra población afirmó tomar suplementos de hierro (3 hombres y 23 mujeres) y efectivamente, ellos presentaron niveles significativamente menores de FS y STf que el resto de la población. Además, el porcentaje de individuos que se suplementan en nuestra población es muy pequeño comparado con el informe SESPAS 2002 en el que se describe que un 16% de la población Española toma de forma habitual algún complejo multivitamínico y mineral (la mayoría de los cuales contienen hierro) (Serra Majem y cols., 2002). Por ello, en la población estudiada podría haber un porcentaje de individuos que esté tomando hierro a través de estos suplementos sin que haya quedado registrado.

Otro factor que ha intervenido de forma casi constante y significativa en los diferentes análisis ha sido el efecto del consumo de alcohol sobre el aumento de los dos parámetros bioquímicos del estado en hierro. Este efecto ya se había descrito en estudios anteriores (Legget y cols., 1990; Rossi y cols., 2001). El mecanismo por el cual se produce este efecto no se conoce de forma exacta, pero se sabe que los pacientes con cirrosis alcohólica tienen aumentados los niveles de hierro (Fletcher y cols., 2003). Otros autores también habían descrito aumentos de los niveles de ferritina entre los sujetos que consumen alcohol de forma crónica, los cuales tenían duplicados los niveles de hierro respecto a los no tomaban alcohol (Duane y cols., 1992). Esta relación se ha observado incluso con bajos consumos de alcohol (Whitfield y cols., 2001). Un agravante del consumo habitual de alcohol es que tanto el alcohol como el hierro han sido relacionados independientemente con el aumento del estrés oxidativo y consecuentemente causantes de peroxidación lipídica y daño tisular (Fletcher y Powell, 2003).

Hemos observado en nuestro análisis que el consumo de tabaco se asocia a unos mayores niveles de hierro circulante en la población total y a unos mayores depósitos de hierro en las mujeres. A pesar que el tabaco durante el embarazo se ha asociado a mayor prevalencia de déficit de hierro (Laskowska-Klita y cols., 2000; Chełchowska y Laskowska-Klita, 2002), varios estudios han

observado que el tabaco provoca un aumento de los niveles de hierro que se acumulan en los macrófagos y hepatocitos (Gutteridge y Halliwell, 1989; Bonkovsky y cols., 1997; Alberti y cols., 1999; El-Zayadi y cols., 2002) promoviendo el estrés oxidativo en ellos (Watanabe y cols., 1995; Husain y cols., 2001). Según estos estudios, el tabaco provoca un aumento de los niveles de carboxihemoglobina y una disminución de la capacidad para transportar oxígeno por los eritrocitos. El organismo intenta entonces compensar esta hipoxia con el aumento de la eritropoyesis que a su vez, provoca un aumento de la absorción intestinal de hierro para cubrir la producción de eritrocitos (El-Zayadi, 2006).

No parece existir ninguna duda sobre las bases por las que la HH desarrolla un exceso de hierro orgánico, efecto representado clásicamente por el aumento de la absorción intestinal del hierro. No obstante, defectos en HFE interfieren en la acción de la ferroportina que no solo se encuentra en las células intestinales si no también en los macrófagos y las células Kupfer (Drakesmith y cols., 2002; Beutler, 2006). Este aspecto parece muy importante ya que el efecto sobre de la cantidad total de hierro diario absorbido a nivel intestinal (1-2 mg) es mucho menor que el aportado por los macrófagos a nivel corporal. Estas células están implicadas en el proceso de degradación de los glóbulos rojos y pueden aportar diariamente unos 20 mg de hierro a la sangre (Brissot y cols., 2004).

Aunque las regresiones lineales múltiples muestran que el efecto de los genotipos compuestos es elevado sobre los niveles de hierro, el efecto del resto de los genotipos es pequeño en el conjunto de la población general. Esto nos indica que en la elevación de los niveles de hierro están implicados otros muchos factores etiológicos, además de los analizados en este estudio, entre los que probablemente se encuentran proteínas identificadas recientemente y relacionadas con el estado de hierro. Además, existe un porcentaje de la población que podría estar tomando hierro adicional sin necesitarlo a través de complejos multivitamínicos, de forma que podrían estar aumentando sus niveles de hierro de forma silenciosa.

Por último hemos querido observar el efecto de los niveles de hierro sobre el grado de estrés oxidativo debido a que existen muchos estudios que relacionan los niveles moderados de hierro con muchas enfermedades crónicas y frecuentes en la población como la enfermedad cardiovascular y el cáncer (Sullivan, 1981; Salonen y cols., 1992; Weinberg, 1996; Yuan y Li, 2003; Kalliampur y cols., 2004). Según estos estudios, el hierro al ser un mineral oxidante podría provocar un aumento del estrés oxidativo y a través de él promover todas las enfermedades relacionadas con la oxidación.

En cuanto al efecto de los niveles de hierro sobre el estrés oxidativo, no existen apenas estudios que relacionen la dieta o el hierro con el estrés oxidativo, y los pocos que hay o bien son de intervención controlando la dieta o bien sobre pacientes enfermos. Nosotros con este estudio hemos querido observar en una población general mediterránea el efecto de los niveles de hierro sobre el estrés oxidativo medido con los TBARS plasmáticos como medida de peroxidación lipídica y el test de ORAC como capacidad antioxidante total. Además, hemos tenido en cuenta factores dietéticos y hábitos tóxicos que pudieran interferir en esta relación.

Al clasificar la población en terciles según los niveles circulantes de hierro medidos con la STf y de los depósitos de hierro medidos con la FS, se observa que al aumentar los niveles de hierro circulante medidos con la STf aumenta significativamente la peroxidación lipídica en las mujeres, así como la capacidad antioxidante en la población general y en las mujeres. Al aumentar los depósitos de hierro medidos con la FS, se observa un aumento de la peroxidación lipídica en el total de la población y en las mujeres y un aumento de la capacidad antioxidante en toda la población.

Al crear un modelo de regresión lineal múltiple (RLM) para observar el efecto de los niveles de hierro sobre la peroxidación lipídica ajustando con factores dietéticos y hábitos tóxicos que pudieran enmascarar la relación, se mantiene el efecto de los niveles de hierro circulante sobre el aumento de la peroxidación lipídica en las mujeres, además de observarse una relación directa con la ingesta de hierro hemo, el cual se encuentra predominantemente en la carne y el pescado.

Las dietas habituales de la población mediterránea aportan entre 10 y 20 mg de hierro al día, de los cuales, una alta cantidad es hierro hemo que tiene una gran capacidad de absorción. Existen estudios que han sugerido la ingesta de hierro hemo como un factor prooxidante (Lee cols., 2005b), incluso se ha observado una estrecha relación entre esta ingesta de hierro hemo con el riesgo de mortalidad por enfermedad cardiovascular, cáncer de pulmón, cáncer del tracto digestivo superior (Lee DH y cols., 2005a; Lee DH y cols., 2005c) y mortalidad general (Mainous y cols., 2004). Por lo que el hierro hemo además de actuar de forma indirecta sobre el estrés oxidativo a través del aumento de los niveles de hierro, podría actuar de forma directa como hemos observado en nuestro estudio, aunque esta relación debe estudiarse de forma más minuciosa.

En nuestra población, al contrario que el hierro hemo, la cantidad de hierro no hemo se

relaciona de forma negativa con dicha peroxidación. Esto podría ocurrir porque el hierro no hemo se encuentra mayoritariamente en las verduras de hoja verde, en la fruta y legumbres (Mataix y cols., 2002), que además son una buena fuente de vitaminas antioxidantes que podrían frenar este efecto negativo del hierro sobre la salud.

Como era de esperar, la edad se ha relacionado de forma significativa con un aumento de la peroxidación lipídica, así como el consumo de tabaco en los hombres (Ortín y cols., 1996).

Al realizar el mismo modelo de RLM para la capacidad antioxidante total del plasma, se observa una relación estrecha y significativa con los niveles de ferritina sérica. Además, también aumenta de forma significativa con la proteína C reactiva que es un marcador de la inflamación, lo que nos podría indicar un posible mecanismo de defensa del organismo frente una situación de estrés oxidativo como puede ser la inflamación. El aumento observado de la capacidad antioxidante con el aumento de la FS apoyaría la hipótesis de Juckett y cols. (1995) que había sugerido que la ferritina podría actuar como mecanismo protector frente a los procesos oxidativos, ya que el estrés oxidativo induce la síntesis de ferritina de forma directa o indirecta para que a través de su estructura "secuestre" el hierro oxidado evitando de esta forma su toxicidad (Reif, 1992).

En cuanto a la dieta, hemos observado que el consumo de vitamina C y D está relacionado de forma significativa con un aumento de la capacidad antioxidante. Esto ya se había descrito en otros estudios, en los que se había observado un aumento de la capacidad antioxidante *in vivo* con la ingesta de vitamina C a través de la fruta, verdura (Cao y cols., 1998) y de miel (Gheldof y cols., 2003), todos ellos alimentos ricos en vitaminas antioxidantes.

La dieta mediterránea se caracteriza por un alto consumo de verduras, legumbres, fruta, pescado y aceite de oliva como principal fuente de grasa, además de un consumo habitual de vino tinto. Este tipo de dieta es rica en antioxidantes y se ha relacionado con la disminución de la incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer, y otras enfermedades relacionadas con la oxidación, además de una menor prevalencia de mortalidad general (De Lorgeril y cols., 1999, Trichopoulou y cols., 2003, Knoop y cols., 2004; Fitó y cols., 2007). No obstante, en algunos estudios, el aumento de la capacidad antioxidante no va acompañado de una disminución de la susceptibilidad de las lipoproteínas a la oxidación (Gheldof y cols., 2003; Blackhurst y Marais, 2006). Esto también lo hemos observado en nuestro estudio, en el que no se ha observado ninguna

correlación significativa entre el aumento de la capacidad antioxidante y la disminución de la lipoperoxidación medida con los TBARS plasmáticos.

En el estado actual de los conocimientos, en el que recientemente se ha descrito la implicación de otros genes en el metabolismo del hierro, el efecto conjunto entre dieta y mutaciones del gen HFE debe ser interpretada con cautela. Debido a la considerable prevalencia de mutaciones del gen HFE en nuestra población, a la alta biodisponibilidad del hierro de nuestra dieta mediterránea (Galán y cols., 1990) y el efecto sobre el estrés oxidativo que parece observarse, se constata la necesidad de realizar más investigaciones que contribuyan a clarificar el efecto real para la salud.

4. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El estudio transversal, si bien ha permitido determinar la prevalencia de las alteraciones en el gen HFE y de sobrecarga de hierro en una población general, tiene limitaciones en la medición del efecto causal. No obstante, los factores genéticos y dietéticos valorados en este estudio, son evidentemente previos al efecto buscado sobre los niveles de hierro. También, de acuerdo a las evidencias biológicas, el exceso de hierro es previo a la oxidación celular. Todo ello apoya que las asociaciones observadas las podamos interpretar como efectos, aunque requieran confirmación con estudios longitudinales.

El estudio de la dieta mediante el registro alimentario de tres días no consecutivos incluyendo uno festivo presenta limitaciones en la percepción de la ingesta habitual. Sin embargo puede considerarse uno de los métodos más adecuados para determinar la ingesta en poblaciones sin disminuir la participación y aportar una aceptable precisión de la ingesta habitual.

El avance científico sobre el metabolismo del hierro en los últimos años ha identificado la hepcidina como posible hormona clave en la regulación del metabolismo del hierro. Solamente los niveles de hepcidina en orina se correlacionan bien con los niveles de hierro. En nuestro estudio no pudo determinarse la hepcidina, ya que en el momento del diseño aún no se había identificado y por tanto no se recogió orina en la población participante.

A pesar que el estrés oxidativo es importante determinarlo a través de varios parámetros por

estar implicado en varias vías metabólicas, no pudimos analizarlos porque muchas determinaciones se debían realizar en sangre fresca. Debido a la falta de un laboratorio que determinara diariamente estos parámetros en sangre fresca, solo pudimos valorarlo en los parámetros que se pudieron analizar en plasma congelado, TBARS y test de ORAC.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

CONCLUSIONES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

Conclusiones

1. El 25,3% de la población presenta algún tipo de sobrecarga de hierro. Un 0,5% de las mujeres y un 5,1% de los hombres de la población general presentan sobrecarga severa de hierro y un 14,9% de las mujeres y un 31% de los hombres, sobrecarga moderada.
2. Un 46% de nuestra población presenta algún tipo de las alteraciones estudiadas en el gen HFE, siendo la más frecuente la H63D que se encuentra en el 32,3% de la población en su forma heterocigota y en el 4,8% en su forma homocigota. Los genotipos más relacionados en la literatura con la sobrecarga severa de hierro C282Y/C282Y y C282Y/H63D tienen una prevalencia del 0% y 2% respectivamente en nuestra población.
3. Los sujetos con alteraciones en el gen HFE tienen significativamente mayores niveles de hierro que los sujetos con genotipo salvaje.
4. La presencia del genotipo S65C heterocigoto no modifica significativamente los niveles de hierro orgánicos en la población, pero si lo hace cuando se combina con la alteración H63D (H63D/S65C).
5. En el conjunto de la población, la presencia de prácticamente todas las alteraciones en el gen HFE (excepto la S65C heterocigota) y diversos factores dietéticos como la mayor ingesta de hierro, alcohol y la menor de calcio aumentan los niveles de hierro circulantes.
6. En el conjunto de la población, solamente la presencia de las alteraciones C282Y heterocigota y las compuestas C282Y/H63D y H63D/S65C, además de diversos factores dietéticos como la mayor ingesta de proteínas, alcohol y la menor de calcio aumentan los depósitos de hierro orgánicos.
7. En la población general, el efecto de las alteraciones en el gen HFE sobre los niveles de hierro es pequeño excepto en los genotipos compuestos C282Y/H63D y H63D/S65C. Éstos tienen un efecto persistente y considerable sobre el porcentaje de variación tanto de los niveles de hierro circulante (17%) como los niveles de hierro en depósito (40%)
8. La dieta modifica en un 18,1% los depósitos de hierro y sólo en un 5% los niveles de hierro circulante.

Conclusiones

9. En las mujeres se observa una relación directa y significativa entre los niveles de hierro circulante y el grado de estrés oxidativo, además de con la ingesta de hierro y vitamina D.
10. En ambos sexos, la ferritina sérica y la ingesta de vitamina C y D se relacionan directamente con el aumento de la capacidad antioxidante.

APLICABILIDAD DEL ESTUDIO Y PLANTEAMIENTOS FUTUROS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

Aplicabilidad del estudio y planteamientos futuros

En este estudio se ha determinado por primera vez en España la prevalencia de sobrecarga de hierro y de las mutaciones C282Y, H63D y S65C en una misma muestra representativa de la población española teniendo en cuenta factores moduladores como la dieta y diversos hábitos y estilos de vida. También se ha analizado la relación entre el nivel de hierro y el estrés oxidativo.

Casi la mitad de la población tiene algún tipo de las alteraciones genéticas estudiadas, y un cuarto de los sujetos presenta exceso de hierro bien sea moderado o severo. El amplio porcentaje de población que presenta estos indicadores alterados requiere estudios que determinen la verdadera implicación sobre la salud.

El no haber observado una buena relación entre los niveles del receptor de transferrina sérica y el exceso de hierro, indica que aunque sea una herramienta útil en el diagnóstico de déficit de hierro no parece que lo sea para evaluar la sobrecarga de hierro.

No hemos observado un aumento de los niveles de hierro en presencia de la alteración S65C heterocigota, no obstante, se debería estudiar su mecanismo de actuación y su efecto cuando se encuentra en combinación con otra de las alteraciones, ya que en presencia de H63D hemos observado una tendencia en el aumento de los niveles de hierro, pero debe confirmarse con un número mayor de individuos.

Es importante clarificar el efecto del alcohol, que insistentemente se ha encontrado relacionado con la elevación de los niveles de hierro en nuestro estudio. También se necesita mayor información sobre el mecanismo de actuación de otros componentes de la dieta, como el hierro hemo.

Existen indicios no confirmados que el exceso de hierro podría estar implicado en la etiopatogenia de algunas enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo. Hemos observado una asociación positiva entre el aumento de los niveles de hierro con un aumento de la peroxidación lipídica, (medida con la determinación de TBARS plasmáticos) y de la capacidad antioxidante del plasma (medida con el test de ORAC), por lo que con nuestro estudio aportamos nuevos datos que apoyan la hipótesis de la teoría oxidativa del hierro, siendo necesario nuevas investigaciones para confirmarla. Uno de nuestros objetivos próximos es llegar a determinar un marcador oxidativo que se relacione bien con los niveles de hierro y así aportar nuevos datos en la hipótesis de la teoría oxidativa.

Aplicabilidad del estudio y planteamientos futuros

El hecho de observar en una población general y aparentemente sana una relación directa entre la dieta y las alteraciones en el gen HFE sobre el aumento de los niveles de hierro, y un efecto de éstos sobre la oxidación celular, aunque sea pequeño, es importante, y es probable que esta relación aumente en los grupos de población de riesgo. Esto indica la necesidad de seguir investigando en este campo, sobre todo en unos momentos donde existe un gran interés tanto en la fortificación como en el diseño de alimentos funcionales.

Otro de nuestros objetivos a corto plazo es observar el efecto sobre la salud materno fetal de la suplementación sistemática de hierro durante el embarazo. Si bien en un alto porcentaje de la población esta suplementación es necesaria y efectiva durante esta etapa, la falta de una pauta de suplementación individualizada en cuanto a la dosis, frecuencia y momento de inicio podría estar perjudicando a aquellas mujeres cuya suplementación no sea necesaria o estén incorporando mayor hierro del requerido.

Todavía existen muchas lagunas en el conocimiento del complejo metabolismo del hierro y aunque hay un elevado porcentaje de población general con niveles moderadamente o excesivamente elevados, no se conocen claramente las causas, los mecanismos de actuación ni sus consecuencias reales en la salud. Todo ello hace necesario nuevas investigaciones que ayuden a esclarecer los interrogantes que hoy aún existen.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

BIBLIOGRAFIA

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000; 30; 275: 19906-12.

Abuja PM, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clin Chim Acta* 2001; 306: 1-17.

Adams P, Brissot P, Powell LW. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000; 33: 485-504.

Adams PC, Reboussin DM, Barton JC, McLaren CE, Eckfeldt JH, McLaren GD et al. Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) Study Research Investigators. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population. *N Engl J Med* 2005; 352:1769-78.

Ahmad KA, Ahmann JR, Migas MC, Waheed A, Britton RS, Bacon BR et al. Decreased liver hepcidin expression in the Hfe Knockout mouse. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29: 361-366.

Aisen P, Listowsky I. Iron and storage proteins. *Annu Rev Biochem* 1980; 49:357-93.

Alberti A, Chemello L, Benvegna L. Natural history of hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31 (S1): 17S-24S.

Ariznavarreta R. Fisiología de la absorción y secreción intestinal. En: Tresguerres J.A.F. *Fisiología Humana 2ed*. Madrid. Ed McGraw Hill Interamericana de España; 1999. p. 722-36.

Altés A, Remacha AF, Sureda A, Martino R, Briones J, Brunet S et al. Patients with

biochemical iron overload: causes and characteristics of a cohort of 150 cases. *Ann Hematol* 2003; 82: 127-30.

Altés A, Ruiz A, Barcelo MJ, Remacha AJ, Puig T, Maya AJ et al. Prevalence of the C282Y, H63D, and S65C mutations of the HFE gene in 1,146 newborns from a region of Northern Spain. *Genet Test* 2004a; 8: 407-10.

Altés A, Ruiz A, Castell C, Roure E. Déficit y sobrecarga de hierro en la población adulta de Cataluña. *Med Clin (Barc)* 2004b; 123: 131-3.

Altés A. Cribado genético de la hemocromatosis hereditaria en España. Situación actual. *Med Clin (Barc)* 2005; 125: 184-6.

Álvarez EE, Henríquez P, Serra L. La participación en encuestas de nutrición: comentarios en torno a la encuesta nutricional de Canarias (ENCA 1997-98). *Rev Esp Nutr Comunitaria* 2000; 6: 116-22.

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.

Allen LH. Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (5S): 1280S-4S.

Andersen RV, Tybjaerg-Hansen A, Appleyard M, Birgens H, Nordestgaard BG. Hemochromatosis mutations in the general population: iron overload progression rate. *Blood* 2004; 103: 2914-9.

Anderson GJ. Control of iron absorption. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11: 1030-2.

Anderson GJ, Frazer DM, McKie AT, Vulpe CD, Smith A. Mechanisms of haem and non-

Bibliografía

haem iron absorption: lessons from inherited disorders of iron metabolism. *Biometals* 2005; 18: 339-48.

Anderson GJ, Darshan D, Wilkins SJ, Frazer DM. Regulation of systemic iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand. *Biometals* 2007; 20: 665-74.

Andrews NC, Bridge KR. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1998. p. 423-61.

Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; 341:1986-95.

Andrews NC. Understanding Heme Transport. *N Engl J Med* 2005; 353: 2508-9.

Andrews NC, Schmidt PJ. Iron Homeostasis. *Annu Rev Physiol* 2007; 69: 69-85.

Aranceta J, Rodrigo C. Diario o Registro dietético. Métodos de doble pesada. En: Serra-Majem LI, Aranceta J eds. *Nutrición y Salud Pública: Métodos, Bases científicas y aplicaciones* 2ª ed. Barcelona: Masson; 2006. p. 158-167.

Aranceta J, Serra Majem L. Historia Dietética. En: Serra-Majem LI, Aranceta J eds. *Nutrición y Salud Pública: Métodos, Bases científicas y aplicaciones* 2ª ed. Barcelona: Masson; 2006. p. 184-191.

Araujo JA, Romano EL, Brito BE, Parthe V, Romano M, Bracho M et al. Iron overload augments the development of atherosclerotic lesions in rabbits. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 1172-80.

Arden KE, Wallace DF, Dixon JL,

Summerville L, Searle JW, Anderson GJ et al. A novel mutation in ferroportin 1 is associated with haemochromatosis in a Solomon Islands patient. *Gut* 2003; 52: 1215-7.

Arija V, Salas J, Fernández-Ballart J, Cucó G, Martí-Henneberg C. Consumo, hábitos alimentarios y estado nutricional de la población de Reus (VIII). Evolución de la ingestión de energía y nutrientes entre 1983 y 1993. *Med Clin (Barc)* 1996; 106: 45-50.

Arija V, Fernández-Ballart J, Salas J. Carencia de hierro y anemia ferropénica en la población española. *Med Clin (Barc)* 1997; 109: 425-30.

Arija V, Salas J, Fernández-Ballart J. Deficiencia y sobrecarga de hierro en la población europea. *Nutrición y obesidad* 1999; 2: 109-16.

Arija V, Fernández-Ballart J. Métodos de valoración del consumo alimentario. En: Salas-Salvadó J, Bonada-Sanjaume A, Trallero-Casañas R, Saló-Solá E. *Dietética Clínica*. Reus: Doyma; 2000. p. 35-46.

Arija V, Viteri F. Deficiencias de nutrientes conducentes a anemia, su prevención y tratamiento. En: Serra LL, Aranceta J. *Nutrición y salud pública* 2ª ed. Barcelona: Masson; 2006. p. 393-705.

Asberg A, Hveem K, Thorstensen K, Ellekjer E, Kannelonning K, Fjosne U, et al. Screening for hemochromatosis: high prevalence and low morbidity in an unselected population of 65,238 persons. *Scan J Gastroenterol* 2001; 36: 1108-15.

Ascherio A, Willett WC. Are body iron stores related to the risk of coronary heart disease? *N Engl J Med* 1994; 330: 1152-4.

Attieh ZK, Mukhopadhyay CK, Seshadri V, Tripoulas NA, Fox PL. Ceruloplasmin ferroxidase activity stimulates cellular iron uptake by a trivalent cation-specific transport mechanism. *J Biol Chem* 1999; 274: 1116-23.

Bacon BR, Olynyk JK, Brunt EM, Britton RS, Wolff RK. HFE genotype in patients with hemochromatosis and other liver diseases. *Ann Intern Med* 1999; 130: 953-62.

Baech SB, Hansen M, Bukhave K, Jensen M, Sorensen SS, Kristensen L et al. Nonheme-iron absorption from a phytate-rich meal is increased by the addition of small amounts of pork meat. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 173-9.

Bainton DF y Finch CA. the diagnosis of deficiency anemia. *Am J Med* 1964; 37: 62-70.

Balogh M, Kahn HA, Medalie JH. Random repeated 24- hour dietary recalls. *Am j Clin Nutr* 1971; 24 : 304-310.

Baptista-Gonzalez H, Rosenfeld-Mann F, Trueba-Gomez R, Mendez-Sanchez N, Uribe M. Evaluation of iron overload in healthy adult residents of Mexico City. *Arch Med Res* 2005; 36: 142-7.

Barton JC, McDonnell SM, Adams PC y cols. Management of hemochromatosis. *Ann Intern Med* 1998; 129: 932-9.

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.

Barton JC, Rivers CA, Niyongere S, Bohannon SB, Acton RT. Allele frequencies of hemojuvelin gene (HJV) I222N and

G320V missense mutations in white and African American subjects from the general Alabama population. *BMC Med Genet* 2004; 5:29.

Barton JC, Acton RT, Dawkins FW, Adams PC, Lovato L, Leiendecker-Foster C et al. Initial screening transferrin saturation values, serum ferritin concentrations, and HFE genotypes in whites and blacks in the Hemochromatosis and Iron Overload Screening Study. *Genet Test* 2005; 9: 231-41.

Beard JL, Dawson H, Pinero DJ. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr Rev* 1996; 54: 295-317.

Beard JL. Effectiveness and strategies of iron supplementation during pregnancy. *Am J Clin Nutr* 2000; 71 (5S): 1288S-94S.

Beaton GH, Milner J, Corey P, McGuire V, Cousins M, Stewart E et al. Sources of variance in 24-hour dietary recall data: implications for nutrition study design and interpretation. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 2546-59.

Beaton GH. Iron needs during pregnancy: do we need to rethink our targets? *Am J Clin Nutr* 2000; 72(1S): 265S-271S.

Beaumont C, Leneuve P, Devaux I, Scoazec JY, Berthier M, Loiseau MN et al. Mutation of the iron responsive element of the L ferritin mRNA in a family with dominant hyperferritinemia and cataract. *Nat Genet* 1995; 11: 444-6.

Beaumont C. Molecular mechanisms of iron homeostasis. *Med Sci* 2004; 20: 68-72.

Beguin Y. The soluble transferrin receptor: biological aspects and clinical usefulness as quantitative measure of erythropoiesis. *Haematologica* 1992; 77: 1-10.

Bibliografía

- Beguín Y. Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 9-22.
- Bell H, Berg JP, Undlien DE, Distant S, Raknerud N, Heier HE et al. The clinical expression of hemochromatosis in Oslo, Norway. Excessive oral iron intake may lead to secondary hemochromatosis even in HFE C282Y mutation negative subjects. *Scand J Gastroenterol* 2000; 35: 1301-7.
- Bendich A. Calcium supplementation and iron status of females. *Nutrition* 2001; 17:46-51.
- Benhar M, Egelberg D, Levitzki A. ROS, stress-activated kinases and stress signalling in cancer. *EMBO Rep* 2002;3: 420-5.
- Bennet MJ, Lebron JA, Bjorkman PJ. Crystal structure of the haemochromatosis protein HFE complexed with transferrin receptor. *Nature* 2000; 403: 46-53.
- Bérez V, Camps J, Arija V, Aranda N, Fernández-Ballart J, Vilella E et al. Soluble transferrin receptor and mutations in hemochromatosis and transferrin genes in a general Catalan population. *Clin Chim Acta* 2005; 353: 205-8.
- Berg D, Youdim MB. Role of iron in neurodegenerative disorders. *Top Magn Reson Imaging* 2006; 17:5-17.
- Berman HM, Westbrook J, Feng Z, Gilliland G, Bhat TN, Weissig H et al. The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research* 2000; 28: 235-42.
- Berner LA, Miller DD. Effects of dietary proteins on iron availability - A review. *Food Chem* 1985; 18: 47-69.
- Bertelsen M, Anggard EE, Cerrier MJ. Oxidative stress impairs insulin internalization in endothelial cells in vitro. *Diabetologia* 2001; 44: 605-13.
- 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.
- Beutler E, Felitti V, Gelbart T, Ho N. The effect of HFE genotypes on measurements of iron overload in patients attending a health appraisal clinic. *Ann intern Med* 2000; 133: 329-337.
- Beutler E, Gelbart T, Lee P, Trevino R, Fernandez MA, Fairbanks VF. Molecular characterization of a case of atransferrinemia. *Blood* 2000; 96: 4071-4.
- Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G->A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002; 359: 211-8.
- Beutler E. Hemochromatosis: Genetics and Pathophysiology. *Annu Rev Med* 2006; 57: 331-47.
- Beutler E. Iron storage disease: Facts, fiction and progress. *Blood Cells Mol Dis* 2007; 39: 140-7.
- Bezançon F, De Gennes L, Delarue J, Oumensky D. Cirrhosis pigmentaire avec infantilisme et insuffisance cardiaque et aplasies endocriniennes multiples. *Bull Mém Soc Méd Hop Paris* 1932; 48: 967-74.
- Bezowoda W, Bothwell T, Torrance J, MacPhail A, Charlton R, Kay G et al. The relationship between marrow iron stores, plasma ferritin concentrations and iron absorption. *Scand J Haematol* 1979; 22: 113-20.
- Bingham SA, Nelson M, Paul AA,

- Haraldsdottir J, Loken EB, Staveren WA. Methods for data collections at an individual level. In: Cameron ME, Staveren WS eds. Manual on methodology for food consumption studies. New York: Oxford university Press; 1988 .p. 53-106.
- Bismuth M, Aguilar-Martinez P, Michel H. Hereditary haemochromatosis. Presse Med 2003; 32:1716-23.
- Blackhurst DM, Marais AD. Concomitant consumption of red wine and polyunsaturated fatty acids in edible oil does not influence the peroxidation status of chylomicron lipids despite increasing plasma catechin concentration Nutr Metab Cardiovasc Dis 2006; 16: 550-8.
- Blanck HM, Cogswell Me, Gillespie C, Reyes M. Iron supplement use and iron status among US adults: results from the third National and Nutrition Examination Survey. Am J Clin Nutr 2005; 82: 1024-31.
- Boato F, Wortley GM, Liu RH, Glahn RP. Red grape juice inhibits iron availability: application of an in vitro digestion/caco-2 cell model. J Agric Food Chem 2002; 50: 6935-8.
- Bonkovsky HL, Banner BF, Rothman AL. Iron and chronic viral hepatitis. Hepatology 1997; 25: 759-68.
- Bothwell TH. Overview and mechanisms of iron regulation. Nutr Rev 1995; 53: 237-45.
- Bradley LA, Johnson DD, Palomaki GE, Haddow JE, Robertson NH, Ferrie RM. Hereditary haemochromatosis mutation frequencies in the general population. J Med Screen 1998; 5: 34-6.
- Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ, Dixon JL, Purdie DM, Crawford DH et al. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. Lancet 2003; 361: 669-73.
- Brissot P, Troadec MB, Loreal O. Intestinal absorption of iron in HFE-1 hemochromatosis: local or systemic process? J Hepatol 2004; 40: 702-9.
- Britton RS, Ramm GA, Olynyk J, Singh R, O'Neill R, Bacon BR. Pathophysiology of iron toxicity. Adv Exp Med Biol 1994; 356: 239-53.
- Brock C, Curry H, Hama C, Knipfer M, Taylor L. Adverse effects of iron supplementation: A comparative trial of wax-matrix iron preparation and conventional ferrous sulphate tablets. Clin Ther 1985; 7: 568-73.
- Brune M, Rossander-Hulten L, Hallberg L, Gleerup A, Sandberg A. Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereal fiber, phytates and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. J Nutr 1992; 122: 442-9.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. Methods Enzymol 1978; 52: 302-10.
- Burke W, Imperatore G, Reyes M. Iron deficiency and iron overload: effects of diet and genes. Proc Nutr Soc 2001; 60: 73-80.
- Burt MJ, George PM, Upton JD, Collett JA, Frampton CM, Chapman TM et al. The significance of haemochromatosis gene mutations in the general population implications for screening. Gut 1998; 43: 830-6.
- Cade JE, Moreton JA, O'Hara B, Greenwood DC, Moor J et al. Diet and genetic factors associated with iron status in middle-aged

Bibliografía

- women. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 813-20.
- Calabrese V, Lodi R, Tonon C, D'Agata V, Sapienza M, Scapagnini G et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *J Neurol Sci* 2005; 233: 145-62.
- Camaschella C, Roetto A, Calì A, De Gobbi 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.
- Campbell S, George DK, Robb SD, Spooner R, McDonagh TA, Dargie HJ et al. The prevalence of haemochromatosis gene mutations in the West of Scotland and their relation to ischaemic heart disease. *Heart* 2003; 89: 1023-6.
- Canonne-Hergaux F, Zhang AS, Ponka P, Gros P. Characterization of the iron transporter DMT1 (NRAMP2/DCT1) in red blood cells of normal and anemia mk/mk mice. *Blood* 2001; 98: 3823-30.
- Cao G, Booth SL, Sadowski JA, Prior RL. Increases in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 1081-7.
- Cao G, Russell RM, Lischner N, Prior RL. Serum antioxidant capacity is increased by consumption of strawberries, spinach, red wine or vitamin C in elderly women. *J Nutr* 1998; 128: 2383-90.
- Cardoso CS, Oliveira P, Porto G, Oberkanins C, Mascarenhas M, Rodrigues P et al. Comparative study of the two more frequent HFE mutations (C282Y and H63D): significant different allelic frequencies between the north and south of Portugal. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 843-8.
- Carpenter CE, Mahoney AW. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 31: 333-67.
- Carlson H, Zhang AS, Fleming WH, Enns CA. The hereditary Hemochromatosis protein, HFE, lowers intracellular iron levels independently of transferrin receptor 1 in TRVb cells. *Blood* 2004; 15: 2564-70.
- 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.
- Casey JL, Entes MW, Koeller DM, Caughman SW, Rouault TA, Klausner RD et al. Iron-responsive elements: regulatory RNA sequences that control mRNA levels and translation. *Science* 1988; 240: 924-8.
- Cazzola M, Cerani P, Rovati A, Iannone A, Claudiani G, Bergamashi G. Juvenile hemochromatosis is clinically and genetically distinct from the classical HLA-related disorder. *Blood* 1998; 92: 2979-81.
- Cazzola M, Invernizzi R, Bergamaschi G, Levi S, Corsi B, Travaglio E et al. Mitochondrial ferritin expression in erythroid cells from patients with sideroblastic anemia. *Blood* 2000; 101: 1996-2000.
- Cazzola M. Novel genes, proteins and inherited disorders of iron overload: iron metabolism is less boring than thought. *Haematologica* 2002; 87: 115-6.
- Chapman RW. Iron overload of the liver. En: McGee J, Isaacson P, Wright N. *Oxford Textbook of Pathology*. New York: Oxford University Press 1992: 1369-72.
- Chelchowska M, Laskowska-Klita T. Effect of

maternal smoking on some markers of iron status in umbilical cord blood. *Rocz Akad Med Bialymst* 2002; 47: 235-40.

Chua AC, Drake SF, Herbison CE, Olynyk JK, Leedman PJ, Trinder D. Limited iron export by hepatocytes contributes to hepatic iron-loading in the Hfe knockout mouse. *J Hepatology* 2006; 44: 176-82.

Conrad ME, Umbreit JN, Peterson RD, Moore EG, Harper KP. Function of integrin in duodenal mucosal uptake of iron. *Blood* 1993; 81: 517-21.

Conrad ME, Umbreit JN, Moore EG, Uzel C, Berry MR. Alternate iron transport pathway. *J Biol Chem* 1994; 269: 7169-73

Conrad ME, Umbreit JN. Iron absorption and transport-an update. *Am J Hematol.* 2000; 64: 287-98.

Conrad ME, Umbreit JN. Pathways of iron absorption. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29: 336-55.

Cook J. Adaptation in iron metabolism. *Am J Clin Nutr* 1990; 51: 301-8.

Cook JD, Carriaga M, Kahn SG, Schack W, Skikne BS. Gastric delivery system for iron supplementation. *Lancet* 1991; 335: 1136-9.

Cook JD, Skikne BS, Baynes RD. Serum transferrin receptor. *Annu Rev Med* 1993; 44: 63-74.

Cook JD, Reddy MB, Hurrell RF. The effect of red and white wines on nonheme-iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 800-4.

Coplin M, Schuette S, Leichtmann G, Lasher B. tolerability of iron: A comparison of bis-glycino iron (II) and ferrous sulphate. *Clin*

Ther 1991; 13: 606-12.

Corsi B, Levi S, Cozzi A, Corti A, Altimare D, Albertini A et al. Overexpression of the hereditary hemochromatosis protein, HFE, in HeLa cells induces an iron-deficient phenotype. *FEBS Lett* 1999; 460: 149-52.

Crichton RR, Wilmet S, Legssyer R, Ward RJ. Molecular and cellular mechanism of iron homeostasis and toxicity in mammalian cells. *J Inorg Biochem* 2002; 91: 9-18.

Dallalio G, Fleury T, Jeans RT. Serum hepcidin in clinical specimens. *Br J Haematol* 2003; 122: 996-1000.

Dallman P, Simes M. Iron deficiency in infancy and childhood. Report of the International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG). Library of Congress, 1985.

Dallman P, Yip R, Oski FA. Iron deficiency and related nutritional anemias. In: Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders; 1993. p. 413-50.

Dandona P, Hussain MAM, Varghese Z, Politis D, Flynn DM, Hoffbrand AV. Insulin resistance and iron overload. *Ann Clin Biochem* 1983; 20: 77-9.

Daraio F, Ryan E, Gleeson F, Roetto E, Crowe J, Camaschella C. Juvenil hemochromatosis due to G320V/Q116V compound heterozygosity of hemojuvelin in an Irish patient. *Cells Mol Dis* 2005; 35: 174-6.

Davidsson L, Galan P, Kastenmaver P, Cherouvrier F, Juillerat MA, Herberg S et al. Iron bioavailability studied in infants: the influence of phytic acid and ascorbic acid in infant formulas based on soy isolate. *Pediatr Res* 1994; 36: 816-22.

Davidsson L, Dimitriou T, Walczyk T, Hurrell RF. Iron absorption from experimental infant formulas based on pea (*Pisum sativum*)-protein isolate: the effect of phytic acid and ascorbic acid. *Br J Nutr* 2001; 85: 59-63.

Davies PS, Enns CA. Expression of the hereditary hemochromatosis protein HFE increases ferritin levels by inhibiting iron export in HT29 cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 25085-92.

Day SM, Duquaine D, Mundada LV, Menon RG, Khan BV, Rajagopalan S et al. Chronic iron administration increases vascular oxidative stress and accelerates arterial thrombosis. *Circulation* 2003; 107: 2601-6.

Dayani PN, Bishop MC, Black K, Zeltzer PM. Desferoxamine(DFO) mediated iron chelation: rationale for a novel approach to therapy for brain cancer. *J Neurooncol* 2004; 67: 367-77.

Debon SJJ, Tester RF. In vitro binding of calcium, iron and zinc by non-starch polysaccharides. *Food Chem* 2001; 73: 401-10.

De Gobbi M, Roetto A, Piperno A, Mariani R, Alberti F, Papanikolaou G et al. The natural history of juvenile haemochromatosis. *Br J Haematol* 2002; 117: 9973-9.

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.

Dekker MC, Giesbergen PC, Njajou OT, van Swieten JC, Hofman A, Breteler MM et al. Mutations in the hemochromatosis gene (HFE), Parkinson's disease and parkinsonism. *Neurosci Lett* 2003; 348: 117-9.

Delatycki MB, Allen KJ, Nisselle AE, Collins V, Metcalfe S, du Sart D et al. Use of community genetic screening to prevent HFE-associated hereditary haemochromatosis. *Lancet* 2005; 366: 314-6.

De Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation* 1999; 99: 779-85.

Departamento de Nutrición de la Universidad Complutense. Ingestas recomendadas para la población española. Madrid: Universidad complutense. Departamento de Nutrición; 1994.

Deugnier Y, Turlin B. Iron and hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 491-4.

Deugnier Y, Jouanolle AM, Chaperon J, Moirand R, Pithois C, Meyer JF et al. Gender-specific phenotypic expression and screening strategies in C282Y-linked haemochromatosis: a study of 9396 French people. *Br J Haematol* 2002; 118: 1170-8.

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.

De Valk B, Marx JJ. Iron, Atherosclerosis, and Ischemic Heart Disease. *Arch Intern Med* 1999; 159: 1542-8.

Distante S, Berg JP, Lande K, Haug E, Bell H. High prevalence of the hemochromatosis-associated Cys282Tyr HFE gene mutation in a healthy Norwegian population in the city of Oslo and its

phenotypic expression. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 529-34.

Distante S. Genetic predisposition to iron overload: prevalence and phenotypic expression of hemochromatosis-associated HFE-C282Y gene mutation. *Scand J Clin Lab Invest* 2006; 66: 83-100.

Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; 403: 776-81.

Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Zon LI, y cols. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab* 2005; 1: 191-200.

Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res* 2004; 43: 200-27.

Drakesmith H, Sweetland E, Schimanski L, Edwards J, Cowley D, Ashraf M et al. The hemochromatosis protein HFE inhibits iron export from macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 15602-7.

Duane P, Raja KB, Simpson RJ, Peters TJ. Intestinal iron absorption in chronic alcoholics. *Alcohol Alcohol* 1992; 27: 539-44.

Dupic F, Fruchon S, Bensaid M, Borot N, Radosavljevic M, Loreal O et al. Inactivation of the hemochromatosis gene differentially regulates duodenal expression of iron-related mRNAs between mouse strains. *Gastroenterology* 2002; 122: 745-51.

Eason RJ, Adams PC, Aston CE, Searle J. Familiar iron overload with possible autosomal dominant inheritance. *Aust NZ J Med* 1990; 20: 226-30.

Edwards CQ, Griffen LM, Goldgar D, Drummond C, Skolnick MH, Kushner JP. Prevalence of hemochromatosis among 11,065 presumably healthy blood donors. *N Engl J Med* 1988; 318: 1355-62.

Ehara S, Ueda M, Naruko T, Haze K, Itoh A, Otsuka M et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation* 2001; 103: 1955-60.

Ehrlich R, Lemonnier FA. HFE: a novel nonclassic class I molecule that is involved in iron metabolism. *Immunity* 2000; 13: 585-8.

El-Zayadi AR, Selim O, Hamdy H, El-Tawil A, Moustafa H. Heavy cigarette smoking induces hypoxic polycythemia (erythrocytosis) and hyperuricemia in chronic hepatitis C patients with reversal of clinical symptoms and laboratory parameters with therapeutic phlebotomy. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1264-5.

El-Zayadi AR. Heavy smoking and liver. *World J Gastroenterol* 2006; 12:6098-101.

Ellervik C, Mandrup-Poulsen T, Nordestgaard BG, Larsen LE, Appleyard M, Frandsen M et al. Prevalence of hereditary hemochromatosis in late-onset type 1 diabetes mellitus: a retrospective study. *Lancet* 2001; 358: 1405-9.

Engelmann MD, Davidsson L, Sandstrom B, Walczyk T, Hurrell RF, Michaelsen KF. The influence of meat on nonheme iron absorption in infants. *Pediatr Res* 1998; 43: 768-73.

Engle JP, Polin KS, Stile IL. Acute iron intoxication: treatment controversies. *Drug Intell Clin Pharm* 1987; 21: 153-9.

Bibliografía

- Ernst FD, Homuth G, Stoof J, Mader U, Waidner B, Kuipers EJ et al. Iron-responsive regulation of the *Helicobacter pylori* iron-cofactored superoxide dismutase SodB is mediated by Fur. *J Bacteriol* 2005; 187: 3687-92.
- Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 1989; 6: 67-75.
- Evans RM, Emsley CL, Gao S, Sahota A, Hall KS, Farlow MR et al. Serum cholesterol, APOE genotype, and the risk of Alzheimer's disease: a population-based study of African Americans. *Neurology* 2000; 54: 240-2.
- Fábrega 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 Cantabria y en los pacientes diagnosticados de hemocromatosis hereditaria. *Med Clin (Barc)* 1999; 112: 451-3.
- Farinati F, Cardin R, De Maria N, Della Libera G, Marafin C, Lescis E et al. Iron storage, lipid peroxidation and glutathione turnover in chronic anti-HCV positive hepatitis. *J Hepatol* 1995; 22: 449-56.
- Favier A, Ireland-Ripert, Toque C, Feinberg M. Répertoire general des aliments. Table de composition. Paris : TEC & DOC. Lavoisier-INRA 1997.
- 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: 399-408.
- Feder JN, Tsuchihashi Z, Irrinki A, Lee VK, Mapa FA, Morikang E et al. The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts beta-2-microglobulin interaction and cell surface expression. *J Biol Chem* 1997; 272: 14025-8.
- Feder JN, Penny DM, Irrinki A, Lee VK, Lebron JA, Watson N. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1472-7.
- Fernández-Real JM, Vendrell J, Baiget M, Gimferrer E, Ricart W. C282Y and H63D mutations of the hemochromatosis candidate gene in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999; 22: 525-6.
- Ferreira C, Bucchini D, Martin ME, Levi S, Arosio P, Grandchamp B et al. Early embryonic lethality of H ferritin gene deletion in mice. *J Biol Chem* 2000; 275: 3021-3.
- Fidler MC, Davidsson L, Zeder C, Walczyk T, Hurrell RF. Iron absorption from ferrous fumarate in adult women is influenced by ascorbic acid but not by Na₂EDTA. *Br J Nutr* 2003; 90: 1081-5.
- Finch CA, Huebers H, Eng M, Miller L. Effect of transfused reticulocytes on iron exchange. *Blood* 1982; 59: 364-9.
- Finch CA, Huebers HA, Cazzila M, Bergamaschi G, Belloti V. Storage iron. In: Albertini A, Arosio P, Chiancone E, Drysdale J, eds. Ferritins and isoferritins as biochemical markers. Amsterdam: Elsevier; 1984. p. 3-21.
- Finch CA, Belloti V, Stray S. Plasma ferritin determination as a diagnostic tool. *West J Med* 1986; 145: 657-63.
- Finch CA. Regulators of iron balance in human. *Blood* 1994; 84: 1697-700.

Fitó M, Guxens M, Corella D, Sáez G, Estruch R, de la Torre R et al. for the PREDIMED Study Investigators. Effect of a traditional Mediterranean diet on lipoprotein oxidation: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2007; 167: 1195-203.

Flanagan JM, Peng H, Beutler E. Effects of alcohol consumption on iron metabolism in mice with hemochromatosis mutations. *Alcohol Clin Exp Res* 2007; 31: 138-43.

Fleming MD, Trenor CC 3rd, Su MA, Foernzler D, Beier DR, Dietrich WF et al. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet* 1997; 16: 383-6.

Fleming MD, Romano MA, Su MA, Garrick LM, Garrick MD, Andrews NC. Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1147-53.

Fleming RE, Migas MC, Holden CC, Waheed A, Britton RS, Tomatsu S et al. Transferrin receptor 2: continued expression in mouse liver in the face of iron overload and in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 2214-9.

Fleming DJ, Jacques PF, Tucker KL, Massaro JM, D'Agostino RB Sr, Wilson PW et al. Iron status of the free-living, elderly Framingham Heart Study cohort: an iron-replete population with a high prevalence of elevated iron stores. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 638-46.

Fleming DJ, Tucker KL, Jacques PF, Dallal GE, Wilson PW, Wood RJ. Dietary factors associated with the risk of high iron stores in the elderly Framingham Heart Study Cohort. *Am J Clin Nutr* 2002; 76: 1375-84.

Fleming RE, Bacon BR. Orchestration of iron

homeostasis. *N Engl J Med* 2005; 352: 1741-4.

Fleming RE, Britton RS. Iron Imports. VI. HFE and regulation of intestinal iron absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G590-4.

Fletcher LM, Powell LW. Hemochromatosis and alcoholic liver disease. *Alcohol* 2003; 30: 131-6.

Fly AD, Czarnecki-Maulden GL. Iron bioavailability from hemoglobin and hemin in chick, rat, cat, and dog: a comparative study. *Nutr Res* 2000; 20: 237-248.

Flynn DM, Mohan N, Mckiernan P, Beath S, Buckels J, Mayer D et al. Progress in treatment and outcome for children with neonatal haemochromatosis. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88: F124-7.

Ford ES, Cogswell ME. Diabetes and serum ferritin concentration among US adults. *Diabetes Care* 1999; 22: 1978-83.

Forellat M, Gautier du Défaix H, Fernández N. Metabolismo del hierro. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2000; 16: 149-60.

Fox CJ, Cullen DJ, Knuiman MW, Cumpston GN, Divitini ML, Rossi E et al. Effects of body iron stores and hemochromatosis genotypes on coronary heart disease outcomes in the Busselton health study. *J Cardiovasc Risk* 2002; 9: 287-93.

Frazer DM, Vulpe CD, McKie AT, Wilkins SJ, Trinder D, Cleghorn GJ et al. Cloning and gastrointestinal expression of rat hephaestin: relationship to other iron transport proteins. *Am J Physiol* 2001; 281: G931-9.

Frazer DM, Anderson GJ. The orchestration

Bibliografía

of body iron intake: how and where do enterocytes receive their cues?. *Blood Cell Molec Dis* 2003; 30: 288-97.

Frazer DM, Anderson GJ. Iron imports. I. Intestinal absorption and its regulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G631-5.

Gackowski D, Kruszewski M, Jawien A, Ciecierski M, Olinski R. Further evidence that oxidative stress may be a risk factor responsible for the development of atherosclerosis. *Free Radic Biol Med* 2001; 31: 542-7.

Galán P, Cherouvrier F, Fernández-Ballart J, Martí-Henneberg C, Hercberg S. Bioavailable iron density in French and Spanish meals. *Eur J Clin Nutr* 1990; 44: 157-63.

Galleano M, Puntarulo S. Role of antioxidants on the erythrocytes resistance to lipid peroxidation after acute iron overload in rats. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1271: 321-6.

Galleano M, Puntarulo S. Dietary alpha-tocopherol supplementation on antioxidant defenses after in vivo iron overload in rats. *Toxicology* 1997; 124: 73-81.

Ganz T. Hpcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102: 783-8.

Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Hpcidin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G199-203.

García E, Aranda N, Fernández-Ballart J, Arija V. Effect of pre-conception iron status and iron supplementation during pregnancy: Biochemical levels and infant birth-weight. Sometido a revisión en *Br J Nutr*.

García-Casal M, Layrisse M, Solano L, Baron M, Arguello F, Llovera D et al. Vitamin A and beta-carotene can improve nonheme iron absorption from rice. Wheat and corn by humans. *J Nutr* 1998; 128: 646-50.

García-Casal M, Leets I, Layrisse M. β -carotene and inhibitors of iron absorption modify iron uptake by Caco-2 cells. *J Nutr* 2000; 130: 5-9.

Garry PJ, Hunt WC, Baumgartner RN. Effects of iron intake on iron stores in elderly men and women: longitudinal and cross-sectional results. *J Am Coll Nutr* 2000; 19: 262-9.

Gehrke SG, Kulaksez H, Hemann T, Riedel HD, Bents K, Veltkamp C 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: 6371-6.

Generalitat de Catalunya. Avaluació de l'estat nutricional de la població Catalana 2002-2003. ENCAT. <http://www.gencat.net/salut/depsan/units/sanit/pdf/encat2003semi.pdf>. (Fecha de acceso Mayo 2007)

Gheldof N, Wang XH, Engeseth NJ. Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 1500-5.

Gimferrer E, Ubeda J, Royo MT. El Receptor de la transferrina. *Bioferrum* 1996; 1: 49-50.

Gitlin JD. Aceruloplasminemia. *Pediatr Res* 1998; 44: 271-6.

Glahn RP, Woetley GM, South PK, Miller DD. Inhibition of iron uptake by phytic acid, tannic acid, and ZnCl₂: studies using an in

vitro digestion/Caco-2 cell model. *J Agric Food Chem* 2002; 50: 390-5.

Gleerup A, Rossander-Hulthen L, Gramatkovski E, Hallberg L. Iron absorption from the whole diet: comparison of the effect of two different distributions of daily calcium intake. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 97-104.

Gomez F, Simo JM, Camps J, Cliville X, Bertran N, Ferre N et al. Evaluation of a particle-enhance turbidimetric immunoassay for the measurement of ferritin: application to patients participating in an autologous blood transfusion program. *Clin Biochem* 2000; 33: 191-6.

Goossens JP. Idiopathic haemochromatosis: Juvenile and familiar type -Endocrine aspects. *Neth J Med* 1975; 18: 161-9.

Gordeuk VR, Mukiibi J, Hasstedt SJ. Iron overload in Africa. Interaction between gene and dietary iron control. *N Engl J Med* 1992; 326: 95-100.

Gordeuk VR, Caleffi A, Corradini E, Ferrara F, Jones RA, Castro O et al. Iron overload in Africans and African-Americans and a common mutation in the SCL40A1 (ferroportin 1) gene. *Blood Cells Mol Dis* 2003; 31: 299-304.

Gorgojo L, Martín-Moreno JM. Cuestionario de frecuencia de consumo alimentario. En: Serra-Majem LI, Aranceta J eds. *Nutrición y Salud Pública: Métodos, Bases científicas y aplicaciones* 2ª ed. Barcelona: Masson; 2006. p.178-183.

Goswami T, Andrews NC. Hereditary Hemochromatosis Protein, HFE, Interaction with Transferrin Receptor 2 Suggests a Molecular Mechanism for Mammalian Iron Sensing. *J Biol Chem* 2006; 281: 28494-8.

Gottschalk R, Seidl C, Loffler T, Seifried E, Hoelzer D, Kaltwasser JP. HFE codon 63/282 (H63D/C282Y)dimorphism in German patients with genetic hemochromatosis. *Tissue Antigens* 1998; 51: 270-5.

Goya N, Miyazaki S, Kodate S, Ushio B. A family of congenital atransferrinemia. *Blood* 1972; 40: 239-45.

Green P, Evitan JM, Sivota P, Avidor I. Secondary Hemochromatosis due to prolonged iron ingestion. *Isr J Med Sci* 1989; 25: 199-201.

Greenwood DC, Cade JE, Moreton JA, O'Hara B, Burley VJ, Randerson-Moor JA et al. HFE genotype modifies the influence of heme iron intake on iron status. *Epidemiology* 2005; 16: 802-5.

Gross CN, Irrinki A, Feder JN, Enns CA. Co-trafficking of HFE, a nonclassical major histocompatibility complex class I protein, with the transferrin receptor implies a role in intracellular iron regulation. *J Biol Chem* 1998; 273: 22068-74.

Gruenheid S, Canonne-Hergaux F, Gauthier S, Hackam DJ, Grinstein S, Gros P. The iron transport protein NRAMP2 is an integrated membrane glycoprotein that localizes with transferrin in recycling endosomes. *J Exp Med* 1999; 189: 831-41.

Grupo MBE galicia integrado en la Red Temática de investigación sobre medicina basada en la evidencia. *Hemochromatosis. Guías clínicas* 2005; 5: 1-3. www.fisterra.com/mbe_temas/revClínica/grupoMBEgalicia.htm. (Fecha de acceso Mayo 2007)

Guix P, Picornell A, Parera M, Tomas C, Muncunill J, Castro JA et al. Prevalence of the C282Y mutation for haemochromatosis

Bibliografía

- on the Island of Majorca. *Clin Genet* 2000; 58: 123-8.
- 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.
- Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; 388: 482-8.
- Gutteridge JM, Halliwell B. Iron toxicity and oxygen radicals. *Baillieres Clin Haematol* 1989; 2: 195-256.
- Guyader D, Jacqueline C, Moirand R y cols. Non invasive prediction of fibrosis in C282Y homozygous hemochromatosis. *Gastroenterology* 1998; 115: 929-36.
- Halsall DJ, McFarlane I, Luan J, Cox TM, Wareham NJ. Typical type 2 diabetes mellitus and HFE gene mutations: a population-based case-control study. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 1361-5.
- Hallberg L, Brune M, Erlandsson M, Sandberg AS, Rossander-Hulten L. Calcium: effect of different amounts on nonheme- and heme-iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53: 112-9.
- Hallberg L, Rossander-Hulten L, Brune M, Gleerup A. Inhibition of haem-iron absorption in man by calcium. *Br J Nutr* 1992; 69: 533-540.
- Hallberg L, Hulten L, Gramatkovski E, Hallberg L. Iron absorption from the whole diet in men: how effective is the regulation of iron absorption? *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 347-56.
- Hallberg L. Does calcium interfere with iron absorption?. *Am J Clin Nutr* 1998; 68: 3-4.
- Hallberg L. Perspectives on nutritional iron deficiency. *Annu Rev Nutr* 2001; 21: 1-21.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Meth Enzymol* 1990; 186: 1-85.
- Han O, Fleet JC, Wood RJ. Reciprocal regulation of HFE and Nramp2 gene expression by iron in human intestinal cells. *J Nutr* 1999; 129: 98-104.
- Hanson EH, Imperatore G, Burke W. HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review. *Human Genome Epidemiology. Am J Epidemiol* 2001; 154: 193-206.
- Harris ZL, Durley AP, Man TK, Gitlin JD. Targeted gene disruption reveals an essential role for ceruloplasmin in cellular iron efflux. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 10812-7.
- Harrison PM, Arosio P. The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. *Biochim Biophys Acta* 1996; 1275: 161-203.
- Haupt H, Baudner S. Chemie und Klinische bedeutung der human. *Plasma Proteine. Behring Institut Mitteilungen* 1990; 86:1-66.
- Hayashi A, Wada Y, Suzuki T, Shimizu A. Studies on familial hypotransferrinaemia: unique clinical course and molecular pathology. *Am J Hum Genet* 1993; 53: 201-13.
- Heath AL, Fairweather-Tait SJ. Health implications of iron overload: the role of diet and genotype. *Nutr Rev* 2003; 61: 45-

62.

Hentze MW. Iron regulatory factor - the conductor of cellular iron regulation. 27th Annual Course. Advan Haematol 1993; 36-48.

Hentze MW, Kühn LC. Molecular control of vertebrate iron metabolism: mRNA-based regulatory circuits operated by iron, ntric oxide, and oxidative estress. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93: 8175-82.

Herbert V, Jayatilleke E, Shaw S, Rosman A, Giardina P, Grady R et al. Serum ferritin iron, a new test, measures human body iron stores uncunfounded by inflammation. Stem Cells 1997; 15: 291-6.

Hercberg S, Estaquio C, Czernichow S, Mennen L, Noisette N, Bertrais S et al. Iron status and risk of cancers in the SU.VI.MAX cohort. J Nutr 2005; 135: 2664-8.

Hernández C, Genesca J, Ignasi JE, García L, Simó R. Relación entre reserva de hierro y diabetes mellitas en pacientes con infección por virus de la Hepatitis C: un estudio de casos y controles. Med Clin (Barc) 2000; 115: 21-2.

Holmströn P, Marmur J, Eggertsen G, Gafvels M, Stal P. Mild iron overload in patients carrying the HFE S65C gene mutation: a retrospective study in patients with suspected iron overload and healthy controls. Gut 2002; 51: 723-30.

Huang X. Iron overload and its association with cancer risk in humans: evidence for iron as a carcinogenic metal. Mutat Res 2003; 533: 153-71.

Huang FW, Pinkus JL, Pinkus GS, Fleming MD, Andrews NC. A mouse model of juvenmle hemochromatosis. J Clin Invest 2005; 115: 2187-91.

Huebers HA, Finch CA. The physiology of transferrin and transferrin receptors. Physiol Rev 1987; 67: 520-82.

Hulten L, Gramatkovski E, Glerup A, Hallberg L. Iron absorption from the whole diet. Relation to meal composition, iron requirements and iron stores. Eur J Clin Nutr 1995; 49: 794-808.

Hunt JR, Zeng H. See corresponding editorial on page 799. Iron absorption by heterozygous carriers of the HFE C282Y mutation associated with hemochromatosis. Am J Clin Nutr 2004; 80: 924-31.

Hurrell R, Jullerat M, Reddy M, Lynch S, Dassenko S, Cook J. Soy protein, phytate, and iron absorption in humans. Am J Clin Nutr 1992; 56: 573-8.

Husain K, Scott BR, Reddy SK, Somani SM. Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. Alcohol 2001; 25: 89-97.

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Borom, chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium and Zinc. Washington: National Academy Press; 2001.

Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes for water, potassium, sodpium, chloride and sulphate. Washington: National Academy Press; 2005.

Isaacson C, Seftel HC, Keeley KJ, Bothwell TH. Siderosis in the Bantu: the relationship between iron overload and cirrosis. J Lab Clin Med 1961; 58: 845-53.

Iuliano L, Micheletta F, Violi F. Low-density lipoprotein oxidation. Ital Heart J 2001; 2: 867-72.

Bibliografía

- Iwai K, Klausner RD, Rouault TA. Requirements for iron-regulated degradation of the RNA binding protein, iron regulatory protein 2. *EMBO J* 1995; 14: 5350-7.
- Jacobs A. ferritin: An interim review. *Curr top hematol* 1985; 15: 25-62.
- Jackson L, Lee K. The effect of dairy products on iron bioavailability. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 31: 259-70.
- Jackson HA, Carter K, Darke C, Guttridge MG, Ravine D, Hutton RD et al. HFE mutations, iron deficiency and overload in 10500 blood donors. *British journal of haematology* 2001; 114: 474-84.
- Jacob K, Periago MJ, Böhm V, Berruezo GR. Influence of lycopene and vitamin C from tomato juice on biomarkers of oxidative stress and inflammation. *Br J Nutr.* 2007; 1-10.
- Jehn M, Clark JM, Guallar E. Serum ferritin and risk of the metabolic syndrome in U.S. adults. *Diabetes Care* 2004; 27: 2422-8.
- Jehn ML, Guallar E, Clark JM, Couper D, Duncan BB, Ballantyne CM et al. A Prospective Study of Plasma Ferritin Level and Incident Diabetes. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol* 2007; 165: 1047-54.
- Jellinger KA. The role of iron in neurodegeneration: prospects for pharmacotherapy of Parkinson's disease. *Drugs Aging* 1999; 14: 115-40.
- Jezequel P, Bargain M, Lellouche F, Geffroy F, Dorval I. Allele frequencies of hereditary hemochromatosis gene mutations in a local population of west brittany. *Hum genet* 1998; 102: 332-3.
- Jiang R, Manson JE, Meigs JB, Ma J, Rifai N, Hu FB. Body iron stores in relation to risk of type 2 diabetes in apparently healthy women. *JAMA* 2004; 291: 711-17.
- Johnson MB, Enns CA. Regulation of transferrin receptor 2 by transferrin: Diferric transferrin regulates transferrin receptor 2 protein stability. *Blood* 2004; 104: 4287-93.
- Jordan I, Kaplan J. The mammalian transferrin-independent iron transport system may involve a surface ferrireductase activity. *Biochem J* 1994; 302: 875-9.
- Jouanolle AM, Fergelot P, Gandon G, Yaouanq J, Le Gall JY, David V. A candidate gene for hemochromatosis: frequency of the C282Y and H63D mutations. *Hum Genet* 1997; 100: 544-7.
- Jouanolle AM, Fergelot P, Raoul ML, Gandon G, Roussey M, Deugnier Y et al. Prevalence of the C282Y mutation in brittany: penetrance of genetic hemochromatosis? *Ann Genet* 1998; 41: 195-8.
- Jouanolle AM, Douabin-Gicquel V, Halimi C, Loréal O, Fergelot P, Delacour T et al. Novel mutation in ferroportin 1 gene is associated with autosomal dominant iron overload. *J Hepatol* 2003; 39: 286-9.
- Juckett MB, Balla J, Balla G, Jessurum J, Jacob HS, Vercellotti GM. Ferritin protects endothelial cells from oxidized low density lipoprotein in vitro. *Am J Pathol* 1995; 147: 782-9.
- Kallianpur AR, Hall LD, Yadav M, Christman BW, Dittus RS, Haines JL et al. Increased prevalence of the HFE C282Y hemochromatosis allele in women with breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 205-12.
- Kalpalathika PV, Clark EM, Mahoney AW.

Heme iron content in selected ready-to-serve beef products. *J Agric Food Chem* 1991; 39: 1091-3.

Kaltwasser JP. Juvenile hemochromatosis. In: Barton JC, Edwards CQ, eds. *Hemochromatosis: genetics, pathophysiology, diagnosis, and treatment*. Cambridge: Cambridge University Press; 2000. p.318-28.

Kane A, Millar D. In vitro estimation of the effects of selected proteins on iron bioavailability. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 393-401.

Kaplan J, Jordan I, Sturrock A. Regulation of the transferrin-independent iron transport system in cultured cells. *J Biol Chem* 1991; 266: 2997-3004.

Kaptain S, Downey WE, Tang C, Philpott C, Haile D, Orloff DG et al. A regulated RNA binding protein also possesses aconitase activity. *Proc Natl Acad Sci* 1991; 88: 10109-13.

Kato J, Fujikawa K, Kanda M, Fukuda N, Sasaki K, Takayama T et al. A mutation, in the iron-responsive element of H ferritin mRNA, causing autosomal dominant iron overload. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 191-7.

Kawabata H, Yang R, Hiramata T, Vuong PT, Kawano S, Gombart AF et al. Molecular cloning of transferrin receptor 2. *J Biol Chem* 1999; 274: 20826-32.

Kawabata H, Germains RS, Vuong PT, Nakamaki T, Said JW, Koeffler HP. Transferrin receptor 2- α supports cell growth both in iron-chelated cultured cells and in vivo. *J Biol Chem* 2000; 275: 16618-25.

Kawabata H, Germain RS, Ikezoe T, Tong X,

Green EM, Gombart AF et al. Regulation of expression of murine transferrin receptor 2. *Blood* 2001; 98: 1949-54.

Kawabata H, Tong X, Kawanami T, Wano Y, Hirose Y, Sugai S et al. Analices for binding of the transferrin family of proteins to the transferrin receptor 2. *Br J Haematol* 2004; 127: 464-73.

Kelly AI, Lunt PW, Rodriguez F, Berry PJ, Flynn DM, McKiernan PJ et al. Classification and genetic features of neonatal haemochromatosis: a study of 27 affected pedigrees and molecular analysis of genes implicated in iron metabolism. *J Med Genet* 2001; 38: 599-610.

Kildahl-Andersen O, Dahl IM, Thorstensen K, Sagen E. Iron deficiency anemia in a patient with excessive urinary iron loss *Eur J Haematol* 2000; 64: 204-5.

Kiechl S, Willeit J, Egger G, Poewe W, Oberhollenzer F. Body iron stores and the risk of carotid atherosclerosis: prospective results from the Bruneck study. *Circulation* 1997; 96: 3300-7.

Kim M, Lee DT, Lee YS. Iron absorption and intestinal solubility in rats are influenced by dietary proteins. *Nutr Res* 1995; 15: 1705-16.

Klausner RD, Rouault TA, Harford JB. Regulating the fate of mRNA: the control of cellular iron metabolism. *Cell* 1993; 72: 19-28.

Klipstein-Grobusch K, Koster JF, Grobbee DE, Lindemans J, Boeing H, Hofman A et al. Serum ferritin and a risk of myocardial infarction in the elderly: the Rotterdam study. *Am J Clin Nutr* 1999; 69: 1231-6.

Klomp LWJ, Farhangrazi ZS, Dugan LL, Gitlin JD. Ceruloplasmin gene expression in

Bibliografía

the murine central nervous system. *J Clin Invest* 1996; 98: 207-15.

Knoops KT, De Groot LC, Kromhout D, Perrin AE, Moreiras-Varela O, Menotti A et al. Mediterranean diet, lifestyle factors, and 10-year mortality in elderly European men and women: the HALE project. *JAMA* 2004; 292: 1433-9.

Knutson MD, Vafa MR, Haile DJ, Wessling-Resnick M. Iron loading and erythrophagocytosis increase ferroportin I (FPNI) expression in J774 macrophages. *Blood* 2003; 102: 4191-7.

Koppel H, Krippel P, Gasser R, Wascher TC, Paulweber B, Pilger E et al. Hemochromatosis gene (HFE) polymorphisms are not associated with peripheral arterial disease. *Thromb Haemost* 2004; 9: 1258-9.

Kowdley KV. Alcohol intake and iron overload: Another role for hepcidin?. *Hepatology* 2007; 45: 541-3.

Kraml PJ, Klein RL, Huang Y, Nareika A, Lopes-Virella MF. Iron loading increases cholesterol accumulation and macrophage scavenger receptor I expression in THP-1 mononuclear phagocytes. *Metabolism*. 2005; 54: 453-9.

Krause A, Neitz S, Mägert HJ, Schultz A, Forssman WG, Adermann K. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Letters* 2000; 480: 147-50.

Krishnamurthy P, Ross DD, Nakanishi T, Bailey-Dell K, Zhou S, Mercer KE et al. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme. *J Biol Chem* 2004; 279: 24218-25.

Kwan T, Leber B, Ahuja S, Carter R, Gerstein H. Patients with type 2 diabetes have a high frequency of the C282Y mutation of the hemochromatosis gene. *Clin Invest Med* 1998; 21: 251-7.

Ladero JM, Balas A, García-Sánchez F, Vicario JL, Díaz-Rubio M. Hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome. Study of a new family in Spain. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 507-11.

Lamon JM, Marynick SP, Roseblatt R, Donnelly S. Idiopathic hemochromatosis in a young female. A case study and review of the syndrome in young people. *Gastroenterology* 1979; 76: 178-83.

Laskowska-Klita T, Szyborski J, Szymczak E, Czerwińska B, Chazan B. Evaluation of iron status in women with pregnancy complicated by tobacco smoking. *Med Wieku Rozwoj* 2000; 4: 119-29.

Laurer LJ, White LR, Petrovitch H, Ross GW, Curb JD. Cholesterol and neuropathologic markers of AD: a population-based autopsy study. *Neurology* 2001; 57: 1447-52.

Layrisse M, Martínez-Torres C. Food iron absorption: iron supplementation of food. *Prog Haematol* 1971; 7: 137-60.

Layrisse M, Martínez-Torres C, Leets I, Taylor P, Ramirez J. Effects of histidine, cysteine, glutathione or beef on iron absorption in humans. *J Nutr* 1984; 114: 217-23.

Layrisse M, Chavez JF, Méndez-Castellano H, Bosch V, Tropper E, Bastardo B et al. Early response to the impact of iron fortification in the Venezuelan population. *Am J Clin Nutr* 1996; 64: 903-7.

Lebron JA, Bennet MJ, Vaughan DE, Chirino AJ, Show PM, Mintier GA et al. Crystal structure of the hemochromatosis protein

HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 1998; 93: 111-23.

Lebron JA, West AJ, Bjorkman PJ. The hemochromatosis protein HFE competes with transferrin for binding to the transferrin receptor. *J Mol Biol* 1999; 294: 239-45.

Lee DH, Anderson KE, Folsom AR, Jacobs DR. Heme iron, zinc and upper digestive tract cancer: the Iowa Women's Health Study. *Int J Cancer* 2005a; 117: 643-7.

Lee DH, Folsom AR, Jacobs DR. Iron, zinc, and alcohol consumption and mortality from cardiovascular diseases: the Iowa Women's Health Study. *Am J Clin Nutr* 2005b; 81: 787-91.

Lee DH, Jacobs DR. Interaction among heme iron, zinc, and supplemental vitamin C intake on the risk of lung cancer: Iowa Women's Health Study. *Nutr Cancer*. 2005c; 52: 130-7.

Lee DH, Liu DY, Jacobs DR, Shin HR, Song K, Lee IK et al. Common presence of non-transferrin-bound iron among patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 1090-5.

Lee GR, Herbert V. Nutritional factors in the production and function of erythrocytes. En: *Wintrobe's clinical Hematology*. 10 th ed. Baltimore: William and Wilkins; 1998: 228-66.

Lee MH, Means RT. Extremely elevated serum ferritin levels: associated diseases and clinical significance. *Am J Med* 1995; 98: 566-71.

Lee PL, Gelbart T, West C, Halloran C, Felitti V, Beutler E. A study of genes that may modulate the expression of hereditary

hemochromatosis: transferrin receptor-1, ferroportin, ceruloplasmin, ferritin light and heavy chains, iron regulatory proteins (IRP)-1 and -2, and hepcidin. *Blood Cells Mol Dis* 2001; 27: 518-29.

Le Gac G, Mons F, Jacolot S, Scotet V, Férec C, Frébourg T. Early onset hereditary hemochromatosis resulting from a novel TFR2 gene nonsense mutation (R105X) in two siblings of north French descent. *Br J Haematol* 2004; 125: 674-8.

Leggett BA, Brown NN, Bryant SJ, Duplock L, Powell LW, Halliday JW. Factors affecting the concentrations of ferritin in serum in a healthy Australian population. *Clin Chem* 1990; 36: 1350-5.

Leibold EA, Munro HN. Cytoplasmic protein binds in vitro to a highly conserved sequence in the 5' untranslated region of ferritin heavy- and light- subunit mRNAs. *Proc Natl Acad Sci* 1988; 85: 2171-5.

Leonarduzzi G, Scavazza A, Biasi F, Chiarpotto E, Camandola S, Vogel S et al. The lipid peroxidation end product 4-hydroxyl-2, 3-nonenal up regulates transforming growth factor beta1 expression in the macrophage lineage: a link between oxidative injury and fibrosclerosis. *FASEB J* 1997; 11: 851-7.

Levi S, Yewdall SJ, Harrison PM. Evidence of H- and L-chains have to cooperative roles in the iron uptake mechanisms of human ferritin. *Biochem J* 1992; 288: 591-6.

Levi S, Girelli D, Perrone F, Pasti M, Beaumont C, Corrocher R et al. Analysis of ferritins in lymphoblastoid cell lines and in the lens of subjects with hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome. *Blood* 1998; 91: 4180-7.

Levi S, Corsi B, Bosisio M, Invernizzi R, Volz

Bibliografía

- A, Sandford D. A human mitochondrial ferritin encoded by an intronless gene. *J Biol Chem* 2001; 276: 24437-40.
- Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA. A clinical evaluation of serum ferritin assay index of iron. *N Engl J Med* 1974; 290: 1213-6.
- Liu JM, Hankinson SE, Stampfer MJ, Rifai N, Willett WC, Ma J. Body iron stores and their determinants in healthy postmenopausal US women. *Am J Clin Nutr* 2003; 78: 1160-7.
- Loeffler DA, Connor JR, Juneau PL, Snyder BS., Kanaley L, DeMaggio AJ et al. Transferrin and Iron in Normal, Alzheimer's Disease, and Parkinson's Disease Brain Regions. *J Neurochem* 1995; 65: 710-24.
- Lombardi-Boccia G, Martínez-Domínguez B, Aguzzi A. Total heme and non-heme iron in raw and caged meats. *J Food Sci* 2002; 67: 1738-41.
- Lopez HW, Coudray C, Levrat-Verny MA, Feillet-Coudray C, Demigne C, Remesy C. Fructooligosaccharides enhance mineral apparent absorption and counteract the deleterious effects of phytic acid on mineral homeostasis in rats. *J Nutr Biochem* 2000; 11: 500-8.
- Lopez MA, Martos FC. Iron availability: An updated review. *Int J Food Sci Nutr*. 2004; 55: 597-606.
- Lucotte G, Dieterlen F. A European allele map of the C282Y mutation of hemochromatosis: Celtic versus Viking origin of the mutation?. *Blood Cells Mol Dis* 2003; 31: 262-7.
- Ludwiczek S, Theurl I, Artner-Dworzak E, Chorney M, Weiss G. duodenal HFE expression and hepcidin levels determine body iron homeostasis: modulating by genetic diversity and dietary iron availability. *J Mol Med* 2004; 82: 373-82.
- Lynch S, Dassenko S, Cook J, Jullerat M, Hurrell R. Inhibitory effect of a soybeanprotein-related moiety on iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 567-72.
- Lynch S. interaction with other nutrients. *Nutr Rev* 1997; 55: 102-10.
- Mainous AG III , Wells B, Carek PJ, Gill JM, Geesey ME. The Mortality Risk of Elevated Serum Transferrin Saturation and Consumption of dietary Iron. *Ann Fam Med* 2004; 2: 139-44.
- Mainous AG III , Gill JM, Everett CJ. Transferrin Saturation, Dietary intake, and Risk of cancer. *Ann Fam Med* 2005a; 3: 131-7.
- Mainous AG III, Eschenbach SL, Wells BJ, Everett CJ, Gill JM. Cholesterol, transferrin saturation, and the development of dementia and Alzheimer's disease: results from an 18-year population-based cohort. *Fam Med* 2005b; 37: 36-42.
- Mallol J, Giralt M, Nogués MR, Sureda FX, Romeu M, Mulero M. Concepto y valoración del estrés oxidativo. En: Salvador-Carulla, Cano Sánchez, Cabo-Soler. Longevidad. Tratado integral sobre salud en la segunda mitad de vida. Buenos Aires-Madrid: Médica Panamericana; 2004. p.86-95.
- Martinez-Torres C, Romano E, Layrisse M. Effect of cysteine on iron absorption in man. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 322-7.
- Mascitelli L, Pezzetta F. Lowering body iron stores in the prevention of type 2 diabetes. *Intern Med J* 2006; 36: 685-6.
- Mataix J. Tabla de composición de alimentos española. Servicio de Publicaciones de la

Universidad de Granada. 2nd ed. Granada; 1995.

Mataix J, Llopis J. Minerales. En: Mataix Verdú J. Nutrición y Alimentación Humana. Madrid: Ed Ergon; 2002. p.226-30.

Mattman A, Huntsman D, Lockitch G, Langlois S, Buskard N, Ralston D et al. Transferrin receptor 2 (TfR2) and HFE mutational análisis in non-C282Y iron overload: identification of a novel TfR2 mutation. *Blood* 2002; 100: 1075-7.

McCord JM. Iron, free radicals, and oxidative injury. *Semin Hematol* 1998; 35: 5-12.

McCullen MA, Crawford DH, Hickman PE. Screening for hemochromatosis. *Clin Chim Acta* 2002; 315: 169-86.

McCune CA, Al-Jader LN, May A, Hayes SL, Jackson HA, Worwood M. Hereditary Hemochromatosis: only 1% of adult HFE C282Y homozygotes in South Wales have a clinical diagnosis of iron overload. *Hum Genet* 2002; 111: 538-43.

McDonnell SM, Hover A, Gloe D, Ou CY, Cogswell ME, Grummer-Strawn L. Population-based screening for hemochromatosis using phenotypic and DNA testing among employees of health maintenance organizations in Springfield, Missouri. *Am J Med* 1999; 107: 30-7.

McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D et al. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000; 5: 299-309.

McLaren CE, McLachlan GJ, Halliday JW, Webb SI, Leggett BA, Jazwinska EC et al. Distribution of transferrin saturation in the

Australian population: relevante to the early diagnosis of haemochromatosis. *Gastroenterology* 1998; 114: 543-9.

McLaren CE, Li KT, Gordeuk VR, Hasselblad V, McLaren GD. Relationship between transferrin saturation and iron stores in the African American and US Caucasian populations: analysis of data from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *Blood* 2001; 98: 2345-51.

McNamara L, Mac Phail AP, Gordeuk VR, Hasstedt SJ, Rouault T. Is there a link between African iron overload and the described mutations of the hereditary haemochromatosis gene. *Br J Haematol* 1998; 102: 1176-8.

Merryweather-Clarke AT, Pointon JJ, Shearman JD, Robson KJ. Global prevalence of putative haemochromatosis mutations. *J Med Genet* 1997; 34: 275-8.

Merryweather-Clarke AT, Simonsen H, Shearman JD, Pointon JJ, Norgaard-Pedersen B, Robson KJ. A retrospective anonymous pilot study in screening newborns for HFE mutations in Scandinavian populations. *Hum Mutat* 1999; 13: 154-9.

Merryweather-Clarke AT, Pointon JJ, Jouanolle AM, Rochette J, Robson KJ. Geography of the C282Y and H63D mutations. *Genet Test* 2000; 4: 183-98.

Merryweather-Clarke AT, Cadet E, Bomford A, Capron D, Viprakasit V, Miller A et al. Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE results in different types of haemochromatosis. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 2241-7.

Milman N, Byg KE, Ovesen L, Kirchhoff M, Jurgensen KS. Iron status in Danish men 1984-1994; a cohort comparison of changes

in iron stores and the prevalence of iron deficiency and iron overload. *Eur J Haematol* 2002; 68: 332-40.

Milman N, Byg KE, Ovesen L, Kirchhoff M, Jurgensen KS. Iron status in Danish women 1984-1994; a cohort comparison of changes in iron stores and the prevalence of iron deficiency and iron overload. *Eur J Haematol* 2003a; 71: 51-61.

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. *Clin Genet* 2003b; 64: 36-47.

Milman N, Pedersen AN, Ovesen L, Schroll M. Iron status in 358 apparently healthy 80-year-old Danish men and women: relation to food composition and dietary and supplemental iron intake. *Ann Hematol* 2004; 83: 423-9.

Milman N, Steig T, Koefoed P, Pedersen P, Fenger K, Nielsen FC. Frequency of the hemochromatosis HFE mutations C282Y, H63D, and S65C in blood donors in the Faroe Islands. *Ann Hematol* 2005; 84: 146-9.

Moczulski DK, Grzeszczak W, Gawlik B. Role of hemochromatosis C282Y and H63D mutations in HFE gene in development of type 2 diabetes and diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2001; 24: 1187-91.

Moirand R, Lescoat G, Delamaire D, Lauvin L, Campion JP, Deugnier Y et al. Increase in glycosylated and nonglycosylated serum ferritin in chronic alcoholism and their evolution during alcohol withdrawal. *Alcohol Clin Exp Res* 1991; 15: 963-9.

Moirand R, Mortaja AM, Loreal O, Paillard F, Brissot P, Deugnier Y. A new syndrome of liver iron overload with normal transferrin

saturation. *Lancet* 1997; 349: 95-7.

Morrison HI, Semenciw RM, Mao Y, Wigle DT. Serum iron and risk of fatal acute myocardial infarction. *Epidemiology* 1994; 5: 243-6.

Mulvihill B, Morrisey P. Influence of the sulphydryl content of animal proteins on in vitro bioavailability of non-heme iron. *Food Chem* 1998; 61: 1-7.

Mura C, Raguene O, Férec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implications in mild form of hemochromatosis. *Blood* 1999; 93: 2502-5.

Mura C, Le Gac G, Jacolot S, Férec C. Transcriptional regulation of the human HFE gene indicates high liver expression and erythropoiesis coregulation. *FASEB J* 2004; 18: 1922-4.

Muro M, Moya-Quiles MR, Botella C, Alvarez-Lopez MR. Prevalence of C282Y, H63D and S65C mutations of the hemochromatosis (HFE) gene in a population from southeastern Spain (Murcia Region). *Clin Genet* 2007; 71: 97-8.

Murphy S, Curran MD, McDougall N, Callender ME, O'Brien CJ, Middleton D. High incidence of the Cys282Tyr mutation in the HFE gene in the Irish population-implications for haemochromatosis. *Tissue Antigens* 1998; 52: 484-8.

Murray KF, Kowdley KV. Neonatal hemochromatosis. *Pediatrics* 2001; 108: 960-4.

NCEP, National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III), 2002. Third Report of the National

Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106: 3143-3421.

Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hpcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003; 101: 2461-3.

Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM et al. Hpcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306: 2090-3.

Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, Ganz T, Camaschella C. Hpcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Boo* 2005; 105: 1803-6.

Nemeth E, Ganz T. Regulation of iron metabolism by hpcidin. *Annu Rev Nutr* 2006; 26: 323-42.

Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Brigard X, Devaux I et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hpcidin is regulated by anemia, hipoxia and inflammation. *J Clin Invest* 2002; 110: 1037-44.

Nicolas G, Viatte L, Lou DQ, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A et al. Constitutive hpcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; 34: 97-101.

Niederkofler V, Salie R, Arber S. Hemojuvelin is essential for dietary iron sensing, and its mutation leads to severe iron overload. *J Clin Invest* 2005; 115: 2180-6.

Niederau C, Berger M, Stremmel W, Starke

A, Strohmeyer G, Ebert R et al. Hyperinsulinemia in non-cirrhotic haemochromatosis: Impaired hepatic insulin degradation? *Diabetología* 1984; 26: 441-4.

O'Connell MJ, Halliwell B, Mooreouse CP y cols. Formation of hydroxyl radicals in the presence of ferritin and haemosiderin. Is haemosiderin formation a biological protection mechanism?. *Biochem J* 1986; 234: 727-31.

Olakanmi O, Stokes JB, Pathan S, Britigan BE. Polivalent cationic metals induce the rate of transferrin-independent iron acquisition by HL-60 cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 2599-606.

Olynyk JK, Cullen DJ, Aquilia S, Rossi E, Summerville L, Powell LW. A population based study of clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999; 341: 718-24.

Olynyk JK, Hagan SE, Cullen DJ, Beilby J, Whittall DE. A 17-year study of the evolution of untreated hereditary hemochromatosis in the Busselton population. *Mayo Clin Proc* 2004; 79: 309-13.

Ortín F, Giralt M, Cervelló I, Nogués MR, Puerto AM, Argany N, Mallol J. The kinetic characteristics of the erythrocyte glutathione S-transferase system as a function of sex and the tobacco habit. *Med Clin (Barc)* 1996; 106: 607-10.

Ou B, Hampsch-Woodill M, Prior RL. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* 2001; 49: 4619-26.

Pakdaman R, EI Hage Chahine JM. A mechanism for iron uptake by transferrin. *Eur J Biochem* 1996; 236: 922-31.

Bibliografía

- Papanikolaou G, Samuels 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: 77-82.
- Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2005; 202: 199-211.
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, an urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7806-10.
- Pekkarinen M. Methodology in the collection of food consumption data. *World Rev Nutr Diet* 1970; 12: 145-71.
- Pérez-Aguilar F. Ceruloplasmina y metabolismo del hierro: sus implicaciones en la hemocromatosis, la enfermedad de Wilson y la aceruloplasminemia. *Rev Clin Esp* 2002; 202: 649-51.
- Pérez G, Vittori D, Pregi N, Garbossa G, Nesse A. Homeostasis del hierro, mecanismos de absorción, captación celular y regulación. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2005; 39: 301-14.
- Pérez G, Pregi N, Vittori D, Di Risio C, Garbossa G, Nesse A. Aluminium exposure affects transferrin-dependent and independent iron uptake by K562 cells. *Biochim Biophys Acta* 2005; 1745: 124-30.
- Petersen KM, Parkinson AJ, Nobmann ED, Bulkow L, Yip R, Mokdad A. Iron deficiency anemia among Alaska Natives may be due to fecal loss rather than inadequate intake. *J Nutr* 1996; 126: 2774-83.
- Pietrangelo A, Montosi G, Totaro A, Garuti C, Conte D et al. Hereditary hemochromatosis in adults without pathogenic mutations in the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999; 341: 725-32.
- Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis—a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 2383-97.
- Pietrangelo A, Trautwein C. The role of hepcidin in iron homeostasis—implications for hemochromatosis and other disorders. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2004; 1: 39-45.
- Pietrangelo A, Caleffi A, Henrion J, Ferrara F, Corradini E, Kulaksiz H et al. Juvenile hemochromatosis associated with pathogenic mutations of adult hemochromatosis genes. *Gastroenterology* 2005; 128: 470-9.
- Pietrapertosa A, Vitucci A, Campanale D, Palma A, Renni R, Delios G et al. HFE gene mutations in an Apulian population: allele frequencies. *Eur J Epidemiol* 2003; 18: 685-9.
- Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin 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: 7811-9.
- Pignone M, Phillips C, Mulrow C. Use of lipid lowering drugs for primary prevention of coronary heart disease: meta-analysis of randomised trials. *BMJ* 2000; 321: 983-6.
- Piperno A, Sampietro M, Pietrangelo A y cols. Heterogeneity of Hemochromatosis in Italy. *Gastroenterology* 1998; 114: 996-1002.
- Ponka P. Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanisms in erythroid cells. *Blood* 1997; 89: 1-25.

- Ponka P. Cellular iron metabolism. *Kidney Int* 1999; 55: 2-11.
- Ponka P. Hereditary causes of disturbed iron homeostasis in the central nervous system. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1012: 267-81.
- Potrakul P, Kitcharoen K, Yansukon P, Wasi P, Fucharoen S, Charoenlarp P et al. The effect of erythroid hyperplasia on iron balance. *Blood* 1988; 71: 1124-9.
- Pré J. La Lipoperoxydation. *Pathol Biol* 1991; 39: 716-36.
- Prior RL, Hoang H, Gu L, Wu X, Bacchiocca M, Howard L et al. Assays for hydrophilic and lipophilic antioxidant capacity (oxygen radical absorbance capacity (ORAC(FL))) of plasma and other biological and food samples. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 3273-9.
- Puntarulo S. Iron, oxidative stress and human health. *Mol Aspects Med* 2005; 26: 299-312.
- Purchas EW, Simcock DC, Knight TW, Wilkinson BHP. Variation in the form of iron in beef and lamb meat and losses of iron during cooking and storage. *Int J Food Sci Technol* 2003; 38: 827-37.
- Quigley JG, Yang Z, Worthington MT, Phillips JD, Sabo KM, Sabath DE et al. Identification of a human heme exporter that is essential for erythropoiesis. *Cell* 2004; 118: 757-66.
- Ragan HA, Nacht S, Lee GR, Bishop CR, Cartwright GE. Effect of ceruloplasmin on plasma iron in copper-deficient swine. *Am J Physiol* 1969; 217: 1320-3.
- Ramalingam TS, West AP Jr, Lebron JA, Nangia JS, Hogan TH, Enns CA et al. Binding to the transferrin receptors is required for endocytosis of HFE and regulation of iron homeostasis. *Nature Cell Biol* 2001; 2: 953-7.
- Randell EW, Parkes JG, Olivieri NF, Templeton DM. Uptake of non-transferrin-bound iron by both reductive and nonreductive processes is modulated by intracellular iron. *J Biol Chem* 1994; 269: 16046-53.
- Rehema A, Zilmer M, Zilmer K, Kullisaar T, Vihalemm T. Could long-term alimentary iron overload have an impact on the parameters of oxidative stress? A study on the basis of a village in southern Estonia. *Ann Nutr Metab* 1998; 42: 40-3.
- Reif DW. Ferritin as a source of iron oxidative damage. *Free Radic Biol Med* 1992; 12: 417-27.
- Richard MJ, Portal B, Meo J, Coudray C, Hadjian A, Favier A. Malondialdehyde kit evaluated for determining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid. *Clin Chem* 1992; 38: 704-9.
- Robb A, Wessling-Resnick M. Regulation of transferrin receptor 2 protein levels by transferrin. *Blood* 2004; 104: 4294-9.
- Roe MA, Heath AL, Oyston SL, Macrow C, Hoogewerff JA, Foxall R et al. Iron absorption in male C282Y heterozygotes. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 814-21.
- Roe MA, Spinks C, Heath AL, Harvey LJ, Foxall R, Wimperis J et al. Serum prohepcidin concentration: no association with iron absorption in healthy men; and no relationship with iron status in men carrying HFE mutations, hereditary haemochromatosis patients undergoing phlebotomy treatment, or pregnant women. *Br J Nutr* 2007; 97: 544-9.

Roetto A, Totaro A, Cazzola M y cols. The Juvenile haemochromatosis locus maps to chromosome 1q. *Am J Hum Genet* 1999; 64: 1388-93.

Roetto A, Merryweather-Clarke AT, Daraio F, Livesey K, Pointon JJ, Barbabietola G et al. A valine deletion of ferroportin 1: a common mutation in hemochromatosis type 4? *Blood* 2002; 100: 733-4.

Román B, Prieto F, Serra Majem LL. Encuestas alimentarias a nivel nacional y familiar. En: Serra-Majem LI, Aranceta J eds. *Nutrición y Salud Pública: Métodos, Bases científicas y aplicaciones 2 ed.* Barcelona: Masson; 2006. p. 146-157.

Romeu M. Distrès oxidatiu en Humans. Valoració en diferents situacions fisiològiques i patològiques [Tesi doctoral]. Universitat Rovira i Virgili; 2006.

Ropero P, Briceño O, Mateo M, Polo M, Mora A, Gonzalez FA et al. Frequency of the C282Y and H63D mutations of the hemochromatosis gene (HFE) in a cohort of 1000 neonates in Madrid (Spain). *Ann Hematol* 2006; 85: 323-6.

Rossi E, Bulsara MK, Olynyk JK, Cullen DJ, Summerville L, Powell LW. Effect of hemochromatosis genotype and lifestyle factors on iron and red cell indices in a community population. *Clin Chem* 2001; 47: 202-8.

Rothenberger S, Müllner EW, Kühn C. The mRNA binding protein which controls ferritin and transferrin receptor expression is conserved during evolution. *Nucleic Acids Res* 1990; 18: 1175-9.

Rottkamp CA, Nunomura A, Raina AK, Sayre LM, Perry G, Smith MA. Oxidative Stress, antioxidants, and Alzheimer's disease. *Alzheimer Dis Assoc Disord* 2000; 14 (1S): S62-6.

Roy CN, Penny DM, Feder JN, Enns CA. The hereditary hemochromatosis protein, HFE, specifically regulates transferrin-mediated iron uptake in HeLa cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 9022-8.

Roy CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood* 2000; 93: 4020-7.

Roy CN, Andrews NC. Recent advances in disorders of iron metabolism: Mutations, mechanisms and modifiers. *Hum Mol Genet* 2001; 10: 2181-6.

Ryan E, O'Keane C, Crowe J. Hemochromatosis in Ireland and HFE. *Blodd Cells Mol Dis* 1998; 24: 428-32.

Ryter SW, Tyrrell RM. The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. *Free Radical Biol* 2000; 28: 289-309.

Sakaida I, Kyle ME, Farber JL. Autophagic degradation of protein generates a pool of ferric iron required for the killing of cultured hepatocytes by and oxidative stress. *Mol Pharmacol* 1990; 37: 435-42.

Salgueiro J, Zibillaga M, Boccio J. Elementos traza. De la deficiencia a la toxicidad. En: Serra LL, Aranceta J. *Nutrición y salud pública 2ª ed.* Barcelona (España): Masson; 2006. p.393-705.

Salonen JT, Nyyssonen K, Korpela H, Tuomilehto J, Seppanen R, Salonen R. High stored iron levels are associated with excess risk of myocardial infarction in eastern Finnish men. *Circulation*. 1992; 86: 803-11.

Salonen JT, Korpela H, Nyyssonen K, Porkkala E, Tuomainen TP, Belcher JD, et al. Lowering of body iron stores by blood letting and oxidation resistance of serum

lipoproteins: a randomized cross-over trial in male smokers. *J Intern Med.* 1995; 237: 161-8.

Salonen JT, Tuomainen TP, Nyyssonen K, Lakka HM, Punnonen K. Relation between iron stores and non-insulin dependent diabetes in men: case-control study. *BMJ* 1998; 317: 727.

Samman S, Sandstrom B, Toft MB, Bukhave K, Jensen M, Sorensen SS et al. Green tea or rosemary extract added to foods reduces nonheme-iron absorption. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 607-12.

Sánchez M, Bruguera M, Bosch J, Rodes J, Ballesta F, Oliva R. Prevalence of the Cys282Tyr and His63Asp HFE gene mutations in Spanish patients with Hereditary hemochromatosis and in controls. *J Hepatol* 1998; 29: 725-8.

Sánchez M, Villa M, Ingelmo M, Sanz C, Bruguera M, Ascaso C et al. Population screening for hemochromatosis: a study in 5370 Spanish blood donors. *J Hepatol* 2003; 38: 745-50.

Sandberg A, Brune M, Carlson N, Hallberg L, Skoglund E, Rosander-Hulthen L. Inositol phosphates with different numbers of phosphate groups influence iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1999; 70: 240-6.

Seaton A, Soutar A, Crawford V, y cols. Particulate air pollution and the blood. *Thorax* 1999; 54: 1027-32.

Seddon JM, Ajani UA, Sperduto RD, Hiller R, Blair N, Burton TC et al. Dietary carotenoids, vitamins A, C, and E, and advanced age-related macular degeneration. Eye Disease Case-Control Study Group. *JAMA* 1994; 272: 1413-20.

Seftel HC, Keeley KJ, Isaacson C, Bothwell

TH. Siderosis in the Bantu: the clinical incidence of hemochromatosis in diabetic subjects. *J Lab Clin Med* 1961; 58: 837-44.

Sempos CT, Looker AC, Gillum RF, Makuc DM. Body iron stores and the risk of coronary heart disease. *N Engl J Med* 1994; 330: 1119-24.

Serra Majem L, Román B, Aranceta J: Alimentación y Nutrición. En: Cabasés JM, Villabí J, Aibar C. Informe SESPAS 2002: Invertir para la salud. Prioridades en Salud pública. Artes Gráficas Soler; 2002.

Serra Majem LL, Ribas L, Aranceta J. Evaluación del consumo de alimentos en poblaciones. Encuestas alimentarias. En: Serra-Majem LI, Aranceta J. Nutrición y Salud Pública: Métodos, Bases científicas y aplicaciones. 2ª ed. Barcelona: Masson; 2006. p.136-45.

Serra Majem LL, Ribas L. Recordatorio de 24 horas. En: Serra-Majem LI, Aranceta J eds. Nutrición y Salud Pública: Métodos, Bases científicas y aplicaciones. 2ª ed. Barcelona: Masson; 2006. p.168-78.

Shayeghi M, Latunde-Dada GO, Oakhill JS, Laftah AH, Takeuchi K, Halliday N et al. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 2005; 122: 789-801.

Siah CW, Trinder D, Olynyk JK. Iron Overload. *Clin Chim Acta* 2005; 358: 24-36.

Siah CW, Ombiga J, Adams LA, Trinder D, Olynyk JK. Normal iron metabolism and the pathophysiology of iron overload disorders. *Clin Biochem Rev* 2006; 27: 5-16.

Siegenberg D, Baynes R, Bothwell T, Macfarlane B, Lamparelli R, Car N et al. Ascorbic acid prevents the dose-dependent inhibitory effects of polyphenols and phytates on nonheme-iron absorption. *Am J*

Bibliografía

Clin Nutr 1991; 53: 537-41.

Silver MM, Beverley DW, Valberg LS, Cutz E, Phillips MJ, Shaheed WA. Perinatal hemochromatosis. Clinical, morphological and quantitative iron studies. *Am J Pathol* 1987; 128: 538-54.

Singh M, Sanderson P, Hurrell RF, Fairweather-Tait SJ, Geissler C, Prentice A et al. Iron bioavailability: UK Food Standards Agency workshop report. *Br J Nutr* 2006; 96: 985-90.

Skoglund E, Lonnerdal B, Sandberg AS. Inositol phosphates influence iron uptake in Caco-2 cells. *J Agric Food Chem* 1999; 47: 1109-13.

Solís JA, Solís P. Hemocromatosis no ligada al HFE. *Rev Esp Enferm Dig* 2005; 97: 266-86.

Soto L, Vega A, Goyanes V, Valverde D. Hemochromatosis in Galicia (NW Spain): a Celtic influence?. *Clin Genet* 2000; 57: 454-5.

South PK, Lei X, Miller DD. Meat enhances nonheme iron absorption in pigs. *Nutr Res* 2000; 20: 1749-59.

Stevens RG, Jones DY, Micozzi MS, Taylor PR. Body iron stores and the risk of cancer. *N Eng J Med* 1988; 319: 1047-52.

Sturrock A, Alexander J, Lamb J, Craven CM, Kaplan J. Characterization of a transferrin-independent uptake system for iron in HeLa cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 3139-45.

Suharno D, West C, Muhila L, Karyadi D, Hautvast J. Supplementation with vitamin A and iron for nutritional anaemia in pregnant women in West Java, Indonesia. *Lancet* 1993; 342: 1325-8.

Sullivan JL. Iron and the sex difference in heart disease risk. *Lancet* 1981; 1: 1293-94.

Suominen P, Mottonen T, Rajamaki A, Irjala K. Single values of serum transferrin receptor and transferrin receptor ferritin index can be used to detect true and functional iron deficiency in rheumatoid arthritis patients with anemia. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1016-20.

Suzuki Y, Saito H, Suzuki M, Hosoki Y, Sakurai S, Fujimoto Y et al. Up-regulation of transferrin receptor expression in hepatocytes by habitual alcohol drinking is implicated in hepatic iron overload in alcoholic liver disease. *Alcohol Clin Exp Res* 2002; 26(8S): S26-31.

Swanson CA. Iron intake and regulation: implications for iron deficiency and iron overload. *Alcohol* 2003; 30: 99-102.

Taylor P, Martinez-Torres C, Romano E, Layrisse M. Effect of cysteine-containing peptides related during meta digestion on iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 1986; 43: 68-71.

Thomas CE, Morehouse LA, Aust SD. Ferritin and superoxide-dependent lipid peroxidation. *J Biol Chem* 1985; 260: 3275-80.

Thorstensen K, Romslo Y. The transferrin receptor its diagnostic value and its potential as therapeutic target. *Scand Clin Lab Invest* 1993; 215: 113-20.

Torre M, Rodríguez AR, Saura-Calixto F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1991; 1: 1-22.

Trichopoulos A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a

Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med.* 2003; 348: 2599-608.

Trinder D, Olynyk JK, Sly WS, Morgan EH. Iron uptake from plasma transferrin by the duodenum is impaired in the Hfe Knockout mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 5622-6.

Tsimikas S, Witztum JL. Measuring circulating oxidized low-density lipoprotein to evaluate coronary risk. *Circulation* 2001; 103: 1930-2.

Tsukamoto H, Horne W, Kamimura S, Niemelä O, Parkkila S, Ylä-Herttuala S, Brittenham GM. Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron. *J Clin Invest* 1995; 96: 620-30.

Tung BY, Emond MJ, Bronner MP, Raaka SD, Cotler SJ, Kowdley KV. Hepatitis C, iron status and disease severity: relationship with HFE mutations. *Gastroenterology* 2003; 124: 318-26.

Tuomainen TP, Punnonen K, Nyssönen K, Salonen JT. Association between body iron stores and the risk of acute myocardial infarction in men. *Circulation* 1998; 97: 1461-6.

Uzel C, Conrad ME. Absorption of heme iron. *Semin Hematol* 1998; 35: 27-34.

Van der ADL, Grobbee DE, Roest M, Marx JJ, Voorbij HA, van der Schouw YT. Serum ferritin is a risk factor for stroke in postmenopausal women. *Stroke* 2005; 36: 1637-41.

Van Dyck K, Tas S, Robberecht H, Deelstra H. The influence of different food components on the in vitro availability of iron, zinc and calcium from a composed meal. *Int J Food Sci Nutr* 1996; 47: 499-

506.

Van Eijk HG, De Jong G. The physiology of iron, transferrin, and ferritin. *Biol Trace Element Res* 1992; 35: 13-24.

Van Lenten BJ, Prieve J, Navab M, Hama S, Lusis AJ, Fogelman AM. Lipid-induced changes in intracellular homeostasis in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1995; 95: 2104-10.

Vulpe CD, Kuo YM, Cowley L, Askwith C, Libina N, Gitschier J, Anderson GJ. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet* 1999; 21: 195-9.

Wagstaff M, Worwood M, Jacobs A. Properties of human tissue isoferritins. *Biochem J* 1978; 173: 969-77.

Waalén J, Felitti V, Gelbert T, Ho NJ, Beutler E. Prevalence of hemochromatosis-related symptoms among individuals with mutations in the HFE gene. *Mayo Clin Proc* 2002; 77: 522-30.

Waheed A, Parkkila S, Zhou XY, Tomatsu S, Tsuchihashi Z, Feder JN, Schatzman RC et al. Hereditary hemochromatosis: Effects of C282Y and H63D mutations on association with β 2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells. *Proc Natl Acad Sci* 1997; 94: 12384-9.

Waheed A, Parkkila S, Saarnio J, Fleming RE, Zhou XY, Tomatsu S et al. Association of HFE protein with transferrin receptor in crypt enterocytes of human duodenum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 1579-84.

Waheed A, Grubb JH, Zhou XY, Tomatsu S, Fleming RE, Costaldi ME et al. Regulation of transferrin-mediated iron uptake by HFE,

the protein defective in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 3117-22.

Walczyk T, Davidsson L, Rossander-Hulthen L, Hallberg L, Hurrell RF. No enhancing effect of vitamin A on iron absorption in humans. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 177-9.

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.

Wardman P, Candeias LP. Fenton chemistry: an introduction. *Radiat Res* 1996; 145: 523-31.

Watanabe K, Eto K, Furuno K, Mori T, Kawasaki H, Gomita Y. Effect of cigarette smoke on lipid peroxidation and liver function tests in rats. *Acta Med Okayama* 1995; 49: 271-4.

Weinberg ED. Cellular iron metabolism in health and disease. *Drug Metab Rev* 1990; 22: 531-79.

Weinberg ED. The role of iron in cancer. *Eur J Cancer Prev* 1996; 5: 19-36.

Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfsdorf JI, Andrews NC. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 2002; 100: 3776-81.

Weir BS. Genetic data analysis II: methods for discrete population genetic data. Sunderland, Mass: Sinauer. 1996

Wells BJ, Mainous AG 3rd, King DE, Gill JM, Carek PJ, Geesey ME. The combined effect of transferrin saturation and low density lipoprotein on mortality. *Fam Med* 2004;

36: 324-9.

West DW. Structure and function of the phosphopyrilated residues of casein. *J Dairy Sci* 1986; 53: 333-52.

West AP, Bennett MJ, Sellers VM, Andrews NC, Enns CA, Bjorkman PJ. Comparison of the interactions of transferrin receptor and the hereditary hemochromatosis protein HFE. *J Biol Chem* 2000; 275: 38135-8.

West AR, Thomas C, Sadlier J, Oates PS. Haemochromatosis protein is expressed on the terminal web of enterocytes in proximal small intestine of the rat. *Histochem Cell Biol* 2006; 125: 283-92.

Whitfield JB, Zhu G, Heath AC, Powell LW, Martin NG. Effects of Alcohol Consumption on Indices of Iron Stores and of Iron Stores on Alcohol Intake Markers. *Alcohol Clin Exp Res* 2001; 25: 1037-45.

Wick M, Pinggera W, Lehmann P. Iron metabolism, diagnosis and therapy of anemias. 3th ed. New York: Springer; 1996.

Widlansky ME, Duffy SJ, Hamburg NM, Gokce N, Warden BA, Wiseman S et al. Effects of black tea consumption on plasma catechins and markers of oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease. *Free Radic Biol Med* 2005; 38: 499-506.

Wixon RL, Prutkin L, Munro HL. Hemosiderin: nature, formation and significance. *Int Rev Exp Pathol* 1979; 22: 193-225.

Wolff B, volzke H, Ludemann J, Robinson D, Vogelgesang D, Staudt A et al. Association between high serum ferritin levels and carotid atherosclerosis in the study of health in Pomerania (SHIP). *Stroke*. 2004; 35: 453-7.

World Health Organization and National Institutes of Health and the Centers for Disease Control and Prevention (USA). EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000; 33: 485-504.

Yang F, Friedrichs WE, Cupplest RL, Bonifacio MJ, Sanford JA, Horton WA et al. Human ceruloplasmin. Tissue specific expression of transcripts produced by alternative splicing. *J Biol Chem* 1990; 265: 10780-5.

Young SP, Bromford A. Iterative endocytosis of transferrin by K562 cells. *Biochem J* 1994; 298: 165-70.

Yuan XM, Li W. The iron hypothesis of atherosclerosis and its clinical impact. *Ann Med* 2003; 35: 578-91.

Yu Y, Radisky E, Leibold EA. The iron-responsive element binding protein. Purification, cloning and regulation in rat liver. *J Biol Chem* 1992; 267: 1905-10.

Zacharski LR, Ornstein DL, Woloshin S, Schwartz LM. Association of age, sex, and race with body iron stores in adults: analysis of NHANES III data. *Am Heart J* 2000; 140: 98-104.

Zhang AS, Davies PS, Carlson HL, Enns CA. Mechanisms of HFE-induced regulation of iron homeostasis: Insights from the W81A HFE mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 9500-5.

Zheng H, Cable R, Spencer B, Votto N, Katz
Iron stores and vascular function in voluntary blood donors. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 1532-5.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
EFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN
Núria Aranda Pons
ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

APORTACIONES CIENTÍFICAS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007

Las aportaciones científicas del trabajo realizado por el grupo de investigación son:

1. ARTÍCULOS CIENTÍFICOS

Berez V, Camps J, Arija V, Aranda N, Fernandez-Ballart J, Vilella E, Figuera L, Ferre N, Joven J. Soluble transferrin receptor and mutations in hemochromatosis and transferrin genes in a general Catalan population. Clin Chim Acta 2005; 353: 205-8.

Aranda N, Viteri FE, Fernandez-Ballart J, Murphy M, Arija V. Frequency of the hemochromatosis gene (HFE) 282C-->Y, 63H-->D, and 65S-->C mutations in a general Mediterranean population from Tarragona, Spain. Ann Hematol 2007; 86: 17-21.

Arija A, Aranda N, Viteri FE. Relationship between 282C→Y, 63H→D and 65S→C mutations of the HFE gene and iron status in a healthy Mediterranean population from Tarragona, Spain. Sometido a revisión en la revista Clinical Chemistry.

2. CONTRIBUCIONES A CONGRESOS

Aranda, N.; Fernández-Ballart, JD.; Murphy, MM.; Ceruelo, S.; Arija, V. Sobrecarga de hierro y su relación con las alteraciones genéticas y la dieta. XIII Congreso Latinoamericano de Nutrición Acapulco (MÉXIC) 2003. Libro de Memorias, Sociedad Latinoamericano de Nutrición 217-8:CNB-04, 2003
Participación: Póster

Aranda, N.; Fernández-Ballart, J.; Montserrat C, Babio N, Murphy, M, Ceruelo, S.; Arija, V. Prevalencia de la sobrecarga de hierro en población mediterránea y su relación con los estilos de vida. VI Congreso de la Sociedad Española de Nutrición comunitaria IV Congreso Iberoamericano de Nutrición y Salud Pública. Ibiza (ESpanya) 2004. Libro de resúmenes VI congreso Sociedad Española Nutrición Comunitaria 134, O1207.
Participación: Comunicación oral. Premio áccesit a la mejor comunicación oral.

Aranda, N; Fernández-Ballart J, Murphy M, Giralt M, Arija, V. Iron state and oxidative estress in a mediterranean population. I World congress of Public Health Nutrition (VII congreso de la Sociedad Española de Nutrición comunitaria). Barcelona (ESpanya) 2006. Public Health Nutrition.ISSN 1368-9800. p120.
Participación: Póster.

Aranda N, Fernández-Ballart J, Rios L, Arija V. Asociación de hipercolesterolemia y sobrecarga de hierro sobre el estrés oxidativo. 14 Congreso Latinoamericano de Nutrición. Florianópolis. (BRASIL) 2006. Libro de resúmenes.
Participación: Comunicación oral. 3º Premio a la mejor comunicación oral en el área de Nutrición y Salud Pública.

Aportaciones Científicas

Arija V, Aranda N, Fernández-Ballart J, Viteri F. Genética y dieta, su efecto sobre el estado en hierro. 14 Congreso Latinoamericano de Nutrición. Florianópolis. (BRASIL) 2006. libro de resúmenes.

Participación: Comunicación oral. 3º Premio a la mejor comunicación oral en el área de Nutrición y Salud Pública.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

EFFECTO DE LAS ALTERACIONES EN EL GEN HFE Y DE LA DIETA SOBRE EL EXCESO DE HIERRO EN LA POBLACIÓN

Núria Aranda Pons

ISBN: 978-84-691-1012-6/DL:T.2253-2007