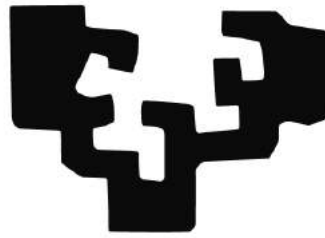


eman ta zabal zazu



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

**VALIDACIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN
DE LA CONCENTRACIÓN HEPÁTICA
DE HIERRO MEDIANTE RESONANCIA
MAGNÉTICA NUCLEAR DE 1-TESLA.**

AGUSTIN CASTIELLA EGUZKIZA.

DNI-15982541W.

agustincastiella@yahoo.es

DONOSTIA 2013



Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco (UPV/EHU)
Euskal Herriko Unibertsitateko Argitalpen Zerbitzua (UPV/EHU)
University of the Basque Country - Editorial Service (UPV/EHU)
ISBN: 978-84-9860-988-2

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de Tesis, Dr. José Ramón Saenz y Dr. José Ignacio Emparanza. Gracias José Ramón porque sin ti y sin tu ayuda para abrir puertas esta tesis hubiese sido mucho más difícil, o no hubiese podido ser. Gracias José Ignacio, por toda tu ayuda metodológica. Pero, sobre todo, por tu apoyo incondicional en todos estos años y por recorrer con Txema y conmigo este apasionante camino.

Al Dr. Jose María Alústiza, compañero en la investigación del hierro y el hígado. ¿Quién nos iba decir hace 15 años, Txema, qué íbamos a llegar hasta aquí? Y lo que nos queda por recorrer...

A la Dra. Eva Zapata, compañera de trabajo y buena amiga. Por su ayuda en la recogida de datos, lectura de la tesis y por poder contar siempre con ella.

A Marivi Madera, compañera de trabajo. Por tu ayuda en la recogida de datos y por tu apoyo y amistad durante todos estos años.

Al Dr. Pedro Otazua, por su ayuda en la Tesis, pero, sobre todo, por su amistad. Pedro, eres un amigo de verdad. Siempre.

A mis padres, a mi hermana Idoia, a Cristina y Ainhoa. Por todo. Por todo lo que hemos pasado juntos y porque sois lo más importante en mi vida.

INDICE

1. Justificación	7
2. Introducción.....	13
2.1. Metabolismo férrico y sobrecarga férrica	15
2.1.1. Metabolismo férrico	15
2.1.1.1. Metabolismo férrico normal	15
2.1.1.2. Absorción.....	16
2.1.1.3. Regulación: homeostasis férrica sistémica	18
2.1.1.4. Hierro circulante	21
2.1.1.5. Depósito de hierro	21
2.1.2. Sobrecarga férrica.....	24
2.1.2.1. Hierro y fibrosis hepática. Cuánto hierro es demasiado.....	25
2.2. Hemocromatosis hereditaria. Un problema de salud pública.....	27
2.2.1. Despistaje-cribado de la HH.....	28
2.3. Historia natural de la hemocromatosis hereditaria	29
2.3.1. Historia de la HH	29
2.3.2. Etapas o estadios de la enfermedad	31
2.3.3. Prevalencia y penetrancia en la HH.....	31
2.3.4. Factores ambientales y genéticos	32
2.4. Variantes de hemocromatosis hereditaria.....	33
2.4.1. Hemocromatosis hereditaria tipo I	34
2.4.2. Hemocromatosis hereditaria tipo IIA	34
2.4.3. Hemocromatosis hereditaria tipo IIB	34
2.4.4. Hemocromatosis hereditaria tipo III.....	35

2.4.5.	Hemocromatosis hereditaria tipo IV.....	35
2.4.6.	Síndrome catarata-hiperferritinemia.....	36
2.4.7.	Aceruloplasminemia hereditaria.....	36
2.4.8.	Atransferrinemia hereditaria.....	37
2.4.9.	Sobrecarga férrica asociada al Gen DMT1.....	37
2.4.10.	Anemias sideroblásticas genéticas.....	37
2.5.	Sobrecarga férrica secundaria o adquirida	39
2.5.1.	Talasemias	39
2.5.2.	Anemia de células falciformes	39
2.5.3.	Otras causas de sobrecarga férrica.....	40
2.6.	Cuantificación de la concentración de hierro hepático.....	41
2.7.	Métodos habituales para determinar la CHH	43
2.7.1.	Biopsia hepática percutánea	43
2.7.2.	Flebotomías cuantitativas	48
2.7.3.	Ecografía.....	48
2.7.4.	Tac	48
2.7.5.	Espectroscopia por resonancia magnética (MRS).....	48
2.7.6.	Susceptometría.....	49
2.7.7.	Resonancia magnética nuclear (RMN).....	49
3.	Hipótesis de trabajo	55
4.	Planteamiento	59
5.	Objetivos.....	63
5.1.	Principal.....	64
5.2.	Secundarios	64
6.	Pacientes y métodos.....	65

6.1. Pacientes	67
6.2. Métodos	69
6.2.1. RMN	69
6.2.2. Biopsia hepática.....	71
6.2.3. Estudios de laboratorio	72
6.2.3.1. Bioquímica sérica	72
6.2.3.2. Mutaciones en el Gen HFE.....	73
6.2.4. Análisis estadístico	75
6.2.5. Ética	75
7. Resultados.....	77
7.1. Biopsia hepática y RM 1 Tesla.....	79
7.2. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla.....	88
7.3. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla (Osatek Donostia)	95
7.4. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla (Osatek Gasteiz).....	95
7.5. Biopsia hepática y RM	98
7.6. RM 1 Tesla y RM 1,5 Tesla	102
7.7. RM 1,5 Tesla 2004 vs. 2010.....	104
8. Discusión	105
8.1. Historia RM 1 Tesla y de 1,5 Tesla.....	107
8.2. Impacto de la determinación de la CHH mediante RM	112
8.3. Discusión de los resultados	115
8.3.1. Grupo 1 Tesla	115
8.3.2. Grupo 1,5 Tesla	117
8.3.3. Ambos tipos de RM.....	119
8.3.4. RM 1,5 tesla 2004 vs. 2010	120

9. Conclusiones.....	121
10. Bibliografía.....	125

Justificación

1. Justificación

La hemocromatosis hereditaria (HH) fue descrita por vez primera en 1889 por von Recklinghausen. Desde entonces, esta enfermedad de origen genético ha focalizado la atención de multitud de médicos de diferentes especialidades. El exceso de hierro en el organismo provocado por esta patología, va deteriorando los distintos órganos diana y causando diversas y graves patologías: cirrosis hepática, hepatocarcinoma, miocardiopatía, diabetes mellitus (se le llamó en sus orígenes “diabetes bronceada”), artropatía, hipogonadismo, etc. La HH es la enfermedad de origen genético más frecuente en raza blanca en el mundo, si bien el hecho de poseer la predisposición genética no implica el padecer obligatoriamente la enfermedad. Un diagnóstico temprano y la instauración de un correcto tratamiento conllevan el que estas personas no desarrollen la enfermedad, retirando el exceso de hierro de los órganos afectados, y una calidad de vida similar a la de la población general. Todo ello se consigue con algo tan sencillo como realizar flebotomías (sangrías) periódicas (1). Por lo tanto, la HH constituye un importante problema de salud pública en nuestro medio.

Tras llevar a cabo mi formación como médico residente y mis primeros años como profesional en el Hospital Donostia, en 1997 empecé a trabajar en el Hospital Mendaró, en la Comarca Oeste de Gipuzkoa. El cambio de hospital me supuso también un cambio en mi actividad profesional, dedicando mucho más tiempo al trabajo en consulta externa. Lo que más me llamó la atención en mis inicios en mi nuevo destino fue la gran cantidad de pacientes que me eran

enviados para valoración y estudio por trastornos hepáticos y del metabolismo del hierro (ferritina sérica elevada). En aquel momento, la realización de una biopsia hepática era el patrón de referencia (gold standard) para el diagnóstico final en estos pacientes (se obtenía la concentración de hierro hepático y qué grado de lesión hepática había producido). Muy pocos de estos tenían una hemocromatosis. La biopsia hepática conlleva el riesgo de una serie de complicaciones secundarias a la prueba e incluso, la muerte del paciente en 1/1000-1/10.000 procedimientos (2). Tras el descubrimiento del gen HFE y de sus mutaciones en 1996 por Feder y cols. (3), un nuevo camino se abría ante nosotros en el estudio de estos pacientes. En nuestra provincia, Gipuzkoa, y en el País Vasco en general, el porcentaje de homocigotos C282Y era bajo, 54-57%, (4,5), a diferencia de otros países, como los países nórdicos, EEUU, y Australia, donde dicha mutación se encontraba en cerca del 90% de los diagnosticados de HH (1). Por ello su ayuda al diagnóstico era menor, ya que cerca de la mitad de nuestros enfermos no presentaban la mutación típica de la misma. Ello suponía también un mayor número de biopsias hepáticas en nuestra población con sospecha de HH.

En 1998 un grupo de médicos radiólogos, gastroenterólogos, hepatólogos, internistas, epidemiólogos clínicos e inmunólogos de Gipuzkoa nos reunimos con el fin de diseñar un estudio que comparara los resultados de la determinación de la concentración de hierro hepático (CHH) en hígado mediante biopsia hepática (BH) frente a la obtenida mediante Resonancia Magnética (RM). En 1994, en un intento de ofrecer un método diagnóstico menos invasivo para la determinación de sobrecarga férrica hepática en la HH,

un grupo de radiólogos Franceses de Rennes, dirigidos por el Dr. Gandon (6), realizaron un importante estudio en el que compararon los resultados de la CHH obtenida mediante biopsia hepática, y los resultados obtenidos mediante RM, obteniendo una buena correlación entre ambos. En el algoritmo diagnóstico de la HH, se vio que se podía obviar la BH en el diagnóstico de la HH en algunos pacientes, gracias al gen HFE y a los datos aportados por la RM (1,2). En nuestros pacientes, dado el bajo porcentaje de homocigotos C282Y, no iba a mejorar mucho la situación. En este estudio participaron los diferentes hospitales de Osakidetza en Gipuzkoa, y los resultados se publicaron en Radiology en el 2004 (7). Mediante un modelo matemático obtenido, se estimaban cifras de CHH similares a las que aportaba la BH, por lo que se podía obviar la BH en muchos pacientes (8) (era útil para todo tipo de CHH y para las diferentes mutaciones HFE). Esto supuso un importante avance en la salud pública de los pacientes gipuzcoanos, al dejar de someterles a una prueba invasiva y con riesgo como es la BH. Mediante una prueba no invasiva se obtuvieron los resultados de CHH y su fiabilidad era igual o mayor que la que se obtenía mediante BH. Numerosos estudios en la literatura apoyan estos resultados y aunque de forma lenta, van aceptándose progresivamente (9-25).

A lo largo de estos años hemos seguido investigando en este terreno y hemos publicado nuestros resultados en revistas científicas nacionales e internacionales de alto factor de impacto (NEngl J Med, Hepatology, Radiology, Am J Gastroenterol, Eur Radiol, Eur J Radiol, Haematologica (ed. Española), Rev Esp Enf Digest, WJH, Radiología, etc.) y presentado los resultados en

congresos de todo el mundo (AASLD, EASL, RSNA, ECR, ESGAR, UEGW, Prague hepatology, etc).

En 2002 iniciamos en el Hospital de Mendara un proyecto con la RM de la que disponemos (RM 1 Tesla, Manterola, Eibar), para comprobar su eficacia y utilidad, y comparar sus resultados con la RM de 1,5 T de Osatek Donostia, estudiada y validada, para ver la reproducibilidad de los resultados.

Comenzamos con este proyecto ya que los resultados que obteníamos con esta RM, cuando podíamos compararlos con biopsia hepática, parecían sobrevalorar los valores de CHH y quisimos comprobarlo. Con los datos obtenidos hasta 2010, he querido realizar este nuevo proyecto, mi tesis doctoral, en la que se presenta el trabajo de estos 9 años con los pacientes consecutivos incluidos en este estudio.

Introducción

2. Introducción

- 2.1. Metabolismo férrico y sobrecarga férrica
 - 2.1.1. Metabolismo férrico
 - 2.1.1.1. Metabolismo férrico normal
 - 2.1.1.2. Absorción
 - 2.1.1.3. Regulación: homeostasis férrica sistémica
 - 2.1.1.4. Hierro circulante
 - 2.1.1.5. Depósito de hierro
 - 2.1.2. Sobrecarga férrica
 - 2.1.2.1. Hierro y fibrosis hepática. Cuánto hierro es demasiado
- 2.2. Hemocromatosis hereditaria. Un problema de salud pública
 - 2.2.1. Despistaje-cribado de la HH
- 2.3. Historia natural de la hemocromatosis hereditaria
 - 2.3.1. Historia de la HH
 - 2.3.2. Etapas o estadios de la enfermedad
 - 2.3.3. Prevalencia y penetrancia en la HH
 - 2.3.4. Factores ambientales y genéticos
- 2.4. Variantes de hemocromatosis hereditaria
 - 2.4.1. Hemocromatosis hereditaria tipo I
 - 2.4.2. Hemocromatosis hereditaria tipo IIA
 - 2.4.3. Hemocromatosis hereditaria tipo IIB
 - 2.4.4. Hemocromatosis hereditaria tipo III
 - 2.4.5. Hemocromatosis hereditaria tipo IV
 - 2.4.6. Síndrome catarata-hiperferritinemia
 - 2.4.7. Aceruloplasminemia hereditaria
 - 2.4.8. Atransferrinemia hereditaria
 - 2.4.9. Sobrecarga férrica asociada al Gen DMT1
 - 2.4.10. Anemias sideroblásticas genéticas
- 2.5. Sobrecarga férrica secundaria o adquirida
 - 2.5.1. Talasemias
 - 2.5.2. Anemia de células falciformes
 - 2.5.3. Otras causas de sobrecarga férrica
- 2.6. Cuantificación de la concentración de hierro hepático
- 2.7. Métodos habituales para determinar la CHH
 - 2.7.1. Biopsia hepática percutánea
 - 2.7.2. Flebotomías cuantitativas
 - 2.7.3. Ecografía
 - 2.7.4. Tac
 - 2.7.5. Espectroscopia por resonancia magnética (MRS)
 - 2.7.6. Susceptometría
 - 2.7.7. Resonancia magnética nuclear (RMN)

2. Introducción

2.1. Metabolismo férrico y sobrecarga férrica

2.1.1. Metabolismo férrico

2.1.1.1. Metabolismo férrico normal

El hierro (Fe) es un nutriente esencial necesario para todas las células humanas (9,10). En condiciones fisiológicas, un 10% del hierro de la dieta (1-2mg/d) es absorbido a diario, mientras que una cantidad similar es eliminada por la exfoliación de células cutáneas y la eliminación de células de las superficies mucosas. Una pérdida adicional de 2mg/d ocurre en las mujeres premenopáusicas debido a la menstruación. La absorción intestinal de hierro lleva a cabo un ajuste de las necesidades fisiológicas y es regulado cuidadosamente para conseguir un balance con las pérdidas. Como consecuencia de todo ello, la concentración de hierro se mantiene dentro de un estrecho rango homeostático, aproximadamente 40 mg Fe/Kg de peso corporal en mujeres y 50 mg/Kg en hombres. El Hierro se encuentra distribuido en tres compartimentos: funcional, transporte y almacenamiento. El 80% del hierro corporal es funcional, localizado en la hemoglobina de los eritrocitos, la mioglobina del músculo, y en enzimas que contienen hierro. Una pequeña fracción de hierro se une a la transferrina, una proteína de transporte intravascular que libera el hierro al hígado, médula ósea, y otros tejidos. El 20% del hierro corporal se encuentra almacenado y está contenido dentro de una proteína de depósito, la ferritina. En el tejido hepático de los mamíferos normales, la ferritina se encuentra fundamentalmente en el citoplasma de las

células hepáticas de Kupffer así como en el bazo y en los macrófagos de la médula ósea (1,9,21-25).

2.1.1.2. Absorción

La dieta diaria corriente contiene unos 10-20 mg de hierro (90% libre; 10% unido al grupo hemo). De estos, 1-1,5 mg son absorbidos. La cantidad va a depender de los depósitos corporales, absorbiéndose más según aumentan las necesidades. El proceso de absorción, localizado en el duodeno y en el intestino delgado superior, es activo y capaz de transportar hierro contra gradiente.

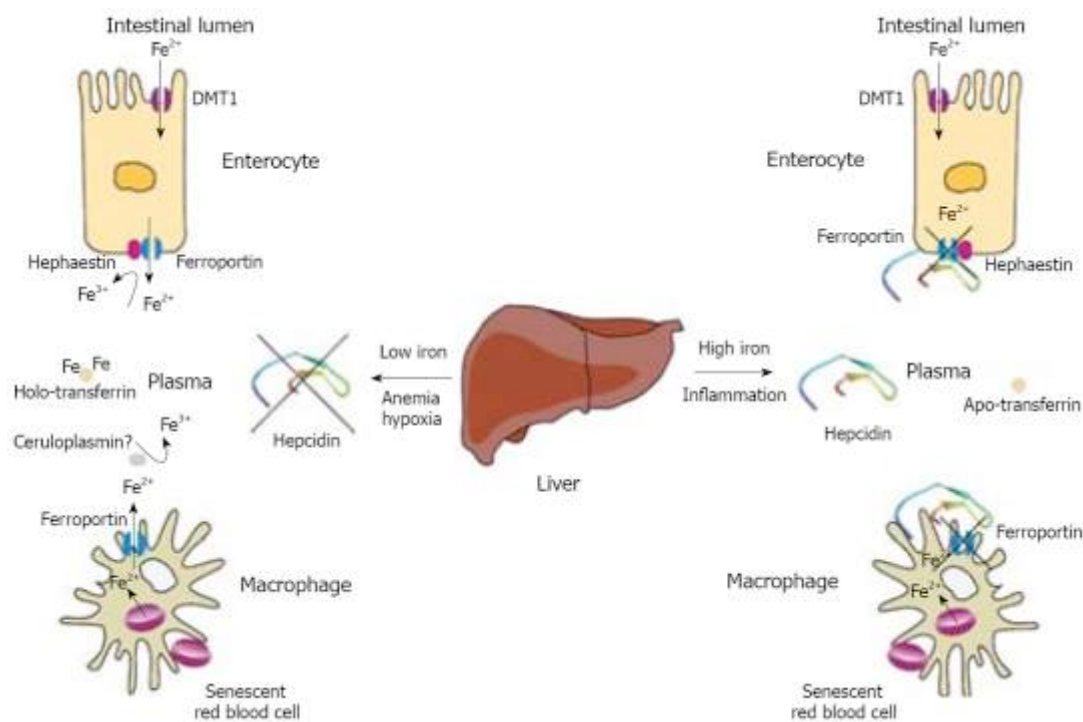


Figura 1: Absorción intestinal. Publicado en World J Gastroenterol 2008; 14: 6893-901.

El mecanismo de absorción, aunque no totalmente conocido, ha sido mejor explicado desde el descubrimiento de: A) el gen HFE (3); B) el transportador de metal divalente 1 (DMT-1); C) los mecanismos intracelulares para el control de la expresión de proteínas de depósito y de transporte, en particular proteínas reguladoras del hierro (IRP); D) el transportador basolateral de hierro (ferroportina); y E) la hepcidina, un polipéptido que juega un papel primordial en la regulación del hierro (26,27).

En la luz intestinal, el hierro férrico se reduce a hierro ferroso mediante ferrirreductasa o ácido ascórbico, tras lo cual el hierro es transportado por la DMT-1 a los enterocitos de las vellosidades. La expresión de la DMT-1 dentro de estas células está regulada por el nivel de hierro intracelular a través de una interacción entre la IRP-1 y el elemento regulador del hierro (IRE) del DMT-1. La concentración del hierro dentro de los enterocitos es por lo tanto importante para determinar la cantidad de hierro a absorber desde la luz intestinal. El factor inducible de hipoxia (HIF) juega un papel central (28).

La ferroportina en la membrana basolateral del enterocito es la responsable de la salida de hierro desde la célula. Una vez atraviesa la membrana, el hierro debe ser oxidado de ferroso a férrico para estar disponible a unirse y ser transportado por la transferrina. La Hefaeastina y la ceruloplasmina intervienen en esta oxidación. La disfunción de la ferroportina y también de la ceruloplasmina determinan acúmulo de hierro en otras células donde estas proteínas toman parte en el transporte del hierro.

La regulación de la absorción de hierro parece depender predominantemente de cambios en la HIF y en la hepcidina, las cuales se asocian con la degradación intracelular de la ferroportina y la pérdida de su función.

2.1.1.3. Regulación: homeostasis férrica sistémica

La homeostasis férrica sistémica está regulada por la interacción de la hepcidina, péptido-hormona, y la ferroportina, el transportador (exportador) del hierro en las superficies celulares (enterocitos, hepatocitos, bazo, macrófagos de la médula ósea, etc.). Las mutaciones en el gen FPN1, que codifica la ferroportina, resultan en una sobrecarga férrica (26).

La presencia de ferroportina en las superficies celulares ocasiona un incremento en la exportación de hierro. La hepcidina produce un aclaramiento de la ferroportina de la superficie celular y su introducción intracelular, con acúmulo en los lisosomas, dónde es degradada. El transporte exportador de la ferroportina está determinado por la concentración de ferroportina en la membrana plasmática, que resulta de los procesos de síntesis y degradación. La internalización y degradación de la ferroportina puede ocurrir de un modo hepcidina dependiente o independiente.

Existe una fina regulación a nivel intestinal para su absorción de la dieta, a través de la hepcidina, ya que el organismo es incapaz de eliminar el exceso del mismo fisiológicamente. En situación de normalidad la cantidad de hierro absorbido es inversamente proporcional a los depósitos de éste en el organismo (9,10). El déficit de hierro va a provocar una de las enfermedades más prevalentes en la especie humana, la anemia ferropénica, en la que la absorción intestinal del mismo estará aumentada; la sobrecarga de dicho metal en el organismo, cuya causa genética principal es la hemocromatosis, provocará una disminución en su absorción, pero sin que tenga éxito el evitar un excesivo depósito del mismo en los diferentes tejidos (1).

Tra el descubrimiento del gen HFE, estudios inmunohistoquímicos demostraron la localización de la proteína en las células de las criptas del intestino delgado superior. Otros estudios demostraron que la proteína HFE se expresa en la superficie de las células (29) e interactúa con el receptor de la transferrina TfR (1 y 2), reduciendo la afinidad del TfR por la transferrina. La interacción transferrina/TfR es el principal mecanismo de captación de hierro por muchas células. La expresión de TfR se encuentra inversamente relacionada con los niveles intracelulares de hierro. El mecanismo por el cual el HFE influye en el balance férrico está sin aclarar todavía a pesar de los años de estudio desde su descubrimiento en 1996 (3). Se conoce más de polipéptidos y transportadores de más reciente descubrimiento, en particular, de la hepcidina (HAMP), la hemojuvelina (HJV) y las proteínas morfogenéticas óseas, “bone morphogenetic protein” (BMP).

La hepcidina, una hormona producida en el hígado, controla las concentraciones extracelulares de hierro uniéndose e induciendo la degradación de la ferroportina (27). Los niveles de hepcidina están inversamente relacionados a la absorción de hierro. La absorción de hierro es exquisitamente sensible a los niveles de hepcidina y la hepcidina tiene un lugar central en la patogenia de la hemocromatosis, similar al de la insulina en la diabetes, lo que ha llevado a decir que la HH es una “enfermedad endocrina hepática” (30).

Los reguladores más potentes de la síntesis de hepcidina son ciertas BMP (31) que aparentemente actúan uniéndose a la HJV como a un co-receptor. La producción de hepcidina está también controlada por las concentraciones de

hierro, la hipoxia, la anemia y citoquinas inflamatorias, en especial la interleuquina-6.

La hepcidina, expresada en muchos tipos de células involucradas en el transporte del hierro, se une a la ferroportina. El mecanismo preciso mediante el cual interactúan la proteína del HFE, la hepcidina y la ferroportina no está claro. Normalmente, la respuesta al exceso de hierro corporal sería un incremento en la expresión hepática de hepcidina. La deficiencia total o relativa de hepcidina es una explicación unificadora para el aumento de absorción de hierro y la sobrecarga férrica que se observa en muchas formas hereditarias de hemocromatosis, especialmente las asociadas con mutaciones en los genes HFE, Tfr2, HAMP (hepcidina), y HJV (32,33).

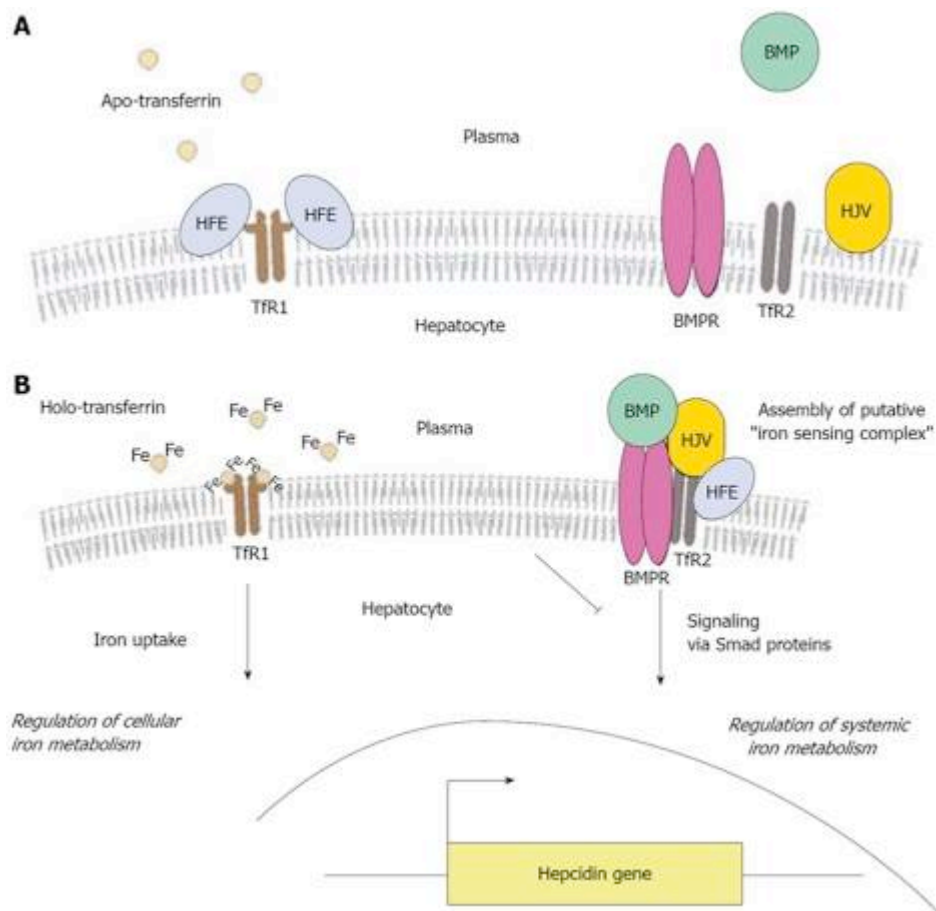


Figura 2: Regulación. Publicado en World J Gastroenterol 2008; 14: 6893-901.

2.1.1.4. Hierro circulante

En el plasma, el hierro se une a la transferrina, una glicoproteína principalmente sintetizada en el hígado. La transferrina puede unir dos moléculas de hierro férrico, y es responsable de la “capacidad total de fijación de hierro” en el suero a unos niveles de 250-370 µg/dL. La saturación normal de la transferrina con hierro suele ser del 20-40%. Fisiológicamente la entrada del hierro en los eritrocitos y en los hepatocitos depende de los receptores de transferrina en la superficie celular, que preferentemente fija hierro transportado por la transferrina. El complejo receptor/hierro transferrina se internaliza y el hierro es liberado. Este proceso es saturable. Las TfRs son reguladas tan pronto como las células se encuentran llenas de hierro.

Cuando la transferrina sérica está totalmente saturada, como ocurre en la hemocromatosis, el hierro circula también en forma no unida a la transferrina, asociado con quelantes de bajo peso molecular. El hierro en esta forma entra rápidamente dentro de las células mediante un proceso no saturable (25).

2.1.1.5. Depósito de hierro

El hierro se almacena en las células como ferritina, una combinación de la proteína apoferritina (subunidades H y L) y hierro. Las concentraciones elevadas de hierro estimulan la síntesis de apoferritina. En una simple molécula de ferritina se pueden almacenar hasta 4500 átomos de hierro. Los agregados de moléculas de ferritina degradada dan lugar a la hemosiderina, que se tiñe de gránulos azules con ferrocianida. La lipofucsina, un material amarillo marrón puede acumularse en asociación con el hierro, pero no contiene hierro.

El hierro contenido en las células como ferritina o hemosiderina está disponible para ser movilizado. El contenido normal de hierro corporal total es unos 4 g, de los cuales 3g están presentes en la hemoglobina, mioglobina, catalasa, y otros enzimas respiratorios. El depósito almacenado comprende 0,5 g; de este, 0,3 g se encuentran en el hígado pero no se tiñe con las tinciones habituales histológicas para hierro. El hígado es el lugar predominante de depósito de hierro absorbido desde el intestino. Cuando su capacidad es sobrepasada, el hierro se deposita en otras células parenquimatosas, incluyendo las células acinares del páncreas, y las células de la parte anterior de la hipófisis. El sistema retículoendotelial juega sólo un papel limitado en el almacenamiento del hierro, salvo que éste sea consecuencia de múltiples transfusiones, concentrándose entonces fundamentalmente en el bazo (25).

FERRITINA: FORMA DE DEPÓSITO DEL HIERRO Y REACTANTE DE FASE AGUDA.

TRANSFERRINA: PROTEÍNA SÉRICA PRIMARIA DE TRANSPORTE DEL HIERRO.

RECEPTOR DE TRANSFERRINA 1 (Tfr1): RECEPTOR CLÁSICO QUE MEDIA LA CAPTACIÓN CELULAR DEL HIERRO UNIDO A TRANSFERRINA POR ENDOCITOSIS.

RECEPTOR DE TRANSFERRINA 2 (Tfr2): SENSOR DEL NIVEL DE SATURACIÓN DE TRANSFERRINA.

PROTEÍNA REGULADORA DEL HIERRO 1 Y 2 (IRP1/IRP2): PROTEÍNAS SENSORAS DEL BALANCE DE HIERRO CELULAR. REGULAN CODIFICACIÓN GENES DEL HIERRO.

ELEMENTOS REGULADORES DEL HIERRO (IRE): NUCLEÓTIDOS QUE SE ENCUENTRAN EN REGIONES NO TRADUCIDAS DE RNAm.

TRANSPORTADOR DE METAL DIVALENTE 1 (DMT1): PROTEÍNA IMPORTADORA DE HIERRO EN LA MEMBRANA APICAL DEL ENTEROCITO DUODENAL.

FERROPORTINA: PROTEÍNA EXPORTADORA DE HIERRO EN LA MEMBRANA LATEROBASAL DEL ENTEROCITO DUODENAL. PRESENTE TAMBIÉN EN LA MEMBRANA DE HEPATOCITOS, MACRÓFAGOS, CÉLULAS DE KUPFFER Y CÉLULAS PLACENTARIAS.

HEFAESTINA: PROTEINA SIMILAR CERULOPLASMINA CON ACTIVIDAD FERROXIDASA. ASISTE EN LA EXPORTACIÓN DEL HIERRO DESDE LOS ENTEROCITOS Y SU UNIÓN A Tf.

HFE: GEN DE LA FORMA COMÚN HH.

HEMOJUVELINA: PROTEINA SOLUBLE CODIFICADA POR HFE2. CO— RECEPTOR DE PROTEÍNAS MORFOGENÉTICAS DEL HUESO (BMP). REGULA PRODUCCIÓN HEPCIDINA.

HEPCIDINA: HORMONA Y REGULADOR PRINCIPAL DEL METABOLISMO FÉRRICO. CONOCIDA TAMBIÉN COMO PEPTIDO ANTIMICROBIANO HEPCIDINA (HAMP).

Tabla 1: Metabolismo del hierro: proteínas clave

2.1.2. Sobrecarga férrica

La sobrecarga de hierro hepática consiste en un acúmulo de hierro anormal y excesivo a nivel intracelular en hepatocitos, células de Küpffer, o en ambas, como partículas de ferritina o como agregados de hemosiderina. La sobrecarga férrica puede ocurrir de un modo selectivo en el hígado pero generalmente suele ser un proceso sistémico que afecta también a órganos extrahepáticos (21-25).

Aunque el organismo es capaz de regular la absorción intestinal de hierro, el cuerpo no tiene un mecanismo para regular la eliminación del hierro. Por ello, un aporte aumentado de hierro lleva a una sobrecarga sistémica de hierro. Si esta se mantiene en el tiempo, la sobrecarga sobrepasa la capacidad de depósito de la ferritina y el hierro libre comienza a acumularse en las células del hígado u otros órganos afectados. Además, las moléculas de ferritina se agrupan en el citoplasma y dentro de los lisosomas de las células afectas. Parte de la ferritina se desnaturaliza para formar agregados insolubles de hemosiderina. Por lo tanto, en condiciones normales, el hierro se almacena principalmente como moléculas de ferritina en el citoplasma, pero, al ocurrir una situación de sobrecarga férrica, el hierro se almacena no solo así sino también como agrupamientos citoplásmicos de ferritina, grupos lisosomales de hemosiderina, y agregados insolubles de hemosiderina. El "pool" funcional de hierro se mantiene sin resultar afectado. El hierro libre intracelular reacciona con peróxidos de hidrógeno y lipídicos y genera radicales tóxicos que atacan membranas celulares, proteínas celulares, y ácidos nucleicos. El daño, si se mantiene en el tiempo, lleva a una fibrosis progresiva y a una disfunción orgánica. Las manifestaciones clínicas dependen del patrón y de la severidad

de la afectación orgánica, lo que a su vez depende de la vía de adquisición y de la causa de la sobrecarga férrica. (21)

2.1.2.1. Hierro y fibrosis hepática. Cuánto hierro es demasiado.

El exceso de hierro que es absorbido en la HH es depositado predominantemente en las células parenquimatosas del hígado y, como tal, es este órgano el que resulta más afectado. El hígado contiene aproximadamente el 70% del hierro total del organismo y es el lugar más importante de almacenamiento de hierro del organismo (21). En adultos normales, la concentración de hierro hepática (CHH) normal varía entre 10 y 36 $\mu\text{mol/g}$ de tejido seco hepático (19). En pacientes con HH, estas cifras pueden llegar hasta valores de 1000 $\mu\text{mol/g}$. Incluso valores mayores se pueden encontrar en formas más severas de sobrecarga férrica (34). Valores por encima de 80 $\mu\text{mol/g}$ son altamente sugestivos de HH (7). El índice de hierro hepático (IHH) se obtiene al dividir la CHH por la edad del paciente. Un valor de IHH $\geq 1,9$ se considera indicativo de HH (1,12).

Cuando la CHH alcanza los 60 $\mu\text{mol/g}$ de tejido seco, o aproximadamente dos veces el límite alto del rango normal, aparecen los primeros signos de activación de las células estrelladas hepáticas (34,35). Estas células no parenquimatosas son las principales productoras de colágeno en el hígado y, en condiciones de daño crónico hepático, son las principales responsables de la fibrosis hepática (36). Al ir aumentando la CHH en los pacientes con HH, la fibrosis se establece. Diversos estudios han determinado una CHH aproximada de 250 $\mu\text{mol/g}$ para predecir la presencia de cirrosis en la HH. A pesar de que

el quitar el exceso de hierro mediante flebotomías puede llevar a revertir la fibrosis y a la pérdida de células estrelladas activadas, se consideraba históricamente que el daño que causa una cirrosis que es permanente. Hoy en día, se sabe que puede no serlo, y que tras sangrías la cirrosis podría llegar a revertir (34,37).

2.2. Hemocromatosis hereditaria. Un problema de salud pública.

El descubrimiento en 1996 del principal gen responsable de la HH ha permitido reconsiderar las afirmaciones clásicas sobre la enfermedad, en particular, en el terreno epidemiológico (3).

Ser portador de las mutaciones en el gen HFE no significa que se va obligatoriamente a desarrollar una sobrecarga férrica o una hemocromatosis severa. En efecto, algunos homocigotos C282Y persisten asintomáticos durante toda su vida. El porcentaje de homocigotos C282Y que desarrollarán la enfermedad constituye lo que se ha denominado en genética “la penetrancia genética”. Su cálculo se lleva a cabo dividiendo el número de enfermos diagnosticados entre el número de sujetos homocigotos C282Y. Ciertos autores estiman que solamente el 1% de los homocigotos C282Y expresarán la enfermedad, por lo que la penetrancia sería muy débil. En cambio, otros autores consideran que podría alcanzar cifras entre el 30-60%. Estas discordancias se explican, en parte, por los criterios utilizados para el diagnóstico. La diferencia es importante, en efecto, según nos fijemos en la expresión bioquímica o clínica de la enfermedad. En la HH, la expresión bioquímica parece importante, teniendo la mayoría de los homocigotos C282Y una elevación del índice de saturación de transferrina (IST) y de la ferritina sérica (FS). En cambio, la afectación clínica, y sobre todo las formas más graves, cirrosis, son más infrecuentes (24).

Nos faltan los datos epidemiológicos precisos para poder calcular exactamente la penetrancia de la HH. No se conocen las causas precisas de la variable expresión de la HH en personas que tienen un mismo genotipo HFE, pero existen varias hipótesis al respecto:

-genes modificadores: factores genéticos que agravan o atenúan la expresión clínica;

-factores ambientales: por ejemplo, papel nocivo del alcohol o de los virus de las hepatitis.

Los heterocigotos compuestos, C282Y/H63D, tienen una expresión clínica generalmente menos severa y este genotipo tiene una penetrancia más débil que la de la homocigosis C282Y. Lo mismo ocurre con los homocigotos H63D (38).

2.2.1. Despistaje-cribado de la HH

Los conocimientos actuales sobre la frecuencia real y la penetrancia de la HH no permiten dar una respuesta unívoca a la cuestión del cribado. Con los datos disponibles hoy en día, no se recomienda un cribado sistemático de la población general. Se recomienda el despistaje familiar en familiares de primer grado y en situaciones de riesgo (situaciones clínicas sugestivas de sobrecarga férrica), como pacientes en los que se ha puesto en evidencia signos clínicos o analíticos de sobrecarga férrica. El cribado dirigido podría tener cierta razón de ser en grupos étnicos de más riesgo, como varones de origen norte Europeo. También otros grupos de riesgo que deben ser estudiados incluyen pacientes con analítica hepática alterada, diabetes mellitas tipo I de instauración tardía. En el momento actual no hay evidencia suficiente para justificar el cribado en la diabetes mellitus tipo II ni en la artropatía. (24,39).

El despistaje de la HH se lleva a cabo mediante un test genético, gen HFE, pero también mediante una simple analítica de bioquímica sanguínea:

determinar el IST. Este test no es específico de HH, ya que otras patologías pueden provocar también su elevación, pero es muy sensible.

2.3. Historia natural de la hemocromatosis hereditaria

La hemocromatosis hereditaria (HH) comprende un grupo de enfermedades que pueden ocasionar una sobrecarga progresiva de hierro que produzca una cirrosis hepática, carcinoma hepatocelular, diabetes mellitus, hipogonadismo hipogonadotrofo, artropatía, y cardiomiopatía. La mayoría de los casos de HH están producidos por mutaciones genéticas en el gen *HFE* y son frecuentes en poblaciones cuyo origen procede del norte de Europa. La penetrancia clínica y bioquímica es altamente variable. La HH afecta aproximadamente a 1 de cada 200 personas de origen norte Europeo, con más del 90% de los casos ocasionados por la mutación C282Y en homocigosis del producto del gen *HFE*. La variabilidad de la historia natural y la presentación más temprana de la enfermedad en nuestros días, son debidas a interacciones genéticas y ambientales combinadas con una identificación y diagnóstico más tempranos (22, 40).

2.3.1. Historia de la HH

La relación entre la sobrecarga férrica y la cirrosis hepática fue descrita por vez primera en 1865 por Trousseau. El término “hemocromatosis” fue introducido en la literatura médica por el patólogo alemán von Recklinghausen en 1889, que fue el primero en documentar la unión entre la hemocromatosis y la sobrecarga férrica. En 1935 Sheldon describió la naturaleza multivisceral del

síndrome y el probable papel del hierro entre sus causas, y especuló que se trataba de un trastorno del metabolismo hereditario recesivo. En 1975 fue cuando se demostró definitivamente que se trataba de un trastorno hereditario autosómico recesivo asociado al complejo mayor de histocompatibilidad (HLA), localizado en el cromosoma 6, por Simon y cols. A partir de entonces, los estudios poblacionales, la determinación del HLA, y el cribado cuidadoso familiar contribuyó a incrementar el número de casos detectados, proporcionando una incidencia del 0.3%-1.2% en población blanca. Casi todos los cirróticos padecían cansancio, letargia, y pérdida de la libido. Las manifestaciones extrahepáticas como las cardíacas y endocrinas, eran también más frecuentes en los cirróticos. Niederau y cols. observaron un exceso de mortalidad por cáncer de hígado (ratio de mortalidad 119), diabetes mellitus (ratio 14), cardiomiopatía (ratio 14), y cirrosis (ratio 10). Sin embargo, los no diabéticos ni cirróticos tenían una esperanza de vida similar al de la población general.

En 1996 tiene lugar un descubrimiento revolucionario en la historia de esta enfermedad, al identificar Feder y cols. (3) en el cromosoma 6 el gen candidato de provocar la HH, el gen *HFE*. Se identificaron dos mutaciones frecuentes en el producto del gen: una sustitución de una tirosina por una cisteína en el aminoácido 282 (C282Y), y un aspartato sustituido por una histidina en el aminoácido 63 (H63D). En la HH típica, la homocigosis para C282Y se observó en el 85-90% de los pacientes de descendencia norte Europea, mientras que en el sur de Europa hasta un 30% de los casos eran heterocigotos o tipo salvaje (wt) para esta mutación.

2.3.2. Etapas o estadios de la enfermedad

Con la reciente clonación del gen *HFE*, la mayoría de los casos se diagnostican en un estadio temprano de la enfermedad, frecuentemente antes incluso de que exista evidencia clínica o bioquímica de desarrollo de la misma. El desarrollo de la enfermedad tiene cinco etapas, con variable duración y no siempre progresa.

Etapa 0: Predisposición genética. No anomalías.

Etapa 1: Predisposición genética a sobrecarga férrica: No anomalías salvo elevación de la saturación de transferrina sérica.

Etapa 2: Sobrecarga férrica asintomática: sobrecarga parenquimatosa de hierro entre 0-5 gramos.

Etapa 3: Síntomas tempranos de sobrecarga férrica: letargia, artralgias.

Etapa 4: Sobrecarga férrica con daño orgánico: cirrosis, diabetes mellitus, artritis destructiva, cardiomiopatía, hipogonadismo hipogonadotrofo.

Tabla 2: Estadios o etapas en el desarrollo de la enfermedad en la HH.

Por lo tanto, es deber de los clínicos el diagnosticar y hacer cribado adecuadamente para descubrir a los pacientes en las etapas 1-3, antes de que se desarrolle el daño orgánico final.

2.3.3. Prevalencia y penetrancia en la HH

La verdadera prevalencia y penetrancia de la HH ha conllevado mucho debate.

La prevalencia depende de cómo se definen los casos y de que tests

diagnósticos son utilizados. Los estudios previos a 2006 demostraban una expresión bioquímica y clínica altamente variable. A partir de 2005, se comenzaron a realizar estudios longitudinales para la determinación de la expresión clínica de la HH. El más notable de los estudios procede de Australia, y en él se encontró una penetrancia bioquímica (ferritina sérica elevada) elevada en homocigotos C282Y (84% hombres, 65% mujeres). El 37% de los hombres y el 3% de las mujeres homocigotos C282Y tenían cifras de ferritina superiores a 1000 µg/L.

En pacientes sin tratamiento, tras 12 años de seguimiento, menos del 50% en hombres y del 20% en mujeres con homocigosis C282Y, presentaban ferritina mayor de 1000 µg/L si sus niveles basales al inicio eran menores de 1000 µg/L. Si el valor de ferritina al inicio era normal con una edad de 55 años, menos del 15% progresaban a mayor de 1000 µg/L tras 12 años. De todos estos datos se infiere que la mayoría de los homocigotos C282Y que podrían desarrollar enfermedad por sobrecarga de hierro, lo han tenido que hacer antes de cumplir los 55 años. La enfermedad por sobrecarga de hierro estaba presente en el 28% de los hombres y en el 1% de las mujeres a la edad de 65 años. El riesgo de enfermedad por sobrecarga férrica debida a la mutación C282Y/H63D fue insignificante salvo que se asociase a otros factores de riesgo de enfermedad hepática (alcohol, esteatosis, virus, etc.).

2.3.4. Factores ambientales y genéticos

Los factores ambientales y genéticos modifican la penetrancia de la enfermedad.

Existen factores ambientales que pueden acelerar la sobrecarga de hierro como el consumo excesivo de alcohol y la ingesta de carne en mujeres postmenopáusicas. En cambio, el no consumo de cítricos podría conferir cierta protección contra la sobrecarga de hierro. El alcohol es un cofactor muy potente que acelera el desarrollo de daño hepático en la HH. Si concurren hepatitis virales y esteatosis hepática, el riesgo de lesión hepática se ve aumentado en pacientes con sobrecarga férrica. Algunos haplotipos HLA (HLA-A*03,B*14) pueden otorgar una mayor supervivencia en homocigotos C282Y debido a una más temprana edad de diagnóstico y a un fenotipo de sobrecarga férrica menos grave.

Las mutaciones en el gen HFE también se han visto implicadas como factores de riesgo de malignidad. La homocigosis H63D provoca un incremento en tres veces del riesgo en incidencia y edad más temprana de aparición de cáncer colorrectal en portadores de la mutación del gen MMR. La homocigosis C282Y dobla el riesgo de padecer cáncer de mama en mujeres y de cáncer de colon en ambos géneros. Además, recientemente se ha demostrado que este riesgo disminuye en aquellos pacientes que son sometidos a flebotomías periódicas frente a los que no reciben sangrías. Existe en la actualidad un creciente interés en el papel del hierro en las neoplasias y en el potencial papel beneficioso de las flebotomías para disminuir el riesgo, fundamentalmente del cáncer colorrectal (41,42).

2.4. Variantes de hemocromatosis hereditaria

La hemocromatosis hereditaria (HH), la forma más clásica y causa más frecuente de sobrecarga férrica de origen genético, se creyó que era debida

únicamente a mutaciones en un único gen clonado en 1996, el HFE. Sin embargo, ha sido evidente que otras entidades genéticas pueden causar cuadros clínicos idénticos al provocado por el gen HFE defectuoso. El número de estos genes/proteínas ha aumentado de forma espectacular durante los últimos años (43,45,46). Las nuevas variantes genéticas han sido denominadas cronológicamente, y la clasificación actual es la que viene recogida en el OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) (43).

2.4.1. Hemocromatosis hereditaria tipo I

-Hemocromatosis Hereditaria tipo I (OMIM 235200): trastorno clásico del gen *HFE* asociado con mutaciones en el mismo, siendo las más conocidas las C282Y y H63D. Es una enfermedad autosómica recesiva con una prevalencia estimada en la población de 2 por cada 1000 personas de raza caucásica, con una menor incidencia en otras razas. El gen se localiza en el cromosoma 6p21.3; la mayor parte de los pacientes con HH tienen esta mutación.

2.4.2. Hemocromatosis hereditaria tipo IIA

-Hemocromatosis Hereditaria tipo IIA (OMIM 608374/602390): también conocida como hemocromatosis juvenil (HJ). Autosómico dominante. Es una forma rara y más grave de la enfermedad que ocurre antes de los 30 años, ocasionada por mutaciones en el gen de la hemojuvelina (*HJV*) localizado en el cromosoma 1q21 (47,48).

2.4.3. Hemocromatosis hereditaria tipo IIB

-Hemocromatosis Hereditaria tipo IIB (OMIM 606464/602390): Autosómico dominante. Es una forma incluso más grave que la anterior, ocasionada por mutaciones en el gen *HAMP* localizado en el cromosoma 19q13, que codifica la proteína-hormona hepcidina, fundamental en la homeostasis del hierro en

nuestro organismo. La sobrecarga de hierro, en condiciones normales, ocasiona un incremento de hepcidina para disminuir su absorción. Aquí, ocurre todo lo contrario, y el exceso de hierro provoca una disminución en la expresión de la hormona (49).

La HH tipo 2 a y b producen una sobrecarga férrica masiva, afectando específicamente al corazón y a las glándulas endocrinas, y se expresa fundamentalmente en individuos menores de 30 años, con fallo cardiaco y/o hipogonadismo hipogonadotropo (47). El tratamiento requiere flebotomías de repetición, posiblemente combinado con quelantes orales. Los test genéticos no están disponibles de rutina, pero sirven para diagnosticar mutaciones en el gen HAMP o HJV, en homocigosis o en heterocigosis compuesta.

2.4.4. Hemocromatosis hereditaria tipo III

-Hemocromatosis Hereditaria tipo 3 (OMIM 606250/604720): es una enfermedad autosómica recesiva causada por mutaciones en el gen del receptor 2 de la transferrina (*TfR2*) localizado en el cromosoma 7q22, y que codifica la proteína *TfR2*. Al estar la *TfR2* mutada, la producción de hepcidina hepática disminuye, lo cual conlleva a un exceso de hierro corporal. La clínica asemeja a la de la HH tipo 1, pero se han descrito casos en pacientes jóvenes que asemejan a la hemocromatosis juvenil. Se diagnostica mediante test genético (50, 51).

2.4.5. Hemocromatosis hereditaria tipo IV

-Hemocromatosis Hereditaria tipo 4 (OMIM 606069/604653): Conocida como enfermedad de la ferroportina. Autosómica dominante, causada por dos mutaciones en el gen *scl40A1*, o gen de la ferroportina, que codifica la forma hepcidin-resistente (C326S) de la proteína transportadora de metales

ferroportina. La enfermedad de la ferroportina típica (pérdida de la función ó 4A) es la forma más frecuente forma de sobrecarga férrica genética no HFE. Se debe a mutaciones que afectan a la capacidad exportadora de hierro. El perfil “pérdida de función” provoca predominantemente una sobrecarga férrica en los macrófagos, con hierro sérico normal o bajo (y saturación de transferrina). Los niveles de ferritina son frecuentemente altos (>1000microg/L) contrastando con valores de hierro y transferrina normales o bajos. La RMN muestra un exceso de hierro en el bazo con una relativamente menor sobrecarga férrica hepática. Los síntomas clínicos son raros y la enfermedad parece no tener morbilidad significativa en el momento del diagnóstico en ausencia de cofactores adquiridos o genéticos. Los test genéticos no se encuentran disponibles de rutina. Las flebotomías son la base del tratamiento pero, suelen ser peor toleradas que en los casos de HH 1-3. La enfermedad de la ferroportina atípica, 4B, “ganancia de la función”, es rara y al generar un fenotipo resistente a la hepcidina asemeja a la HH tipo 1. Se han descrito varias mutaciones asociadas con este fenotipo (52-54).

2.4.6. Síndrome catarata-hiperferritinemia

-Síndrome catarata-hiperferritinemia (OMIM 134790): es una rara enfermedad autosómica dominante causada por mutaciones en el gen de la ferritina subunidad-L, L-ferritina, localizada en el cromosoma 19q13, que codifica la proteína elemento hierro-respondedora (IRE), que provoca una elevada ferritina sérica sin sobrecarga de hierro (55).

2.4.7. Aceruloplasminemia hereditaria

-Aceruloplasminemia hereditaria (OMIM 604290/117700): es rara pero ampliamente distribuída, autosómica recesiva, causada por una mutación en el

gen de la ceruloplasmina, localizado en el cromosoma 3q23-24. El cobre juega un importante papel en la homeostasis del hierro, siendo hierro y cobre altamente interactivos en los enterocitos, en las células de depósito en hígado y en las células eritroides donde se produce la hemoglobina (56).

2.4.8. Atransferrinemia hereditaria

-Atransferrinemia hereditaria: rara enfermedad autosómica recesiva que afecta a jóvenes. Provoca una anemia severa asociada con sobrecarga celular de hierro, que es debida al hierro no unido a transferrina (non transferrin bound iron-NTBI-) plasmática debido a que la transferrina está ausente. No se detecta la transferrina en plasma (57).

2.4.9. Sobrecarga férrica asociada al Gen DMT1

-Sobrecarga férrica asociada al gen DMT1 (Transportador 1 de metal divalente):

Esta proteína interviene no solo en la captación del hierro por la membrana apical de los enterocitos, sino también en la liberación del hierro desde los acidificados endosomas hacia el citosol. Enfermedad rara, recesiva, por afectación del gen SLC11A2 que codifica la DMT1. Provoca anemia macrocítica presente desde el nacimiento, refractaria a suplementos orales de hierro y que cursa con sobrecarga férrica visceral con elevación leve de la ferritina sérica (58).

2.4.10. Anemias sideroblásticas genéticas

-Anemias sideroblásticas genéticas:

Se caracterizan por acúmulo de hierro en las mitocondrias perinucleares de los eritroblastos y combinan anemia macrocítica con exceso de hierro. Genes ALAS2, ABCB7, SLC25A38, GLRX5, etc. (44, 59, 60).

MUTACIONES HFE:

HEMOCROMATOSIS GENÉTICA TIPO I, HOMOCIGOSIS C282Y, HETEROCIGOSIS COMPUESTA C282Y/H63D, HOMOCIGOSIS H63D.

MUTACIONES NO HFE:

HEMOCROMATOSIS JUVENIL (TIPO 2), 2A MUTACIONES HJV. 2B MUTACIONES HEPCIDINA (HAMP)

HEMOCROMATOSIS TIPO 3 :RECEPTOR 2 DE TRANSFERRINA (TfR2).

HEMOCROMATOSIS TIPO 4: MUTACIONES GEN FERROPORTINA.

OTRAS:

SÍNDROME CATARATA-HIPERFERRITINEMIA.

ATransferrinemia hereditaria.

Aceruloplasminemia hereditaria.

Sobrecarga férrica asociada al gen DMT-1.

Anemias sideroblásticas genéticas.

Tabla 3: Clasificación de sobrecarga férrica y hemocromatosis hereditarias.

2.5. Sobrecarga férrica secundaria o adquirida

Existen otras enfermedades hereditarias que provocan también sobrecarga férrica, bien junto a anemia, como la talasemia mayor, la anemia sideroblástica o la anemia hemolítica crónica (anemia de células falciformes); también existen enfermedades adquiridas, bien por hábitos dietéticos, como la sobrecarga férrica dietaria africana, o bien por múltiples transfusiones sanguíneas (sobrecarga férrica parenteral) (21).

2.5.1. Talasemias

-Talasemias: Son trastornos genéticos en la síntesis de hemoglobina que impiden al cuerpo producir hemoglobina y eritrocitos suficientes. Las talasemias son prevalentes en personas de origen Mediterráneo. La transfusión crónica de sangre les mantiene en vida pero causa un progresivo acúmulo de hierro en el sistema retículoendotelial. Los pacientes con talasemia mayor y otras anemias transfusión dependientes reciben 0.4 mg/kg/d de hierro hemo, de 10 a 50 veces la tasa fisiológica de absorción de hierro. Sin una terapia agresiva de quelación del hierro, los pacientes fallecen por disfunción endocrina y cardiaca en la segunda década de la vida. El hierro se acumula preferentemente en las células de Kupffer antes que en los hepatocitos. La enfermedad hepática causada por sobrecarga férrica causa morbilidad pero la muerte por cirrosis hepática es rara.

2.5.2. Anemia de células falciformes

-Anemia de células falciformes: Es un trastorno sanguíneo común de origen genético, con elevada prevalencia en Afro-Americanos. Aunque se asocia con anemia, la eritropoyesis es virtualmente normal y no suele haber un incremento de absorción intestinal de hierro. Por ello, si los pacientes con esta enfermedad

no son transfundidos, no suelen tener sobrecarga férrica. Sin embargo, las transfusiones recibidas durante las crisis hemolíticas para aliviar los síntomas, pueden provocar sobrecarga de hierro.

2.5.3. Otras causas de sobrecarga férrica

-Otras causas de sobrecarga férrica:

Son pacientes en hemodiálisis, con enfermedades hepáticas crónicas (Hepatitis C, alcohol, esteatohepatitis no alcohólica, porfiria cutánea tarda), síndrome dismetabólico, shunt porto-cava, sobrecarga férrica sub-sahariana, etc. La sobrecarga raramente alcanza el grado que se ve en la hemocromatosis (Tabla 4).

- TRASTORNOS HEMATOLÓGICOS:
ANEMIAS PROVOCADORAS SOBRECARGA FÉRRICA: TALASEMIA MAYOR, ANEMIA SIEROBLÁSTICA, ANEMIA HEMOLÍTICA CRÓNICA.
SOBRECARGA FÉRRICA POR APORTE PARENTERAL: TRANSFUSIONES.

- ENFERMEDAD HEPÁTICA CRÓNICA:
CIRROSIS EN ESTADIO FINAL. HEPATITIS C. ENFERMEDAD HEPÁTICA ALCOHÓLICA. ESTEATOHEPATITIS NO ALCOHÓLICA. SHUNT PORTO-CAVA.

- SÍNDROME DISMETABÓLICO
- SOBRECARGA FÉRRICA ALIMENTICIA (AFRICANA).
- SOBRECARGA FÉRRICA NEONATAL.

Tabla 4: Clasificación de sobrecargas férricas adquiridas (secundarias) y otras causas.

2.6. Cuantificación de la concentración de hierro hepático

La cuantificación de hierro hepático es muy importante (2,10). En la HH, la medición del contenido de hierro en hígado permite identificar los pacientes que requerirán flebotomías y ayuda a excluir enfermedad clínica en personas de riesgo para HH basada en estudios genéticos (23). La CHH también provee información diagnóstica importante en cuanto al riesgo de desarrollo de complicaciones hepáticas tales como fibrosis hepática y cirrosis. (2,21).

En la talasemia y otras anemias con sobrecarga de hierro, la CHH sirve de marcador indirecto del contenido corporal total de hierro (61). Se correlaciona de forma cercana con el hierro corporal total y supone el 98% de la variación en los depósitos totales de hierro (61). Por lo tanto, medir la CHH constituye un marcador disponible del hierro total corporal para guiar, monitorizar, y valorar el tratamiento. El hierro hepático también sirve como biomarcador pronóstico para complicaciones endocrinas y cardíacas en pacientes con talasemia. Pero no es un marcador perfecto. En las anemias con sobrecarga férrica, la mayor parte de las toxicidades ocurren en órganos extrahepáticos que cuentan sólo para una fracción del hierro corporal total. Además, las tasas de sobrecarga férrica y aclaramiento férrico en estas patologías son órgano-dependientes; por ello, la CHH puede no reflejar el contenido férrico en órganos diana como el corazón, hipófisis, y páncreas. Valores elevados en la CHH conllevan un riesgo pronóstico, pero valores bajos de CHH no descartan sobrecarga férrica en miocardio o en otros tejidos diana específicos. Finalmente, la relación entre la CHH con la del hierro corporal total depende de la etiología y de la vía de adquisición de la sobrecarga férrica: el hierro preferentemente se acumula en el hígado en pacientes con HH, especialmente al principio de la sobrecarga

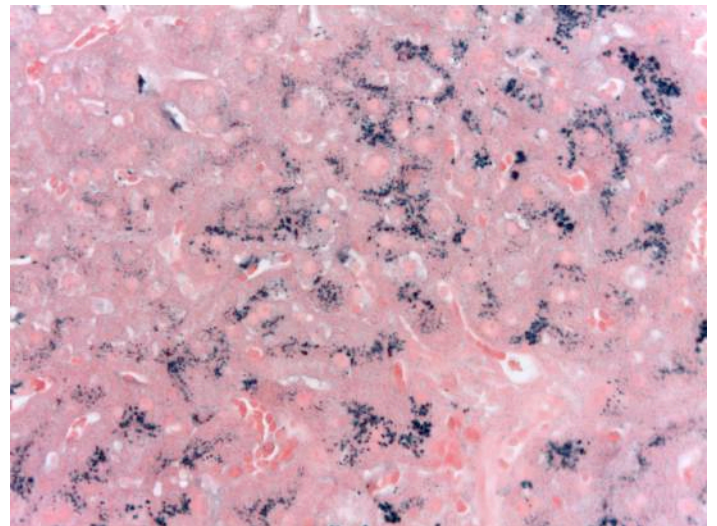
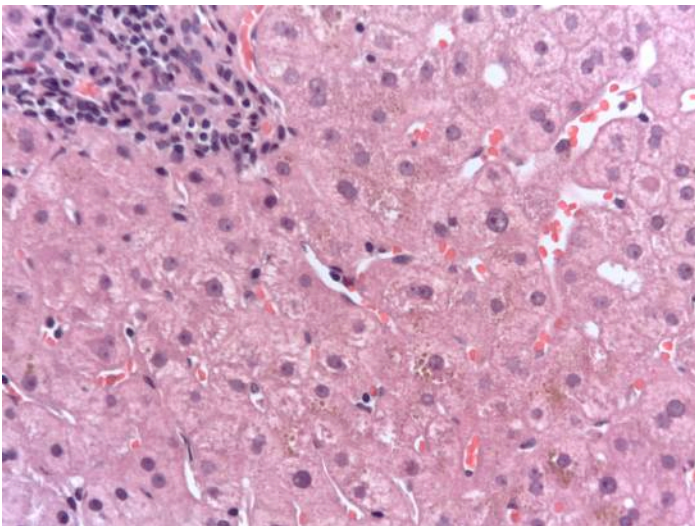
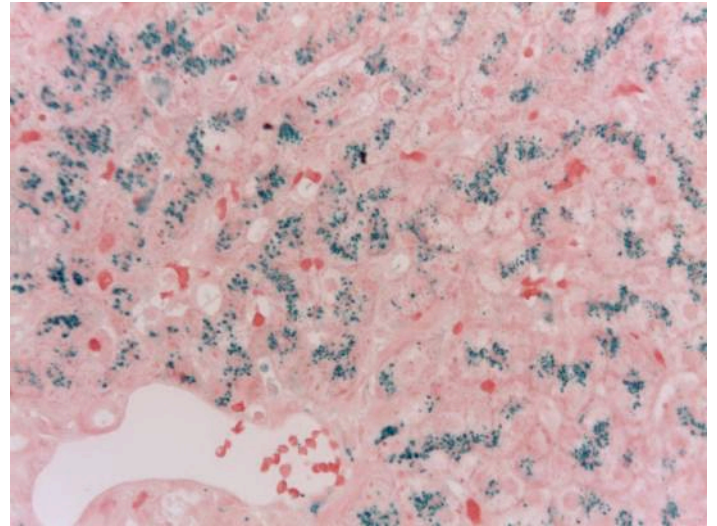
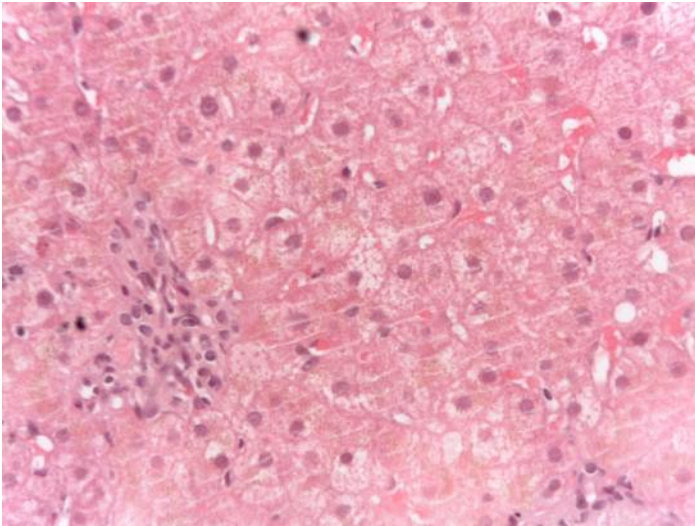
férrica, mientras que se acumula preferentemente a través de todo el sistema retículoendotelial (SRE) en anemias con sobrecarga férrica y otros procesos que requieren transfusiones recurrentes, resultando una fuente fundamental de aporte de hierro.

Al haberse reconocido también que la sobrecarga leve de hierro puede ser un cofactor en la progresión de las enfermedades hepáticas, la determinación de la CHH se considera ahora relevante en el manejo de enfermedades hepáticas crónicas, tales como las hepatitis virales, enfermedad hepática por alcohol, hígado graso no alcohólico (NAFLD), y porfiria cutánea tarda (21,62).

2.7. Métodos habituales para determinar la CHH

2.7.1. Biopsia hepática percutánea

-Biopsia Hepática Percutánea: El hígado es el tejido más fácilmente accesible en el que es posible determinar la presencia de sobrecarga de hierro. La biopsia hepática percutánea con visión histológica directa ha constituido, hasta fechas recientes, el patrón de referencia para el diagnóstico de la enfermedad hepática difusa, incluyendo la sobrecarga de hierro; esta situación está cambiando en la actualidad (2). El depósito de hierro se evalúa típicamente mediante una escala semicuantitativa que se basa en la tinción Azul Prusia (Perls) de los gránulos de hierro. El método utilizado de forma más corriente es de Rowe y cols. (63), basado en la detección de gránulos de hierro y las magnificaciones a las que estos discretos gránulos se resuelven. Se utiliza una escala de 5 puntos: desde 0 (gránulos ausentes/escasamente discernibles con aumento de 400); 1+ (gránulos de hierro discernibles tenuemente (x250); 2+ (gránulos de hierro discretos resueltos (x100); 3+ (gránulos discretos resueltos (x25); a 4+ (masas visibles/aumento de 10 o groseramente visibles). Este método es reproducible y ha sido correlacionado con éxito con la CHH, un método más preciso de medir hierro (Figuras 3a y 3b; Figuras 4a y 4b).



Las imágenes están tomadas con el objetivo de 40x, y por lo tanto una magnificación original 400x.

Figuras 3a y 3b: Figuras 3a (hematoxilina-eosina) y 3b (tinción de Perls). Tejido hepático de arquitectura conservada sin evidencia de cambios inflamatorios ni fibrosos tanto en los espacios portales como en el lobulillo hepático. Se observan gruesos depósitos granulares de pigmento parduzco (figura 3a) y naturaleza férrica (figura 3b), localizados en los hepatocitos preferentemente de la zona 1, con un patrón canalicular y un grado de afectación 3 sobre 4. (figuras superiores).

Figuras 4a y 4b: Figura 4a (hematoxilina-eosina) y 4b (tinción de Perls). Tejido hepático de arquitectura conservada con leve infiltrado inflamatorio crónico parcheado en los espacios portales que respeta la interlínea. El lobulillo hepático carece de cambios inflamatorios y fibrosis. Se observan depósitos de gruesos gránulos de pigmento parduzco (figura 4a) en el citoplasma de los hepatocitos periportales (área 1), de naturaleza férrica (figura 4b) y con un grado de afectación de 2 sobre 4.

Los hallazgos histológicos de estas biopsias son compatibles con hemocromatosis en un contexto clínico adecuado (figuras inferiores).

La medición directa del hierro en la biopsia hepática, determinando la CHH, hace necesaria la utilización de la espectrometría de absorción atómica, que se llevaba a cabo con frecuencia cuando se sospecha el diagnóstico específico de sobrecarga férrica o para monitorizar el tratamiento. En la HH la CHH puede variar desde el límite alto de la normalidad, 36 $\mu\text{mol/g}$, a valores 10 veces por encima de este límite. En las situaciones de sobrecarga férrica asociada con anemias que requieren transfusiones, la CHH puede exceder 20 veces el límite alto de la normalidad. La espectrofotometría de absorción atómica para determinar la CHH está disponible únicamente en centros especializados, pero afortunadamente, en nuestro medio se puede tener acceso a la misma. Es una técnica destructiva y el espécimen que se envía para análisis químico no puede evaluarse histológicamente. Es por ello que en estos pacientes hemos de obtener dos cilindros (uno para estudio de la CHH, otro para estudio histológico) o si el cilindro es suficientemente largo, seccionarlo por la mitad para ambos usos (7, 64).

La distribución del hierro en el hígado no se realiza de un modo uniforme, por lo que la medición de la CHH en las biopsias hepáticas están sujetas a errores de muestra. Es por ello que existe una amplia variación en los resultados. Los errores de muestra han mostrado que una única biopsia puede no diagnosticar cirrosis en el 10-30% de los pacientes e incorrectamente clasificar la fibrosis en al menos un estadio en el 20-30% (2). En un estudio, el coeficiente medio de variación de los valores de CHH en múltiples biopsias hepáticas fue del 19% en hígados sanos, subiendo hasta el 40% en hígados cirróticos (21). La biopsia conlleva el riesgo de complicaciones que pueden ocasionar la hospitalización del paciente (1-3%) y la muerte (1:1,000 a 1:10,000). Además, a veces, puede

no conseguir realizarse (21, 65). Los pacientes y las asociaciones de hemocromatosis, se muestran reticentes ante esta técnica invasiva (2).

En resumen, debido a su invasividad, discomfort, riesgo, y variabilidad del valor en las diferentes muestras, existe una urgente necesidad para conseguir métodos más precisos y seguros, no invasivos, para determinar el hierro en hígado.

Hoy en día, y gracias a los avances en el diagnóstico de la HH, con el descubrimiento del gen HFE (3) y de métodos no invasivos para medir la CHH (6), la biopsia hepática no debería jugar un papel primario en el diagnóstico de la HH(23). (Figura 5).

En los pacientes con alta sobrecarga férrica (ASF) o HH, la biopsia hepática se realiza hoy en día en tres situaciones:

1. determinar el pronóstico de la enfermedad, calculando el grado de fibrosis en la muestra de tejido hepático; una ferritina sérica $> 1,000 \mu\text{g/L}$, AST elevada, y plaquetas $< 200,000/\mu\text{L}$ se consideran marcadores de fibrosis avanzada y recomienda la realización de la prueba.
2. diagnosticar la presencia de otras enfermedades que pueden cursar con sobrecarga de hierro, como enfermedad hepática alcohólica, esteatohepatitis no alcohólica (NASH), y determinar su severidad. Cuando hay una patología coexistente la biopsia hepática puede ayudar a clarificar la causa principal de la enfermedad del hígado;
3. identificar lesiones preneoplásicas, incluyendo nódulos sin hierro y nódulos displásicos (2).

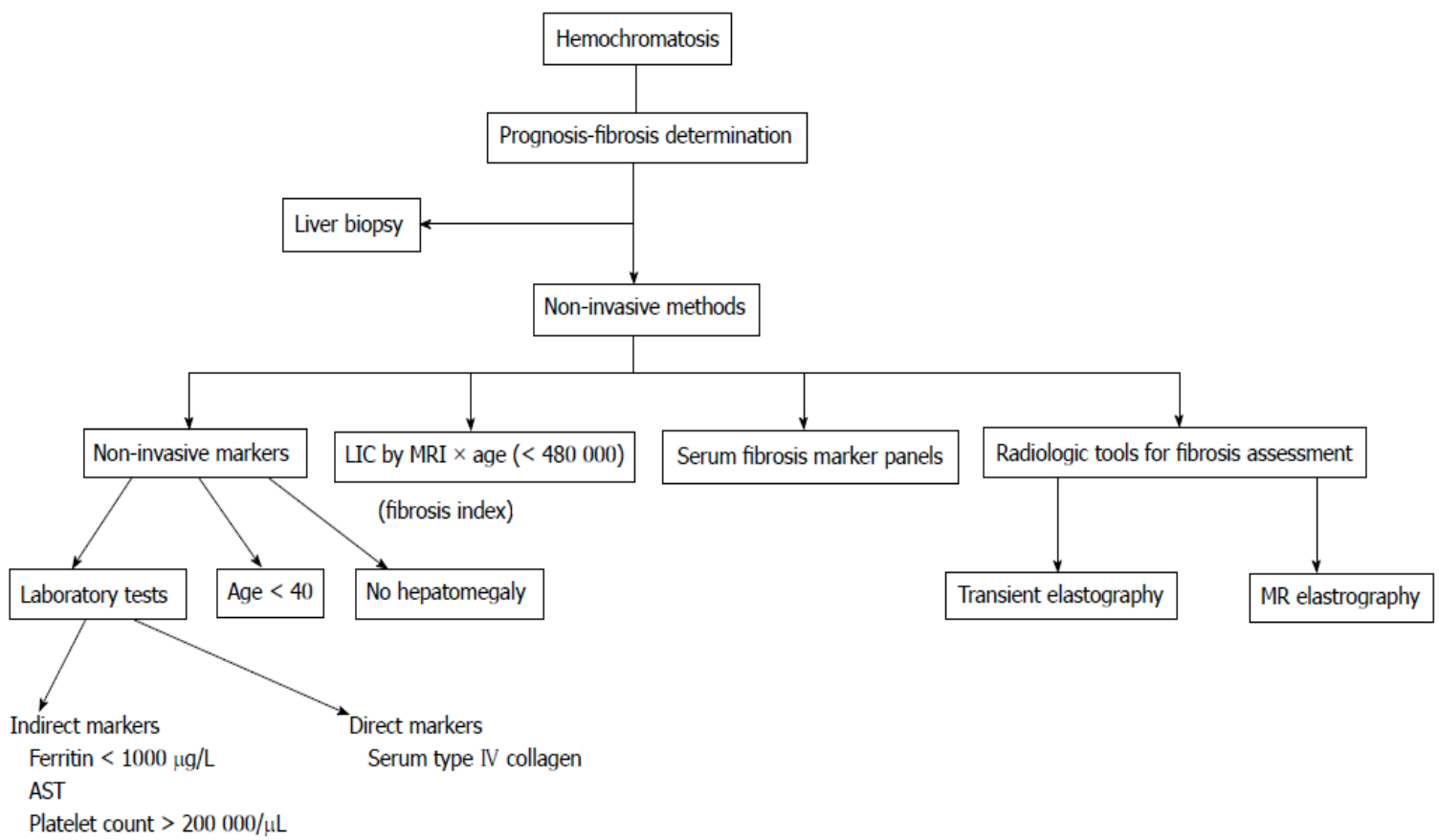


Figura 5: Algoritmo diagnóstico de la HH mediante métodos no invasivos.

Publicado en: World J Hepatol 2010; 2: 251-255.

2.7.2. Flebotomías cuantitativas

-Flebotomías cuantitativas: Se mide la cantidad de hierro que es retirada mediante las sangrías. Este método puede determinar los depósitos corporales totales (61), pero no puede usarse en los pacientes transfusión-dependientes (secundarias) con sobrecarga férrica y se acepta generalmente sólo si el procedimiento aporta beneficio terapéutico (21). Por cada 500ml de sangre extraída se retiran 250 mg de Fe (1, 21-22).

2.7.3. Ecografía

-Ecografía: El depósito de hierro no es visible mediante ecografía. Solo útil para determinar las secuelas, tales como la cirrosis o la hipertensión portal (21).

2.7.4. TAC

-TAC: La TAC ha sido utilizada para la detección cualitativa de la sobrecarga férrica en la HH y en la hemosiderosis. La sobrecarga férrica incrementa la atenuación en todo el hígado a través de la absorción de rayos-x por el hierro. Existen muchos factores de confusión, incluyendo la esteatosis, que pueden alterar la atenuación y la TAC no resulta un método útil para la detección y cuantificación de la sobrecarga férrica (66).

2.7.5. Espectroscopia por resonancia magnética (MRS)

-Espectroscopia por Resonancia Magnética (MRS): La MRS puede utilizarse para determinar hierro hepático. Wang y cols. desarrollaron una secuencia de MRS multi-eco. Los valores T2 de relajación mostraron una elevada correlación con los correspondientes valores de CHH en humanos. Aunque el método resulta prometedor, la utilización de MRS para determinar la CHH tiene las mismas limitaciones que la determinación de grasa hepática (67).

2.7.6. Susceptometría

-Susceptometría: La susceptometría hepática de hierro utilizando un SQUID (superconducting quantum interferente device) se considera como la técnica no invasiva más precisa para determinar la CHH. El tejido hepático normal es diamagnético y tiene una susceptibilidad similar a la del agua. En presencia de hierro, la susceptibilidad del hígado se modifica. El instrumento mide la variación de campo magnético producida fuera del cuerpo adyacente al hígado en respuesta a un campo magnético externo. La variación de campo magnético es directamente proporcional al acúmulo de hierro hepático. Aunque el SQUID ha sido calibrado, validado, y utilizado en estudios clínicos, su complejidad, alto costo, y limitada disponibilidad (4 máquinas en el mundo) hacen imposible una amplia implementación. Además, solo determina la CHH, no en otros órganos (10, 21).

Los susceptómetros de temperatura ambiente han demostrado, recientemente, su utilidad para medir la CHH y resultan de un menor coste. Ello permitirá una mayor difusión de los mismos en un próximo futuro (68).

2.7.7. Resonancia magnética nuclear (RMN)

-Resonancia Magnética Nuclear (RMN): La RMN ha sido utilizada para detectar el hierro hepático desde hace más de 25 años (21, 53, 69, 70). La imagen por RMN no da una imagen directa del hierro pero en cambio detecta el efecto del hierro en los protones del agua en el tejido de interés. Las bases de utilizar la imagen RMN para la detección de hierro es que el hierro acelera la relajación T2 y la señal T2* decae, causando por lo tanto en las imágenes de RMN una pérdida de señal en T2W (ponderada) spin-eco/spin-eco rápido y T2*W eco-gradiente.

El patrón de afectación del órgano suele reflejar la etiología. En pacientes con HH, hay una afectación primordial del hígado, páncreas, y corazón, con respeto de órganos reticuloendoteliales extrahepáticos (bazo, médula ósea, ganglios linfáticos). En cambio, en la talasemia y otras anemias transfusión-dependientes, se afecta principalmente al SRE (hígado, bazo, médula ósea, ganglios linfáticos). La afectación de páncreas, corazón, y otros órganos no pertenecientes al SRE ocurre cuando la capacidad de almacenamiento del mismo ha sido superado (21).

Diferentes técnicas y modelos (10, 71-75): La relaxometría T2 es, hoy en día, el mejor método para cuantificar la CHH. Es precisa y reproducible en todos los niveles de sobrecarga férrica, y también permite medir la concentración de hierro en miocardio. Sin embargo, los modelos de relaxometría T2 no están todavía estandarizados, y existen considerables barreras para que puedan ser ampliamente utilizados ahora y en un futuro cercano. Por otra parte, los métodos SIR (ratio de señal de intensidad), aunque son menos precisos con los valores de $CHH > 350 \mu\text{mol Fe/g}$, se siguen utilizando con unos buenos resultados ya que tienen alta especificidad en todos los niveles de sobrecarga de hierro, han sido estandarizados, son reproducibles y, más importante todavía, se encuentran ampliamente disponibles a lo largo de todo el mundo (74).

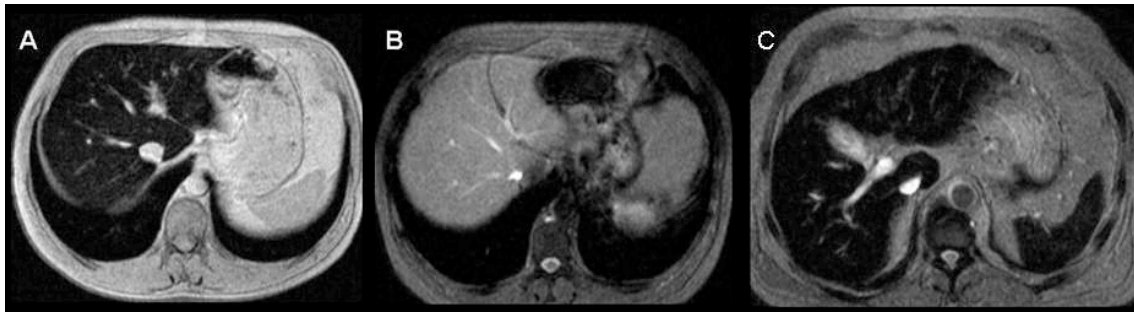


Figura 6. Cuantificación de la CHH mediante RM: A. HH. Sobrecarga férrica hepática. Importante reducción en la señal de intensidad del hígado; B. Tratamiento prolongado con sangrías: la señal de intensidad hepática es normal; C. Hemocromatosis secundaria: Reducción de la señal de intensidad en el hígado y el bazo (Reproducido con permiso de Radiologia 2008; 50: 29-36).

La técnica de la Resonancia Magnética (RM) ha sido evaluada en este sentido en múltiples trabajos de la literatura (6, 7, 10, 71-75). Esta técnica detecta indirectamente la sobrecarga férrica debido al efecto paramagnético de los depósitos de hierro en el parénquima hepático, que conlleva una disminución de la señal en la RM, proporcional a la importancia de la sobrecarga férrica (6,13-15).

La cuantificación de la concentración hierro en hígado (CHH) por MRI es un técnica no invasiva, utilizada en el diagnóstico de los pacientes con riesgo de sobrecarga férrica. Inició su andadura a finales de los 80 y uno de los trabajos fundamentales para la divulgación de la misma ha sido el del equipo de la Universidad de Rennes, Francia, liderado por el Dr Y. Gandon (75). Este equipo ha puesto a punto una técnica de MRI factible en cualquier máquina de 0.5, 1 o 1.5 teslas (T) y además ha desarrollado un modelo de cálculo por Internet, de acceso libre. Ambos aspectos, la metodología técnica y el modelo

de cálculo, son ampliamente utilizados en la práctica clínica y muchos trabajos utilizan los resultados obtenidos mediante este modelo como medida de referencia de la CHH. Está considerada como una técnica fiable para los valores de CHH inferiores a 350 micromoles y su sencillez y reproducibilidad hacen que sea interesante para la estandarización de la MRI como herramienta de cuantificación de la CHH.

Muchos trabajos publicados han demostrado la existencia de una correlación entre los valores de CHH y las medidas de RM (6,7,13-16). En los años 2004-2005 se han publicado 3 diferentes trabajos (6,7,16) que demuestran la utilidad de la RM para la cuantificación de la CHH. Los 3 estudios muestran una alta correlación entre la CHH estimada por RM con la cuantificada por biopsia hepática. Uno de estos trabajos establecen niveles de corte muy interesantes para la práctica clínica: un valor predictivo negativo (VPN) del 100% para alta sobrecarga férrica hepática con cuantificaciones por RM menores de 40 $\mu\text{mol/g}$ y un valor predictivo positivo (VPP) del 100% para cuantificaciones por RM $>85\mu\text{mol/g}$ (7).

Recientemente, se ha podido observar que existe una clara interferencia entre la sobrecarga hepática de hierro y la esteatosis (76). Al ser la esteatosis hepática frecuente, debemos sistemáticamente llevar a cabo la secuencia en fase T1W y en fase opuesta, para descartar hígado graso. Si se detecta una disminución en la intensidad de la señal en las secuencias en fase, deberemos realizar un estudio de CHH (77).

Es por ello que todas las secuencias para los estudios de CHH deben realizarse con secuencias en fase, para estar seguros de que la grasa no interfiera en las medidas de las señales de intensidad (77).

Generalizar la cuantificación de la CHH mediante RM requiere también evaluar la reproducibilidad de los modelos de cálculo en diferentes aparatos (7,10,78). En este sentido es muy interesante el protocolo diseñado por Gandon y cols., de la Universidad de Rennes, Francia (6). El protocolo contiene un abanico de secuencias en Eco de gradiente (EG) con TR fijo y TE y Flip angle variables de forma que va variando la ponderación T2 de las mismas y sean así sensibles a diferentes niveles de sobrecarga férrica. Además, en la página web, el Dr. Gandon (6, 79) ajusta las diferentes secuencias a máquinas de 0.5, 1 y 1.5 Teslas (Tabla 1) y ofrece la posibilidad de obtener automáticamente “on line” la cuantificación de la CHH usando su algoritmo de cálculo sin ningún coste económico (6).

A pesar del amplio uso de este modelo son muy pocos los trabajos que han comparado sus resultados con el patrón de referencia clásico para la cuantificación de la CHH, es decir la medición bioquímica de la misma sobre un fragmento de hígado biopsiado. Y sin embargo, toda prueba diagnóstica debe ser evaluada en distintos centros y se deben realizar trabajos para determinar con mayor exactitud el nivel de fiabilidad de la misma en las diferentes situaciones patológicas (80).

En nuestro conocimiento ningún trabajo ha evaluado este protocolo con máquinas de 1 Tesla en pacientes con hemosiderosis o hemocromatosis primaria.

Hipótesis de trabajo

3. Hipótesis de trabajo

La medición de la CHH utilizando la RM de 1-Tesla sobrevalora la misma cuando la comparamos con la obtenida mediante biopsia hepática.

Planteamiento

4. Planteamiento

Estudio observacional, con inclusión prospectiva de pacientes consecutivos, en los que se obtendrán y valorarán las imágenes de RM en todos los pacientes que hayan sido sometidos también a biopsia hepática para la determinación de la CHH.

Objetivos

5. Objetivos

5.1. Principal

Validar la eficacia diagnóstica de la Resonancia Magnética (RM) de 1 Tesla (1-T) para la cuantificación de la concentración hepática de hierro (CHH) y su capacidad de confirmar o descartar la presencia de sobrecarga hepática de hierro sugestiva de hemocromatosis, utilizando el algoritmo de la Universidad de Rennes, comparándola con la CHH obtenida mediante biopsia hepática.

5.2. Secundarios

1. Evaluar la utilidad de la determinación de la CHH mediante RM de 1,5 Tesla para la resolución de los casos no concluyentes, utilizando el método desarrollado por Alústiza y cols.
2. Comparar los resultados obtenidos en aquellos pacientes en los que, por no requerir biopsia hepática, se ha realizado únicamente RM de 1T, y posteriormente de 1,5 T si el resultado fue de sobrecarga férrica.
3. Llevar a cabo un estudio control sobre el estudio original de Alústiza y cols. para la validación de la máquina de 1,5 T de Osatek Donostia para confirmar que sus resultados siguen siendo precisos a día de hoy.

Pacientes y Métodos

Pacientes y Métodos

6.1. Pacientes

6.2. Métodos

6.2.1. RMN

6.2.2. Biopsia hepática

6.2.3. Estudios de laboratorio

6.2.3.1. Bioquímica sérica

6.2.3.2. Mutaciones del gen HFE

6.2.4. Análisis estadístico

6.2.5. Ética

6. Pacientes y métodos

6.1. Pacientes

Pacientes:

El estudio se ha realizado en los Hospitales de Mendaro y Mondragón, hospitales comarcales del Servicio Vasco de Salud (Osakidetza), que atienden a una población de aproximadamente 140.000 personas en la comarca del Deba (Comarca Oeste de Gipuzkoa).

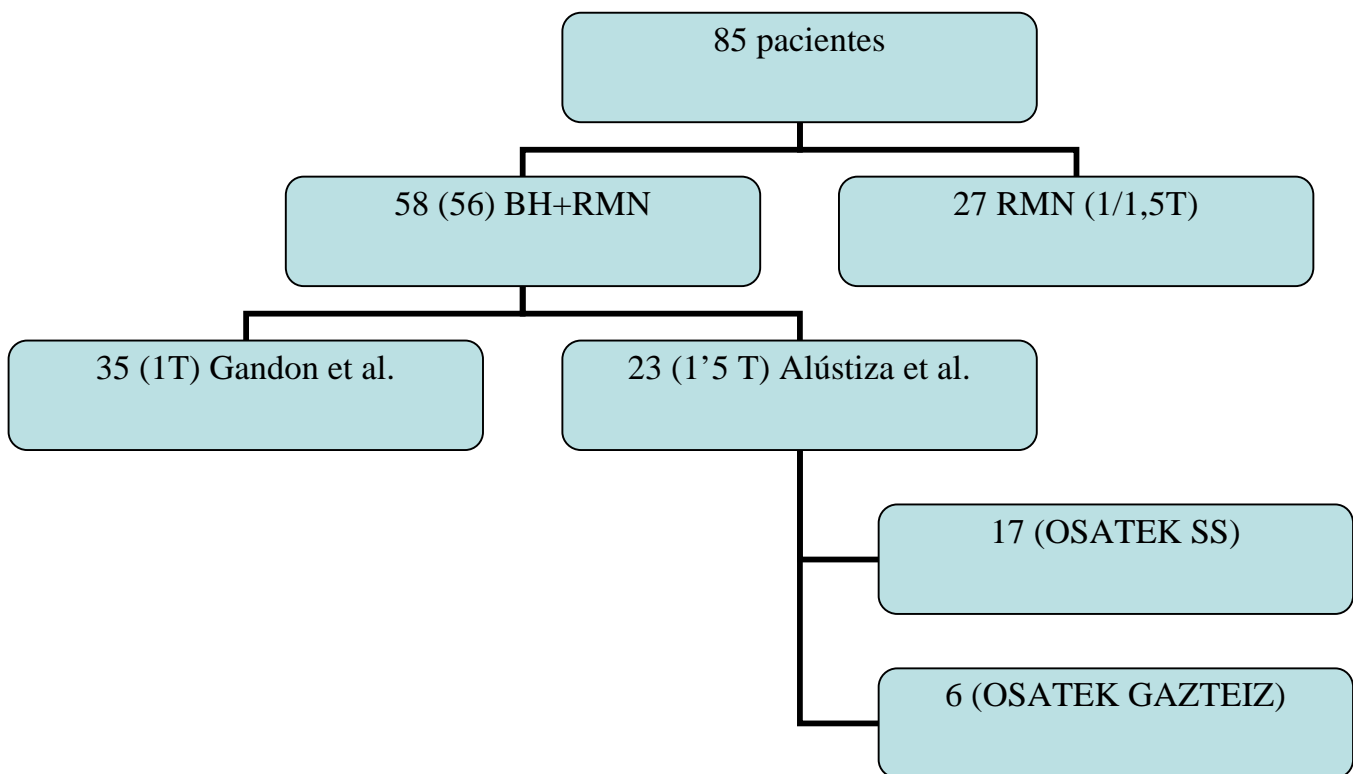


Figura 7: Distribución de los pacientes incluidos en el estudio.

Los pacientes fueron sometidos a biopsia hepática cuando existía indicación de la misma (HH con factores de riesgo de fibrosis de alto grado, hepatitis víricas con parámetros férricos elevados, otras hepatopatías crónicas con parámetros férricos elevados) (1).

El criterio de inclusión fue que el paciente dispusiese de CHH por biopsia hepática y por RMN. El tiempo de intervalo entre la realización de la RM y la biopsia hepática fue menor de un mes en todos los casos.

Entre los años 2002 y 2010 se ha estudiado la CHH en 83 (56/27) pacientes consecutivos (85 casos) de los Servicios de Aparato Digestivo de dichos hospitales (Figura 7).

En un primer grupo de 56 pacientes (58 exploraciones), se ha cuantificado la CHH mediante biopsia hepática y RM (a dos pacientes se les realizó RM de 1 y 1.5 Teslas).

El motivo de la biopsia hepática fue HH con factores de riesgo de fibrosis de alto grado (más de 40 años de edad, ferritina sérica mayor de 1000 µg/L, una cifra de plaquetas menor de 200.000) (1) y hepatitis viral o hepatopatía crónica de otros orígenes con trastorno del metabolismo férrico que aconsejaba determinar la CHH.

En el segundo grupo, de 27 pacientes, se ha cuantificado doblemente la CHH por RM en dos unidades diferentes de RM de 1 y 1.5 Teslas. La RM se repitió en estos pacientes para confirmar el diagnóstico de sobrecarga férrica realizado previamente en la unidad de 1 Tesla, o al persistir sospecha clínica.

6.2. Métodos

6.2.1. RMN

En el primer grupo, de 56 pacientes biopsiados, la técnica de RM fue la siguiente (a dos se les realizó ambas RM):

-A 35 pacientes se les realiza una RM (Manterola SA, Eibar) en una máquina de 1 tesla (Siemens Harmony, Manterola S.A., Eibar) para cuantificación de la CHH realizando las cuatro secuencias del protocolo de la Universidad de Rennes (6) para máquinas de 1 tesla (T1, DP, T2 y T2+), (Tabla 5)

0.5 Teslas			1 Teslas			1.5 Teslas		
TR	TE	Flip	TR	TE	Flip	TR	TE	Flip
120	14	90°	120	7	90°	120	4	90°
120	14	20°	120	7	20°	120	4	20°
120	28	20°	120	14	20°	120	9	20°
			120	21	20°	120	14	20°
						120	21	20°

Tabla 5. Protocolo de la Universidad de Rennes. Diferentes secuencias para máquinas de 0,5,1 y 1,5 Teslas (Secuencias T1, DP, T2, T2+, T2++). (Reproducido, con permiso, de Radiologia 2008; 50: 29-36).

Después de obtenerse las imágenes con cada secuencia propuesta por Gandon y cols. (6), se mide el IS en el parénquima hepático, en tres regiones de interés que han de ser mayores de 1 cm² (rango 1-3 cm²) en la zona derecha del lóbulo hepático derecho y en los músculos paravertebrales, en dos regiones de interés en los músculos sacroespinales (izquierdo y derecho). Las

regiones fueron colocadas en las mismas secciones de MR para cada secuencia para impedir variaciones SI globales entre imágenes. Fueron puestas para evitar artefactos, particularmente la disminución de SI adyacente a las bases posteriores de los pulmones, vasos hepáticos, y áreas heterogéneas. La media de las medidas fue calculada, y el ratio SI hígado-músculo fue calculado para cada secuencia. Posteriormente se introducen dichos valores en la hoja de cálculo de la página web de la Universidad de Rennes (79) para obtener la cuantificación de la CHH. Se retiene únicamente el valor final decidido automáticamente por el programa de cálculo sin tener en cuenta el margen de error que marque el resultado.

La web de la Universidad de Rennes (6, 79) permite calcular la CHH en cada paciente mediante la introducción de las medidas de SI de cada secuencia. Se realizó este cálculo en todos los pacientes.

-26 pacientes fueron estudiados en una máquina de 1.5 Teslas, de los cuales 23 cumplían los criterios de inclusión. Las imágenes que se obtuvieron con la RM de 1,5 T (Philips Intera, Osatek Donostia) se realizaron mediante la técnica propuesta por Alústiza y cols (7). La técnica consiste en cuatro secuencias de gradiente-echo, (T1W, T2W, IW, T2*) y una secuencia spin-echo T1W.

Se llevó a cabo una RMN de 1,5 Teslas para determinar CHH en 23 pacientes. En 17 de ellos, la RMN se llevó a cabo en Osatek Donostia. Las otras 6 se llevaron a cabo en las máquinas de RMN calibradas de Osatek Gasteiz (7, 80). En los 23 pacientes estudiados en una máquina de 1.5 Tesla, se realizó el modelo de Alústiza y cols (7), con dos secuencias en eco de gradiente (EG). Posteriormente se mide la IS de manera similar a la descrita previamente para la CHH en el protocolo de la Universidad de Rennes, y se calcula la ratio

hígado/músculo en cada secuencia para poder cuantificar la CHH según el modelo matemático propio (7): $CHH = e^{(5.808 - (0.877 \times T2) - (1.518 \times IW)}$ dónde IW (Intermediate Weighted) y T2 corresponden a los ratios de intensidad de señal hígado-músculo de dos secuencias gradiente eco (GRE), IW y T2.

En un segundo grupo de 27 pacientes, no biopsiados, se realizaron estudios en ambas unidades de RM de 1 y 1.5Teslas con la técnica previamente descrita.

6.2.2. Biopsia hepática

Se realizó en lóbulo hepático derecho, con control ecográfico, mediante aguja Tru-cut 14-G (Alegiance Healthcare, IL, USA). Se obtuvieron dos cilindros. Los cilindros obtenidos se fijan durante 12 a 24 horas en formol al 4% tamponado y se procesan para el estudio. Se realizaron tinciones de hematoxilina-eosina, tricómico de Masson, y tinción de Perls. El grado de fibrosis (Tabla 6) se determinó y estadificó utilizando un método semicuantitativo en F0-F4 (17,18,64).

F0: Ausencia de fibrosis.

F1: Tractos portales ligeramente ensanchados.

F2: Fibrosis periportal.

F3: Fibrosis en puentes porto-portales.

F4: Cirrosis.

Tabla 6. Grado de Fibrosis hepática.

Un cilindro hepático seco, era enviado al laboratorio Reference de Barcelona para cuantificación de la CHH mediante espectrofotometría atómica, que se

llevó a cabo mediante una cámara de absorción atómica de grafito (Perkin-Elmer 5100; Boston, Mass) (7). En un caso el estudio se realizó en la Clínica Universitaria de Navarra.

Los pacientes biopsiados fueron clasificados de acuerdo con la CHH obtenida mediante biopsia hepática (Tabla 7), considerada como “patrón oro”, en tres grupos (19).

Grupo A: Normal, con CHH \leq 36 micromol/g.

Grupo B: Sobrecarga media, con una CHH entre 37 y 80 micromol/g.

Grupo C: Sobrecarga Alta, con una CHH $>$ de 80 micromol/g.

Tabla 7. Grupos según la CHH.

En los pacientes no biopsiados, se consideró como patrón de referencia la cuantificación realizada con la unidad de 1.5 Teslas, con un modelo de cálculo previamente validado por nuestro equipo de trabajo (7).

6.2.3. Estudios de laboratorio

6.2.3.1. Bioquímica sérica

Bioquímica sérica: La ferritina sérica, el hierro sérico y la saturación de transferrina fueron obtenidos de muestra sanguínea en todos los pacientes del estudio. Todos los pacientes revisados tenían concentraciones de ferritina séricas superiores a 300 $\mu\text{g/L}$; el rango normal considerado en el laboratorio fue de 15 a 200 $\mu\text{g/L}$ en mujeres y de 30 hasta 300 $\mu\text{g/L}$ en hombres (20). El rango normal de hierro sérico en nuestro laboratorio es de 50-145 $\mu\text{g/dl}$ y el de la saturación de transferrina 15-50%. Se determinaron también valores de aminotransferasas, GGTP, bilirrubina, hemograma, etc.

6.2.3.2. Mutaciones en el Gen HFE

Análisis de mutaciones en el gen *HFE*: Se extrae sangre venosa en tubos con anticoagulante EDTA y se obtiene el ADN mediante extracción desde leucocitos totales en sistema automático Magnapure (Roche).

El análisis del gen *HFE* se lleva a cabo mediante técnica de PCR multiplex a tiempo real mediante tecnología Light Cycler (Roche). Se realiza una detección simultánea en un solo capilar de las mutaciones C282Y y H63D así como la más infrecuente S65C, utilizando sondas de hibridación marcadas con LC-Red 640, LC-Red 705 y fluoresceína (Tibmolbiol, Berlin, Germany). Se lleva a cabo un análisis de curvas de “melting” o fusión para discernir entre los patrones de las curvas o picos que definen el alelo salvaje */(wt)* y/o mutado y los genotipos resultantes: homocigoto, heterocigoto o ausencia de mutación (Figuras 8 y 9).

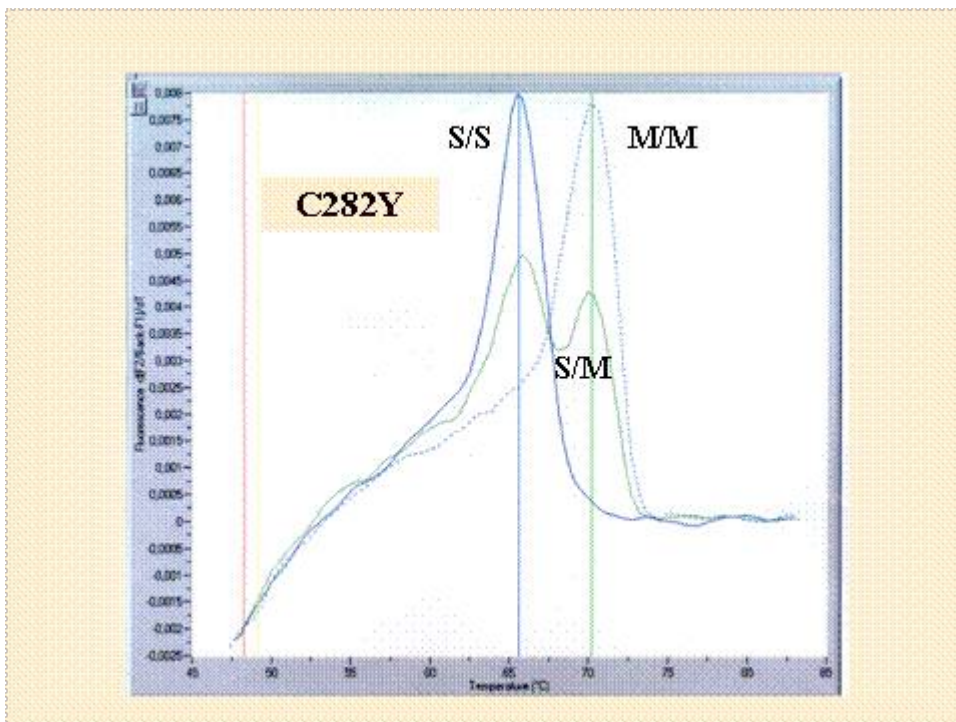


Figura 8. Análisis de las mutaciones en el gen *HFE*. PCR en tiempo real.

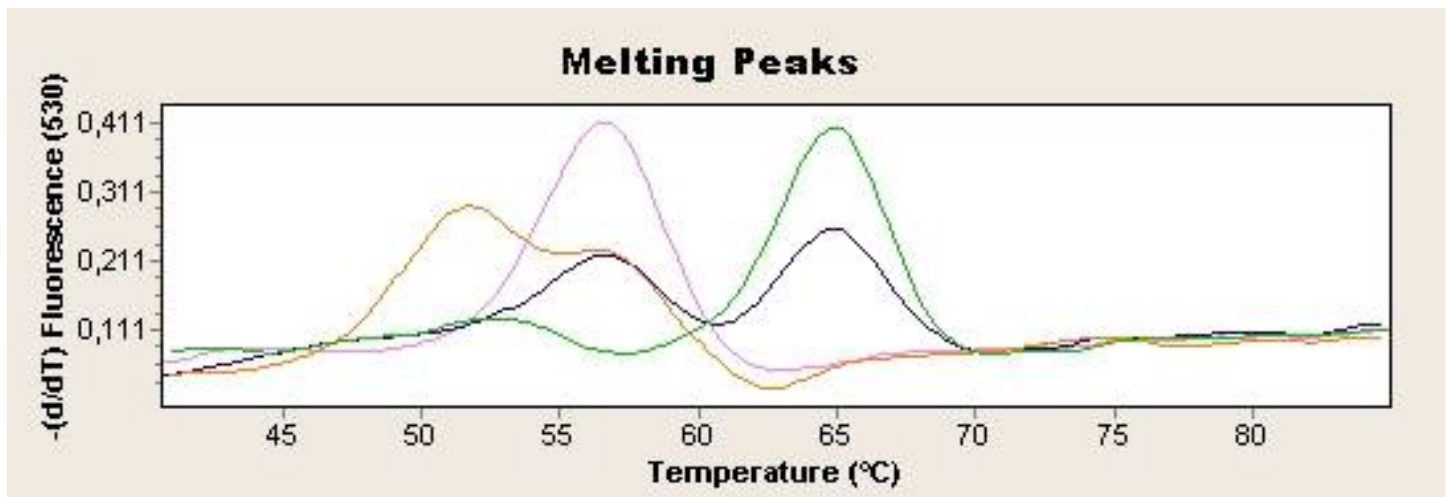


Figura 9. Ejemplo de análisis de las mutaciones **H63D/S65C**. Patrones: homocigoto H63D, heterocigoto H63D , heterocigoto S65C y mutación ausente.

6.2.4. Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el software estadístico SYSTAT (9.0). Las variables fueron descritas con las técnicas estadísticas más apropiadas según su naturaleza y escala.

Para las variables continuas se calcularon la media con su rango y desviación estándar (DE) y las frecuencias absolutas y relativas para las variables categóricas.

También se calculó la precisión diagnóstica, sensibilidad, especificidad, y valores predictivos basados en tablas de contingencia 2x2. Todos los estimadores se calcularon mediante estimación puntual y estimación por intervalo de confianza al 95% (IC 95%), empleando para ello la distribución binomial.

Se utilizaron las pruebas de la *t* de Student y el no paramétrico de Wilcoxon para comparar la distribución de las variables no continuas. El coeficiente de correlación describe la relación entre variables continuas.

Se comparó la CHH real con la obtenida por RM para cada grupo de pacientes, calculando Sensibilidad, Especificidad y VPP y VPN de la RM.

Para comparar la media de los valores de CHH se utilizó la prueba de la *t* de Student.

En todos los análisis un valor de *p* de 0.05 o menor fue considerado como estadísticamente significativo, y no estadísticamente significativo si mayor (NS).

6.2.5. Ética

El estudio tuvo la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Área Sanitaria de Gipuzkoa, según consta en Acta nº8/2011.

Resultados

7. Resultados

7.1. Biopsia hepática y RM 1 Tesla

7.2. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla

7.3. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla (Osatek Donostia)

7.4. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla (Osatek Gasteiz)

7.5. Biopsia hepática y RM

7.6. RM 1 Tesla y RM 1,5 Tesla

7.7. RM 1,5 Tesla 2004 vs. 2010

7. Resultados

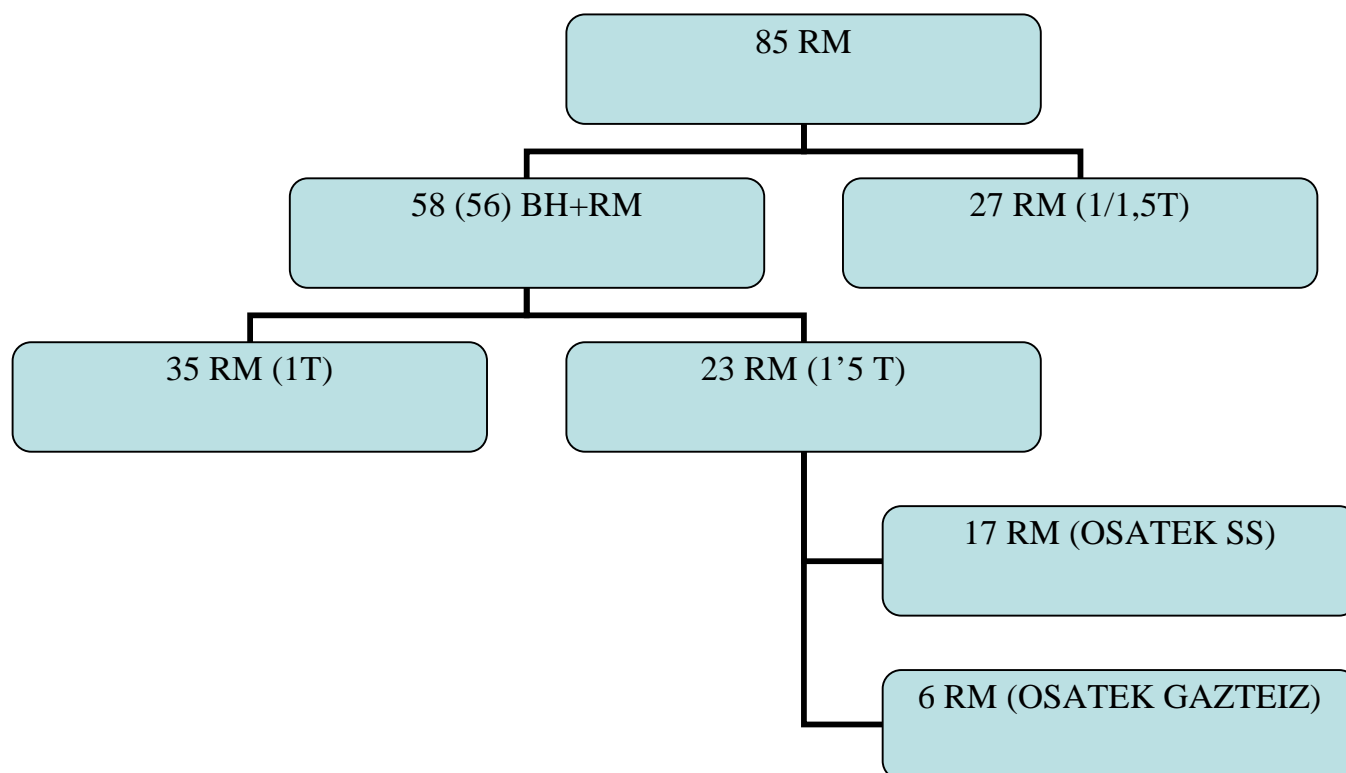


Figura 10. Distribución de los pacientes y los métodos utilizados para calcular la CHH.

7.1. Biopsia hepática y RM 1 Tesla

En los 35 pacientes estudiados con biopsia hepática y RM de 1 Tesla, los resultados fueron los siguientes:

Edad media 52,57 años (34-70; DS 9,48; IC 95% 49,31 a 55,83). Treinta y cuatro hombres y una mujer. Los valores de los diferentes parámetros clínicos y de laboratorio quedan reflejados en la Tabla 8.

	MEDIA	DE	MÁXIMO	MÍNIMO	IC 95%
CHH BIOPSIA(μmol/g)	53,43	45,67	214	9	37,74 a 69,12
CHH BIOPSIA(μg/g)	2992,89	2555,60	12.000	500	2115,01 a 3870,76
CHH POR RM 1T	76,71	47,31	200	0	60,46 a 92,97
ÍNDICE FE HEPÁTICO	1,02	0,94	5	0,1	0,70 a 1,34
FERRITINA	1.380,69	1509,07	8574	333	49,31 a 55,83
ÍNDICE SATURACIÓN TRANSFERRINA	55,90	21,77	106,7	27,2	48,42 a 63,38
HIERRO	158,91	64,45	343	74	136,42 a 181,40
GPT	119	169,96	816	13	59,70 a 178,30
GOT	93,06	165,17	741	11	35,43 a 150,69
PLAQUETAS (miles)	233,29	79,62	397,00	112,00	205,51 a 261,08

Tabla 8. Determinaciones clínicas y de laboratorio. Pacientes RM 1 Tesla.

Los valores de laboratorio de los parámetros férricos demostraron: una ferritina sérica media más de cuatro veces por encima del límite alto de la normalidad; la saturación de transferrina media y el hierro sérico medio fueron ligeramente superiores a las cifras normales. Las aminotransferasas medias estaban elevadas, estando la GPT media casi 3 veces por encima del límite alto y la GOT algo más del doble. Las plaquetas medias estaban dentro de las cifras normales.

La serología viral fue positiva para VHC en 6 pacientes, teniendo uno de ellos además coinfección por el VHB. Dos pacientes presentaron autoanticuerpos positivos (ANAs) y criterios de hepatitis autoinmune (HAI).

El estudio genético reveló 10 pacientes wt/wt y 25 con diferentes mutaciones en el gen HFE (ver Tabla 9). De 5 casos de sobrecarga elevada de CHH por biopsia (>80), 3 eran C282Y/H63D, 1 era H63D/H63D y 1 era H63D/wt.

	GRUPO 1 TESLA	GRUPO 1,5 T
C282Y/C282Y	0	3
C282Y/WT	1	2
C282Y/H63D	5	4
H63D/H63D	8	0
H63D/WT	9	8
WT/WT	10	5
S65C/WT	1	1
H63D/S65C	1	0

Tabla 9. Mutaciones gen HFE

La CHH media por RM fue de 76,71 $\mu\text{mol Fe/g}$ (rango 0-200; DS 47,31; IC 95% 60,46 a 92,97). La media de resultados por biopsia hepática fue de 53,43 $\mu\text{mol Fe/g}$ (rango 9-214; DS 45,67; IC 95% 37,74 a 69,12). Por lo tanto, existieron diferencias estadísticamente significativas entre la CHH calculada por biopsia y por RM 1 Tesla ($p < 0,05$).

El valor medio en mg/g en biopsia hepática fue de 2992,89 (rango 500-12.000; DS 2555,60; IC 95% 2115,01 a 3870,76).

El índice de hierro hepático, obtenido de dividir la CHH en $\mu\text{mol Fe/g}$ de tejido seco hepático entre la edad del paciente, nos reveló un valor medio de 1,02 (rango 0,1-5; DS 0,94; IC 95% 0,70 a 1,34).

El motivo por el que se llevó a cabo el estudio fue Trastorno del Metabolismo Férrico (TMF) en 27 pacientes, 6 pacientes con VHC (uno con coinfección por VHB), y 2 casos de hepatitis autoinmune (HAI). Los casos de hepatitis viral y de HAI presentaban a su vez TMF.

La lesión histológica que demostró el estudio de la biopsia hepática fue de fibrosis F0 en 18 pacientes, F1 en 9 pacientes, F2 en 6, y F3 en 2.

Según la determinación de la CHH por biopsia, 15 pacientes se clasificaron en el Grupo A (0-36), 15 en el Grupo B (37-80), 5 en el Grupo C (>80). La RM 1 Tesla determinó 7 en el Grupo A, 9 en el B y 19 en el C. Existió una correlación entre la determinación de la CHH por RM utilizando el método de la Universidad de Rennes y la CHH en biopsia hepática ($r=0.619$).

La mayoría de los errores fueron debidos a una sobreestimación de la CHH por RM.

En el Grupo A, la RM valoró correctamente la CHH en 7 pacientes y la sobreestimó en 8. En el Grupo B fueron 5 los pacientes valorados correctamente y 10 los sobrevalorados. En el Grupo C, la RM valoró correctamente los 5 pacientes (100%) (Tabla 10). Estos resultados son algo pobres.

CHH por RM	BIOPSIA			
		Normal	Hemosiderosis	Hemocromatosis
	Normal	7	0	0
	Hemosiderosis	4	5	0
	Hemocromatosis	4	10	5
	15	15	5	

Tabla 10. Valoración CHH por RM 1 Tesla y biopsia.

Con valores de cuantificación por RM por debajo de 36 micromoles Fe/g. (Grupo A) obtenemos una sensibilidad del 46,7% y una especificidad del 100% con un VPN del 71,4% y un VPP del 100% para la ausencia de sobrecarga férrica (Tabla 11).

RMN<36

	B<36	B>36	
SI	7	0	7
NO	8	20	28
	15	20	35

RMN-1 TESLA VS. HIERRO BIOPSIA

Tabla 11. Valores de CHH por RM (1 T) <36.

Con valores de cuantificación de la CHH por RM por encima de los 80 micromoles Fe/g (Grupo C), obtenemos una sensibilidad del 100% y una especificidad del 53,3% con un VPN del 100% y un VPP del 26,3%. Es decir, valores de cuantificación por RM <80, permiten descartar con 100% de seguridad una hemocromatosis. Cuando la RM dice >80, acierta en algo más de 1 de cada 4 casos (Tabla 12).

RMN>80

	HC	No-HC	
SI	5	14	19
NO	0	16	16
	5	30	35

RMN-1 TESLA VS. HIERRO BIOPSIA

Tabla 12. Valores de CHH por RM (1 T) >80.

Con valores de CHH por RM >36 obtenemos sensibilidad 100%, especificidad 46,7%, VPP 71,4% y VPN 100%. Valores por debajo de 36 en CHH por RM descartan con 100% de seguridad sobrecarga férrica. (Tablas 13 y 14)

RMN>36

	B>36	B<36	
SI	20	8	28
NO	0	7	7
	20	15	35

RMN-1 TESLA VS. HIERRO BIOPSIA

Tabla13. Valores de CHH por RM (1 T) >36.

	RM > 80µmol/gr	RM<36µmol/gr
Sensibilidad	100%	46,7%
Especificidad	53,3%	100%
VPP	26,3%	100%
VPN	100%	71,4%

Tabla 14. Sensibilidad, especificidad, VPP, VPN para RM >80 y <36 µmol/g.

Además, analizamos la correlación, por regresión lineal, entre la CHH por biopsia hepática y diferentes parámetros bioquímicos: No se encontró una correlación entre la CHH por biopsia y la ferritina sérica ($p=NS$) ni con el Fe sérico ($p=NS$). Tampoco se pudo relacionar la CHH por biopsia con el VHC ($p=NS$).

En cambio, al analizar los grados de fibrosis hepática en la biopsia y su relación con parámetros clínico-analíticos obtenemos que no se encuentra relación entre el grado de fibrosis y la CHH ($p=NS$); tampoco se encontró relación entre la edad del paciente y la CHH en biopsia ($p=NS$); en cambio, sí existe una relación directa entre el grado de fibrosis y la cifra de plaquetas ($p<0,05$), de GOT ($p<0,05$), de GPT ($p<0,05$) y de GGTP ($P<0,05$). (Esto ya se había determinado en trabajos previos con HH, >80).

Hemos relacionado entre sí también diferentes parámetros bioquímicos objetivándose que existe una relación entre las cifras de Fe sérico y de Ferritina sérica ($p<0,05$), y entre la Saturación de Transferrina y de Ferritina sérica ($p<0,05$).

La CHH por biopsia no se relaciona con las cifras de ferritina sérica, ni con el grado de fibrosis de la biopsia, ni con la edad del paciente, pero sí con el resultado de la CHH por RM según el método de la Universidad de Rennes, aunque la correlación es sólo de ($r=0,619$). (Figura 11)

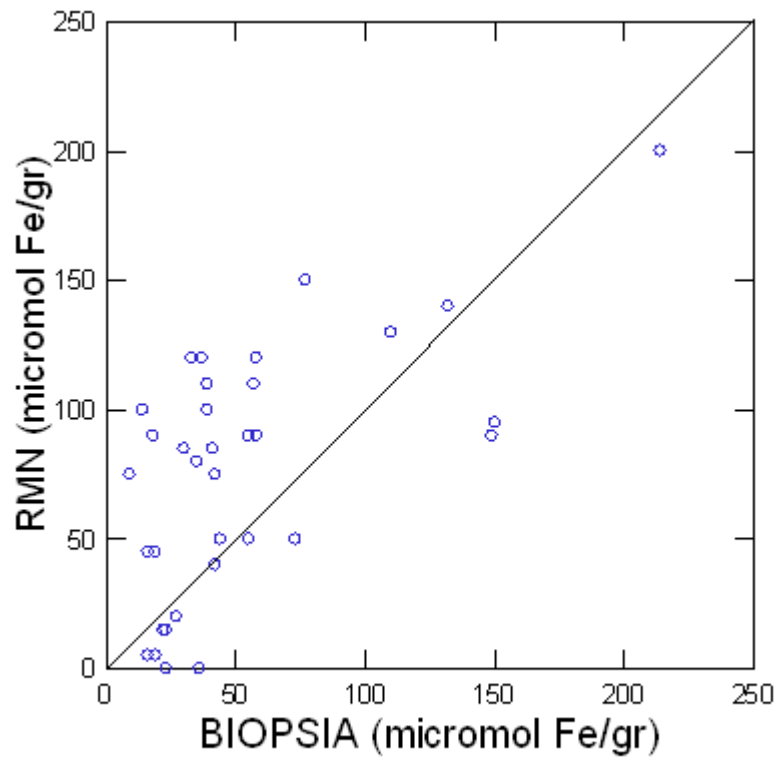


Figura 11. Correlación de la CHH por RMN 1 Tesla y biopsia.

7.2. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla

En los 23 pacientes estudiados con RM 1.5 teslas, la edad media fue de 52,35 años (35-74; DE 10,25; IC 95% 47,92 a 56,78), 21 hombres y 2 mujeres. Las características clínicas y de laboratorio vienen reflejadas en la tabla 15.

	MEDIA	DE	MÁXIMO	MÍNIMO	CI 95%
CHH BIOPSIA(μmol/g)	69,34	152,09	754	9	3,57 a 135,11
CHH BIOPSIA(μg/g)	3855,39	8524,98	42224	500	168,92 a 7541,87
CHH POR RM 1,5T	70,43	57,63	261	11	45,51 a 95,36
ÍNDICE FE HEPÁTICO	1,50	3,84	19	0,15	0,16 a 3,16
FERRITINA	1217,78	599,52	2770	378	958,53 a 1477,03
ÍNDICE SATURACIÓN TRANSFERRINA	57,48	20,86	99	25,3	48,46 a 66,50
HIERRO	155,57	52,79	256	70	131,54 a 179,60
GPT	72,30	66,25	266	24	43,65 a 100,95
GOT	46,36	25,45	100	18	35,08 a 57,65
PLAQUETAS (miles)	204,04	53,04	318,00	129,00	181,11 a 226,98

Tabla 15. Determinaciones clínicas y de laboratorio (Pacientes RM 1,5 Tesla).

Los valores del metabolismo férrico en el estudio de laboratorio fueron similares a los obtenidos en el grupo 1 Tesla y dieron los siguientes resultados de media: ferritina sérica cuatro veces superior al límite alto de la normalidad; índice de saturación de transferrina y hierro sérico levemente elevados. Las aminotransferasas estaban elevadas, con una GPT media de casi dos veces por encima de lo normal y una GOT ligeramente elevada. Las plaquetas estuvieron dentro de las cifras de normalidad.

La serología viral reveló 3 positivos a VHC (uno coinfección con VHB). Un paciente presentó criterios de HAI con ANAs positivos.

El estudio genético mostró 5 pacientes WT/WT y 18 pacientes con diferentes mutaciones en el gen HFE (Ver Tabla 9). En 3 casos se evidenció sobrecarga férrica de alto grado: 1 C282Y/C282Y, 1 C282Y/H63D y 1 H63D/wt.

La CHH media en biopsia fue de 69,34 $\mu\text{mol Fe/g}$ (9-754; DS 152,09; IC 95% 3,57 a 135,11); la media en $\mu\text{g Fe/g}$ fue de 3855,39 (500-42224; DS 8524,98; IC 95% 168,91 a 7541,87); la media de CHH obtenida mediante RM fue de 70,43 $\mu\text{mol Fe/g}$ (11-261; DS 57,63; IC 95% 45,51 a 95,36). Como puede verse, resultan valores muy similares. Las diferencias entre la CHH media obtenida por biopsia hepática o por RM de 1,5 Tesla no resultaron estadísticamente significativas.

El índice de hierro hepático medio fue de 1,50 (0,15-19; DS 3,84; IC 95% -0,16 a 3,16).

El motivo del estudio fue TMF en 19 pacientes, infección por VHC en 3 (uno coinfección VHB), y un caso de HAI (que también presentaban TMF).

El estudio histológico reveló dos casos de cirrosis hepática, con F4, 8 casos de F2, 3 casos de F1, y 10 casos de F0.

En el estudio de la CHH por los dos diferentes métodos estudiados y comparados, obtuvimos: Catorce pacientes tienen en la biopsia hepática hierro normal (Grupo A), 6 tienen una sobrecarga media (Grupo B) y 3 tienen alta sobrecarga férrica (Grupo C). La RM de 1,5 Tesla determinó 6 en Grupo A, 11 en Grupo B y 6 en Grupo C. Existió una correlación entre la determinación de la

CHH por RM utilizando el método de la Universidad de Rennes y la CHH en biopsia hepática ($r=0.815$), que resultó mejor que la obtenida con RM 1 Tesla.

Los errores fueron debidos a una sobreestimación de la CHH por RM. En el Grupo A, la RM valoró correctamente la CHH en 6 pacientes y la sobreestimó en 8. En el Grupo B fueron 3 los pacientes valorados correctamente y 3 los sobrevalorados. En el Grupo C, la RM valoró correctamente los 3 pacientes (100%) (Tabla 16).

CHH por RM	BIOPSIA		
	Normal	Hemosiderosis	Hemocromatosis
Normal	6	0	0
Hemosiderosis	8	3	0
Hemocromatosis	0	3	3
	14	6	3

Tabla 16. Valoración de la CHH por RM 1,5 T y biopsia.

Con valores de cuantificación por RM por debajo de 36 micromoles Fe/g. (Grupo A) obtenemos una sensibilidad del 28,6% y una especificidad del 77,8% con un VPN del 41,2% y un VPP del 66,6% para la ausencia de sobrecarga férrica (Tabla 17).

RMN<36

	B<36	B>36	
SI	4	2	6
NO	10	7	17
	14	9	23

RMN-1,5 TESLA VS. HIERRO BIOPSIA

Tabla 17. Valores de CHH por RM (1,5 T) <36.

Con valores de cuantificación de la CHH por RM por encima de los 80 micromoles Fe/g (Grupo C), obtenemos una sensibilidad del 100% y una especificidad del 85% con un VPN del 100% y un VPP del 50%. Es decir, valores de cuantificación por RM <80, permiten descartar con 100% de seguridad una hemocromatosis. Cuando la RM dice >80, acierta en 1 de cada 2 casos (Tabla 18).

RMN>80

	>80	<80	
SI	3	3	6
NO	0	17	17
	3	20	23

RMN-1,5 TESLA VS. HIERRO BIOPSIA

Tabla18. Valores de CHH por RM (1,5 T) >80.

Con valores de CHH por RM >36 obtenemos sensibilidad 77,8%, especificidad 28,6%, VPP 41,2% y VPN 66,6%. (Tabla 19)

RMN>36

	B>36	B<36	
SI	7	10	17
NO	2	4	6
	9	14	23

RMN-1,5 TESLA VS. HIERRO BIOPSIA

Tabla19. Valores de CHH por RM (1,5 T) >36.

-Hemos analizado la correlación, por regresión lineal, entre la CHH por biopsia hepática y diferentes parámetros bioquímicos: No hemos encontrado una correlación entre la CHH por biopsia y la ferritina sérica ($p=NS$) ni con el Fe sérico ($p=NS$). Tampoco se pudo relacionar la CHH por biopsia con el VHC ($p=NS$).

Al analizar los grados de fibrosis hepática en la biopsia y su relación con parámetros clínico-analíticos obtenemos que no se encuentra relación entre el grado de fibrosis y la CHH ($p=NS$); tampoco se encontró relación entre la edad del paciente y la CHH en biopsia ($p=NS$); en cambio, si existe una relación directa entre el grado de fibrosis y la cifra de plaquetas ($p<0,05$). No existe, en cambio, con la cifra de GOT ($p<0,05$), de GPT ($p<0,05$) y de GGTP ($P<0,05$).

Hemos relacionado entre si también diferentes parámetros bioquímicos objetivándose que no existe una relación entre las cifras de Fe sérico y de Ferritina sérica (NS), ni entre la Saturación de Transferrina y de Ferritina sérica (NS).

La CHH por biopsia no se relaciona con las cifras de ferritina sérica, ni con el grado de fibrosis de la biopsia, ni con la edad del paciente, pero si con el resultado de la CHH por RM según el método de la Universidad de Rennes, siendo la correlación es sólo de ($r=0,815$). (Figura 12)

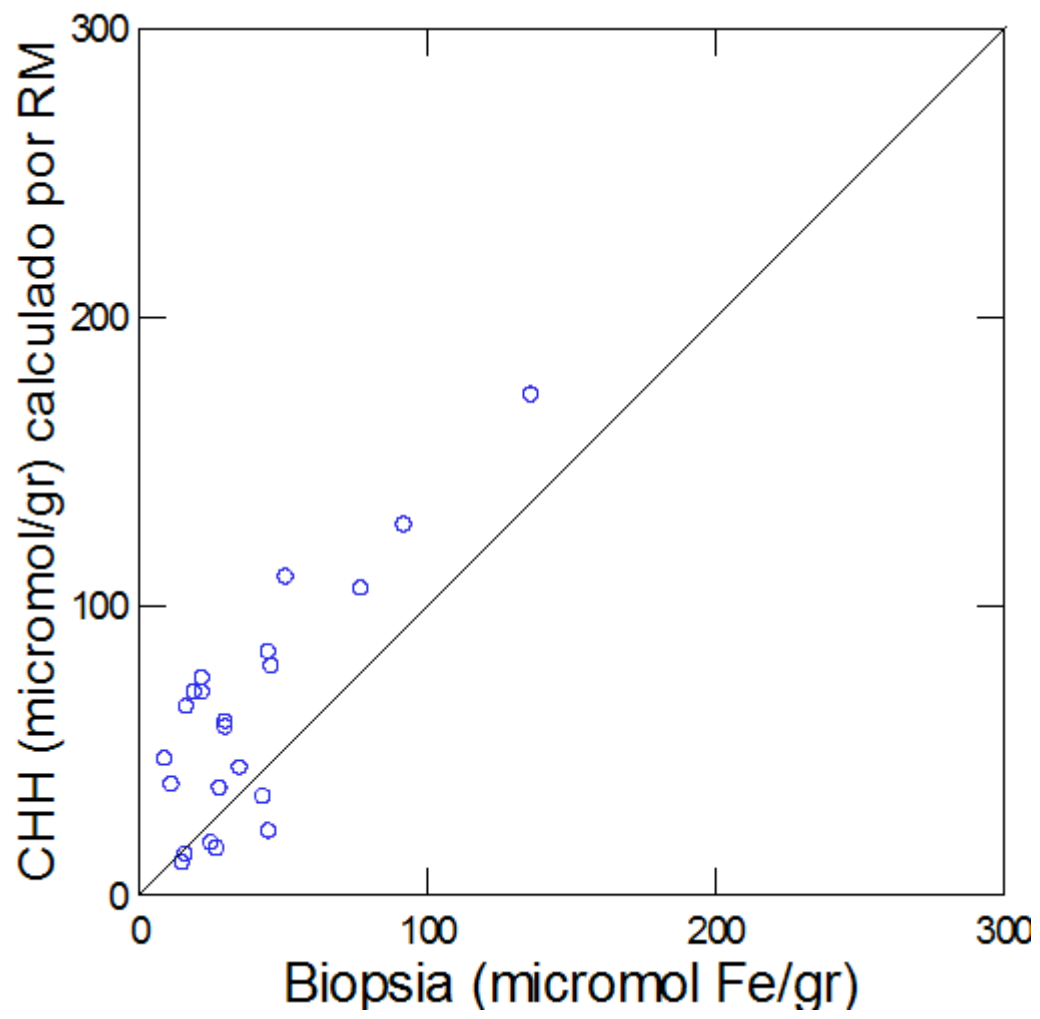


Figura 12 Correlación de la CHH por RMN 1,5 Tesla y biopsia

7.3. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla (Osatek Donostia)

7.4. Biopsia hepática y RM 1,5 Tesla (Osatek Gasteiz)

En los 17 pacientes estudiados con 1.5 Teslas (eliminando para el estudio comparativo con CHH de valores >300, 1 caso) y mediante el método de Alústiza y cols (7), se pudo objetivar una buena correlación con los resultados de la CHH , con una $r=0.881$, sirviendo de buena comprobación de la validez de la calibración de la máquina de osatek donostia, años después de su calibración original en 1999-2001 (7) de la fórmula de Alústiza. Si valoramos solo los 6 de osatek gasteiz, la $r= 0.872$.

Si comparamos los resultados de las máquinas de 1,5 Teslas, nos encontramos que Osatek Gasteiz sobrevalora más que Osatek Donostia. (Figuras 13 y 14).

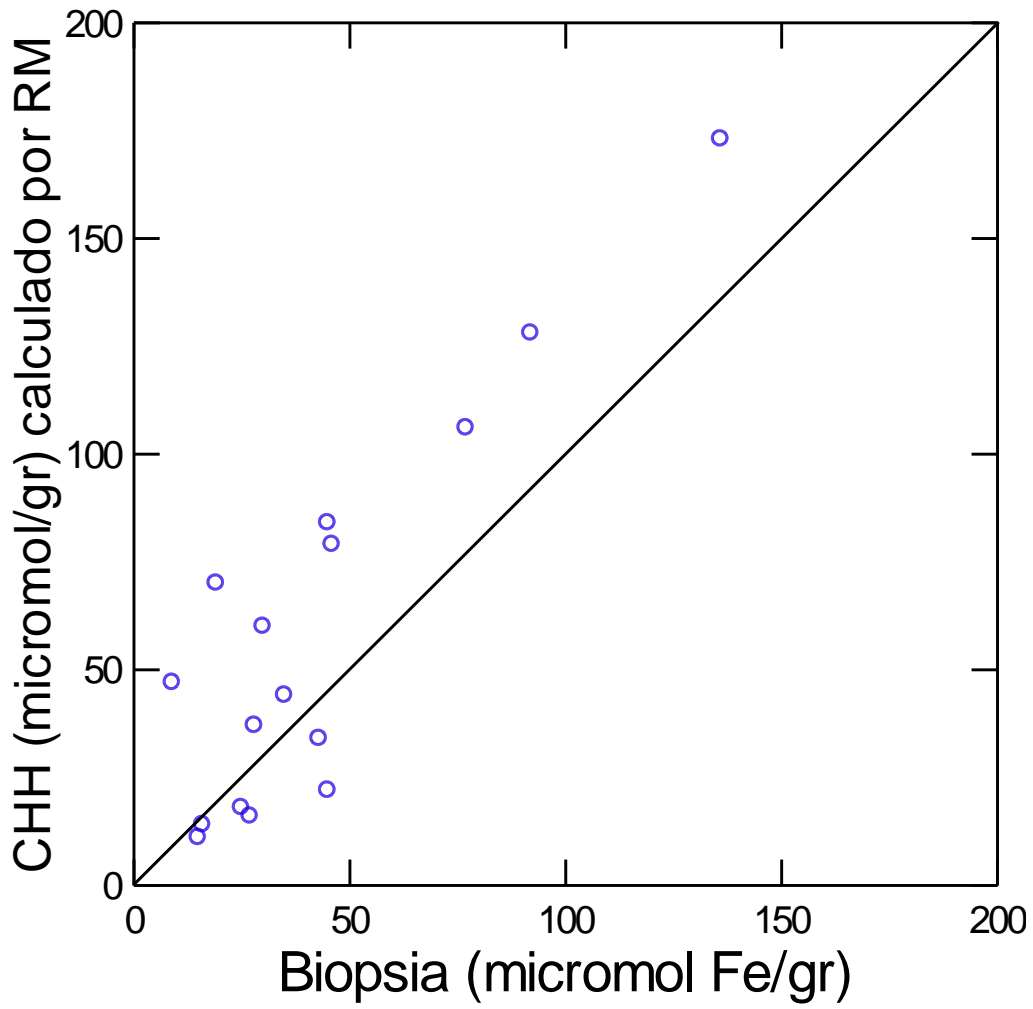


Figura 13. Comparación CHH por RMN (Osatek-Donostia) y biopsia.

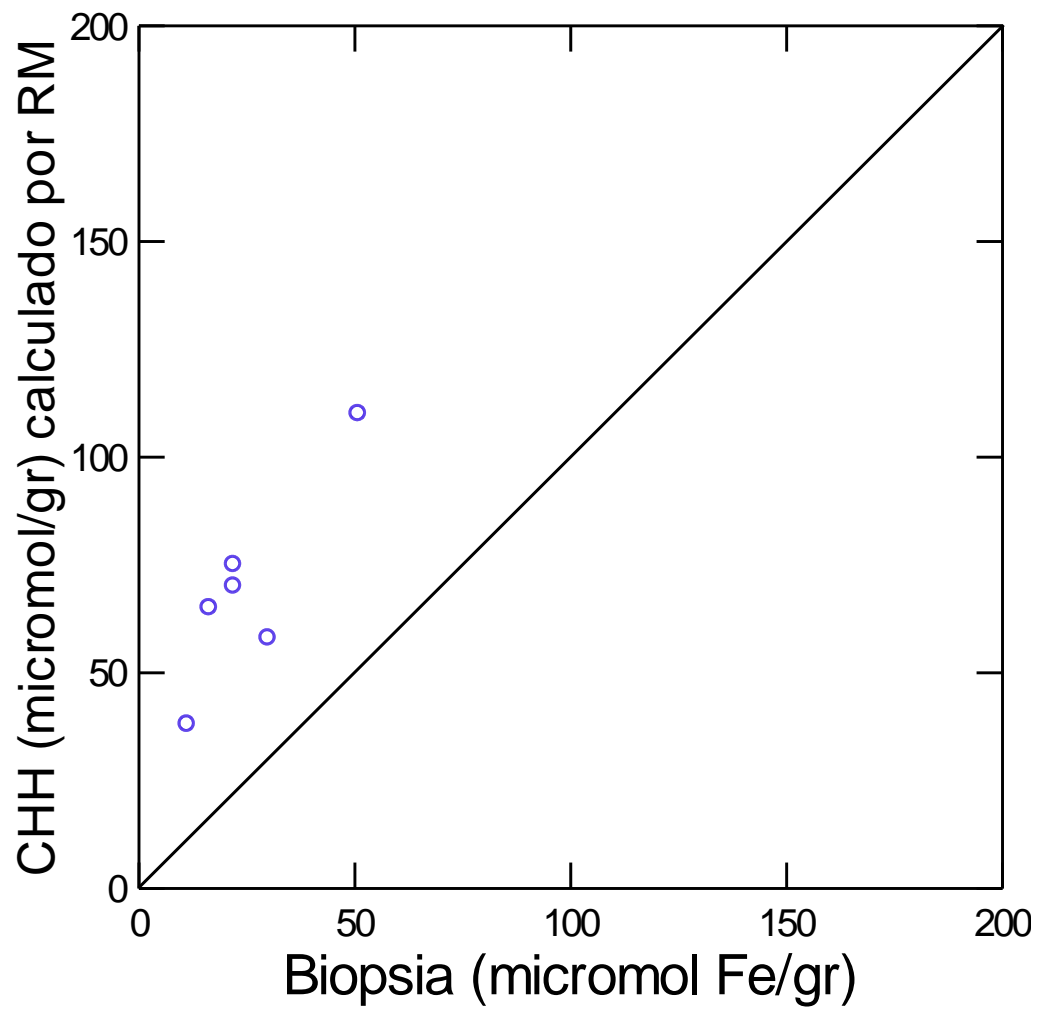


Figura 14. Comparación CHH por RMN (Osatek-Gasteiz) y biopsia.

7.5. Biopsia hepática y RM

-Si comparamos 1T con 1,5T, diferencias NS, aunque 1T sobrevalora más, pero los límites difieren, por lo que la RM 1T sobreestima más (Figura 15).

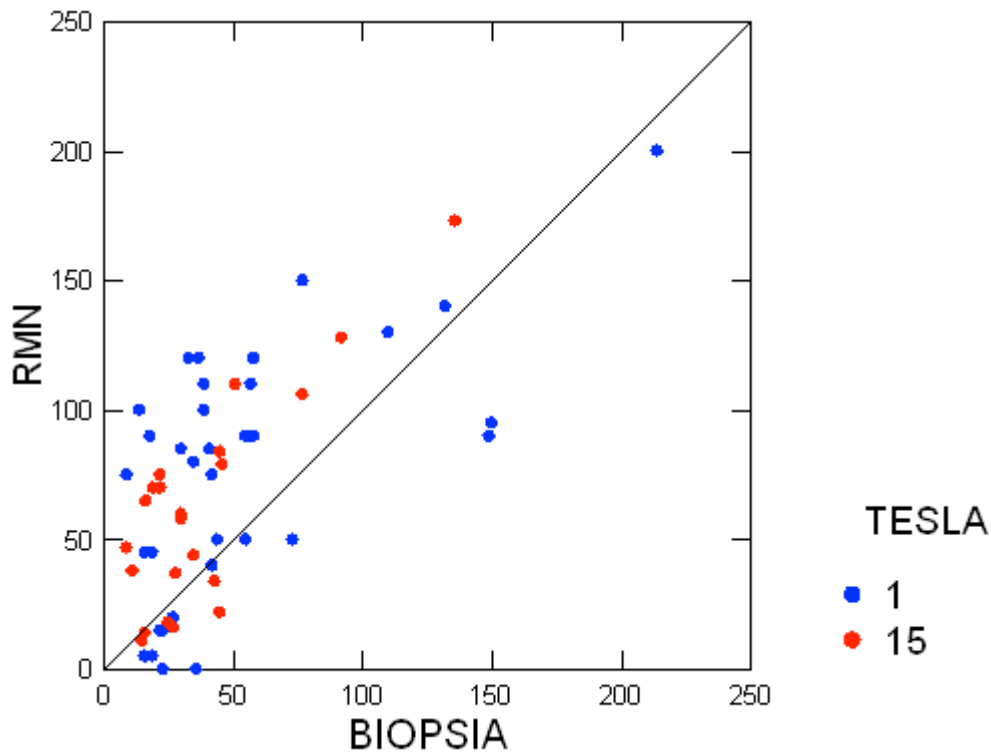


Figura 15. Comparación CHH por RMN 1 T(azul) y 1,5 T(rojo) y biopsia.

-La saturación del modelo de MR es más evidente en MR 1T que en 1,5 T. Los límites del acuerdo son más amplios que en la de 1,5 T (-56 a 100 vs -24 a 71), (156 vs 95). (Figuras 16-17).

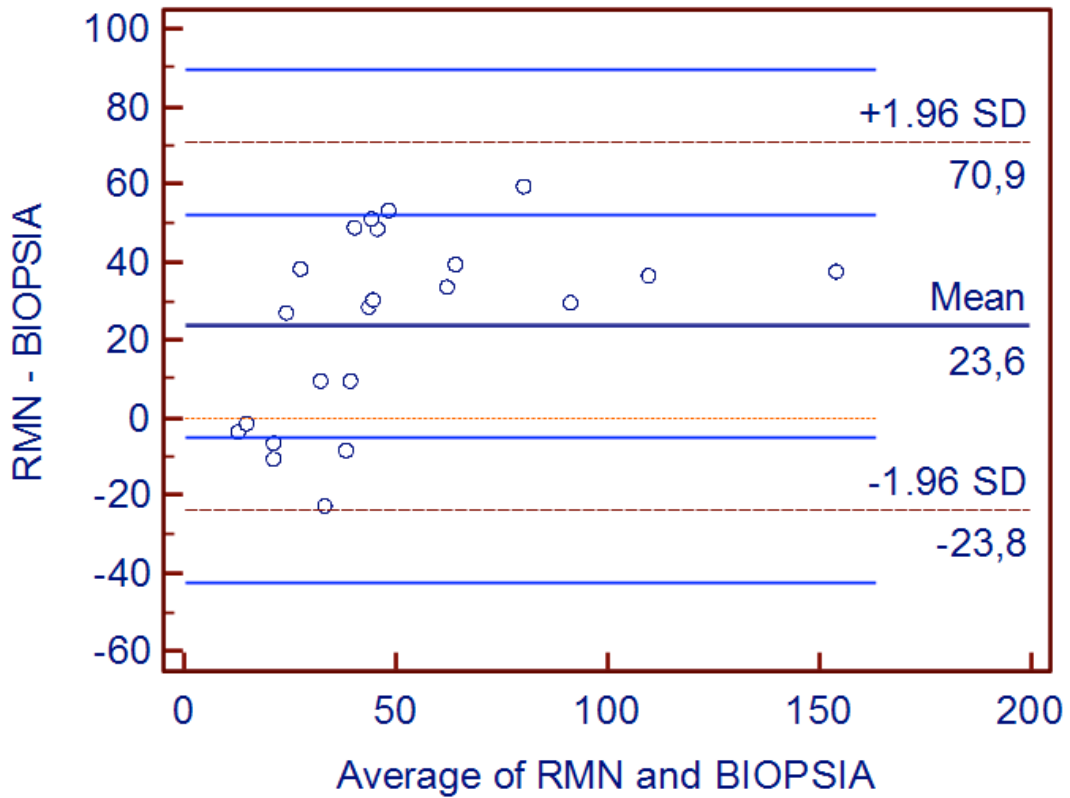


Figura 16. Saturación y límites del acuerdo con RM 1 T.

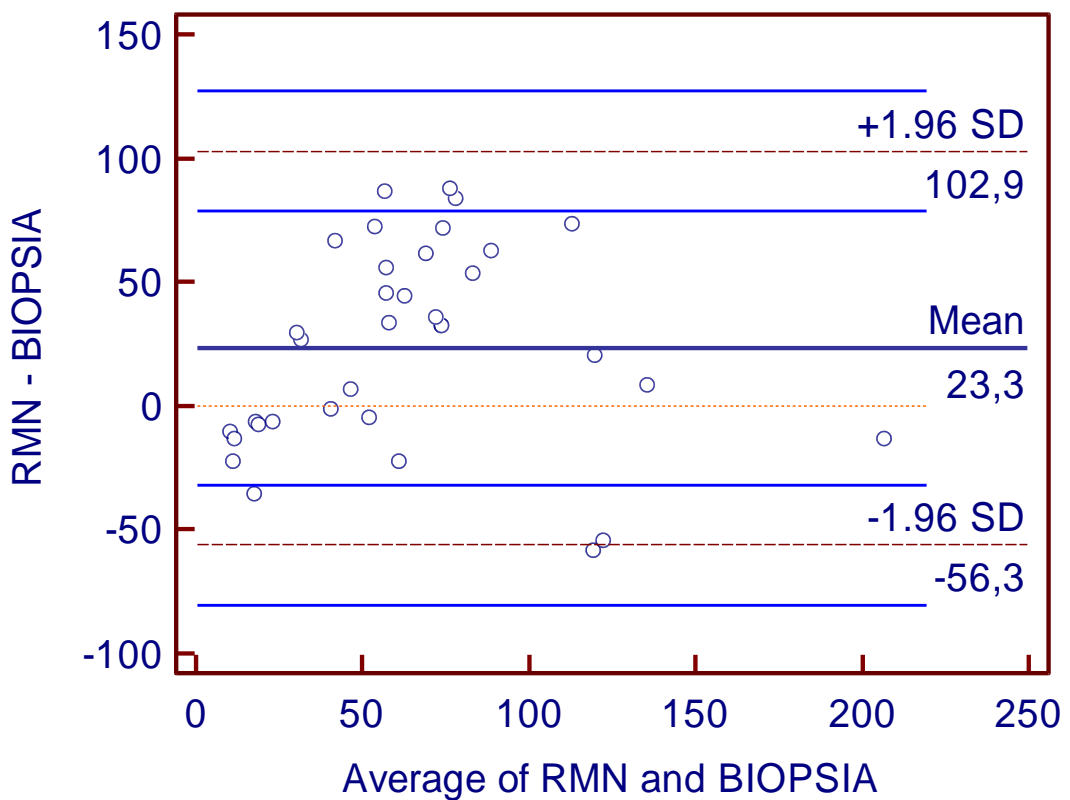


Figura 17. Saturación y límites del acuerdo con RM 1,5 T.

Si comparamos los resultados obtenidos mediante la RM 1 Tesla y la RM 1,5 Tesla, los resultados no muestran diferencias estadísticamente significativas ($p=NS$), si bien son diferentes pacientes. Si lo comparamos con 1,5 Tesla Osatek Donostia, tampoco ($p=NS$). Tampoco al hacer test no paramétrico (Mann-Whitney) es significativo ($p=NS$). Tampoco si lo comparamos solo con Osatek Gasteiz ($p=NS$).

Si comparamos los resultados obtenidos en RM 1,5 Tesla entre Donostia y Gasteiz se observa diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$), pero no son los mismos pacientes. Al ser pocos pacientes, resulta más adecuado realizar un test no paramétrico (Mann-Whitney), y se observa diferencias estadísticamente significativas ($p<0,05$). (Figura 18).

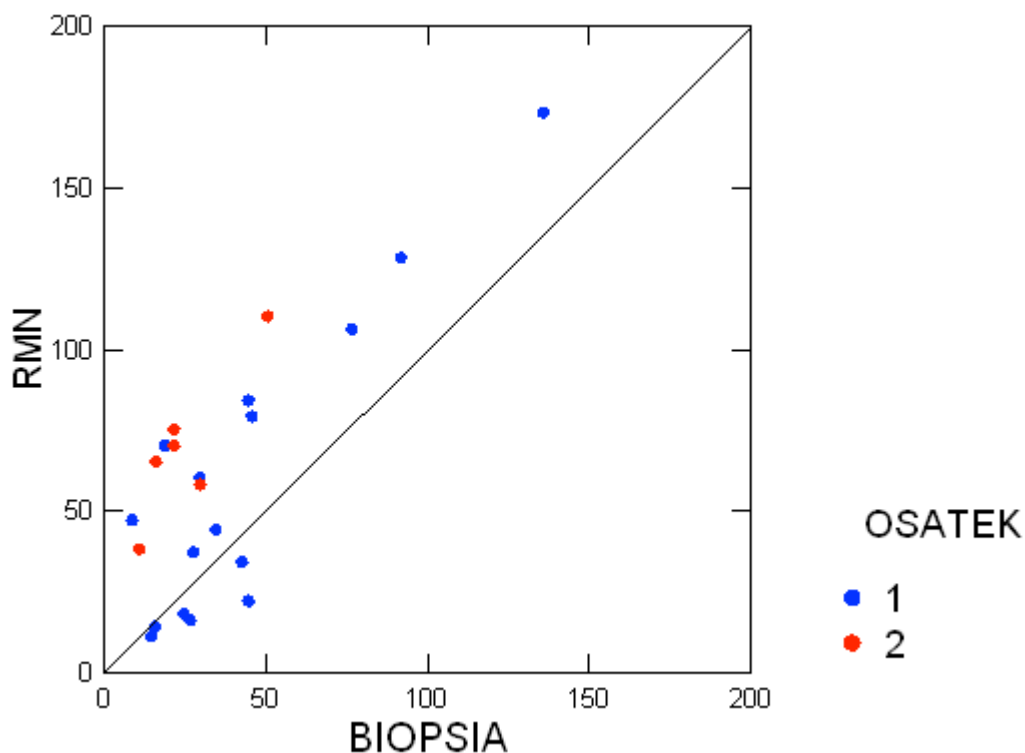


Figura 18. CHH mediante RM 1,5 T Osatek Donostia (azul) y Osatek Gasteiz (rojo) y biopsia.

-Además, hemos analizado la correlación, por regresión lineal, entre la CHH por biopsia hepática y diferentes parámetros bioquímicos en los 56 pacientes de ambos grupos: No se encontró una correlación entre la CHH por biopsia y la ferritina sérica ($p=NS$) ni con el Fe sérico ($p=NS$). Tampoco se pudo relacionar la CHH por biopsia con el VHC ($p=NS$).

Al analizar los grados de fibrosis hepática en la biopsia y su relación con parámetros clínico-analíticos obtenemos que no se encuentra relación entre el grado de fibrosis y la CHH ($p=NS$); tampoco se encontró relación entre la edad del paciente y la CHH en biopsia ($p=NS$).

No hemos encontrado tampoco relación entre la CHH en biopsia y el grado de fibrosis (NS).

-Si analizamos en conjunto los parámetros clínico-analíticos de los dos grupos (58 casos/56 pacientes), encontramos al hacer regresión lineal para ver si existe relación entre las diferentes determinaciones analíticas y la CHH, que ningún parámetro presenta diferencias significativas (Fe, Ferritina, IST, GPT, GOT, PLT, Bilirrubina, GGTP: $p=NS$). La CHH tampoco se relaciona de forma significativa con el grado de fibrosis ni con el VHC ($p=NS$).

7.6.RM 1 Tesla y RM 1,5 Tesla

En los 27 pacientes sin biopsia y estudiados en ambas máquinas, de 1T y 1,5T, se obtuvieron los siguientes resultados de CHH (Ver Tablas 20-21).

PAC	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>	<i>8</i>	<i>9</i>	<i>10</i>	<i>11</i>	<i>12</i>	<i>13</i>	<i>14</i>
1T	85	140	50	85	150	95	90	90	65	70	70	100	50	50
1,5T	44	21	36	48	119	70	55	45	27	36	42	52	36	27

Tabla 20. Comparación RM 1T/1,5T. Pacientes 1-14.

PAC	<i>15</i>	<i>16</i>	<i>17</i>	<i>18</i>	<i>19</i>	<i>20</i>	<i>21</i>	<i>22</i>	<i>23</i>	<i>24</i>	<i>25</i>	<i>26</i>	<i>27</i>
1T	70	100	50	50	20	75	65	85	50	30	180	30	5
1,5T	42	52	36	27	16	47	27	16	28	30	102	20	10

Tabla 21. Comparación RM 1T/1,5T. Pacientes 15-27.

En la máquina de 1 Tesla, 11 pacientes obtuvieron valores $>80 \mu\text{mol Fe/g}$, 12 pacientes valores >36 y $<80 \mu\text{mol Fe/g}$, y 4 obtuvieron $<36 \mu\text{mol Fe/g}$.

En las máquinas de 1, 5 Tesla, los valores obtenidos fueron 3 casos $>80 \mu\text{mol Fe/g}$, 12 casos entre 36 y $80 \mu\text{mol Fe/g}$, y 12 casos $< 36 \mu\text{mol Fe/g}$ (4=36).

De los 11 pacientes diagnosticados de alta sobrecarga a 1 Tesla, sólo 3 tenían ese nivel de sobrecarga a 1.5 Teslas. De los 12 con sobrecarga media a 1 Tesla, 9 dieron valores normales a 1.5 Teslas. Los otros dos dieron sobrecargas leves de 42 y 47. Ninguno tuvo sobrecarga alta con 1,5 Tesla. Los 4 casos con valores < 36 en 1 Tesla fueron normales en 1,5 Tesla.

Hay una tendencia clara a sobrevalorar con la RM de 1 Tesla (ver Figura 19).

Si tomamos como valor oro la CHH determinada por RM 1,5 T, en todas las determinaciones salvo en una (y es dentro de los valores de normalidad), la RM 1 Tesla nos da valores superiores.

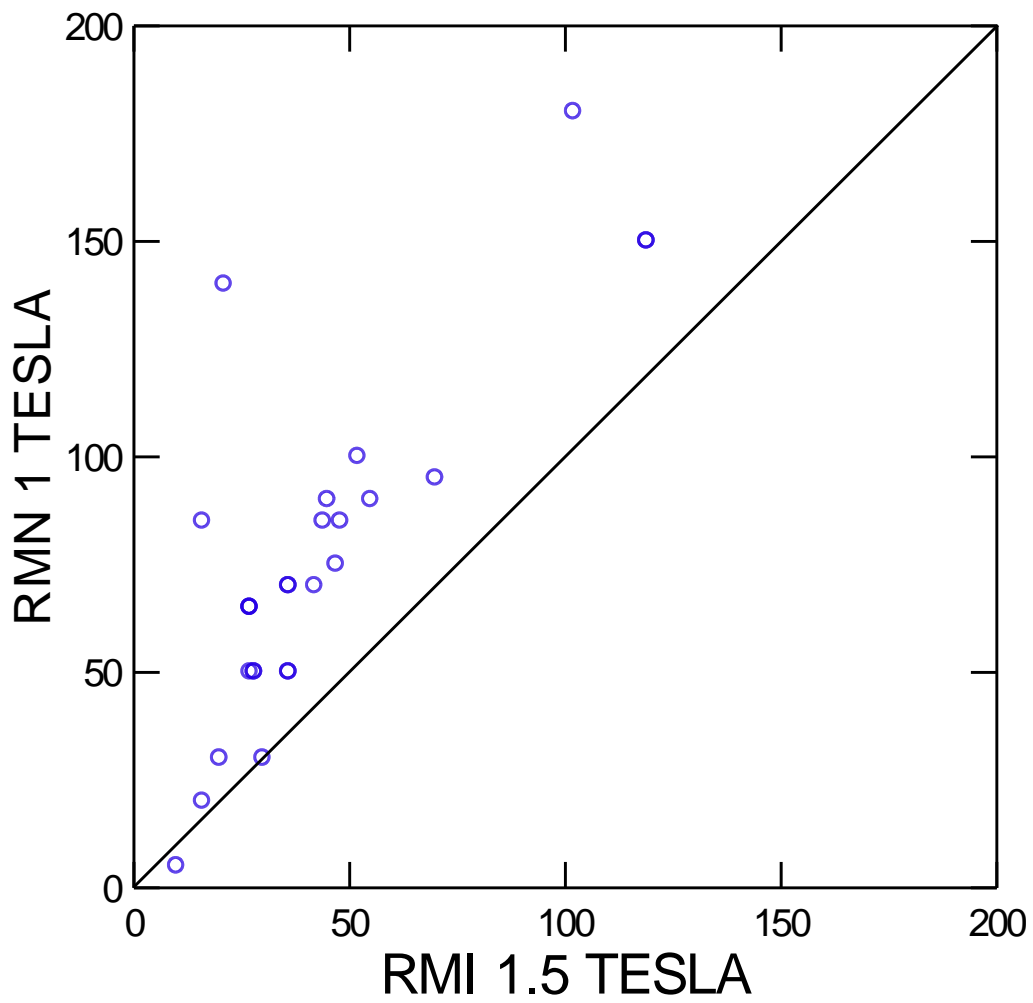


Figura 19. Comparación RM 1T y RM 1,5T.

7.7.RM 1,5 Tesla 2004 vs. 2010

Confidence Interval and Prediction Interval

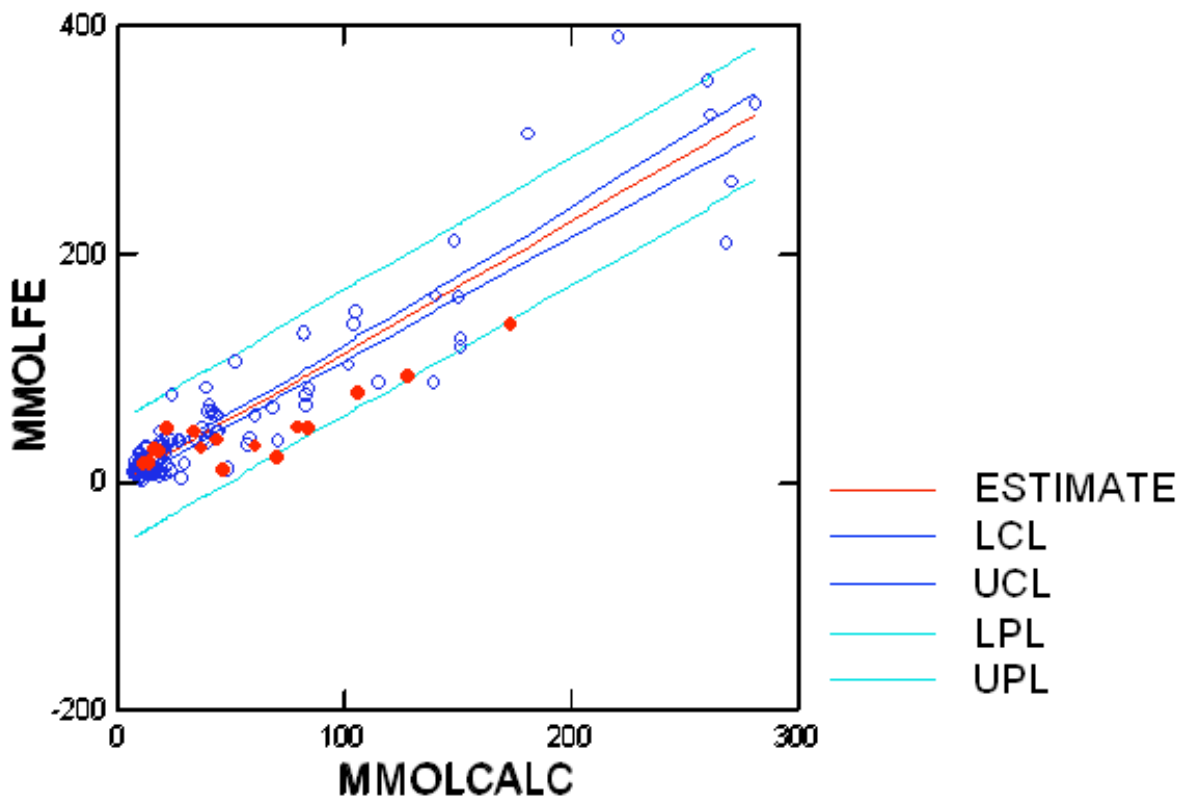


Figura 20. Comparación casos estudio 2004 y estudio 2010.

También hemos comparado los valores de la CHH estimada por RM en un estudio anterior (Radiology 2004) con la misma máquina en la que ahora hemos estudiado 17 pacientes, y los hemos comparado con la CHH de la biopsia hepática. Los resultados muestran cierta tendencia a sobrevalorar, como se observa en la figura, pero dentro del intervalo de confianza 95%. (Figura 20).

Discusión

8. Discusión

8.1. Historia RM 1 Tesla y de 1,5 Tesla

8.2. Impacto de la determinación de la CHH mediante RM

8.3. Discusión de los resultados

8.3.1. Grupo 1 Tesla

8.3.2. Grupo 1,5 Tesla

8.3.3. Ambos tipos de RM

8.3.4. RM 1,5 tesla 2004 vs. 2010

8. Discusión

8.1. Historia RM 1 Tesla y de 1,5 Tesla

La utilización de máquinas de 1 Tesla para la determinación de la CHH fue publicada por vez primera en 1994 por Bondestam et al (81), que estudiaron a 11 pacientes politransfundidos y con sobrecarga férrica por enfermedades hematológicas malignas. Encontraron una correlación lineal inversa estadísticamente significativa entre el número de unidades de concentrado de hematíes transfundidas y el ratio de la señal en las secuencias T1W ($p=0,03$) y T2W ($p=0,03$). Tras transfundir 20-30 unidades, se observa un efecto definido en T2W e imágenes STIR.

El grupo de Rennes (6, 79) realizó en 2001 una base de datos de acceso a través de Internet en la que se podían meter los resultados obtenidos en las secuencias de interés en las máquinas de 0,5, 1 y 1,5 Tesla y calcular así la CHH de los pacientes con sospecha de sobrecarga férrica.

La inmensa mayoría de los trabajos de la literatura se han llevado a cabo con máquinas de 1,5 Tesla (10), no existiendo trabajos en máquinas de 1 Tesla para el estudio de sobrecarga férrica en pacientes con sospecha o no de hemocromatosis.

Este protocolo del Grupo de la Universidad de Rennes (6, 79) está siendo utilizado, hoy en día, de forma habitual, y muchos estudios utilizan sus resultados como patrón de referencia para el cálculo de la CHH (82-85). Se considera útil para valores de CHH por debajo de 350 $\mu\text{mol/g}$. Debido a su simplicidad y reproducibilidad, es una opción útil para estandarizar la cuantificación de CHH mediante RM. Ello ha llevado también a que se utilice

como patrón de referencia en algunos trabajos para ver su correlación con parámetros clínicos.

Kim MJ et al (82) evaluaron la relación entre la graduación de la cantidad de hierro en hígado determinada por RM y la concentración de ferritina sérica en pacientes con hepatitis crónica viral. En su estudio pudieron determinar que la correlación entre la concentración media de ferritina y los grados de concentración férrica determinados por RM mediante la secuencia T2* eran los más elevados ($r=0.487$; $p<0.05$). Según ellos, los grados de hierro hepático determinados por RM y los nódulos sideróticos se correlacionan con la ferritina sérica, especialmente con los valores medios.

Olthof et al (83) estudiaron también la correlación entre los niveles séricos de ferritina y la CHH determinada por RM. El estudio lo llevaron a cabo en 28 pacientes utilizando RM con el protocolo de Gandon et al. (6,79), sin llevar a cabo biopsia hepática. Los resultados muestran una correlación significativa entre el contenido sérico de ferritina (r de Spearman $=0.66$,; $p<0.001$), y un ligeramente mejorado coeficiente de correlación cuando se limitaba a aquellos pacientes en los que se sabía que no existía inflamación ($r=0.82$; $n=17$; $p<0.001$). Si nos centramos en los pacientes con enfermedades hematológicas, esto tiene también un efecto beneficioso en la correlación entre ambas ($r=0.79$; $n=13$; $p<0.001$). Por lo tanto, concluyeron que en pacientes sin inflamación y con patología de origen hematológico, la ferritina sérica es un mejor predictor de la CHH que en otras categorías de pacientes.

Recientemente, se están también llevando a cabo estudios que comparan protocolos de obtención de la CHH mediante RM, con el objetivo de verificar su precisión (84,85).

Olthof et al (84) llevaron a cabo un estudio para comparar dos protocolos validados para la determinación no invasiva de la CHH mediante RM. Estudiaron 28 pacientes mediante RM y fueron evaluados siguiendo los protocolos de Kreeftenberg et al (85) y Gandon et al (6). Concluyeron que el método de Gandon muestra una mejor correlación inter e intraobservador y es más precisa debido a la preselección automática de una de las cinco secuencias más sensibles en el rango de CHH estimada. En el método de Kreeftenberg la combinación de los resultados de las tres secuencias subóptimas nos provoca una subestimación de la CHH.

Recientemente, Juchems et al (78) han comparado la medición de la CHH con secuencias eco-gradiente (GRE) con la relajación transversal protónica media hepática (R2) adquirida con secuencias spin-eco (SE), es decir, comparando los protocolos de Gandon et al (6) y de St. Pierre et al (16). El estudio que llevaron a cabo en 68 pacientes con sobrecarga férrica con máquinas de 1,5 T, reveló diferentes resultados de CHH aunque con una concordancia significativa ($r=0.85$; $p<0.001$). Los valores obtenidos mediante secuencias gradiente eco fueron generalmente superiores a los de las secuencias spin eco. Por ello, concluyen que su estudio puede llevar a resultados diferentes, de los que se pueden derivar decisiones diferentes en cuanto al tratamiento de los pacientes. El mismo grupo ha presentado en el último Congreso Europeo de Radiología (86) resultados en 198 pacientes. Confirman que la utilización de métodos GRE y SE son útiles para una estimación grosera de la CHH y para diferenciar entre sobrecargas leves de moderadas y altas en la mayoría de los pacientes. Pero señalan que, en general, la secuencias GRE del protocolo Gandon (7) tienden a sobreestimar los valores más altos de CHH.

Sólo muy pocos estudios han comparado los resultados de este modelo con el patrón de referencia aceptado de la determinación de la CHH mediante biopsia hepática (6,7,14,87). Sin embargo, todos los tests diagnósticos deben ser estudiados en más de una ocasión para poder determinar su seguridad, reproducibilidad y precisión, con respecto al estudio referencia estandar (6,88). Entre 1999 y 2001, nuestro grupo realizó un estudio prospectivo en el que se reclutaron 112 pacientes a los que se les realizó BH por indicación clínica y RM para determinación de la CHH (7). Se encontró una buena correlación entre la CHH estimada con el protocolo propuesto en la web de la Universidad de Rennes (6) y la CHH en biopsia ($r=0,887$). Además, se creó un nuevo modelo para estimar la CHH a partir de las imágenes de RM. Al llevar a cabo una regresión lineal entre la CHH y las medidas SI a partir de las imágenes de RM obtenidas en las diferentes secuencias, se observó que las secuencias T2- y la “intermediate weighed” (IW) aportaban la mejor correlación. Este modelo mostró una excelente correlación con la CHH verdadera en biopsia ($r=0,937$). La correlación entre la CHH estimada mediante la web de la Universidad de Rennes y la estimada mediante el nuevo modelo matemático fue muy elevada ($r=0,957$). En nuestro trabajo pudimos determinar puntos de corte de interés clínico: para una CHH estimada por RM $> 85\mu\text{mol/g}$ el VPP para hemocromatosis-alta sobrecarga férrica ($>80\mu\text{g/g}$ CHH biopsia) era del 100%; aquellos con CHH por RM $<40\mu\text{mol/g}$, el VPN para hemocromatosis-alta sobrecarga férrica fue del 100%. Las CHH estimadas mediante RM $>58\mu\text{mol/g}$ tuvieron un VPP para sobrecarga férrica ($>36\mu\text{mol/g}$ de CHH en biopsia) del 100%; si la CHH por RM era $< 20\mu\text{mol/g}$, su VPN para sobrecarga férrica fue del 100%.

En nuestro País, son pocos los estudios realizados en este campo, y generalmente se han llevado a cabo utilizando el método de la Universidad de Rennes (6) como patrón de referencia, sin comparar con biopsia, o solo en unos pocos casos (89-91). El método de Alústiza y cols. (7) ha sido utilizado en otros países con excelentes resultados (92), y recientemente comparado con el de St Pierre (16) con buena correlación (86). Existe una página web de libre acceso para obtener la determinación de la CHH mediante este método (93) y disponibilidad gratuita del fantoma para calibrar las máquinas de RM (80).

El hecho de tener una RM de 1 Tesla en Eibar y ser la RM de referencia de nuestro hospital nos llevó a plantearnos la realización de este estudio, para validar la máquina con biopsias hepáticas indicadas, y saber si estamos determinando de forma correcta o no la CHH de nuestros pacientes para poder sustituir la biopsia hepática en la determinación de la CHH por la realizada mediante RM. Al ser conocedores de esta tendencia a la sobrevaloración del método de la Universidad de Rennes, nos encontramos con otra razón más de peso para llevar a cabo nuestro estudio de validación. Por ello, comenzamos en el 2002 a recoger los estudios de todos los pacientes consecutivos a los que se les había realizado una RM de 1 Tesla para determinar la CHH y , además, una biopsia hepática con indicación clínica, aprovechando la misma para realizar también medición de CHH en tejido hepático.

A su vez, recogimos también los datos de todos aquellos pacientes con biopsia hepática y CHH a los que se les había realizado una RM de 1,5 Tesla para determinar CHH, y de aquellos a los que no se les realizó biopsia hepática, por no estar indicada, pero se les llevó a cabo estudio con RM 1 y 1,5 Tesla para

determinar CHH (bien porque en 1T diese sobrecarga, para confirmar, o porque el clínico no se creyese que la normalidad de la CHH por 1T fuese correcta).

8.2. Impacto de la determinación de la CHH mediante RM

El descubrimiento del gen HFE y de sus mutaciones supuso un enorme avance en el diagnóstico de la HH (3). La determinación de la CHH en estos pacientes y en los de sobrecarga secundaria es de gran importancia, tanto desde el punto de vista del diagnóstico de enfermedad y necesidad de tratamiento, como desde el punto de vista del pronóstico (2). En estos últimos 15 años se han realizado estudios que han ido relegando progresivamente la necesidad de la biopsia hepática tanto para el diagnóstico como para el pronóstico de la HH (2, 8, 71). Las guías de práctica clínica de las sociedades científicas, EASL y AASLD (23, 94), han cambiado sus criterios y sus algoritmos diagnósticos. Algunas de ellas, como en Francia y Holanda, otorgan un papel primordial a la RM dentro del algoritmo diagnóstico (95, 96). La biopsia hepática ha quedado relegada, fundamentalmente, a las tres situaciones que hemos comentado previamente (2).

Hoy en día, como bien dijo el Dr. Guyader en el 2005 (97), no existe indicación de realizar una biopsia hepática en las HH en los homocigotos C282Y con una cifra de ferritina $<1000\mu\text{g/L}$ y valores de transaminasas normales. Las variables séricas del hierro (ferritina sérica, índice de saturación de transferrina, hierro sérico) tienen poco interés para cuantificar el nivel de una sobrecarga eventual de hierro, fundamentalmente aquellas no asociadas al gen HFE. En los pacientes con una sobrecarga férrica no asociada al gen HFE, la MR permite evitar en la mayoría de los casos la realización de una biopsia hepática (8,97).

Pero algunos autores y sociedades siguen recomendando su realización para el diagnóstico de HH en los casos de no mutaciones típicas en el gen HFE, al no existir estudios prospectivos que nos indiquen que es lo que hay que hacer con ellos.

Como comentamos, esto en Gipuzkoa supone un problema adicional, ya que aunque el paciente no tenga factores de riesgo de fibrosis (elevación GPT, plaquetas <200.000, edad>40 años, ferritina >1000) (2, 64, 98-102), al existir un porcentaje bajo con mutaciones típicas HFE (4, 5), habría que seguir biopsiando a muchos de ellos.

En los hospitales de Mendaró y Mondragón, desde que comenzamos a estudiar la CHH por métodos no invasivos en el año 1999, ha cambiado el modo de actuar frente a los pacientes con hiperferritinemia o HH. Entre los años 1999-2001 (3 años) se llevó a cabo el reclutamiento de los pacientes que incluimos en el estudio de 112 pacientes que se publicó en Radiology (7). De ellos, 34 fueron reclutados de forma consecutiva en el hospital de mendaró. Posteriormente, entre 2002 y 2006 (5 años) se llevaron a cabo 39 (de 41) biopsias hepáticas consecutivas con determinación de CHH y RM posterior (38). Entre 2007 y 2010 únicamente se hicieron 9 biopsias (de 11 realizadas) (4 años) y se compararon con RMN.

En el Hospital de Mondragón, así mismo, se llevaron a cabo 9 biopsias hepáticas con RMN entre 1999-2001, que fueron estudiadas dentro del trabajo de validación de la máquina de Osatek Donostia (7). Entre 2002 y 2010 se han llevado a cabo 20 biopsias con determinación de CHH, realizándose a su vez RM en 12, tres de los cuales no entraron en el estudio al no cumplir criterios de inclusión. Nueve se hicieron entre 2002-2006 y tres entre 2007-2010.

Queda claro, por lo tanto, que se ha producido una progresiva reducción del número de biopsias hepáticas en las que se ha solicitado determinación de CHH, mientras que se ha producido un gran incremento en el número de RM para dicho cometido.

Este cambio supone una mejora en la calidad del estudio del paciente con sospecha de sobrecarga férrica, con una disminución en la morbilidad y mortalidad de las pruebas a las que se les someten. Además, todo ello es percibido por los pacientes como una mejora sustancial, al evitárseles todas las molestias que les suponía la realización de la biopsia hepática: ingreso hospitalario, posibilidad de complicaciones, mortalidad, etc (2, 103).

En un estudio retrospectivo de todos los pacientes a los que se les ha realizado una RM para la determinación de la CHH en la máquina de 1,5 Tesla de Osatek Donostia, entre 2002 y 2008, se ha podido definir la indicación de la determinación de la CHH por RM para el diagnóstico de ASF. De los 478, en 242 pacientes se dispuso de toda la información clínica y de laboratorio necesaria, se pudo estudiar la utilidad de la realización del gen HFE, la ferritina sérica y de la saturación de transferrina. El 61% de los pacientes no requieren una RM para diagnosticar ASF. Si la ST o la FS son normales, el VPN para ASF es del 97%. La combinación homocigosis C282Y con FS y ST elevadas tiene un VPP para ASF del 82%. La RM estaría, por lo tanto indicada en los pacientes con elevación de ST y FS y otras mutaciones del gen HFE (104).

Por lo tanto, se realizan menos biopsias hepáticas en el estudio de los pacientes con alteraciones del metabolismo del hierro, y gracias al gen HFE, a

la FS y a la ST, podemos saber a que pacientes realizar una RM para determinar la CHH en los mismos.

8.3. Discusión de los resultados

8.3.1. Grupo 1 Tesla

En nuestro estudio hemos llevado a cabo una determinación de la correlación entre los valores de CHH obtenidos en 35 pacientes mediante biopsia hepática y RM de 1 Tesla, utilizando el método de la Universidad de Rennes (6, 79). Existe una correlación entre ambas de $r=0.619$.

En los diferentes grupos de CHH por biopsia hepática (A; B; C) la precisión de la valoración por RM varió. La mayoría de los errores, fueron debidos a sobreestimación de la CHH por RM en los grupos A y B. En el grupo C la estimación fue correcta en el 100% de los casos.

Para valores de CHH $< 36 \mu\text{mol/g}$, en el Grupo A, se obtiene una sensibilidad 46.7% y una especificidad del 100%, con un VPN 71.4% y VPP 100% para la ausencia de sobrecarga férrica.

Con valores de CHH $> 80 \mu\text{mol/g}$, Grupo C, la sensibilidad fue del 100% y la especificidad del 53.3%; el VPN del 100% y el VPP del 26.3%. Por todo ello, podemos afirmar que valores en RM menores de $80 \mu\text{mol/g}$ nos permiten descartar con el 100% de seguridad una sobrecarga férrica hepática de alto grado. Si la RM da un valor $> 80 \mu\text{mol/g}$, acierta en algo más del 25% de los casos. Es por ello que es muy útil para descartar enfermedad pero no para diagnosticarla.

Valores de CHH $> 36 \mu\text{mol/g}$ nos ofrecen una sensibilidad del 100%, especificidad 46.7%, VPP 71.4%, VPN 100%. Valores inferiores a $36 \mu\text{mol/g}$, descartan con el 100% de seguridad sobrecarga férrica.

En la literatura (82,83), se han llevado a cabo estudios con el fin de verificar la existencia o no de correlación entre los valores de CHH obtenidos mediante MR y parámetros bioquímicos de fácil obtención, como la ferritina sérica. En algunos estudios parecía existir, si bien eran con escaso número de pacientes, y se correlacionaban con los valores de RM, que como hemos visto, pueden sobrevalorar. Nosotros en nuestro estudio analizamos la correlación, por regresión lineal, entre la CHH obtenida por biopsia hepática y diferentes parámetros: no se encontró correlación entre la CHH por biopsia y la ferritina sérica ($p=NS$), Fe sérico ($p=NS$) ni con estar infectado por el VHC ($p=NS$), ya que existen trabajos que apoyan esta relación (105), aunque otros no (106). Por lo tanto la ferritina y Fe séricos no sirven de marcadores de la CHH ni la presencia de VHC permite presuponer una mayor CHH en el paciente. Tampoco encontramos relación entre los diferentes grados de fibrosis obtenidos en la biopsia con la CHH ($p=NS$) ni con la edad del paciente ($p=NS$). Si encontramos relación entre el grado de fibrosis y las cifras de plaquetas, GOT, GPT y GGTP ($p<0.05$).

Al relacionar entre sí los diferentes parámetros bioquímicos obtuvimos una correlación entre las cifras de Fe y de Ferritina sérica y entre la Saturación de transferrina y la ferritina sérica ($p<0.05$).

La CHH por biopsia no se relaciona con la edad del paciente, el grado de fibrosis en biopsia ni con la ferritina sérica, pero si con el resultado de la CHH por RM, con una correlación ($r=0.619$).

-Podemos concluir que la evaluación de CHH por RM de 1 tesla es útil para descartar hemocromatosis e identificar personas con ausencia de sobrecarga férrica, si bien observamos una tendencia a la sobreestimación tanto en los

pacientes con sobrecarga como en las personas sin sobrecarga férrica hepática. Esto limita su fiabilidad en el diagnóstico de sobrecarga férrica por RM, y nos animó a valorar si la RM de 1.5 Tesla constituía una buena alternativa para cuantificar más exactamente la CHH.

Grupo 1,5 Tesla

En los 23 pacientes estudiados mediante biopsia y RM de 1,5 teslas, utilizando el método de Alústiza (7), existió una correlación entre ambas técnicas para la medición de la CHH ($r=0,815$).

Los errores que existieron en la estimación de la CHH por RM fueron debidos a sobreestimación tanto en el grupo A como en el B. En el grupo C, la estimación fue correcta en el 100%.

Con valores de $CHH < 36 \mu\text{g/g}$, grupo A, obtenemos sensibilidad 28.6%, especificidad 77.8%; VPN del 41.2% y VPP del 66.6% para la ausencia de sobrecarga férrica.

Con valores de $CHH > 80 \mu\text{g/g}$, grupo C, sensibilidad 100%, especificidad 85%; VPN del 100% y VPP 50%. Con ello podemos afirmar que una $CHH < 80 \mu\text{g/g}$ nos permite descartar con un 100% de seguridad una sobrecarga férrica de alto grado. Si la RM nos revela una $CHH > 80 \mu\text{g/g}$, acierta en uno de cada dos casos.

Si la CHH por RM $> 36 \mu\text{g/g}$, obtenemos sensibilidad 77,8%, especificidad 28,6%, VPP 41,2% y VPN 66,6%.

Hemos llevado a cabo regresión lineal para estudiar la correlación entre la CHH por biopsia hepática y diferentes parámetros analíticos, sin que la hayamos

encontrado. Los resultados de estudio de correlación con ferritina sérica, Fe sérico y VHC no fueron estadísticamente significativos ($p=NS$).

Al analizar la correlación de los diferentes grados de fibrosis con los diferentes parámetros clinico-analíticos no hemos encontrado relación con la CHH, la edad del paciente, y la CHH por biopsia ($p=NS$). Tampoco la hay con la GPT, GOT y GGTP ($p=NS$), pero si con la cifra de plaquetas ($p<0.05$). Al relacionar entre si diferentes parámetros bioquímicos, no encontramos relación entre la cifras de Fe sérico y de ferritina sérica ($p=NS$), ni entre la saturación de transferrina y de ferritina sérica ($p=NS$).

Por lo tanto, podemos concluir que, la CHH por biopsia no se relaciona con los valores de ferritina sérica, grado de fibrosis por biopsia, ni con la edad del paciente. En cambio, si existe una correlación con la CHH determinada mediante RM ($r=0.815$).

-Si analizamos en conjunto los parámetros clínico-analíticos de los dos grupos (58 casos/56 pacientes), encontramos al hacer regresión lineal para ver si existe relación entre las diferentes determinaciones analíticas y la CHH, que ningún parámetro presenta diferencias significativas (Fe, Ferritina, IST, GPT, GOT, PLT, Bilirrubina, GGTP: $p=NS$). La CHH tampoco se relaciona de forma significativa con el grado de fibrosis ni con el VHC ($p=NS$).

-En los 17 pacientes estudiados en Osatek Donostia, se objetivó una mejor correlación con los resultados de la CHH por biopsia, mostrando una $r=0.881$. Por ello, pensamos que la valoración de este grupo constituye una buena comprobación de la validez de la calibración de la máquina de Osatek

Donostia, años después de su calibración original en 1999-2001 (7) con la fórmula de Alústiza y cols.

-Si valoramos solo los 6 pacientes de Osatek Gasteiz, la correlación es $r=0.872$.

-Al comparar la determinación de la CHH por RM de 1 Tesla, mediante el método Gandon (6) con 1,5 Tesla, mediante el método Alústiza (7), vemos que RM por 1 Tesla sobrevalora más, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas. Los límites en la sobrevaloración difieren, por lo que 1 Tesla sobreestima más la CHH. La saturación del modelo de RM es más evidente con 1 Tesla. Los límites del acuerdo son más amplios.

8.3.2. Ambos tipos de RM

En los 27 pacientes sin biopsia hepática, en los que realizamos ambos tipos de RM, se observa que hay una clara tendencia a sobrevalorar con la RM de 1 tesla. Si tomamos como patrón de referencia la valoración de la CHH mediante RM de 1,5 Tesla, mediante el método de Alústiza, en una máquina calibrada, todas las determinaciones con RM 1 Tesla, método Gandon, salvo una, nos dan valores superiores. La RM de 1 Tesla serviría para descartar hemocromatosis o alta sobrecarga férrica hepática. También nos permite identificar pacientes con nula o leve-moderada sobrecarga férrica, ya que valores intermedios nunca van a dar alta sobrecarga en 1,5 Tesla. La RM de 1,5 Tesla constituye una buena alternativa para cuantificar más exactamente la CHH.

8.3.3. RM 1,5 tesla 2004 vs. 2010

Comparación 2004-2010: Al comparar los valores de la CHH estimada por RM en un estudio anterior (7) con los 17 pacientes estudiados en la misma máquina ahora, se observa cierta tendencia a sobrevalorar, pero dentro del intervalo de confianza 95%, lo cual nos permite seguir confiando en la técnica en una máquina calibrada a pesar del paso del tiempo.

Conclusiones

1. **La Resonancia Magnética de 1 Tesla** para la cuantificación de la concentración de hierro hepático mediante el método de la Universidad de Rennes en nuestro medio **es útil** para descartar sobrecarga férrica hepática de alto grado y para identificar personas con ausencia de sobrecarga férrica. Observamos una **tendencia a la sobreestimación** tanto en los pacientes con sobrecarga como en las personas sin sobrecarga férrica hepática. Esto limita su fiabilidad en el diagnóstico de sobrecarga férrica por Resonancia Magnética.
2. La **Resonancia magnética de 1,5 Tesla** para la cuantificación de la CHH mediante el método de Alústiza es útil en nuestro medio **para la resolución de casos no concluyentes** con RM de 1 Tesla. La RM de 1,5 Tesla tiene una mejor correlación con la CHH por biopsia y tiene también cierta tendencia a sobrevalorar, pero es menor.
3. La **RM por 1Tesla estima valores superiores a los de la RM de 1,5 Tesla.**
4. **Los resultados de la máquina de 1,5 Tesla de Osatek Donostia siguen siendo precisos**, ya que aunque se observa

cierta tendencia a la sobreestimación siguen dentro del intervalo de confianza.

5. Se ha producido una **progresiva reducción del número de biopsias hepáticas** en las que se ha solicitado determinación de CHH, mientras que se ha producido un **gran incremento en el número de RM** para dicho cometido.

Bibliografía

Bibliografía

- 1.- O'Neil J, Powell L. Clinical aspects of hemochromatosis. *Semin Liver Dis.* 2005;25(4):381-91.
- 2.- Castiella A, Zapata E, Alústiza JM. Non-invasive methods for liver fibrosis prediction in hemochromatosis: One step beyond. *World J Hepatol* 2010; 2: 251-255.
- 3.- Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996; 13: 399-408.
- 4.- De Juan MD, Reta A, Castiella A, Pozueta J, Prada A, Cuadrado E. *HFE* gene mutations analysis in Basque hereditary hemochromatosis patients and controls. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 961-4.
- 5.- Bauduer F, Scribans C, Degioanni A, Renoux M, Dutour O. Distribution of the C282Y and H63D polymorphisms in hereditary hemochromatosis patients from the French Basque Country. *Ann Hematol* 2005; 84: 99-102.
- 6.- Gandon Y, Olivie D, Guyader D, Aubé C, Oberti F, Sebille V, Deugnier Y. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *The Lancet* 2004;363:357-62.
- 7.- Alústiza JM , Artetxe J, Castiella A et al. MR Quantification of Hepatic Iron Concentration. *Radiology* 2004; 230: 479-84.
- 8.- Castiella A, Alústiza JM, Artetxe J. Hereditary hemochromatosis. *N Engl J Med* 2004; 35: 1263-64.
- 9.- Brittenham GM , Badman DG. Noninvasive measurement of iron: report of an NIDDK workshop. *Blood* 2003;101(1):15-19.

- 10.- Alustiza JM, Castiella A, De Juan MD, et al. Iron overload in the liver: diagnostic and quantification. *European Journal Radiology* 2007; 6: 499-513.
- 11.- Porter JB. Liver iron measurement by MRI. *Blood* 2005; 105: 437.
- 12.- Tavill AS. Diagnosis and management of hemochromatosis. *Hepatology* 2001; 33: 1321-8.
- 13.- Bonkovsky HL, Rubin RB, Cable EE et al. Hepatic iron concentration: noninvasive estimation by means of MR imaging techniques. *Radiology* 1999; 212: 227-34.
- 14.- Rose C, Vandevenne P, Bourgeois E, Cambier N, Ernst O. Liver iron content assessment by routine and simple magnetic resonance imaging procedure in highly transfused patients. *Eur J Haematol.*2006; 77: 145-9.
- 15.- Anderson LJ, Holden S, Davis B, et al. Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *European Heart Journal* 2001;22:2171-9.
- 16.- St Pierre TG, Clark PR, Chua-anusorn W et al. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood* 2005;105(2):855-61.
- 17.- Olynyk JK, St Pierre TG, Britton RS, Brunt EM, Bacon BR. Duration of hepatic iron exposure increases the risk of significant fibrosis in hereditary hemochromatosis: A new role for magnetic resonance imaging. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 837-41.
- 18.- Brunt EM. Pathology of hepatic iron overload. *Sem Liv Dis* 2005; 25: 392-401.
- 19.- Guyader D, Gandon Y. Quantification of iron overload. *Bull Acad Natl Med* 2000; 184: 337-348.

- 20.- Wong K, Adams PC. The diversity of liver diseases among outpatient referrals for elevated serum ferritin. *Can J Gastroenterol* 2006; 20: 467-70.
- 21.-Sirlin CB, Reeder SB. Magnetic resonance imaging quantification of liver iron. *Magn Reson Imaging Clin Clin N Am* 2010; 18: 359-381.
- 22.-Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis: Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *Gastroenterology* 2010; 139: 393-408.
- 23.-EASL Clinical Practice Guidelines on Hemochromatosis. *J Hepatol* 2010; 53: 3-22.
- 24.-Aguilar-Martínez P. L'hémochromatose, un problème de santé publique. *Soins* 2007; (706): 34-35.
- 25.- Adams P. Iron overload states. In: Dooley JS, Lok ASF, Burroughs AK, Heathcote EJ (eds.). *Sherlock's Diseases of the Liver and Biliary System*. 12th ed. Oxford, United Kingdom Wiley-Blackwell; 2011: 521-533.
- 26.-De Domenico I, Ward DM, Kaplan J. Hepcidin and Ferroportin: The new players in iron metabolism. *Semin Liver Dis* 2011; 31: 272-279.
- 27.-Nemeth E, Ganz T. The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematol* 2009; 122: 78-86.
- 28.-Simpson RJ, McKie AT. Regulation of intestinal iron absorption: the mucosa takes control? *Cell Metabol* 2009; 10: 84-87.
- 29.-Waheed A, Parkkila S, Zhou XY et al. Hereditary hemochromatosis: effects of C282Y and H63D mutations on association with beta 2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 12384-12389.
- 30.-Pietrangelo A. Hemochromatosis: an endocrine liver disease. *Hepatology* 2007; 46: 1291-1301.

- 31.-Meynard D, Kautz L, Darnaud V, et al. Lack of the bone morphogenetic proteína BMP6 induces massive iron overload. *Nat Genet* 2009; 41: 478-481.
- 32.-Camaschella C, Poggiali E. Rare types of generic hemochromatosis. *Acta Haematol* 2009; 122: 140-145.
- 33.-Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis. A new look to an old disease. *N Engl J Med* 2004; 350: 2383-2397.
- 34.-Frazer DM, Anderson GJ, Ramm GA, Subramaniam VN, Powell LW. How much iron is too much? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 287-290.
- 35.-Ramm GA, Crawford DHG, Powell LW, et al. Hepatic stellate cell activation in genetic hemochromatosis: lobular distribution, effect of increasing hepatic iron and response to phlebotomy. *J Hepatol* 1997; 26: 584-592.
- 36.Friedman SL. Hepatic stellate cels: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008; 88: 125-172.
37. Falize L, Guillygomarch A, Perrin M, et al. Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: a study of 36 cases. *Hepatology* 2006; 44: 472-477.
38. Castiella A, Zapata E, De Juan MD, et al. Significance of H63D homozygosity in a Basque population with hemochromatosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 1295-1298.
- 39.-Ombiga J, Adams LA, Tang K, Trinder D, Olynyk JK. Screening for HFE and iron overload. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 402-410.
- 40.-Gan EK, Powell LW, Olynyk JK. Natural history and management of HFE-hemochromatosis. *Semin Liver Dis* 2011; 31: 293-301.

- 41.-Osborne NJ, Gurrin LC, Allen KJ, et al. HFE C282Y homozygotes are at increased risk of breast and colorectal cancer. *Hepatology* 2010; 51: 1311-1318.
- 42.-Chua AC, Klopčič B, Lawrence IC, Olynyk JK, Trinder D. Iron: an emerging factor in colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 663-672.
43. Aguilar-Martinez P, Schved JF, Brissot P. The evaluation of hyperferritinemia: an updated strategy based on advances in detecting genetic abnormalities. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1185-1194.
- 44.Brissot P, Bardou-Jacquet E, Jouanolle AM, Loreal O. Iron disorders of genetic origin: a changing world. *Trends Mol Med* 2011; 17:707-715.
- 45.Pietrangelo A. Non-HFE hemochromatosis. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 450-460.
- 46.-Dever J, Kowdley KV. Iron metabolism and diagnosis of iron overload disorders. *Expert Opin Med Diagn* 2010; 4: 67-77.
- 47.-Cazzola M, Ascari E, Barosi G, et al. Juvenile idiopathic haemochromatosis: A life-threatening disorder presenting as hypogonadotropic hypogonadism. *Hum Genet* 1983; 65: 149-54.
- 48.-Papanicolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, et al. Mutations in HFE 2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004; 36: 77-82.
- 49.-Roetto A, Papanicolaou G, Politou M, et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; 33: 21-22.
- 50.-Camaschella C, Roetto A, Cali A, et al. The gene TfR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet* 2000; 25: 14-15.

- 51.-Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, et al. Hepcidin is decreased in TfR2 hemochromatosis. *Blood* 2005; 105: 1803-1806.
52. Pietrangelo A. The ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis* 2004; 32: 131-138.
- 53.Pietrangelo A, Corradini E, Ferrara F, et al. Magnetic resonance imaging to identify classic and nonclassic forms of ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 37: 192-196.
54. Sham RL, Phatak PD, West C, et al. Autosomal dominant hereditary hemochromatosis associated with a novel ferroportin mutation and unique clinical features. *Blood Cells Mol Dis* 2005; 34: 157-161.
- 55.-Beaumont C, Leneuve P, Devaux I, et al. Mutation in the iron responsive element of the L ferritin mRNA in a family with dominant hyperferritinaemia and cataract. *Nat Genet* 1995; 11: 444-446.
- 56.-De Domenico I, Ward DM, di Patti, et al. Ferroxidase activity is required for the stability of cell surface ferroportin in cells expressing GPI-ceruloplasmin. *EMBO J* 2007; 26: 2823-2831.
- 57.-Knisely AS, Gelbart T, Beutler E. Molecular characterization of a third case of human atransferrinemia. *Blood* 2004; 104: 2607
- 58.-Iolascon A, Camaschella C, Pospisilova D, Piscopo C, Tchernia G, Beaumont C.Natural history of recessive inheritance of DMT1 mutations. *J Pediatr* 2008; 152: 136-139.
- 59.-Guernsey DL, Jiang H, Campagna DR, et al. Mutations in mitochondrial carrier family gene SLC25A38 cause nonsyndromic autosomal recessive congenital sideroblastic anemia. *Nat Genet* 2009; 41: 651-653.

- 60.-Ye H, Rouault TA. Glutaredoxin 5 deficiency causes sideroblastic anemia by specifically impairing heme biosynthesis and depleting cytosolic iron in human erythroblasts. *J Clin Invest* 2010; 120: 1749-1761.
- 61.-Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE, et al. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med* 2000; 343: 327-331.
- 62.-Castiella A, Zapata E, De Juan MD, et al. Porphyria cutanea tarda. An analysis of HFE mutations, hepatitis viruses, alcohol intake, and other risk factors in 54 patients from Guipuzcoa, Basque Country, Spain. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 774-778.
63. Rowe JW, Wands JR, Mezey E, et al. Familial hemochromatosis: characteristics of the precirrhotic stage in a large kindred. *Medicine (Baltimore)* 1977; 56: 197-211.
- 64.- Castiella A, Zapata E, Otazua P, et al. Utility of various non-invasive methods for fibrosis prediction among Basque Country patients with phenotypic hemochromatosis. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 611-614.
- 65.-Bravo A, Sheth S, Chopra S. Liver biopsy. *N Engl J Med* 2001; 344: 495-500.
- 66.-Guyader D, Gandon Y, Deugnier Y, et al. Evaluation of computed tomography in the assessment of liver iron overload. A study of 46 cases of idiopathic hemochromatosis. *Gastroenterology* 1989; 97: 737-743.
- 67.-Wang ZJ, Haselgrove JC, Martin MB, et al. Evaluation of iron overload by single voxel MRS measurement of liver T2. *J Magn Reson Imaging* 2002; 15: 395-400.

- 68.-Maliken BD, Avrin WF, Nelson JE, Mooney J, Kumar S, Kowdley KV. Room-temperature susceptometry predicts biopsy-determined hepatic iron in patients with elevated serum ferritin. *Ann Hepatol* 2012; 11: 77-84.
- 69.-Stark DD, Bass NM, Moss AA, et al. Nuclear magnetic resonance imaging of experimentally induced liver disease. *Radiology* 1983; 148: 743-751.
- 70.-Stark DD, Goldberg HI, Moss AA, et al. Chronic liver disease: evaluation by magnetic resonance. *Radiology* 1984; 150: 149-151.
- 71.-Wood JC. Magnetic resonance imaging measurement of iron overload. *Curr Opin Hematol* 2007; 14: 183-190.
72. Queiroz-Andrade M, Blasbalg R, Ortega CD, et al. MR imaging findings of iron overload. *Radiographics* 2009; 29: 1575-1589.
73. Tziomalos K, Perifanis V. Liver iron content determination by magnetic resonance imaging. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1587-1597.
74. Alústiza JM, Castiella A, Emparanza JI. Quantification of iron concentration in the liver by MRI. *Insights into Imaging*. 2012; 3: 173-180.
- 75.-Gandon Y, Guyader D, Heautot JF, et al. Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient-echo MR imaging. *Radiology* 1994; 193: 533-538.
- 76.Westphalen AC, Qayyum A, Yeh BM, et al. Liver fat: effect of hepatic iron deposition on evaluation with opposed-phase MR imaging. *Radiology* 2007; 242: 450-455.
77. Alustiza JM, Castiella A. Liver fat at in-phase and opposed-phase MR imaging. *Radiology* 2008; 246: 641.
- 78.-Juchems MS, Cario H, Schmid M, Wunderlich AP. Liver iron content determined by MRI: Spin-Echo vs. Gradient-Echo. *Rofo* 2012; 184: 427-431.

- 79.- Gandon Y. Iron, liver and MRI. <http://www.radio.univ-rennes1.fr> Accessed Feb 23th, 2012 (updated august 22th, 2003).
- 80.- Alustiza JM, Emparanza JI, Castiella A, et al. Valoración de la sobrecarga férrica mediante resonancia magnética. *Haematologica* 2008 (ed. Española); 93 (extra 1): 137-141.
- 81.-Bondestam S, Lamminen A, Anttila VJ, Ruutu T, Ruutu P. Magnetic resonance imaging of transfusional hepatic iron overload. *Br J Radiol* 1994; 67: 339-341.
- 82.-Kim MJ, Mitchell DG, Ito K, et al. Hepatic iron deposition on MR imaging in patients with chronic liver disease: correlation with serial serum ferritin concentration. *Abdom Imaging* 2001; 26: 149-156.
- 83.-Olthof AW, Sijens PE, Kreeftenberg HG, et al. Correlation between serum ferritin levels and liver iron concentration determined by MR imaging: impact of hematologic disease and inflammation. *Magn Reson Imaging* 2007; 25: 228-231.
- 84.-Olthof AW, Sijens PE, Kreeftenberg HG, Kappert P, van der Jagt EJ, Ouderk M. Non-invasive liver iron concentration measurement by MRI: Comparison of two validated protocols. *Eur J Radiol* 2009; 71: 116-121.
- 85.-Kreeftenberg HG Jr, Mooyaart EL, Huizenga JR, Sluiter WJ. Quantification of liver iron concentration with magnetic resonance imaging by combining T1-, T2-weighted spin echo sequences and a gradient echo sequence. *Neth J Med* 2000; 56: 133-137.
- 86.-Juchem M, Cario H, Wunderlich A. Comparison of different MRI methods for determination of liver iron content. In: *European Congress of Radiology; 2012*

[homepage on the internet]. Viena: European Society fo Radiology. Available from: doi 10.1594/ecr2012/C-2248.

87.-Costero Pastor AB, Diez Perez-Vacas MI, Mendez A, et al. Correlación de las pruebas de imagen con la sobrecarga de hierro hepática en las hepatopatías crónicas. Rev Esp Enferm Dig 2007; 99 (Supl I): 80.

88.-Alustiza JM, Emparanza JI, Aldazabal P, et al. Standardization of the quantification of iron concentration in the liver by magnetic resonance imaging. Radiologia 2012; 54: 149-154.

89.- Marti E, Remacha AF, Canales C, y cols. Resonancia magnética como alternativa a la biopsia hepática en las enfermedades que cursan con atesoramiento de hierro en hígado. Hematológica 2008; 93 (Ed. Española); (Extra 1): COS-013.

90.-Baldoma España M, Monill Serra JM, Pérez Martínez C,y cols. Utilidad de la resonancia magnética en la cuantificación de hierro, como alternativa a la biopsia hepática en las enfermedades que cursan con atesoramiento de hierro. Radiologia 2010; 52 (Supl 1): P253.

91.-Costilla Barriga L, Recasens Flores V, Cortés Villuendas T, y cols. Utilidad de la RMN hepática en el manejo de pacientes con sobrecarga férrica. Hematológica 2011; 96 (Ed. Española) (Extra 2): PO-087.

92.-Bourbon Filho LA, Ferrao TO, Callado Franca AV, et al. Transfusional iron overload in patients with sickle cell anemia: comparison between magnetic resonante Imaging and serum ferritina. Radiol Bras 2011; 44: 151-55.

93.-Alústiza JM. SEDIA investiga. Cálculo Concentración FE Hepático. Available at: www.sedia.es

- 94.-Bacon BR, Adams PC, Kowdley KV, et al. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of the Liver Diseases. *Hepatology* 2011; 54:328-343.
- 95.-Swinkels DW, Jorna ATM, Raymakers RAP, et al. Synopsis of the Dutch multidisciplinary guideline for the diagnosis and treatment of hereditary hemochromatosis. *Neth J Med* 2007; 65: 452-455.
- 96.-Brissot P, Le Lan C, Troadec MB, et al. HFE hemochromatosis: pathogenic and diagnostic approach. *Transfus Clin Biol* 2005; 12: 77-82.
- 97.-Guyader D. Noninvasive quantification of liver fibrosis and hepatic iron concentration. *La lettre de l'hépatogastroentérologue* 2005; 8: 67-70.
- 98.-Guyader D, Jacquelinet C, Moirand R, Turlin B, Mendler MH, Chaperon J. Noninvasive prediction of fibrosis in C282Y homozygous hemochromatosis. *Gastroenterology* 1998; 115: 929-936.
- 99.-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: 953-962.
- 100.-Beaton M, Guyader D, Deugnier Y, Moirand R, Chakrabarti S, Adams P. Noninvasive prediction of cirrhosis in C282Y-linked hemochromatosis. *Hepatology* 2002; 36: 673-678.
- 101.-Morrison ED, Brandhagen DJ, Phatak PD, et al. Serum ferritin level predicts advanced hepatic fibrosis among U.S. patients with phenotypic hemochromatosis. *Ann Intern Med* 2003; 138: 627-633.
- 102.-Castiella A, Zapata E, Otazua P. Hemochromatosis: platelets and aspartate aminotransferase are useful high-degree fibrosis marker. *Hepatology* 2009; 49: 1781; author reply 1781-1782.

103.-de Sterke P. Should we continue to perform liver biopsies in hereditary hemochromatosis (HH)? Open letter to all doctors involved in hereditary hemochromatosis. Update on January 5th 2010. Available from: URL: <http://www.hemochromatosis.co.uk/liverbiopsy/index.htm>

104.-Castiella A, Alústiza JM, Zapata E, et al. Indication of MRI liver iron concentration determination within the high liver iron overload diagnostic algorithm. J Hepatol 2012; 56 (Suppl 1): S542-S543 (abstract).

105.-Metwally MA, Zein CO, Zein NN. Clinical significance of hepatic iron deposition and serum iron values in patients with chronic hepatitis c infection. Am J Gastroenterol 2004; 99: 286-291.

106.-Lin T-J, Liao L-Y, Lin S-Y, Chang T-A. Influence of iron on the severity of hepatic fibrosis on patients with chronic hepatitis C. World J Gastroenterol 2006;12: 4897-4901.

Índice de Figuras

Figura 1: Absorción intestinal (pág 16).

Figura 2: Regulación (pág 20).

Figuras 3a y 3b. Imágenes histológicas hepáticas (hematoxilina-eosina (a); tinción de perls (b): sobrecarga férrica 2/3 (pág 44).

Figuras 4a y 4b: Imágenes histológicas hepática (hematoxilina-eosina (a); perls (b): sobrecarga 2/4 (pág 44).

Figura 5: Algoritmo diagnóstico de la HH mediante métodos no invasivos (pág 47).

Figura 6. Cuantificación de la CHH mediante RM (pág 51).

Figura 7: Distribución de los pacientes incluidos en el estudio (pág 67).

Figura 8. Análisis de las mutaciones en el gen HFE. PCR en tiempo real (pág 73).

Figura 9. Ejemplo de análisis de las mutaciones H63D/S65C. Patrones: homocigoto H63D, heterocigoto H63D , heterocigoto S65C y mutación ausente (pág 74).

Figura 10. Distribución de los pacientes y los métodos utilizados para calcular la CHH (pág 79).

Figura 11. Correlación de la CHH por RMN 1 Tesla y biopsia (pág 87).

Figura 12 Correlación de la CHH por RMN 1,5 Tesla y biopsia (pág 94).

Figura 13. Comparación CHH por RMN (Osatek-Donostia) y biopsia (pág 96).

Figura 14. Comparación CHH por RMN (Osatek-Gasteiz) y biopsia (pág 97).

Figura 15. Comparación CHH por RMN 1 T(azul) y 1,5 T(rojo) y biopsia (pág 98).

Figura 16. Saturación y límites del acuerdo con RM 1 T (pág 99).

Figura 17. Saturación y límites del acuerdo con RM 1,5 T (pág 99).

Figura 18. CHH mediante RM 1,5 T osatek donostia (azul)-gasteiz(rojo) y biopsia (pág 100).

Figura 19. Comparación RM 1T y RM 1,5T (pág 103).

Figura 20. Comparación casos estudio 2004 y estudio 2010 (pág 104).

Índice de Tablas

Tabla 1: Metabolismo del hierro: proteínas clave (pág 23).

Tabla 2: Estadios o etapas en el desarrollo de la enfermedad en la HH (pág 31).

Tabla 3: Clasificación de sobrecarga férrica y hemocromatosis hereditarias (pág 38).

Tabla 4: Clasificación de sobrecargas férricas adquiridas (secundarias) y otras causas (pág 40).

Tabla 5. Protocolo de la Universidad de Rennes. Diferentes secuencias para máquinas de 0,5,1 y 1,5 Teslas (pág 69).

Tabla 6. Grado de Fibrosis hepática (pág 71).

Tabla 7. Grupos según la CHH (pág 72).

Tabla 8. Determinaciones clínicas y de laboratorio. Pacientes RM 1 Tesla (pág 80).

Tabla 9. Mutaciones gen HFE (pág 81).

Tabla 10. Valoración CHH por RM 1 Tesla y biopsia (pág 83).

Tabla 11. Valores de CHH por RM (1 T) <36 (pág 83).

Tabla 12. Valores de CHH por RM (1 T) >80 (pág 84).

Tabla 13. Valores de CHH por RM (1 T) >36 (pág 85).

Tabla 14. Sensibilidad, especificidad, VPP, VPN para RM >80 y <36 $\mu\text{mol/g}$ (pág 85).

Tabla 15. Determinaciones clínicas y de laboratorio. Pacientes RM 1,5 Tesla (pág 88).

Tabla 16. Valoración de la CHH por RM 1,5 T y biopsia (pág 90).

Tabla 17. Valores de CHH por RM (1,5 T) <36 (pág 91).

Tabla 18. Valores de CHH por RM (1,5 T) >80 (pág 92).

Tabla 19. Valores de CHH por RM (1,5 T) >36 (pág 92).

Tabla 20. Comparación RM 1T/1,5T (Pacientes 1-14) (pág 102).

Tabla 21. Comparación RM 1T/1,5T (Pacientes 15-27) (pág 102).

ABREVIATURAS

ALT: alanin aminotransferasa.
ANA: anticuerpos antinucleares.
AST: aspartato aminotransferasa.
ASF: alta sobrecarga férrica.
BH: Biopsia hepática.
BMP: proteínas morfogénicas óseas.
CHH: Concentración hierro hepático.
DMT-1: transportador de metal divalente.
DS: desviación estandar.
EG: eco de gradiente.
FPN1: gen de la ferroportina.
Fe: hierro.
FS: ferritina sérica.
GGTP: gamma glutamil transferasa.
GOT: aspartato aminotransferasa.
GPT: transferasa glutámico pirúvica.
GRE: secuencias eco gradiente.
HAI: hepatitis autoinmune.
HAMP: hepcidina.
HH: Hemocromatosis hereditaria.
HIF: factor inducible de hipoxia.
HJV: Hemojuvelina.
HLA: complejo mayor de histocompatibilidad.
IHH: índice de hierro hepático.
IRE: elemento regulador del hierro.
IRP: proteínas reguladoras del hierro.
IST: índice de saturación de transferrina.
IW: intermediate weighed.
MRS: espectroscopia por resonancia magnética.
NAFLD: hígado graso no alcohólico.
NASH: esteatohepatitis no alcohólica.
NS: no significativo.
PCR: polimerase chain reaction.
PLT: plaquetas.
RM: Resonancia magnética.
ROI: regiones de interés.
SE: spin eco.
SER: sistema retículoendotelial.
SIR: ratio de señal de intensidad.
SQUID: superconducting quantum interferente device.
TAC: tomografía axial computarizada.
TfR: transferrina.

TMF: trastorno del metabolismo férrico.
VHB: virus hepatitis B.
VHC: virus hepatitis C
VPN: valor predictivo negativo.
VPP: valor predictivo positivo.
Wt: salvaje.



Servicio Editorial de la Universidad del País Vasco (UPV/EHU)
Euskal Herriko Unibertsitateko Argitalpen Zerbitzua (UPV/EHU)
University of the Basque Country - Editorial Service (UPV/EHU)
ISBN: 978-84-9860-988-2