

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado



HOSPITAL ÁNGELES PEDREGAL

Ferritina y Saturación de Transferrina para el abordaje diagnóstico de Hemocromatosis.

Tesis para obtener el grado de Especialista en Patología
Clínica

Presenta:

Dra. Coralia Gabriela Ríos Corso

Tutor:

Dr. Jesús Ignacio Simón Domínguez

Ciudad de México, octubre 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dedicatoria

El presente trabajo es dedicado a mis amados padres y hermanas que han sido mi principal pilar en mi formación como profesional y persona, por los valores, principios, mi empeño a continuar mi crecimiento profesional y el apoyo brindado en todos estos años, con su paciencia, comprensión y consejos.

A mi amado compañero de vida por su paciencia, confianza en mis capacidades, por el tiempo y consejos que me ayudaron a nunca renunciar a mis metas y levantarme ante las adversidades de la vida.

A mi maestro de vida por el tiempo que me dedicó, por su amor incondicional, porque gracias él aprendí que cualquier tropiezo, solo es un impulso para ser una mejor versión de ti mismo y que estoy en el camino correcto.

Agradecimientos

A todos mis profesores de todos los grados académicos, por enseñarme que la dedicación y el esfuerzo por obtener conocimiento son las mejores armas ante la vida.

A los médicos, químicos y técnicos del área de laboratorio clínico del Hospital Ángeles Pedregal por compartir su conocimiento y experiencia invaluable durante mi formación como residente.

A todo paciente que me permitió aprender de su enfermedad, entendiendo que la ciencia y empatía son necesarias para ejercer esta hermosa profesión.

Resumen

Objetivo: Determinar si los niveles elevados de ferritina sérica y el porcentaje de saturación de transferrina elevado son de utilidad para el abordaje diagnóstico de hemocromatosis en la población adulta

Diseño y método: Estudio descriptivo, observacional y retrospectivo. Se evaluaron pacientes con resultados de pruebas que incluyeran ferritina sérica o porcentaje de saturación de transferrina de un periodo de un año 3 meses (del 01 enero de 2018 al 31 de marzo de 2019), de los cuales se seleccionaron pacientes que contaran con ambas mediciones durante el mismo periodo.

Resultados: Se recabaron 356 resultados de pruebas que incluyeron ferritina o porcentaje de saturación de transferrina, de las cuales 173 de ellas contaban con ambas mediciones, de éstas 119 eran mujeres y 54 hombres, sólo 12 pruebas se encontraban con valores mayores de 45% para saturación de transferrina con ferritina sérica mayor a 200 y 300 ng/ml para mujeres y hombres respectivamente.

Conclusiones: Este estudio demuestra que las pruebas de ferritina sérica y saturación de transferrina son de utilidad para el abordaje diagnóstico de hemocromatosis en población adulta y detección de probables casos, por lo tanto, se debe confirmar siempre con pruebas más específicas para determinar la etiología, como el estudio genético y biopsia hepática

Índice

Introducción.....	1
Marco teórico.....	2
Justificación.....	8
Planteamiento del problema	9
Hipótesis.....	9
Objetivos.....	9
-General.....	9
-Específico.....	9
Diseño del estudio.....	10
Definición del universo.....	10
-Criterios de Inclusión.....	10
-Criterios de Exclusión.....	10
Método de selección de la muestra.....	10
Definición de variables.....	11
Análisis estadístico	12
Resultados.....	13
Discusión.....	27
Conclusiones.....	27
Bibliografía.....	28

Introducción

Contexto

La hemocromatosis es una enfermedad caracterizada por una excesiva absorción intestinal de hierro, que conlleva un acúmulo progresivo de este metal en diversos órganos entre ellos corazón, hígado y páncreas causando daño en su función, se expresa clínicamente con diversas complicaciones, algunas fatales como cirrosis hepática, miocardiopatía y diabetes mellitus. Se trata de una enfermedad que provoca intoxicación crónica por hierro de causas tanto genéticas como adquiridas debida a múltiples transfusiones sanguíneas, enfermedades hepáticas, alcoholismo crónico u otras enfermedades relacionadas con el metabolismo del hierro (1). En el hígado es donde más cantidad de hierro se acumula y en los pacientes sometidos a transfusiones repetidas y tratados con quelantes de hierro es importante valorar el depósito que se va acumulando. El uso de técnicas no agresivas, antes de acudir a la biopsia hepática y de ahí que se indiquen los métodos de imagen, pero ¿Cómo detectar oportunamente datos de sobrecarga de hierro por hemocromatosis sin métodos invasivos? Los dos métodos biológicos más accesibles para medir la saturación de hierro son la ferritina sérica y saturación de transferrina. Actualmente son utilizados para monitorizar los cambios evolutivos de ambas, de forma periódica para pacientes que están en tratamiento. Por lo tanto, la evaluación bioquímica del estado de reserva hierro serán de utilidad para el diagnóstico precoz para casos probables de hemocromatosis a determinar etiología.

La prevalencia de hemocromatosis en poblaciones europeas se encuentra entre 1 y 10 por 1000 habitantes. De acuerdo con la distribución geográfica, es frecuente en Noruega, Dinamarca, Islandia, Alemania, Reino Unido e Irlanda, constituyendo la patología genética de mayor prevalencia en dichos países. El diagnóstico de hemocromatosis hereditaria se sitúa muy por debajo de la incidencia de la enfermedad alrededor de 1 por 10 000 habitantes, indicando que es una enfermedad infradiagnosticada. (1).

Por tal motivo el interés de estas pruebas séricas para el oportuno diagnóstico de hemocromatosis, el presente trabajo evalúa la utilidad de ferritina sérica y porcentaje de saturación de transferrina como herramienta inicial para esta enfermedad que es tardíamente detectada.

Antecedente

La palabra hemocromatosis deriva del griego haima que significa sangre y chroma-color, nombre asignado a la patología que afecta al metabolismo del hierro.

El hierro es un metal y cofactor esencial para los procesos biológicos, como oxido-reducción, y puede encontrarse en dos estados de oxidación estables como ferroso (Fe^{2+}) y férrico (Fe^{3+}), otorgándole un elevado potencial redox, promoviendo la formación de radicales libres tóxicos para órganos vitales.

La Hemocromatosis conocida y descrita en 1889 por Friedrich Daniel von Recklinghausen (1833-1910), médico y patólogo alemán, originario de Gütersloh, posteriormente Westphalia elaboró la descripción y denominó "hemocromatosis" al trastorno que en 1865 describiera el francés Trousseau, quien le llamó "diabetes bronceada", término también utilizado para referirse a esa patología. (1,2,3)

En 1935, Joseph H. Sheldon, dio seguimiento a los estudios de Recklinghausen y observó que era una enfermedad genética que afectaba el metabolismo del hierro y que todas sus manifestaciones anatomopatológicas se debían a un aumento del depósito de este metal en los órganos afectados.

El exceso de almacén de hierro puede tener varias etiologías, conocidas como primarias o hereditarias y adquiridas o secundarias (Tabla N°1), desde un ingreso incrementado, como terapia transfusional, como es el caso de anemias hereditarias, anemias adquiridas refractarias; ambas enfermedades, se ven mejoradas en su calidad de vida con las transfusiones y además de prolongar el tiempo de sobrevida. Pero la consecuencia de estas transfusiones crónicas lleva a incremento de depósito de hierro, en los órganos vitales. (3) En 1976, Simón y colaboradores demostraron que el gen de la hemocromatosis hereditaria se encontraba en la región HLA del brazo corto del cromosoma 6. En 1996, John N. Feder y colaboradores., identifican el gen denominado HFE y las dos principales mutaciones asociadas a la enfermedad (C282Y y H63D). Posteriormente, ha continuado el estudio de la hemocromatosis hereditaria, para identificar los diversos genes y proteínas implicadas en el metabolismo del hierro.

Causas hereditarias o primaria	Causas adquiridas o secundarias
Hemocromatosis hereditaria	Transfusiones múltiples
Talasemia	Anemias crónicas
Porfiria cutánea tarda	Hemodiálisis de larga duración
Aceruloplasminemia	Enfermedad hepática crónica

Tabla N°1 Clasificación de hemocromatosis primaria y secundaria

En el año 2000 se descubrió que un grupo de individuos no presentaba las mutaciones descritas en 1996, mutaciones asociadas al gen HFE. El resto de los genes implicados en los 4 años siguientes, en el 2004 se restableció la clasificación de las hemocromatosis. (7,8)

En México, sólo 50% de los pacientes con hemocromatosis hereditaria tiene alguna de las dos mutaciones (C282Y y H63D), lo que sugiere la existencia de otras mutaciones del gen HFE. Las frecuencias alélicas en México para las mutaciones C282Y y H63D son de 0.013 y 0.062, respectivamente. En algunas poblaciones caucásicas, la mutación del gen C282Y de la hemocromatosis es un factor de riesgo para el desarrollo de leucemia y otras neoplasias. (1,3,5)

Herencia

La hemocromatosis hereditaria (HH) frecuentemente tiene un carácter autosómico recesivo, aunque actualmente también se conocen dos clasificaciones que tienen un carácter autosómico dominante. Además de las diferencias étnicas, el sexo también parece guardar relación con la enfermedad, sin ser una patología ligada al sexo. Los hombres la padecen con mayor frecuencia que las mujeres en proporción varón: mujer es de 5:1. (1,5,7)

En relación con la hemocromatosis hereditaria, actualmente distinguimos 6 tipos de hemocromatosis distintas (tipo 1, tipo 2a, tipo 2b, tipo 3, tipo 4 y HH dominante) en función de la causa genética. Aunque la mayoría de los subtipos son enfermedades raras que afectan a 1/1.000.000 individuos, la hemocromatosis de tipo 1 o mejor conocida como hemocromatosis está causada por mutaciones en el gen HFE, siendo la más frecuente la sustitución de una cisteína por una tirosina en la posición 282 de la proteína. Los otros subtipos, que en conjunto engloban un 20% de las hemocromatosis de origen genético, están causados por mutaciones en los siguientes genes HFE2, HAMP, TFR2, SLC40A1 y BMP6, respectivamente.

La hemocromatosis hereditaria tipo 1 (HH 1): Es la forma más frecuente de HH y es debida a mutaciones en el gen HFE (hemocromatosis) que se encuentra en el cromosoma 6p22.2. Presenta una herencia autosómica recesiva. La principal mutación se debe a una sustitución nucleotídica que causa un cambio de aminoácido de cisteína a tirosina, causando pérdida de función que impide que la proteína HFE llegue a la membrana y ejerza su función reguladora de la absorción de hierro. La mutación C282Y en homocigotos predispone a padecer la enfermedad, sin embargo, esta mutación presenta una penetrancia variable por lo que no todas las personas con este genotipo desarrollaran la enfermedad.

Fisiopatología de la HH tipo 1: La HFE es una proteína de membrana y está implicada en el mecanismo sensor de niveles circulantes de transferrina saturada con hierro y en la transmisión de la señal formando parte de un mecanismo de regulación en las células.

Cuando los niveles de hierro son bajos la HFE interacciona directamente con el receptor de transferrina uno (TFR1), mientras que cuando los niveles de hierro aumentan, esto causa una disociación del receptor TFR1 y la HFE, de modo que ésta se une al receptor de transferrina dos (TFR2) esta unión activa una vía de señalización que culmina con un aumento en la síntesis de hepcidina.

Hemocromatosis Hereditaria tipo 2 (HH 2): hemocromatosis juvenil es la forma más temprana y grave de la hemocromatosis hereditaria, aunque es muy infrecuente. Se debe a mutaciones en dos genes:

Hemocromatosis Hereditaria tipo 2a: El gen HFE2(hemocromatosis tipo2) se localiza en el cromosoma 1q21.1 y codifica para la proteína hemojuvelina, de 426 aminoácidos. La proteína se expresa fundamentalmente en el hígado, corazón y músculo esquelético.

Hemocromatosis Hereditaria tipo 2b: El gen HAMP (péptido antimicrobiano de hepcidina) se encuentra en el cromosoma 19q13.12, está formado por 3 exones y codifica para un propéptido de 84 aminoácidos. producen un cuadro de hemocromatosis juvenil indistinguible del producido por el gen HFE2. Las mutaciones en HAMP son más infrecuentes que las mutaciones en el gen HFE2.

Fisiopatología de la HH tipo 2: La hemojuvelina modula la expresión de la hepcidina, ya que en los pacientes con hemocromatosis juvenil que presentan mutaciones en HFE2, se encuentran niveles bajos de hepcidina pese a la sobrecarga férrica.

Hemocromatosis Hereditaria tipo 3 (HH 3): La clínica es similar a la HH tipo 1 aunque la afectación suele ser más severa y a edades más tempranas, con predominio hepático de los depósitos de hierro, presenta también una herencia autosómica recesiva y se caracteriza por la elevación de los niveles de ferritina sérica, saturación de transferrina y hierro sérico, generando una sobrecarga severa de hierro en varios tejidos, especialmente en el hígado, al igual que pasa en la HH tipo1. Se debe a mutaciones en el gen del receptor 2 de la transferrina (TFR2), localizado en el cromosoma 7q22.1

Fisiopatología de la HH tipo 3: Estas mutaciones provocan un exceso de hierro debido a una mayor absorción intestinal y una liberación de hierro desde el bazo producida por la baja expresión de la hepcidina, produciendo el depósito de hierro, fundamentalmente en el hígado, y daño tisular. (2)

Hemocromatosis Hereditaria tipo 4 (HH tipo 4): La hemocromatosis de tipo 4, también llamada enfermedad de la ferroportina es una forma de HH rara pero más común que la HH tipo 2 y 3. A diferencia de las anteriores formas de HH que son autosómicas recesivas, la HH tipo 4 tiene un patrón de herencia autosómico dominante. Existe una temprana acumulación de hierro en las células del sistema reticuloendotelial y un marcado incremento de la ferritina sérica antes del aumento en la saturación de transferrina. La genética es debida a mutaciones en el gen SLC40A1 (miembro 40 de la familia portadora de solutos) localizado en el cromosoma 2q32.2, codifica la proteína ferroportina implicada en el proceso de adsorción de hierro en el organismo. Debido a que la herencia es autosómica dominante (50% de riesgo de heredar la mutación) permite la sospecha de esta entidad si se da hiperferritinemia en varios miembros de la familia.

Fisiopatología de la HH tipo 4: El tipo de mutación y su repercusión a nivel de funcionalidad de la proteína explican la existencia de los dos fenotipos, En la HH tipo 4a las mutaciones impiden que la ferroportina pueda exportar el hierro correctamente (mutaciones de pérdida de función) y éste se acumula especialmente en los macrófagos. En la HH tipo 4b las mutaciones hacen que la ferroportina se vuelva resistente a su degradación por la hepcidina (mutación de ganancia de función) y la proteína continúa exportando hierro lo que resulta en la hiperabsorción de hierro en la dieta surgiendo un fenotipo similar a las HH tipo 1, 2 y 3.(7,13)

Hemocromatosis Hereditaria dominante debida a mutaciones en el gen BMP6: Recientemente se ha descrito que mutaciones en el gen BMP6(proteína morfogenética ósea 6) son también responsables de una nueva forma de HH, con patrón hereditario autosómico dominante debida a mutaciones en el gen BMP6: Esta HH es debida a mutaciones en el gen BMP6, localizado en el cromosoma 6p24.3. Su herencia es autosómica dominante como en el tipo 4 y diferencia de las HH tipo 1, 2 y 3 que son autosómicas recesivas. (3,7)

Fisiopatología de la HH dominante debida a mutaciones en el gen BMP6: La expresión del gen BMP6 se modula por los niveles de hierro, activándose en condiciones de sobrecarga de hierro.

CONDICIÓN	Clasificación de Hemocromatosis hereditaria o primaria				TRATAMIENTO
	LOCALIZACIÓN	MODALIDAD	GEN AFECTADO	PRESENTACIÓN	
HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA TIPO 1	HFE/ 6p22.2	AR	HFE	Adulto	Flebotomías
HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA TIPO 2A	HFE2/ 1q 21.1	AR	Hemojuvelina	≤ 20 años	Flebotomías
HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA TIPO 2B	HAMP/19q13.12	AR	Hepcidina	≤ 20 años	Flebotomías
HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA TIPO 3	TRF2/7q22.1	AR	TRF2	Infancia - Adulto	Flebotomías
HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA TIPO 4	SLC40 A1/2q32.2	AD	Ferroportina	Adulto	Flebotomías/quelación hierro
HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA DEBIDA BMP6	BMP6 /6P24.3	AD	BMP6	Adulto	Flebotomías

Tabla N°2 Fuente: Método de Herencia Mendeliana en línea (OMIM), junio 06, 2019.

AR: autosómico recesivo, AD: autosómico dominante, HFE (hemocromatosis tipo 1), HFE (hemocromatosis tipo 2), HAMP (péptido antimicrobiano de hepcidina), TRF2 (receptor 2 de la transferrina), SLC40 A1 (miembro 40 de la familia portadora de solutos), BMP6(proteína morfogenética ósea 6).

Clínica de la hemocromatosis

El curso de la enfermedad es progresivo y variable. Sólo los individuos homocigotos o heterocigotos compuestos para el gen HFE tienen enfermedad sintomática, en tanto que los heterocigotos pueden manifestar anormalidades menores en el metabolismo del hierro.

Al inicio los pacientes se muestran asintomáticos, los primeros síntomas comienzan con intensa astenia, somnolencia y artralgias, estos síntomas suelen persistir durante toda la enfermedad. Posteriormente pueden aparecer otros síntomas, como dolor abdominal, pérdida de la libido o de la potencia en varones, pigmentación cutánea y artropatías. (3,14)

En las fases finales de la enfermedad se van a afectar hígado, páncreas y corazón, desarrollándose cirrosis, diabetes y fallo cardiaco. La cirrosis puede acompañarse de hepatocarcinoma. Lo habitual es la afectación hepática que cursa con astenia, alteraciones de la coagulación de la sangre, ictericia.

En la hemocromatosis adquirida y la hereditaria juvenil se encuentra más frecuentemente la afectación cardiaca, desde arritmias auriculares y ventriculares, miocardiopatía, hasta insuficiencia cardiaca congestiva, que no mejora con el tratamiento. (2,5)

Diagnóstico

El primer paso en el diagnóstico de HH consiste en sospechar el padecimiento; la regla de las tres "A" puede ayudar: astenia, artralgias y aminotransferasas (transaminasas) altas.

El segundo paso incluye pruebas de laboratorio que demuestren alteraciones en el metabolismo del hierro. Por último, en el tercer paso hay que comprobar el diagnóstico de hemocromatosis hereditaria. (2,3,7)

La HH debe sospecharse:

1. Cuando el porcentaje de saturación de la transferrina es anormal en varias ocasiones (>45%).
2. En parientes consanguíneos de enfermos con HH.
3. En sujetos con artritis como síntoma de presentación: la artritis de la HH se asemeja a la de la osteoartritis, pero en ella no están afectadas de manera notoria las articulaciones metacarpofalángicas.
4. En personas con crecimiento asintomático del hígado o alteración en pruebas de función hepática.
5. En individuos con diabetes de distribución familiar
6. En presencia de hiperpigmentación.
7. En sujetos con insuficiencia cardiaca resistente o arritmias difíciles de tratar, en especial adultos jóvenes.
8. En personas con hipogonadismo.

Las pruebas de laboratorio más útiles en el diagnóstico son las siguientes:

-Porcentaje de saturación de la transferrina: los pacientes presentan valores superiores al 45%.

-Ferritina sérica: la concentración circulante de ferritina refleja los niveles de los depósitos de hierro.

La saturación de transferrina sérica mayor de 60% se ha demostrado que en más de dos ocasiones predice el estado homocigoto de la HH. Los pacientes también suelen presentar un aumento en los niveles de las transaminasas que indican un posible daño hepático. Además, se puede realizar una biopsia hepática para evaluar la concentración. (2,13)

Concentraciones de ferritina sérica: El incremento del resultado debe interpretarse con mucho cuidado, ya que las cifras normales varían para cada laboratorio y deben valorarse en el contexto de la situación clínica, dado que pueden incrementarse en procesos inflamatorios, enfermedad hepática y cáncer; por otro lado, pueden ser normales en la hemocromatosis temprana precirrótica. Los valores de ferritina mayores de 1 000 µg/L se vinculan con cuadro clínico de sobrecarga de hierro tisular. (1,3,7)

Identificación de las mutaciones H63D y C282Y del gen HFE: Es importante recordar que en México sólo 50% de los pacientes con HH tiene alguna de estas mutaciones, por lo que su ausencia no debe excluir el diagnóstico de HH.

Biopsia hepática con tinciones histoquímicas para hierro: Es útil para establecer el diagnóstico definitivo cuando cualquiera de las dos primeras pruebas es anormal en más de dos ocasiones. En la fase terminal de la enfermedad sintomática, la concentración de hierro hepático es mayor de 1 g por porcentaje de peso seco y suele estar relacionada con cirrosis. Se ha descrito que en los individuos con concentraciones séricas de ferritina >1 000 µg/L, incremento de la aminotransferasa de aspartato (>40 UI/L), recuento plaquetario <200 000 plaquetas/µl y que sean homocigotos para C282Y presentan cirrosis en el 80% de los casos. (2,3,7)

Justificación

La sobrecarga en el contenido total de hierro resulta de un aporte del metal que excede los requerimientos, como las necesidades son limitadas y los seres humanos carecen de un mecanismo fisiológico para la excreción del exceso de hierro, un incremento sostenido en su absorción puede, eventualmente, resultar en una acumulación del metal. Los estados de sobrecarga férrica se deben a enfermedades genéticas y adquiridas como la hemocromatosis.

El diagnóstico en la mayoría de los casos se realiza en fases avanzadas, al principio de la enfermedad los pacientes refieren asintomáticos, por lo que no son diagnosticados de manera precoz.

Por eso es importante contar con la participación del laboratorio clínico para la realización de pruebas accesibles que puedan dar información sobre el estado de almacenamiento del hierro y así realizar un diagnóstico temprano de hemocromatosis, la correlación de los valores de porcentaje de saturación de transferrina mayor a 45% y ferritina sérica superior a 200 y 300 ng/ml en mujeres y hombres son una herramienta para esta entidad patológica. Actualmente con base a estudios de alto costo e invasivos, se realiza el diagnóstico definitivo, por ello la necesidad de tener marcadores bioquímicos que revelen el estadio temprano.

En el Hospital Ángeles Pedregal se cuenta con pruebas serológicas para la detección de la enfermedad, en el laboratorio de Referencia en donde, se realiza ferritina sérica en el equipo IMMULITE1000 por medio de ensayo quimioluminiscente inmunométrico en fase sólida marcado con enzimas, además de saturación de transferrina en el área de química Clínica con el equipo de ARCHITEC ci 8200 por medio de un cálculo matemático, la saturación de transferrina (%) = $(\text{nivel de hierro en suero} \times 100) / \text{TIBC}$ (capacidad total de fijación del hierro).

Planteamiento del problema

La hemocromatosis, como ya se mencionó anteriormente existen dos etiologías, primaria y secundaria, en ambos casos la clínica se presenta en fases avanzadas de la enfermedad. El exceso de acumulo de hierro, debido al depósito progresivo del mismo en las células parenquimatosas de los siguientes órganos, hígado, páncreas y corazón provocan el deterioro estructural y funcional. La mayoría de los pacientes se diagnostican de manera incidental o con daño en órganos. (9,11,12)

Por lo que es necesario la participación del laboratorio clínico para el abordaje diagnóstico por medio de pruebas bioquímicas, la ferritina sérica y el porcentaje de saturación de transferrina tiene una gran utilidad por ser accesibles y de bajo costo en comparación con estudios genéticos o biopsia hepática por lo que en pacientes con valores elevados para ferritina y saturación de transferrina sérica con valores superiores a los ya descritos para la sospecha de hemocromatosis

Hipótesis

¿Son las pruebas séricas de ferritina y saturación de transferrina útiles para el abordaje diagnóstico de hemocromatosis?

Hipótesis nula: Las pruebas séricas de ferritina y saturación de transferrina no son útiles para el abordaje diagnóstico de hemocromatosis.

Objetivos

-Objetivo general

Determinar si los niveles elevados de ferritina sérica asociados al porcentaje elevado de saturación de transferrina son de utilidad para el abordaje diagnóstico de hemocromatosis.

-Objetivos específicos

- Determinar las pruebas de ferritina sérica con valores mayores a 200 y 300 ng/ml en mujeres y hombres respectivamente.
- Determinar las pruebas de saturación de transferrina con valores mayores a 45% en mujeres y hombres.

- Determinar el número de pacientes con ferritina sérica valores mayores a 200 y 300 ng/ml en mujeres y hombres en asociación de valores mayores a 45% de saturación de ferritina.

Tipo de estudio

- Observacional, transversal- descriptivo, retrospectivo.

Diseño

Se analizan resultados de pruebas séricas de ferritina con valores superiores a 200 y 300 ng/ml de mujeres y hombres respectivamente con saturación de transferrina mayor a 45% realizados en el Hospital Ángeles Pedregal en el periodo comprendido del primero enero del 2018 al 31 de marzo del 2019, obtenidos de la base de datos del Sistema Integrado de Laboratorio Clínico (SILC) con Laboratorio de Rutina del área de Química Clínica y Laboratorio de Referencia del Hospital Ángeles Pedregal.

Definición del universo

Todos los resultados de pacientes internos y externos del Hospital Ángeles Pedregal que se realizaron la prueba de ferritina sérica, además se hayan realizado la prueba de saturación de transferrina, se incluyen hombres y mujeres adultos.

Criterios de inclusión

Pacientes con prueba sérica de ferritina, que además tengan prueba de saturación de transferrina en el periodo del 01 de enero del 2018 al 31 de marzo del 2019.

Criterios de exclusión

No se seleccionará paciente con solo una prueba, que no se encuentre los resultados por duplicado, de paciente externo no se realizará correlación con expediente clínico para confirmar los pacientes con diagnóstico de Hemocromatosis.

Método de selección de la muestra

Base de datos del sistema SILC del Laboratorio Clínico del Hospital Ángeles Pedregal con resultados de pruebas séricas para ferritina y saturación de transferrina.

Definición de la variable

Variables dependientes

-Cuantitativas: Ferritina sérica y Porcentaje de Saturación de transferrina.

-Cuantitativas: Edad

-Cualitativas: paciente interno o externo.

Variables independientes

-Cualitativa: Resultado de prueba genética.

-Cualitativa: Diagnostico

Material y método

Se obtuvo una base de datos del sistema SILC del Hospital Ángeles Pedregal del periodo del 01 de enero de 2018 a marzo de 2019, se incluyeron a todos los pacientes con resultados de las pruebas con ferritina y saturación de transferrina, tanto pacientes internos y externos.

El proceso de la prueba sérica se realizó según procedimientos establecidos por el Laboratorio Clínico del Hospital Ángeles Pedregal, tomadas por el personal de laboratorio, para la prueba de ferritina sérica se utiliza tubo rojo, se centrifuga hasta que se haya formado por completo el coágulo, se recomienda el uso de una ultracentrífuga en caso de muestras lipémicas, con un volumen al menos de 2 ml de suero se utiliza aproximadamente 200 microlitros en copilla para el procesamiento en el equipo de IMMULITE 1000 con una metodología de quimioluminiscencia, el principio del análisis es un ensayo quimioluminiscente inmunométrico en fase sólida (microesfera) esta recubierta con anticuerpo monoclonal de ratón anti-ferritina. La fase líquida contiene fosfatasa alcalina (intestino bovino de ternero) conjugada con anticuerpo policlonal de cabra anti-ferritina. La muestra del paciente y el reactivo se incuban junto con la microesfera recubierta durante 30 minutos, durante este tiempo la ferritina de la muestra forma el complejo sándwich de anticuerpos con anticuerpo monoclonal de ratón anti-ferritina en la microesfera y el anticuerpo policlonal de cabra anti-ferritina conjugado con la enzima en el reactivo. La muestra del paciente no unido y el conjugado con la enzima se eliminan después mediante lavados por centrifugación. Finalmente, el sustrato quimioluminiscente se añade a la unidad de reacción que contiene la microesfera y la señal se genera en proporción a la enzima unida.

El proceso se lleva a cabo en el área de inmunología del Laboratorio de Referencia, el tiempo en que procesar son aproximadamente 45 minutos en dar el resultado, en la pantalla del equipo de manera cuantitativa, los valores de referencia para el Laboratorio del hospital Ángeles Pedregal son los siguientes. (Tabla N°3)

Para la prueba de porcentaje de saturación de transferrina, se toma en tubo rojo con volumen mínimo 2ml de suero, se espera que coagule, procediendo a la centrifugación a 1500 rpm

(revoluciones por minuto) por 10 minutos, tomando 200 microlitros para procesar en el equipo de ARCHITEC ci8200, de acuerdo con proveedor se obtiene el valor por medio del siguiente cálculo matemático la saturación de transferrina (%) = (nivel de hierro en suero X 100) /TIBC (capacidad total de fijación de hierro).

PRUEBA	VALOR DE REFERENCIA DEL LABORATORIO ÁNGELES PEDREGAL
FERRITINA	Mujeres 60-159 ng/ml Hombres 25-397 ng/ml
SATURACIÓN DE TRANSFERRINA (%)	20-50%

Tabla N°3

El funcionamiento del ensayo MULTIGENT reactivo para perfil de hierro, no se ve afectada por la presencia de las siguientes sustancias interferentes en las concentraciones máximas en que se indican (Tabla N°3.1), según inserto del equipo ARCHITEC ci 8200

Sustancia interferente	Concentración interferente
Bilirrubina	15mg/dl
Hemoglobina	500mg/dl
Triglicéridos	1000mg/dl

Tabla N°4

Análisis estadístico

Se utiliza estadística descriptiva para establecer el tipo de prueba más frecuentemente por población total y por género, así como para establecer la correlación existente entre las pruebas séricas de ferritina y saturación de transferrina para el abordaje diagnóstico de hemocromatosis.

Para la estadística descriptiva se tomarán pacientes con ambas pruebas, para comparar si tiene mayor utilidad

RESULTADOS

Tabla N°5 Resultados de pacientes con pruebas de porcentaje de saturación con ferritina sérica

T.Pa	SEXO	EDAD	% SAT	FERRITINA
EXT	F	41	2	6.9
EXT	F	49	2	1.7
EXT	F	23	3	8.6
EXT	F	42	3	5.6
EXT	F	33	3	79.7
INT	F	59	3	3.2
INT	F	57	3	5.8
INT	F	50	3	22.7
EXT	F	36	3	2.2
EXT	F	37	3	1.53
EXT	F	37	4	2.7
EXT	F	45	4	4.4
EXT	M	72	4	5.7
EXT	F	43	4	2.6
EXT	F	26	4	3.8
EXT	F	49	4	3.6
EXT	F	37	4	2.9
EXT	F	43	4	1.9
EXT	F	38	4	2.74
EXT	F	31	4	7.61
INT	F	48	5	2.8
EXT	F	25	5	4.4
INT	M	42	5	662
EXT	F	33	5	3.1
EXT	F	51	5	3.9
INT	F	35	5	9
INT	F	44	5	5.02
EXT	F	47	5	3.97
EXT	M	87	6	6.9
EXT	M	87	6	7.5
INT	F	23	6	4.4
EXT	F	73	6	44.8
EXT	M	76	6	15.2
EXT	F	34	6	6.6
EXT	F	40	6	6.13
EXT	F	62	7	4.4

EXT	F	32	7	3.7
EXT	F	29	7	36
EXT	F	68	7	32.7
T.P	SEXO	EDAD	SAT%	FERRITINA
EXT	F	39	7	9.6
EXT	M	34	7	7.7
INT	F	43	8	3.9
EXT	F	59	8	10.8
EXT	F	48	8	38.7
INT	F	56	8	270
INT	M	74	8	478
EXT	F	41	8	13.4
EXT	F	85	9	8.5
EXT	F	44	9	45.6
EXT	M	64	9	15.2
EXT	F	31	10	9.4
EXT	F	82	10	5.6
EXT	F	44	10	11.1
EXT	F	37	10	10
INT	F	58	10	1520
EXT	F	42	11	254
EXT	M	53	11	5.6
EXT	F	44	11	12.8
EXT	F	27	12	8.8
INT	M	47	12	29.2
EXT	M	80	13	193
EXT	F	44	13	45.4
EXT	M	25	13	88.3
INT	F	75	13	324
EXT	F	83	14	30.9
EXT	F	19	14	19.8
EXT	F	43	15	19.4
INT	M	47	15	2120
EXT	M	83	16	56.1
EXT	M	46	16	150
EXT	M	33	16	15
EXT	F	45	16	175
EXT	F	61	17	109
INT	F	44	17	6
EXT	F	64	18	56.2
INT	F	52	18	176
EXT	F	58	18	146

EXT	M	83	19	35.3
EXT	M	33	19	111
EXT	F	48	19	36.3
EXT	F	53	19	7451
EXT	F	74	19	145
EXT	F	81	19	129
EXT	F	20	19	262
EXT	F	20	19	153
EXT	F	52	20	36.4
EXT	M	87	20	111
INT	F	34	20	61.3
EXT	M	65	20	361
EXT	F	81	21	39.7
EXT	F	48	22	39.7
INT	F	78	22	70.3
EXT	F	48	22	27.5
EXT	F	33	22	13.6
EXT	M	59	22	2090
INT	F	57	23	129
EXT	M	62	23	609
EXT	M	35	23	259
EXT	M	53	23	153
EXT	M	50	23	1208
EXT	F	44	23	144
INT	M	71	23	155
EXT	F	63	24	84.9
EXT	F	48	25	54
EXT	F	40	25	27
EXT	F	30	26	587
EXT	F	23	26	150
EXT	F	34	26	68.2
EXT	F	50	27	19.8
EXT	F	54	27	854
EXT	M	59	27	181
INT	M	62	27	271
EXT	F	75	27	125
EXT	F	56	28	37.6
EXT	F	77	28	748
EXT	M	62	28	969
EXT	F	77	28	56.6
EXT	M	70	29	49.8
INT	M	22	29	671

EXT	F	48	29	38.9
EXT	F	62	29	95.4
EXT	M	58	30	130
EXT	F	46	30	92.4
EXT	M	68	30	96.5
EXT	M	66	31	617
EXT	F	23	31	121
EXT	F	57	31	167
INT	M	70	32	761
EXT	F	56	32	176
INT	M	73	32	547
EXT	F	48	32	42.7
EXT	M	51	32	259
EXT	F	27	32	73.8
EXT	F	64	32	102
EXT	F	85	33	185
INT	F	42	34	28
EXT	F	64	34	151
EXT	F	60	35	82.8
EXT	M	5	35	103
EXT	M	66	37	1984
INT	M	73	37	114
EXT	M	48	37	938
EXT	F	77	37	405
EXT	M	54	37	237
EXT	M	55	38	891
EXT	F	24	39	29.2
EXT	F	46	39	118
EXT	M	63	40	245
EXT	M	64	40	888
EXT	F	39	40	57.6
EXT	F	92	41	357
EXT	F	45	41	452
EXT	F	42	41	80
INT	M	52	42	677
EXT	F	39	44	166
EXT	F	92	46	332
INT	F	46	52	76.3
EXT	F	66	53	26.7
EXT	F	36	54	42.8
INT	F	81	56	221
INT	F	42	60	366

EXT	M	35	63	349
EXT	M	76	64	349
EXT	M	51	65	236
INT	F	42	69	27.9
EXT	F	83	69	85.3
EXT	M	55	76	470
INT	M	41	82	304
INT	F	44	88	274
INT	M	79	95	1878
EXT	M	86	95	2586
EXT	M	58	98	3357
EXT	M	64	56	488
EXT	F	35	99	1523

De los 356 pacientes de la base de datos obtenidos del sistema SILC del hospital Ángeles del Pedregal, 173 pacientes presentaron sólo registro de la prueba de saturación de transferrina con ferritina (Tabla N°6), es decir que 183 pacientes sólo registraron de manera única la prueba de ferritina.

De los 173 pacientes que presentaron ambos valores, la frecuencia en que se repiten los resultados menores a 45% fueron 146 pacientes y superior a 45% fueron 36 pacientes, de los cuales se presentan en la tabla (Tabla N°6)

De acuerdo con la estadística descriptiva, la media para los resultados de saturación de transferrina fue de 24, con una Desviación Estándar de 20.55, el valor mínimo reportado para SAT% fue de 2% y un máximo de 99%.

Tabla N°6. Resultados de pacientes con pruebas de ferritina sérica

T.P	SEXO	EDAD	FERRITINA
EXT	M	80	413
EXT	F	27	496
EXT	M	81	11.6
EXT	F	43	156
INT	F	65	2065
INT	F	65	2390
INT	F	57	10.4
EXT	M	31	2236
EXT	M	80	214
EXT	M	84	1310
INT	F	40	17.8
EXT	M	84	746
INT	F	46	3.7
EXT	F	48	18.7
EXT	F	44	49.4
INT	F	43	4.4
INT	F	18	734
EXT	F	36	43.9
EXT	F	40	58.5
EXT	F	38	2.5
EXT	M	54	76.8
EXT	M	57	95
EXT	F	38	9.1
EXT	F	22	26.5
EXT	M	37	64.1
EXT	F	42	191
EXT	F	42	334
EXT	F	82	17.8
EXT	F	33	18.1
EXT	M	72	22.1
EXT	F	71	51.8
INT	F	49	109
EXT	F	23	114
INT	F	62	219
INT	F	44	243
EXT	M	41	311

INT	F	43	329
T.P	SEXO	EDAD	FERRITINA
EXT	M	57	684
EXT	F	58	485
EXT	F	49	5.7
EXT	F	69	703
EXT	M	90	257
EXT	M	84	1775
EXT	F	92	1204
EXT	F	32	3.4
EXT	M	66	2858
EXT	F	84	2128
EXT	M	84	1094
EXT	F	70	110
EXT	M	80	137
INT	M	44	74.3
EXT	F	45	555
EXT	F	33	476
EXT	M	82	10.6
EXT	F	72	22.6
INT	M	44	204
EXT	F	39	414
EXT	F	37	38.2
EXT	F	46	62.1
EXT	M	72	610
EXT	F	37	28.9
INT	F	52	17.5
EXT	F	23	32.7
EXT	M	51	345
EXT	M	59	122
EXT	F	42	148
INT	M	22	2
EXT	M	58	415
EXT	M	86	1775
EXT	M	75	2624
INT	M	67	563
INT	F	42	312
INT	F	42	319
EXT	M	86	1248

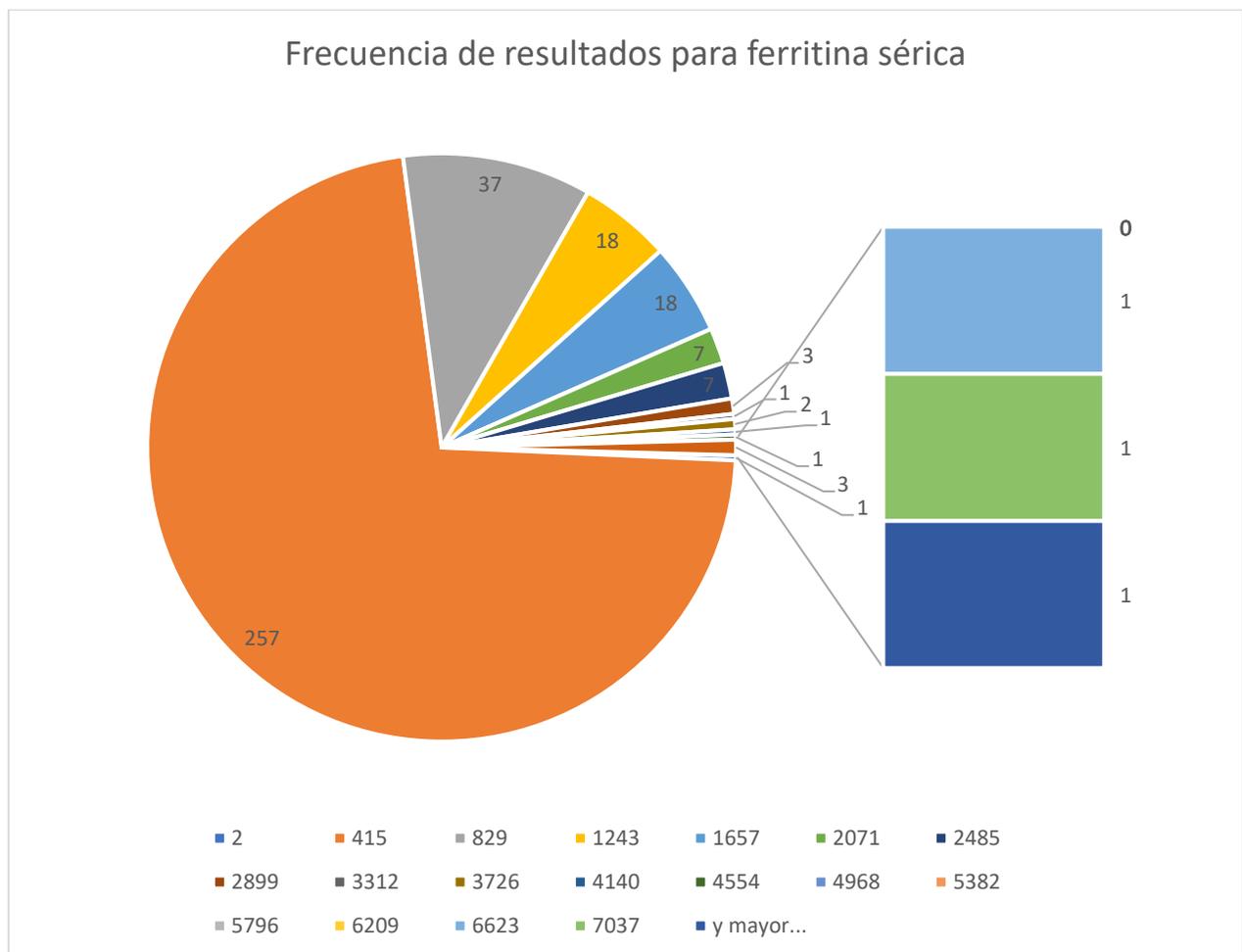
T.P	SEXO	EDAD	FERRITINA
INT	F	42	420
EXT	M	84	1544
EXT	F	61	218
EXT	M	84	1475
EXT	M	86	1380
EXT	M	84	1036
EXT	F	43	26.1
INT	M	64	289
EXT	M	80	215
EXT	F	41	1572
EXT	F	68	105
EXT	M	84	1323
EXT	M	86	1381
EXT	M	86	1427
EXT	M	58	1623
EXT	F	73	40.6
EXT	M	67	210
EXT	M	80	84
INT	F	42	6.9
EXT	F	43	35.1
EXT	F	53	25.3
EXT	F	48	16
EXT	M	32	1629
INT	F	43	35.5
EXT	F	17	30.6
EXT	M	67	329
EXT	M	72	225
EXT	M	65	123
EXT	M	73	1000
EXT	M	73	317
EXT	F	51	2.6
EXT	F	54	20.9
EXT	M	58	84.6
INT	M	30	144
EXT	M	91	665
EXT	M	58	628
EXT	F	28	432

T.P	SEXO	EDAD	FERRITINA
EXT	F	44	65.1
INT	F	81	3405
EXT	F	44	188
EXT	M	81	68.5
INT	M	22	615
EXT	M	81	264
EXT	F	71	139
INT	M	71	4488
EXT	M	87	2213
INT	M	86	2929
EXT	M	85	1121
EXT	M	84	1068
EXT	M	87	1760
EXT	M	85	815
EXT	F	48	27
EXT	F	68	120
EXT	F	16	31.7
EXT	M	86	262
INT	M	82	9
EXT	M	32	1437
EXT	F	49	220
EXT	M	76	263
EXT	F	51	72.4
INT	M	33	228
EXT	M	85	928
EXT	F	43	65.4
EXT	F	68	716
INT	M	13	43.2
EXT	F	16	22.4
INT	F	19	561
EXT	F	37	676
EXT	M	32	1380
EXT	F	62	1310
EXT	M	72	138
EXT	F	14	35.5
EXT	F	62	563
EXT	F	53	354
EXT	M	18	185
EXT	M	40	468

T.P	SEXO	EDAD	FERRITINA
EXT	F	37	380
EXT	F	34	26.9
EXT	F	33	27.5
EXT	F	19	53.4
EXT	F	69	72
EXT	M	28	81.3
INT	M	66	183
EXT	M	32	1351
EXT	M	87	3920
INT	M	71	6390
EXT	M	53	546
EXT	F	35	1980
INT	F	93	1028
INT	M	80	6940
EXT	M	59	1104
EXT	M	86	253
EXT	M	85	1315
INT	M	4	1770
EXT	M	85	899
EXT	M	53	516
EXT	F	49	35.2
EXT	M	67	130
INT	M	4	150
EXT	F	49	35.9
EXT	F	49	28.7
INT	F	55	99.2
EXT	F	65	232
EXT	M	49	922
EXT	M	71	216
EXT	F	32	38.7
EXT	F	27	42.6
EXT	M	20	998
EXT	F	26	42.7
EXT	F	83	7.55
EXT	F	19	29
INT	F	19	407
EXT	F	66	283
EXT	M	64	2275
EXT	F	67	191
INT	M	53	766

De la prueba de ferritina la población total fueron los 356 pacientes, se obtuvieron 183 que solo registraron ferritina sérica, de acuerdo con la estadística descriptiva de los resultados que muestran (Tabla N°7), los cuales su valor mínimo fue de 1.53ng/ml y un máximo de 7452ng/ml, con una Media de 474.29, Moda 4.4, Mediana de 137.5.

Gráfico N°1



La frecuencia de los valores de ferritina se registra en el siguiente gráfico (Gráfico N°1), de acuerdo con la frecuencia de los valores de ferritina sérica encontramos que 257 pacientes tienen valores entre 2 y 415 ng/ml de ferritina, 37 pacientes entre 416 a 829 ng/ml, 18 pacientes entre 830 a 1243ng/ml, 18 pacientes entre 1244 a 1657, encontrando los valores menos frecuentes entre los valores mayores a 4000, encontrando aproximadamente entre 1 paciente entre cada intervalo.

Mujeres con las dos pruebas en valores mayores a 45% de SAT y 200ng/ml de Ferritina sérica

T.Pa	SEXO	EDAD	% SAT	FERRITINA
EXT	F	92	46	332
INT	F	81	56	221
INT	F	42	60	366
INT	F	44	88	274
EXT	F	35	99	1523

Tabla N°7 con mujeres que presentan una saturación de transferrina mayor a 45% con ferritina mayor a 200ng/ml.

T.Pa	SEXO	EDAD	% SAT	FERRITINA
EXT	F	92	46	332
INT	F	81	56	221
INT	F	42	60	366
INT	F	44	88	274
EXT	F	35	99	1523

Frecuencia de mujeres con SAT mayor a 45% y Ferritina mayor a 200ng/ml

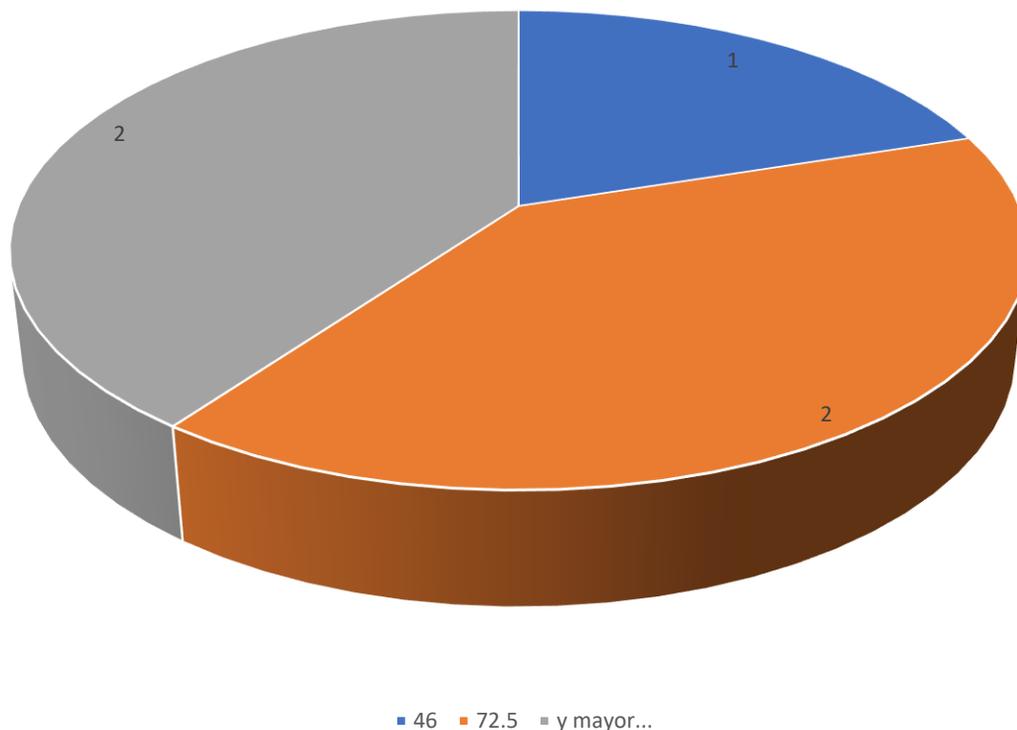


Gráfico N°2.

Mujeres con las dos pruebas en valores mayores a 45% de SAT y 200ng/ml de Ferritina sérica

T.Pa	SEXO	EDAD	% SAT	FERRITINA
EXT	M	35	63	349
EXT	M	76	64	349
EXT	M	55	76	470
INT	M	41	82	645
EXT	M	86	95	2586
INT	M	79	95	1878
EXT	M	58	98	3357

Tabla N°8 con mujeres que presentan una saturación de transferrina mayor a 45% con ferritina mayor a 300ng/ml.

Frecuencia de hombres con SAT mayor a 45%y
Ferritina mayor a 300ng/ml

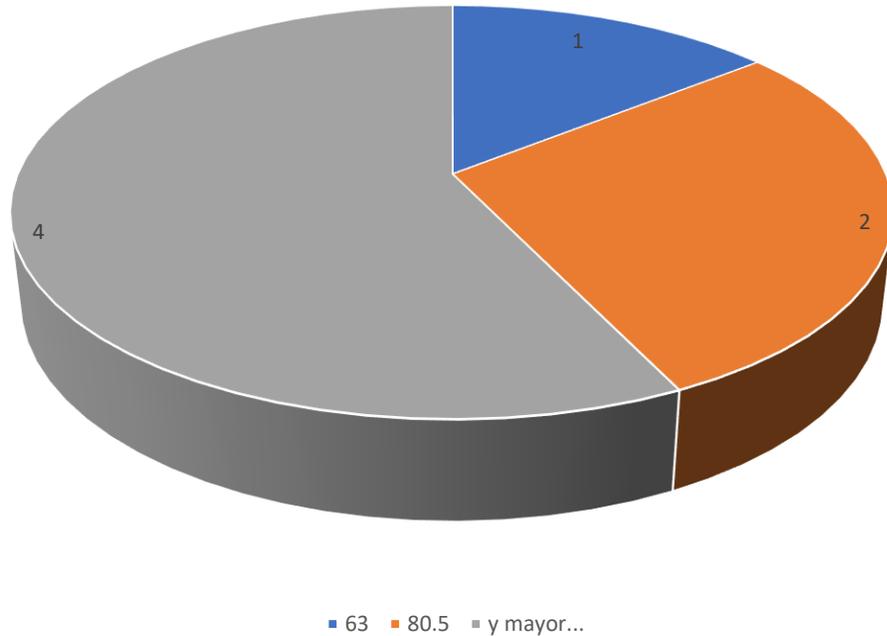


Gráfico N°3

Mujeres y hombres con valores mayor de 45% de SAT y mayor a 200 y 300
ng/ml de ferritina.

T.Pa	SEXO	EDAD	% SAT	FERRITINA
INT	F	81	56	221
INT	M	44	88	879
INT	M	41	82	645
EXT	F	92	46	332
EXT	M	35	63	349
EXT	M	76	64	349
INT	F	42	60	366
EXT	M	55	76	470
EXT	F	35	99	1523
INT	M	79	95	1878
EXT	M	86	95	2586

EXT	M	58	98	3357
-----	---	----	----	------

Tabla N°9 con hombres y mujeres que presentan ambas pruebas en parámetros mayor de 45% de SAT y ferritina mayores a 200 y 300ng/ml respectivamente

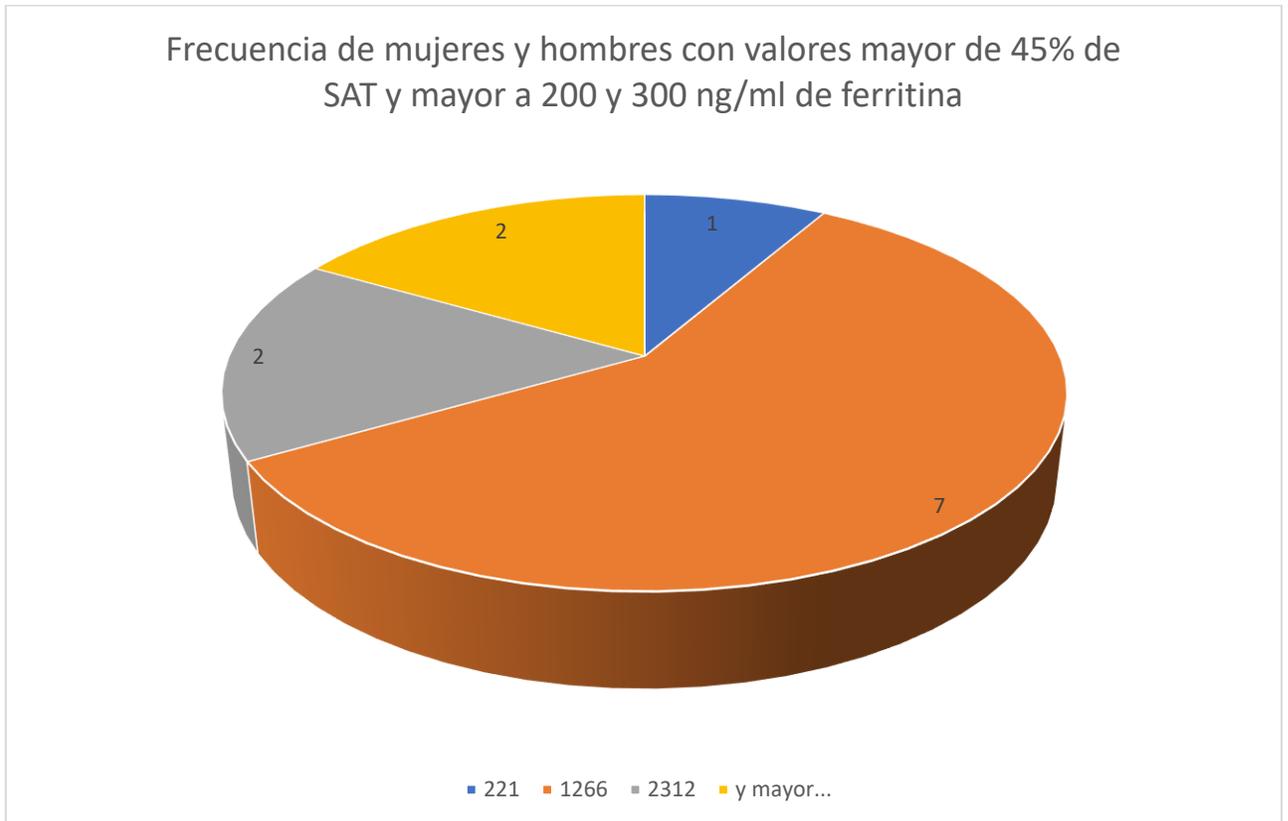


Grafico N°4

Discusión

Una población inicial de 356 pacientes del Hospital Ángeles Pedregal en un periodo de 01 de enero del 2018 a 31 de marzo 2019, de los cuales sólo 173 pacientes contaban con ambas mediciones para ferritina y saturación de transferrina, de estos son 119 mujeres, solo 18 tienen valores de ferritina mayor a 200ng/ml, de los 54 hombres sólo 24 de ellos tienen valor mayor a 300ng/ml.

De las 18 mujeres sólo 5 tienen valor mayor a 45% de SAT, de los 24 hombres sólo 7 tienen un valor mayor a 45 de SAT.

En total 12 pacientes cumplieron con los parámetros de las dos pruebas séricas, se tomaron sólo 5 pacientes internos que contaban con expediente clínico 3 femeninas y 2 masculinos. En uno de los casos de acuerdo con los estudios genéticos, solo un paciente tiene el reporte genético, con un resultado de homocigoto para la mutación del gen HFE C282Y. Se calcula un coeficiente de correlación de 0.80.

Conclusiones

- 1.- Para las pruebas de ferritina y saturación de transferrina se encontró mayor frecuencia en mujeres, con el 68% de afección en ambas pruebas y solo el 31% en hombres
- 2.- Para la prueba de ferritina solo el 15% de las mujeres tuvo valores mayores a 200ng/ml, mientras, los hombres con el 44.4% presentaron valores mayores a 300ng/ml.
- 3.- La prueba para SAT% tiene una frecuencia del 27% en mujeres y 29% en hombres.
- 4.- Por lo mencionado en los puntos anteriores, la frecuencia es mayor para Índice de SAT% que la ferritina, la frecuencia en hombres para este analito se ve mejor relacionado con estados de sobrecarga de hierro, la de transferrina es un mejor indicador bioquímico para el abordaje de casos de hemocromatosis.

Referencias bibliográficas

1. Aurora Navajas et al., ALTERACIONES DEL METABOLISMO DEL HIERRO, Unidad de Hemato-Oncología Pediátrica, Hospital de Cruces/Baracaldo, Bizkaia, Universidad del País Vasco, 2005.
2. A. del Castillo Rueda et al., HEMOCROMATOSIS: ETIOPATOGENIA, DIAGNÓSTICO Y ESTRATEGIA TERAPÉUTICA. Unidad de Ferropatología y Radicalosis. Departamento de Medicina Interna. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España, 2008.
3. Guillermo J. Ruiz Delgado et al. HEMATOLOGÍA, LA SANGRE Y SUS ENFERMEDADES, 3ª ed, cap 16, 2012; pp70-73.

4. Pérez Surribas D, et al. ESTUDIO DE LA FERROPENIA EN EL LABORATORIO CLÍNICO. Revista de Laboratorio Clínico. 2019. <https://doi.org/10.1016/j.labcli.2019.01.004>
5. Gladys Pérez et al., Homeostasis del hierro. Mecanismos de absorción, captación celular y regulación bioquím Clínica Latino 2005; 39 (3): 301-14.
6. Fernando Pérez-Aguilar et al., GASTROENTEROL HEPATOL. 2006;29(6):358-65.
7. Adriana María neghinaal.et al. HEMOCHROMATOSIS GENOTYPES AND RISK OF IRON OVERLOADDA META-ANALYSIS, 2011. doi: 10.1016/j.annepidem.2010.05.013
8. Raúl Carrillo Esper et al, REVISIÓN DE CASO DE HEMOCROMATOSIS HEREDITARIA TIPO I, Rev Asoc Mex Med Crit y Ter Int 2015;29(3):157-166.
9. Mariana Penkova*, Nadezhda Ivanova SERUM IRON METABOLISM VARIABLES IN CLINICALLY HEALTHY PERSONS Department of Health care, Medical Faculty Trakia University, 11 Armeiska Street, 6000 Stara Zagora, Bulgaria,2019.
10. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, et al. A NOVEL MHC CLASS I-LIKE GENE IS MUTATED IN PATIENTS WITH HEREDITARY HAEMOCHROMATOSIS. NAT GENET. 1996; 13:399–408.
11. Anna Barqué y Mayka Sánchez, CUANDO EL HIERRO ES TÓXICO, revista Rev, de Genética médica y Genómica, Genética Médica y Genómica, revistageneticamedica.com,2017.
12. Adriana Maria Neghina, and Andrei Anghel et al. HEMOCHROMATOSIS GENOTYPES AND RISK OF IRON OVERLOADDA META-ANALYSIS, enero 2011.
13. Carlos Wolff f1, Rodolfo Armas et al, MUTACIONES DEL GEN DE LA HEMOCROMATOSIS EN DONANTES DE SANGRE VOLUNTARIOS Y EN PACIENTES CON PORFIRIA CUTANEA TARDA EN CHILE _1Departamento de Medicina Occidente, Universidad de Chile, Hospital San Juan de Dios. Santiago, Chile; 2Department of Dermatology, University Hospital Maastricht, The Netherlands, 2005.
14. Eman Tariq Ali. Et al, A COMPARATIVE STUDY OF INTERLEUKIN 6, INFLAMMATORY MARKERS, FERRITIN, AND HEMATOLOGICAL PROFILE IN RHEUMATOID ARTHRITIS PATIENTS WITH ANEMIA OF CHRONIC DISEASE AND IRON DEFICIENCY ANEMIA, Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Pharmacy, University of Basrah, Iraq, articulo abril 2019.