

# JOURNAL OF HEPATOLOGY

Recomendações de Orientação Clínica da EASL:  
Hemocromatose associada ao gene HFE

## Recomendações de Orientação Clínica da EASL para hemocromatose associada ao gene HFE

Associação Europeia para o Estudo do Fígado\*

### Preâmbulo

A sobrecarga de ferro em seres humanos está associada a várias condições genéticas e adquiridas. Destas, a hemocromatose associada ao gene HFE (HFE-HC) é, de longe, a mais frequente e bem definida causa hereditária quando se consideram os aspetos epidemiológicos e os riscos para a morbilidade e mortalidade relacionadas com o ferro. A maioria dos doentes com HFE-HC é homozigótica para o polimorfismo C282Y [1]. Caso não haja intervenção terapêutica, existe o risco de ocorrer uma sobrecarga de ferro, que pode originar lesões nos tecidos e conduzir ao desenvolvimento de doenças. Embora atualmente haja um teste genético específico que permite diagnosticar a HFE-HC, a incerteza associada à definição dos casos, a carga da doença e a baixa penetrância fenotípica de homozigotia para o C282Y levanta uma série de problemas clínicos no tratamento de doentes com HC. Esta Recomendação de Orientação Clínica incidirá, assim, sobre a HFE-HC. As formas mais raras de sobrecarga de ferro genética recentemente atribuídas a mutações patogénicas do recetor da transferrina 2, (TFR2), hepcidina (HAMP), hemojuvelina (HJV) ou a mutações de um subtipo de ferroportina (FPN), cujos dados clínicos e epidemiológicos disponíveis são limitados e esparsos, não serão abordadas. Desenvolvemos recomendações para o rastreio, o diagnóstico e a gestão da HFE-HC.

### Introdução

Esta Norma de Orientação Clínica (CPG) foi desenvolvida para auxiliar os médicos e outros profissionais de saúde, bem como os doentes e as pessoas interessadas no processo de decisão clínica relativo à HFE-HC. Tem como finalidade descrever uma série de métodos geralmente aceites para o diagnóstico, prevenção e tratamento da HFE-HC. Para tal, foram desenvolvidas e abordadas quatro questões clinicamente relevantes:

- (1) Qual é a prevalência da homozigotia de C282Y?
- (2) Qual é a penetrância da homozigotia de C282Y?
- (3) Como se deve diagnosticar a HFE-HC?
- (4) Como se deve gerir a HFE-HC?

Cada pergunta orientou uma revisão sistemática da literatura no Medline (versão PubMed), na Embase (versão Dialog) e nas bases de dados da Cochrane Library, de 1966 a março de 2009. A seleção dos estudos baseou-se em critérios de inclusão e exclusão específicos (Tabela 1). A qualidade da evidência relatada foi classificada de acordo com o sistema GRADE (Grades of Recommendation, Assessment, Development, and Evaluation) [2–6]. Este sistema classifica as recomendações como fortes ou fracas de acordo com a relação entre as vantagens e as desvantagens (danos, carga e custo) após a consideração da qualidade da evidência (Tabela 2).

A qualidade da evidência reflete a confiança nas estimativas dos

verdadeiros efeitos de uma intervenção, sendo que o sistema a classifica como alta, moderada, baixa ou muito baixa em função de fatores que incluem a metodologia do estudo, a consistência e a precisão dos resultados e a clareza da evidência [2–6]. Todas as recomendações que se encontram nesta CPG são seguidas pela respetiva classificação GRADE entre parêntesis.

### Qual é a prevalência da homozigotia de C282Y?

*A prevalência dos polimorfismos do gene HFE na população em geral*

A frequência dos polimorfismos do gene HFE associados à HC na população em geral foi determinada através de 36 estudos de rastreio que cumpriam os critérios de inclusão (Tabela 3). A frequência alélica de C282Y foi igual a 6,2% num coorte composto por 127.613 indivíduos incluídos na meta-análise individual dos doentes provenientes destes 36 estudos (Tabela 3).

A partir desta frequência alélica para o C282Y, é possível calcular uma frequência genotípica de 0,38%, ou 1 em 260 indivíduos, para a homozigotia de C282Y a partir da equação de Hardy-Weinberg. A frequência relatada de homozigotia de C282Y é de 0,41%, o que é significativamente maior do que a frequência esperada. É provável que isto reflita um viés de publicação ou de determinação.

Foram relatadas variações significativas nas frequências do alelo C282Y em diferentes regiões geográficas da Europa, sendo que estas variam entre 12,5% na Irlanda e 0% no Sul da Europa (Fig. 1).

Para além do C282Y, que também é conhecido como o «principal» polimorfismo associado ao HFE, também o H63D, considerado o polimorfismo de HFE «minoritário», foi encontrado mais frequentemente em doentes com HC do que na população de controlo. A frequência do polimorfismo de H63D apresenta uma menor variação geográfica, com uma frequência alélica média de 14,0% obtida a partir de dados agrupados (23.733 de um total de 170.066 alelos). Um outro polimorfismo de HFE é o polimorfismo de S65C, que pode ser associado ao excesso de ferro quando herdado in trans com o C282Y no outro alelo parental. A frequência alélica deste polimorfismo é ~0,5% e parece ser superior na Bretanha, França.

### *Prevalência de homozigotia para o C282Y no gene HFE em hemocromatose clinicamente reconhecida*

A prevalência da homozigotia de C282Y em indivíduos clinicamente reconhecidos com sobrecarga de ferro foi avaliada através de uma meta-análise que incluiu 32 estudos com um total de 2802 doentes com hemocromatose de ascendência europeia (Tabela 4). Esta análise de dados agrupados mostra que 80,6% (2260 em 2802 indivíduos) dos doentes com HC são homozigóticos para o polimorfismo de C282Y no gene HFE. Foi detetada heterozigotia composta para o C282Y e o H63D em 5,3% dos doentes com HC (114 em 2117 indivíduos; Tabela 4). Nos grupos de controlo, que foram relatados em 21 dos 32 estudos, a frequência de homozigotia de C282Y foi de 0,6% (30 em 4913 indivíduos de controlo), e a heterozigotia composta estava presente em 1,3% (43 em 3190 dos indivíduos da população de controlo).

\*Endereço para correspondência: EASL Office, 7 rue des Battoirs, CH-1205 Genebra, Suíça. Tel: +41 22 807 0365; fax: +41 22 328 0724.

E-Endereço de e-mail: easl@easloffice.eu



### Disclaimer:

The Portuguese version of this guide is a translation of the original English version and is provided for information purposes only. In case of any discrepancy, the English original will prevail. EASL makes no warranty of any kind with respect to any translated guide.

## Normas de Orientação Clínica

Tabela 1. Critérios de inclusão e de exclusão para a pesquisa bibliográfica.

Critérios de inclusão e de exclusão para pesquisar referências	
<b>Critérios de inclusão</b>	
1. Populações: adultos com idade >18 anos, população aplicável à Europa, América do Norte, Austrália e Nova Zelândia, população de rastreio com valores elevados de ferro, sobrecarga de ferro assintomática ou homozigotia para C282Y no gene HFE (foram incluídas todas as idades nas questões sobre a prevalência de C282Y)	
2. Doença: sintomática (fibrose hepática, cirrose, insuficiência hepática, carcinoma hepatocelular, diabetes mellitus, cardiomiopatia, hipogonadismo ou artropatia resultante da sobrecarga de ferro) ou assintomática com ou sem homozigotia para C282Y	
3. Desenho:	
a. Questões sobre a prevalência: estudos de coorte ou transversais (incluindo estudos em recém-nascidos)	
b. Questões sobre a carga, história natural, penetrância: estudos de coorte transversais e longitudinais	
c. Questões sobre a terapêutica: ensaios controlados aleatorizados e séries de casos de grande dimensão	
4. Resultados: incidência, gravidade ou progressão clínica da hemocromatose ou dos valores de ferro, sintomas não específicos (para questões sobre a terapêutica)	
<b>Critérios de exclusão:</b>	
1. Estudo não humano	
2. Idioma que não seja o inglês	
3. Idade: <18 anos a não ser que os dados dos adultos sejam analisados separadamente	
4. Desenho: séries de casos com <15 doentes, editoriais, revisões, cartas, resumos de congressos (exceto cartas de pesquisas)	
5. Para questões sobre a epidemiologia e o diagnóstico: não inclui a genotipagem HFE	
6. Não relata a prevalência ou os fatores de risco relevantes (para questões sobre a prevalência-penetrância), não relata resultados relevantes (para questões sobre a terapêutica)	
7. Tratamento que não seja a flebotomia (para questões sobre a terapêutica)	

Tabela 2. Qualidade da evidência e força das recomendações de acordo com o sistema GRADE.

	Exemplo	Nota	Símbolo
<b>Qualidade da evidência</b>			
Alta	Ensaio aleatorizados que mostram resultados consistentes ou estudos observacionais com efeitos de tratamento muito significativos	É muito improvável que as pesquisas adicionais alterem a nossa confiança na estimativa do efeito	A
Moderada	Ensaio aleatorizados com limitações metodológicas ou estudos observacionais com efeitos significativos	É provável que as pesquisas adicionais tenham um impacto importante na nossa confiança em estimar o efeito e que possam alterar a estimativa	A
Baixa e muito baixa	Estudos observacionais sem pontos fortes excepcionais ou ensaios clínicos aleatorizados com limitações muito graves; observações clínicas não sistemáticas (por exemplo, relatórios de casos e séries de casos; opiniões de especialistas) como prova de evidências de qualidade muito baixa	É muito provável que as pesquisas adicionais tenham um impacto importante na nossa confiança em estimar o efeito e alterem a estimativa. Qualquer estimativa do efeito é muito incerta	C
<b>Força das recomendações*</b>			
Forte	Definida como «confiante de que a adesão à recomendação vai fazer mais bem do que mal ou que os benefícios líquidos compensam o custo»		1
Fraca	Definida como «incerto de que a adesão à recomendação vai fazer mais bem do que mal OU que os benefícios líquidos compensam o custo»	A incerteza associada às recomendações fracas resulta de evidências de má qualidade ou de benefícios e desvantagens praticamente equilibrados.	

\*Os fatores que afetam a força de uma recomendação são: (a) qualidade das evidências, (b) incerteza sobre o equilíbrio entre o efeito desejável e indesejável; (c) incerteza ou variabilidade dos valores e das preferências; (d) incerteza sobre se a intervenção representa um uso racional dos recursos (consultar referências [2–6]).

Tabela 3. Prevalência dos polimorfismos de C282Y e H63D do gene HFE mais comuns na população em geral.

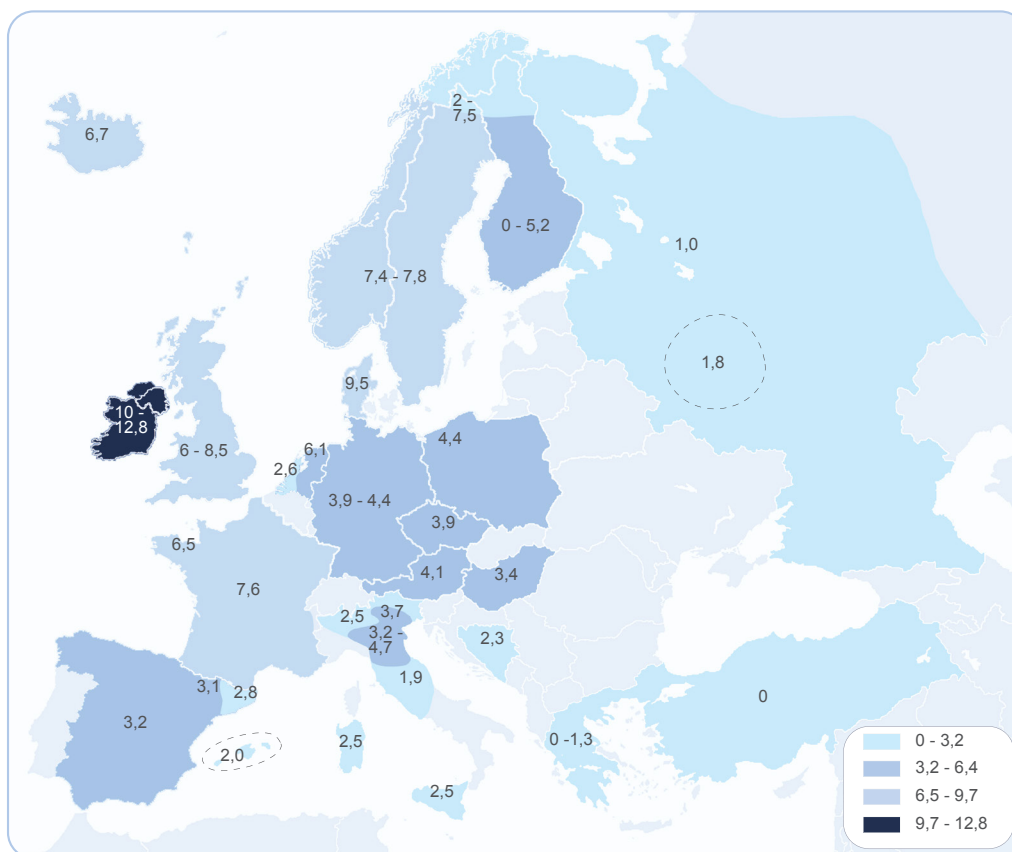
Autores	Ref.	País – População	Indivíduos rastreados	Frequência alélica para	
				c.845 C>A (Y282)	c.187 C>G (D63)
Beckman <i>et al.</i> (1997)	[7]	Moldávia	85	0,0176	
		Finlândia	173	0,052	
		Suécia – Lapões	151	0,0199	
		Suécia – Lapões	206	0,0752	
	[8]	Reino Unido	368	0,060	0,12
		Irlanda	45	0,1	0,189
		Islândia	90	0,067	0,106
		Noruega	94	0,074	0,112
		Ex-URSS	154	0,010	0,104
		Finlândia	38	0	0,118
		Dinamarca	37	0,095	0,22
		Países Baixos	39	0,026	0,295
		Alemanha	115	0,039	0,148
		Asquenazes	35	0	0,086
		Itália	91	0,005	0,126
		Grécia	196	0,013	0,135
		Turquia	70	0	0,136
		Espanha	78	0,032	0,263
Datz <i>et al.</i> (1998)	[9]	Áustria	271	0,041	0,258
Burt <i>et al.</i> (1998)	[10]	População da Nova Zelândia de ascendência europeia	1064	0,070	0,144
Jouanolle <i>et al.</i> (1998)	[11]	França – Bretanha	1000	0,065	
Merryweather-Clarke <i>et al.</i> (1999)	[12]	Escandinávia	837	0,051	0,173
Distante <i>et al.</i> (1999)	[13]	Noruega	505	0,078	0,229
Olynyk <i>et al.</i> (1999)	[14]	Austrália	3011	0,0757	
Marshall <i>et al.</i> (1999)	[15]	EUA – população caucasiana não hispânica	100	0,05	0,24
Beutler <i>et al.</i> (2000)	[16]	EUA – população caucasiana	7620	0,064	0,154002625
Steinberg <i>et al.</i> (2001)	[17]	EUA – população caucasiana não hispânica	2016	0,0637	0,153769841
Andrikovics <i>et al.</i> (2001)	[18]	Dadores de sangue húngaros	996	0,034	0,014
Pozzato <i>et al.</i> (2001)	[19]	Itália – populações celtas	149	0,03691	0,144295302
Byrnes <i>et al.</i> (2001)	[20]	Irlanda	800	0,1275	0,171875
Beutler <i>et al.</i> (2002)	[21]	EUA – população caucasiana não hispânica	30 672	0,0622	
Guix <i>et al.</i> (2002)	[22]	Espanha – Ilhas Baleares	665	0,0203	0,201503759
Deugnier <i>et al.</i> (2002)	[23]	França	9396	0,07636228	
Cimburova <i>et al.</i> (2002)	[24]	República Checa	254	0,03937008	0,142
Van Aken <i>et al.</i> (2002)	[25]	Países Baixos	1213	0,06141797	
Phatak <i>et al.</i> (2002)	[26]	EUA	3227	0,0507	0,1512
Jones <i>et al.</i> (2002)	[27]	Reino Unido	159	0,085	0,173
Candore <i>et al.</i> (2002)	[28]	Itália – cinco regiões	578	0,025	0,147
Salvioni <i>et al.</i> (2003)	[29]	Itália – Norte	606	0,0470297	0,143564356
Papazoglou <i>et al.</i> (2003)	[30]	Grécia	264	0	0,089015152
Sanchez <i>et al.</i> (2003)	[31]	Espanha	5370	0,03156425	0,208007449
Mariani <i>et al.</i> (2003)	[32]	Itália – Norte	1132	0,032	0,134
Altes <i>et al.</i> (2004)	[33]	Espanha – Catalunha	1043	0,0282838	0,19894535
Adams <i>et al.</i> (2005)	[34]	EUA – população caucasiana	44 082	0,06825915	0,153157751
Barry <i>et al.</i> (2005)	[35]	EUA – população caucasiana não hispânica	3532	0,057	0,14
Meier <i>et al.</i> (2005)	[36]	Alemanha	709	0,044	

continua na página seguinte

## Normas de Orientação Clínica

Tabela 3 (continuação)

Autores	Ref.	País – População	Indivíduos rastreados	Frequência alélica para	
				c.845 C>A (Y282)	c.187 C>G (D63)
Matas <i>et al.</i> (2006)	[37]	Populações judaicas – Chuetas	255	0,00784314	0,123529412
Hoppe <i>et al.</i> (2006)	[38]	EUA – população caucasiana não hispânica	991	0,05499495	0,134207871
Aranda <i>et al.</i> (2007)	[39]	Espanha – Nordeste	812	0,03140394	0,219211823
Terzic <i>et al.</i> (2006)	[40]	Bósnia-Herzegovina	200	0,0225	0,115
Floreani <i>et al.</i> (2007)	[41]	Itália – Central	502	0,0189243	0,148406375
Raszeja-Wyszomirska <i>et al.</i> (2008)	[42]	Polónia – Noroeste	1517	0,04416612	0,154251813



**Fig. 1. Frequência do alelo C282Y em diferentes regiões europeias. (Para informações detalhadas, consultar a Tabela 3.)**

Assim, 19,4% dos doentes com HC clinicamente caracterizados apresentam a doença na ausência de homozigotia de C282Y. Embora a heterozigotia composta (H63D/C282Y) pareça estar associada à doença, os cofatores devem ser considerados uma causa em indivíduos nos quais se suspeita que haja sobrecarga de ferro [72–74].

*A prevalência de genótipos HFE em grupos de doentes selecionados*  
Fadiga

Até ao momento, apenas há estudos transversais ou de caso-controle que investigam a prevalência da homozigotia de C282Y em doentes com fadiga ou síndrome de fadiga crônica [75–77]. Nenhum dos três estudos concluiu que a prevalência de homozigotia de C282Y estava aumentada.

### Artralgia

A maioria dos estudos disponíveis investigou a prevalência de mutações de C282Y em doentes com artrite inflamatória [78–80]; há poucos estudos que incluam doentes com artralgia não inflamatória ou condrocalcinose [75,81]. Na maioria dos estudos que inclui doentes com osteoartrite indiferenciada, a prevalência de homozigotia de C282Y não ultrapassou a da população de controlo [3,80].

Nos doentes com osteoartrite da 2.<sup>a</sup> e 3.<sup>a</sup> articulações metacarpo-falângicas, foram encontradas prevalências alélicas mais elevadas dos polimorfismos de HFE (C282Y e H63D), embora isso não tenha sido acompanhado por um aumento da frequência de homozigotos para C282Y [82,83]. A maior prevalência de homozigotia para C282Y só foi encontrada em doentes com condrocalcinose bem caracterizada [81].

Tabela 4. Prevalência da homozigotia de C282Y e da heterozigotia composta de C282Y/H63D na hemocromatose clinicamente reconhecida.

Autores	Ref.	População do estudo	Prevalência de HLA/HFE nos casos de hemocromatose clínica			
			N.º de casos	Homozigoto C282Y	Heterozigoto composto C282Y/H63D	Ambos os alelos de tipo selvagem
Feder <i>et al.</i> (1996)	[1]	EUA – Multicêntrico	187	148		21
Jazwinska <i>et al.</i> (1996)	[43]	Austrália	112	112	0	
Jouanolle <i>et al.</i> (1996)	[44]	França	65	65	3	0
Beutler <i>et al.</i> (1996)	[45]	EUA – população de origem europeia	147	121		
Borot <i>et al.</i> (1997)	[46]	França – Toulouse	94	68	4	18
Carella <i>et al.</i> (1997)	[47]	Itália – Norte	75	48	5	
Datz <i>et al.</i> (1998)	[9]	Áustria	40	31		
Willis <i>et al.</i> (1997)	[48]	Reino Unido – Leste da Inglaterra	18	18		
The UK Haemochromatosis Consortium (1997)	[49]	Reino Unido – Consórcio	115	105		5
Press <i>et al.</i> (1998)	[50]	EUA – Portland	37	12		
Cardoso <i>et al.</i> (1998)	51	Suécia	87	80	3	1
Sanchez <i>et al.</i> (1998)	[52]	Espanha	31	27	2	1
Ryan <i>et al.</i> (1998)	[53]	Irlanda	60	56	1	2
Nielsen <i>et al.</i> (1998)	[54]	Alemanha – Norte	92	87	4	
Murphy <i>et al.</i> (1998)	[55]	Irlanda	30	27		
Mura, <i>et al.</i> (1999)	[56]	França – Bretanha	711	570	40	35
Brissot <i>et al.</i> (1999)	[57]	França – Noroeste	217	209	4	2
Bacon <i>et al.</i> (1999)	[58]	EUA	66	60	2	
Brandhagen <i>et al.</i> (2000)	[59]	EUA – transplantados hepáticos	5	4		
Rivard <i>et al.</i> (2000)	[60]	Canadá – Quebec	32	14	3	8
Papanikolaou <i>et al.</i> (2000)	[61]	Grécia	10	3		5
Guix <i>et al.</i> (2000)	[62]	Espanha – Ilhas Baleares	14	13		
Brandhagen <i>et al.</i> (2000)	[63]	EUA	82	70		2
Sham <i>et al.</i> (2000)	[64]	EUA – Minnesota	123	74	15	6
Van Vlierberghe <i>et al.</i> (2000)	[65]	Bélgica – Flandres	49	46	2	1
Bell <i>et al.</i> (2000)	[66]	Noruega	120	92	3	
Hellerbrand <i>et al.</i> (2001)	[67]	Alemanha – Sul	36	26	3	2
de Juan <i>et al.</i> (2001)	[68]	Espanha – população basca	35	20	4	2
Guix <i>et al.</i> (2002)	[22]	Espanha – Ilhas Baleares	30	27	2	0
De Marco <i>et al.</i> (2004)	[69]	Itália – Sul	46	9	10	11
Bauduer <i>et al.</i> (2005)	[70]	França – população basca	15	8	2	
Cukjati <i>et al.</i> (2007)	[71]	Eslovénia	21	10	2	2

### Diabetes

A associação do polimorfismo de C282Y à diabetes mellitus foi avaliada principalmente em doentes com diabetes mellitus tipo 2 em estudos transversais e de caso-controlo [84–95]. À exceção de um caso, não foi encontrada nenhuma associação entre a diabetes tipo 2 e a homozigotia de C282Y [75]. Foi encontrada uma maior prevalência do alelo C282Y na retinopatia diabética proliferativa e na nefropatia agravando a diabetes tipo 2 [96], ainda que a frequência de homozigotia de C282Y não estivesse aumentada.

A prevalência de homozigotos C282Y em doentes com diabetes mellitus tipo 1 foi abordada apenas em 1 estudo onde foi detetada uma taxa de homozigotos C282Y significativamente maior (odds ratio de 4,6; prevalência de 1,26%) [97].

### Doença hepática

Há um número limitado de estudos que relatam a presença de

homozigotia de C282Y em doentes não selecionados com doença hepática [98–100]. 3 a 5,3% dos doentes eram homozigotos para C282Y, o que corresponde a uma frequência aproximadamente 10 vezes superior à prevalência relatada na população em geral. A prevalência de homozigotia para C282Y aumentava para 7,7% se os doentes fossem selecionados com base numa saturação de transferrina > 45% [98].

### Carcinoma hepatocelular

O carcinoma hepatocelular (HCC) é uma complicação conhecida da HFE-HC. No entanto, são poucos os estudos que analisaram a frequência de homozigotia para C282Y em doentes com HCC. Além disso, o tamanho dos estudos existentes é limitado [101–106]. A etiologia do HCC diferia significativamente entre os estudos. Os doentes com HC clínica foram especificamente excluídos de um estudo [103]. As análises dos subgrupos para determinar as diferentes etiologias e a prevalência específica em cada género não demonstraram suficiente poder estatístico. No

## Normas de Orientação Clínica

entanto, três estudos relativos ao HCC relataram uma frequência de homozigotia para C282Y entre 5,5% e 10% [101,102,106], e três outros estudos demonstraram uma prevalência aumentada de heterozigotia para C282Y [103,105,107]. Apenas um estudo [104] não demonstrou uma associação entre o HCC e o polimorfismo C282Y.

*Perda de cabelo, hiperpigmentação, amenorreia, perda de libido*  
Não foram encontrados resultados para os critérios de pesquisa.

### *Porfíria cutânea tarda*

Concluiu-se que a prevalência de homozigotia de C282Y entre os doentes com porfíria cutânea tarda (PCT) era significativamente maior em comparação com a das populações de controlo, variando entre 9% e 17% em vários estudos [108–124]. Nos doentes italianos, não foi encontrada qualquer associação entre a PCT e o polimorfismo C282Y [125]. A associação entre a PCT e os polimorfismos comuns do gene HFE C282Y e H63D é ilustrada por uma meta-análise recente, onde o odds ratio para a PCT foi de 48 (24-95) em homozigotos C282Y e de 8,1 (3,9-17) em heterozigotos compostos C282Y/H63D [126].

### *Prevalência de homozigotia de C282Y nos indivíduos com anormalias bioquímicas de ferro*

Há uma variação considerável no limite de ferritina e da saturação de transferrina utilizadas para o rastreio genético de hemocromatose hereditária (HH).

### *Ferritina sérica*

A prevalência de ferritina elevada varia entre 4% e 41% em populações saudáveis, dependendo do limite e da definição do rastreio (Tabela 5) [10,13,14,23,84]. O valor preditivo positivo de uma ferritina elevada para a deteção de homozigotos C282Y foi de 1,6% a 17,6% (Tabela 5). A frequência de uma concentração de ferritina superior a 1000 µmg/l foi de 0,2% a 1,3% em populações não selecionadas [34,133].

### *Saturação da transferrina*

Foi encontrada uma saturação de transferrina elevada em 1,2% a 7% dos indivíduos rastreados em populações não selecionadas [10,13,14,23,129–131] (Tabela 5). O valor preditivo positivo de saturação de transferrina elevada para a deteção de homozigotos C282Y foi de 4,3% a 21,7% (Tabela 5).

### **Qual é a penetrância da homozigotia de C282Y?**

As diferenças nos critérios de inclusão e na definição da penetrância bioquímica e da doença deram origem a uma gama de estimativas para a penetrância de homozigotia de C282Y. A penetrância da doença em homozigotia para C282Y foi de 13,5% (intervalo de confiança a 95% (13,4%-13,6%)) quando 19 estudos foram incluídos na meta-análise e os resultados de estudos individuais foram ponderados com base na variância inversa dos resultados do estudo individual (Fig. 2) [134,135].

### *Excesso de ferro*

Embora a maior parte dos homozigotos C282Y possa ter uma saturação de transferrina e ferritina sérica elevadas, tal não pode

ser considerado uma evidência certa de sobrecarga de ferro. Uma meta-análise de dados de doentes individuais composta por 1382 homozigotos C282Y relatados em 16 estudos demonstrou que 26% das mulheres e 32% dos homens têm concentrações de ferritina sérica aumentadas (>200 µg/l nas mulheres e >300 µg/l nos homens) (Tabela 6). A prevalência de ferro nos tecidos em excesso (ferro no tecido hepático >25 µmoles/g ou valor de siderose aumentado) em 626 homozigotos C282Y que foram submetidos a uma biópsia hepática foi de 52% nas mulheres e 75% nos homens, conforme relatado em 13 estudos. A penetrância superior de sobrecarga de ferro nos tecidos deve-se à seleção de doentes para biópsia hepática, que é mais provável de ser efetuada em doentes com evidência clínica ou bioquímica de sobrecarga de ferro.

Quando os 1382 doentes com parâmetros de ferro registados foram incluídos na meta-análise, a penetrância de ferro em excesso no fígado passou a ser de 19% para as mulheres e de 42% para os homens.

### *Penetrância clínica e progressão*

É difícil avaliar a penetrância da doença baseada em sintomas (por exemplo, fadiga e artralgia) devido à natureza inespecífica e à elevada frequência destes sintomas nas populações de controlo [21].

A penetrância da doença com base na histologia hepática foi estudada, mas é condicionada pelo facto de a biópsia hepática ser geralmente reservada para doentes com alta probabilidade pré-teste de lesões hepáticas. No entanto, estes estudos fornecem uma estimativa da expressão da doença nos homozigotos C282Y. Num dos estudos, foram encontradas enzimas hepáticas elevadas em 30% dos homens [142]. A presença de fibrose hepática verificou-se em 18% dos homens e 5% das mulheres homozigóticas para C282Y; a presença de cirrose verificou-se em 6% dos homens e 2% das mulheres [66,144]. Uma recente meta-análise concluiu que 10% a 33% de homozigotos C282Y iriam, eventualmente, desenvolver morbilidade associada à hemocromatose [147].

A penetrância é geralmente mais elevada no sexo masculino do que no sexo feminino em homozigotos C282Y. Os homozigotos C282Y identificados durante o rastreio familiar têm um risco acrescido de expressar a doença (32%-35%) quando comparados com homozigotos C282Y identificados durante estudos baseados na população (27%-29%).

Estão disponíveis três estudos longitudinais (rastreio populacional) que mostram a progressão da doença apenas numa minoria de homozigotos C282Y [140,141,146]. Os dados disponíveis sugerem que até 38% a 50% de homozigotos C282Y poderão desenvolver sobrecarga de ferro, sendo que 10% a 33% se encontram em risco de desenvolver morbilidade associada à hemocromatose (como já foi referido) [147]. A proporção de homozigotos C282Y com doenças relacionadas com a sobrecarga de ferro é substancialmente maior para os homens do que para as mulheres (28% vs. 1%) [146].

### *Prevalência e valor preditivo dos índices de ferro sérico anormais para homozigotia C282Y numa população não selecionada*

Geralmente, os estudos de ferro sérico são utilizados como o primeiro teste de rastreio quando se suspeita da presença de hemocromatose. Dois estudos destacam o valor preditivo do rastreio para os parâmetros de ferro sérico na população em geral [131,145].

A prevalência da saturação da transferrina sérica persistente-

Tabela 5. Prevalência da homozigotia C282Y em doentes com elevada ferritina sérica e saturação de transferrina.

Autores	Ref.	População do estudo	Prevalência de homozigotos C282Y entre doentes com ferritina sérica elevada		Prevalência de homozigotos C282Y entre doentes com saturação de transferrina (ST) elevada		Comentários
			Prevalência de ferritina sérica	Prevalência de C282Y	Prevalência de elevação de ST	Prevalência de C282Y	
Deugnier <i>et al.</i>	[23]	Transversal, n = 9396 e m	76 em 981 (7,5%)	21 em 76 (17,6%)	70 em 993 (7%)	26 em 70 (18%)	Cuidados de saúde, doentes jovens; ferritina disponível unicamente para um subgrupo
Olynyk <i>et al.</i>	[14]	Transversal, n = 3011; f n	405 em 3011 (13,5%)	8 em 405 (2%)	202 em 3011 (6,7%)	15 em 202 (7,4%)	Seleção de doentes incluída ST persistentemente elevada (45% ou superior) ou homozigotia para a mutação C282Y
Burt <i>et al.</i>	[10]	Transversal, n = 1064 g l	42 em 1040 (4,0%)	2 em 42 (4,8%)	46 em 1040 (4,4%)	5 em 46 (10,9%)	Eleitores
Distante <i>et al.</i>	[13]	Transversal, n = 505 h l	23 em 505 (4,6%)	2 em 23 (8,7%)	25 em 505 (5%)	2 em 25 (8%)	Cuidados de saúde
McDonnell <i>et al.</i>	[127]	Transversal, n = 1450 i o	Ausência de dados	Ausência de dados	60 em 1640 (3,7%)	13 em 60 (21,7%)	funcionários de HMO; dados apenas para ST
Delatycki <i>et al.</i>	[128]	Transversal, n = 11 307	Ausência de dados	Ausência de dados	Ausência de dados	Ausência de dados	2 em 47 pontos (biópsia em 6 pontos) tinham fibrose pré-cirrótica
Adams <i>et al.</i>	[129]	Transversal, n = 5211 p	Ausência de dados	Ausência de dados	60 em 5211 (1,2%) 150 em 5211 (2,9%) 278 em 5211 (5,3%)	4 em 60 (6,7%) 9 em 150 (6%) 12 em 278 (4,3%)	Dadores de sangue
Adams <i>et al.</i>	[34]	Transversal, n = 99 711 a q	Ausência de dados	Ausência de dados	Ausência de dados	Ausência de dados	Estudo HEIRS
Beutler <i>et al.</i>	[16]	Transversal, n = 9650 b r	Ausência de dados	Ausência de dados	67% dos homens, 39% das mulheres 80% dos homens, 50% das mulheres		
Barton <i>et al.</i>	[130]	Transversal, n = 43 453 caucasionos a r	9299 caucasionos (21,4%)	147 em 9299 (1,6%)	2976 em 43 453 (6,8%)	166 em 2976 (5,6%)	
Asberg <i>et al.</i>	[131]	Transversal, n = 65 238 m	Ausência de dados	Ausência de dados	2,7% dos homens, 2,5% das mulheres	269 em 1698 (15,8%)	
Gordeuk <i>et al.</i>	[132]	Transversal, n = 101 168 a r	2253 em 101 168 (2,2%)		2253 em 101 168 (2,2%)	155 em 2253 (6,9%)	Combinação de cuidados primários de ST e ferritina

Limites de ferritina [µg/l]: a >300 homens e mulheres na pós-menopausa, >200 mulheres, b >250 homens e >200 mulheres, c >300 homens e mulheres, d >250 homens e >200 mulheres, e >280 homens >130 mulheres, f >300 homens e mulheres, g >428 homens >302 mulheres, h >200 homens e mulheres, i percentil 95%

Limite de saturação de transferrina [%]: k >55: homens >45: mulheres, l >50, m >55: homens >45: mulheres, n >45, o >55: homens, >60: mulheres, p >54 ou >49 ou >45, q >55: homens >45: mulheres, r >50 em geral >45 em geral.

## Normas de Orientação Clínica

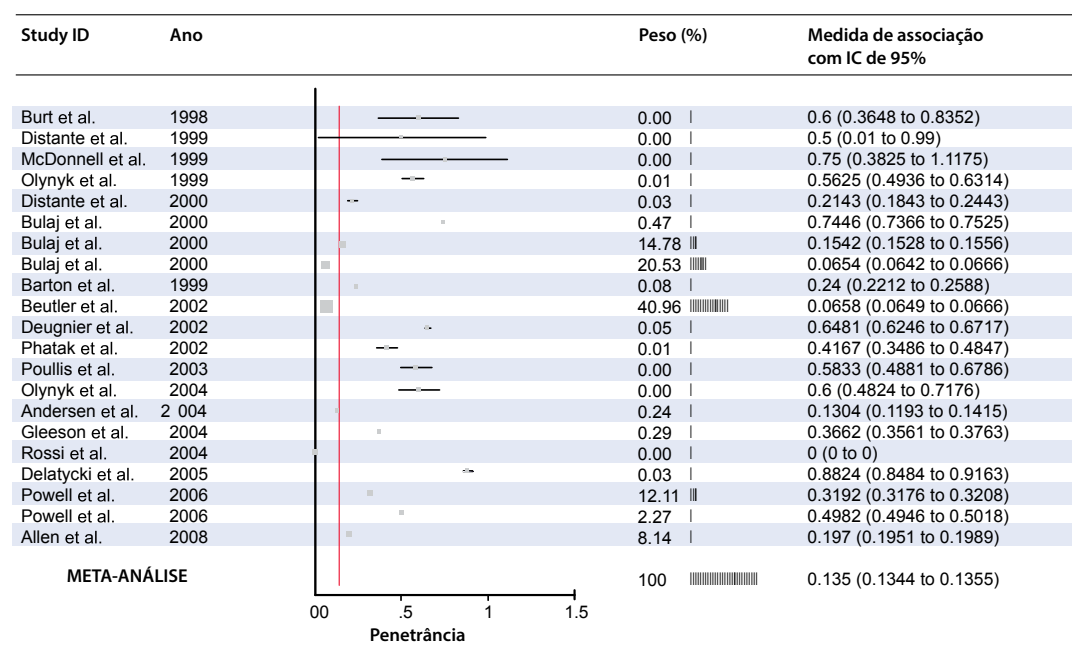


Fig. 2. Gráfico de floresta dos estudos sobre a penetrância de hemocromatose. Os estudos são ponderados com base no inverso do intervalo de confiança. (Para informações detalhadas, consultar a Tabela 6.)

mente aumentada após a realização repetida de testes foi de 1% (622 em mais de 60.000 indivíduos). Destes, ~50% também apresentavam hiperferritinemia (342 em 622). A homozigotia para C282Y podia ser detetada em ~90% dos homens e ~75% das mulheres com saturação de transferrina persistentemente elevada e ferritina sérica aumentada.

De um ponto de vista transversal, a penetrância do genótipo C282Y/C282Y neste estudo de coorte, definida como a prevalência de cirrose hepática, foi de ~5,0% nos homens e <0,5% nas mulheres [145].

### Recomendações para os testes genéticos:

População em geral:

- Não se recomenda o rastreio genético para a HFE-HC, dado que a penetrância da doença é baixa e a sobrecarga de ferro apenas irá progredir em alguns homozigotos C282Y (1 B).

Populações de doentes:

- Os testes genéticos realizados ao HFE devem ser considerados em doentes com doença hepática crónica inexplicada que foram pré-selecionados por apresentarem uma saturação de transferrina aumentada (1 C).
- Pode considerar-se a realização de testes genéticos ao HFE em doentes com:
  - Porfíria cutânea tarda (1 B).
  - Condrococalcinose bem definida (2 C).
  - Carcinoma hepatocelular (2 C).
  - Diabetes tipo 1 (2 C).
- Não é recomendado realizar testes genéticos ao HFE em doentes com:
  - Artrite ou artralgia inexplicadas (1 C).
  - Diabetes tipo 2 (1 B).

### Como se deve diagnosticar a HFE-HC?

O painel de CPG da EASL concordou com a seguinte definição de caso para o diagnóstico de HFE-HC:

*Homozigotia C282Y e aumento das reservas de ferro corporal com ou sem sintomas clínicos.*

A secção que se segue abordará os testes genéticos e as ferramentas para avaliar as reservas de ferro corporal.

### Testes genéticos – Metodologia

A homozigotia C282Y é necessária para o diagnóstico da HFE-HC quando as reservas de ferro se encontram aumentadas (ver algoritmos de diagnóstico).

Qualquer outro genótipo de HFE tem de ser interpretado com precaução. Os métodos disponíveis são apresentados na Tabela 7. A variante intrónica c.892+48 G > A poderá complicar o sistema de mutação refractário à amplificação (ARMS) – PCR para testes genéticos [183]. O polimorfismo comum S65C poderá complicar a interpretação da PCR em tempo real e dos testes de análise da curva de fusão [184]. Por fim, é necessário considerar a herança in cis de variantes genéticas raras [185] quando os testes genéticos são interpretados.

A sequenciação do gene HFE em heterozigotos C282Y que apresentam um fenótipo compatível com a hemocromatose revelou a existência de outras mutações raras do gene HFE. De entre estas mutações, a S65C foi a mais estudada [56]. A mutação S65C poderá contribuir – mas apenas quando herdada in trans com a mutação C282Y – para o desenvolvimento de uma sobrecarga de ferro moderada sem expressão clínica na ausência de fatores de comorbilidade.

A homozigotia para H63D não é uma causa genética suficiente para a sobrecarga de ferro e, quando esta homozigotia é encontrada em associação com a hiperferritinemia, os fatores de comorbilidade estão normalmente presentes e não refletem uma verdadeira sobrecarga de ferro [186]. Num estudo baseado numa população de dadores de sangue, a homozigotia para H63D foi associada a uma saturação de transferrina mais elevada [187].

Tabela 6. Dados de estudos que abordam a penetrância de homozigotos C282Y.

Autores	Ref.	Tipo de estudo	Homozigotos C282Y (mulheres)	Definição da doença penetrante	Indivíduos afetados	Penetrância	Comentários
Burt <i>et al.</i> (1998)	[10]	Transversal	5 (4)	Índice de ferro hepático > 1,9 através de biópsia hepática	3	60%	Não foi realizada nenhuma biópsia hepática em indivíduos não afetados devido aos parâmetros normais de ferro sérico
Distante <i>et al.</i> (1999)	[13]	Transversal	2 (1)	Ferro removido > 5 g ou HII > 1,9 ou grau histológico de ferro > 2+	1	50%	Doente não afetado tinha coloração de Pearl Grau 2 e HII de 1,7
McDonnell <i>et al.</i> (1999)	[127]	Transversal	4 (3)	Ferro removido > 5 g ou HII > 1,9 ou grau histológico de ferro > 2+	3	75%	Um doente não afetado tinha parâmetros de ferro sérico elevados
Olynyk <i>et al.</i> (1999)	[14]	Transversal	16 (9)	HII > 1,9 ou grau histológico de ferro > 2	9	56,3%	Dois doentes adicionais apresentavam ferritina sérica igual a 1200 µg/l e 805 µg/l, respetivamente, mas não foram sujeitos a biópsia hepática. Foi detetada cirrose em 1 doente, fibrose em 3 doentes e artrite em 6 doentes
Distante <i>et al.</i> (2000)	[136]	Transversal e acompanhamento a curto prazo	14 (9)	HII > 1,9 ou grau histológico de ferro > 2 ou insuficiência cardíaca congestiva + hiperferritinemia marcada e persistente e ST > 55%	3	21,4%	Biópsia hepática disponível apenas em 5 doentes; um total de 5 doentes, dos quais 4 não foram sujeitos a biópsia, tinha hiperferritinemia persistente
Bulaj <i>et al.</i> (2000)	[137]	Transversal – indivíduos afetados	184 (48)	Pelo menos uma condição relacionada com a doença (cirrose, fibrose, ALT ou AST elevada, artropatia)	137	74,5%	
		Transversal – familiares	214 (101)		33	15,4%	
		Transversal – não selecionados	107 (41)		7	6,5%	
Barton <i>et al.</i> (1999)	[138]	Transversal – baseado em famílias	25 (H, A)	Cirrose ou diabetes atribuível à sobrecarga de ferro	6–23	24–79%	O fenótipo de HC mal definido estava presente num total de 23 doentes
Beutler <i>et al.</i> (2002)	[21]	Transversal	152 (79)	«Problemas hepáticos» (avaliados em 124)	10	8,1%	Os sinais e sintomas que sugerem um diagnóstico de HC estavam presentes em apenas 1 doente
Waalén <i>et al.</i> (2002)	[139]	Transversal	141 (80)	Apenas foram relatados sintomas e parâmetros de ferro sérico			92 doentes apresentavam concentrações elevadas de ferritina sérica; os sintomas associados à doença eram iguais no grupo de controlo e nos homozigotos C282Y
Deugnier <i>et al.</i> (2002)	[23]	Transversal	54 (44)	Pelo menos um sintoma relacionado com a doença (fadiga, artalgia, diabetes, ALT aumentada)	35	64,8%	21 doentes apresentavam parâmetros de ferro sérico aumentados
Phatak <i>et al.</i> (2002)	[26]	Transversal	12 (8)	Ferro removido > 5 g para os homens e > 3 g para as mulheres	5	42%	Ferritina sérica aumentada em 50% dos doentes
Poullis <i>et al.</i> (2003)	[98]	Transversal	12 (5)	Grau histológico de ferro > 2	7	58%	Presença de ferritina sérica aumentada em 11 dos 12 doentes, mas coincidência de comorbilidades significativas (HCV e ferro em 5 doentes)
Olynyk <i>et al.</i> (2004)	[140]	Longitudinal	10 (6)	Ferro hepático > 25 mmol/g	6	60%	Aumento gradual da ST num período de observação de 10 anos – não foram efetuadas biópsias em 4 doentes

continua na página seguinte

## Normas de Orientação Clínica

Normas de  
Orientação Clínica

Tabela 6 (continuação)

Autores	Ref.	Tipo de estudo	Homozi- gotos C282Y (mulheres)	Definição da doença penetrante	Indi- víduos afeta- dos	Pene- trância	Comentários
Andersen <i>et al.</i> (2004)	[141]	Longitudinal	23 (16)	Pelo menos uma condição relacionada com a doença (cirrose, fibrose, ALT ou AST elevada, artropatia)	3	13,0%	Ferritina sérica aumentada em 16 doentes
Gleeson <i>et al.</i> (2004)	[142]	Estudo de base familiar	71 (25)	Grau histológico de ferro >3+	26	36,6%	Apenas foram incluídos 71 dos 209 doentes homozigotos C282Y que foram submetidos a biópsia hepática
Rossi <i>et al.</i> (2004)	[143]	Transversal	2		0	0%	Ausência de sintomas clínicos
Delatycki <i>et al.</i> (2005)	[128]	Transversal	51 (26)	Sintomas associados à doença	45	88%	45 doentes apresentavam sintomas associados à doença (cansaço, dor abdominal, dor nas articulações)
Powell <i>et al.</i> (2006)	[144]	Transversal – baseado em famílias	401 (201)	Grau histológico de ferro >2	128	32%	Pelo menos uma condição relacionada com a doença (17%)
		Transversal – de base populacional	271 (112)	Grau histológico de ferro >2	135	50%	Pelo menos uma condição relacionada com a doença (27%)
Asberg <i>et al.</i> (2007)	[145]	Transversal	319 (0)	Cirrose	11–16	3,4 – 5%	Penetrância prevista/calculada
Allen <i>et al.</i> (2008)	[146]	Longitudinal	203 (108)	Ferritina sérica >1000 µg/l	40	19,7%	Nas pessoas homozigóticas para a mutação C282Y, foram desenvolvidas doenças relacionadas com a sobrecarga de ferro numa proporção substancial de homens. Contudo, apenas uma pequena proporção de mulheres desenvolveu estas doenças

Tabela 7. Métodos para a genotipagem de HFE.

Método		Deteção simultânea de várias mutações	Necessidade de equipamento especializado	Passível de alto rendimento	Referência(s)	
RFLP	Amplificação de PCR seguida de polimorfismo do comprimento de frag- mentos de restrição	–	–	–	+/- [148–150]	
Sequenciação direta	Amplificação de PCR seguida de sequenciação direta	+	+	–	– [151–154]	
Discriminação alélica por PCR	PCR em tempo real (TaqMan®) com sondas e modificações	–	–	+/-	+/- [155–160]	
Análise da curva de fusão	(Light Cycler®)	+	+	+/-	+/- [161,162]	
DHPLC	HPLC desnaturante	+	+	+/-	+	[163]
SSP	PCR-SSP (sequence specific priming)	–	–	–	+	[164–170]
SPA	Amplificação em fase sólida	–	–	–	+	[171]
SSCP	Análise de polimorfismo conformacional de cadeia simples	+	+	–	+/-	[172,173]
OLA	Ensaio de ligação de oligonucleotídeos	–	–	–	+	[148]
SCAIP	Amplificação de condição única com primer interno	+/-	+/-	–	+	[151]
Visualização avançada	Com base na espectrometria de massa, eletroforese capilar, com base em chipe	N/A	N/A	N/A	+	[174–179]
Ensaio de hibridização reversa	Amplificação de PCR multiplex seguida de hibridização reversa	N/A	N/A	N/A	+	[21,150,180,181]
Métodos de extração novos	Manchas de sangue seco, PCR realizada em sangue total	N/A	N/A	N/A	++	[38,158,182]

Em pedigrees selecionados raros, também foram relatadas mutações privadas (V59M [188], R66C [163], G93R, I105T [154,188], E168Q [181], R224G [163], E277K e V212V [189], e V295A [27]) bem como mutações por frameshift das variantes intrónicas de HFE c.340+4 T>C (também referida como IVS2, T-C +4) [190], c.1008+1 G>A (também referida como IVS5+1G/A) [153] e c.471del [152]. Algumas delas poderão resultar num fenótipo de HC grave quando presentes no estado de homozigoto [153] ou no estado de heterozigoto composto com C282Y [191,192].

Em heterozigotos C282Y com aumentos ligeiros das reservas de ferro, foram relatadas heterozigotias compostas com outras variantes de HFE, incluindo a H63D e a S65C [56,193–195].

#### Reservas de ferro corporal aumentadas

##### Ferritina sérica

O substituto bioquímico mais utilizado para a sobrecarga de ferro é a ferritina sérica. De acordo com estudos de validação onde as reservas de ferro corporal foram avaliadas através de flebotomia, a ferritina sérica constitui um teste altamente sensível para a sobrecarga de ferro na hemocromatose [21]. Assim, as concentrações séricas normais excluem essencialmente a presença de sobrecarga de ferro. No entanto, a ferritina apresenta uma baixa especificidade, dado que os valores elevados desta substância podem resultar de uma série de condições inflamatórias, metabólicas e neoplásicas, tais como a diabetes mellitus, o consumo de álcool e a necrose hepatocelular ou outros tipos de necrose celular.

A concentração de ferro sérico e a saturação de transferrina não refletem quantitativamente as reservas de ferro corporal, pelo que não devem ser utilizadas como marcadores de substituição da sobrecarga

de ferro nos tecidos.

Assim, na prática clínica, a hiperferritinemia poderá ser considerada um indicativo de sobrecarga de ferro em homozigotos C282Y na ausência dos fatores de confusão listados acima.

#### Imagiologia

**Ressonância magnética (RM):** As propriedades paramagnéticas do ferro foram exploradas para detetar e quantificar o ferro através de RM. As técnicas de «gradient recalled echo» (GRE) são sensíveis quando se utiliza um dispositivo de 1,5 Tesla bem calibrado. Há uma excelente correlação inversa entre o sinal da RM e a concentração bioquímica de ferro hepático (CHF) (coeficiente de correlação: -0,74 a -0,98), o que permite detetar excessos de ferro hepático dentro do intervalo de 50–350 µmol/g, com uma sensibilidade de 84–91% e uma especificidade de 80–100%, de acordo com os níveis limite de CHF que variam entre 37 e 60 µmol/g de peso [196–198]. A RM também poderá ajudar a (i) identificar a distribuição heterogênea de ferro no fígado, (ii) diferenciar sobrecargas

de ferro parenquimatosas (sinal do baço normal e sinais hepático, pancreático e cardíaco baixos) de sobrecargas de ferro mesenquimatosas (sinal do baço reduzido) e (iii) detetar lesões neoplásicas pequenas sem ferro.

Contudo, apenas foram estudados alguns doentes com HC resultante do gene HFE [197].

**Suscetómetro SQUID (superconducting quantum interference device – dispositivo supercondutor de interferência quântica):** O suscetómetro SQUID permite medir a quantidade de magnetização derivada do ferro hepático in vivo. Os resultados são quantitativamente equivalentes à determinação bioquímica no tecido obtido através de

## Normas de Orientação Clínica

biópsia. No entanto, o dispositivo não foi especificamente validado em doentes com HFE-HC. Além disso, não se encontra amplamente disponível, o que limita a sua utilização na prática clínica [199–201].

### *Biópsia hepática*

A biópsia hepática costumava ser o gold standard para o diagnóstico de HC antes de a genotipagem do gene HFE se tornar disponível. Agora que este método de diagnóstico se encontra facilmente disponível, a homozigotia para C282Y em doentes com reservas de ferro corporal aumentadas com ou sem sintomas clínicos é suficiente para diagnosticar a HFE-HC.

Quando há hiperferritinemia com cofatores de confusão, poderá ainda ser necessário efetuar uma biópsia hepática para verificar se as reservas de ferro estão ou não aumentadas [98]. A biópsia hepática ainda desempenha um papel na avaliação da fibrose hepática. O valor preditivo negativo de uma ferritina sérica < 1000 µg/l associada a níveis normais de AST na ausência de hepatomegalia, para a presença de cirrose ou fibrose grave foi de 95% [202,203].

Um estudo concluiu que o ácido hialurónico sérico está correlacionado com o grau de fibrose hepática na HC, pelo que, caso tal seja validado, este ácido poderá fornecer uma abordagem alternativa à biópsia hepática para diagnosticar fibrose avançada [204]. A elastografia transitória também pode ser útil para a determinação de cirrose e fibrose avançada [205].

### *Quantidade de ferro removido*

O número total de flebotomias necessárias para atingir baixas concentrações de ferritina sérica poderá ser um marcador retrospectivo útil para as reservas de ferro em excesso na HFE-HC. A suposição de que um litro de sangue contém 0,5 g de ferro permite estimar a quantidade de ferro removida através de flebotomias. Isso está amplamente correlacionado com a concentração de ferro hepático pré-terapêutica. A fiabilidade do cálculo aumenta se se quantificar a quantidade de ferro absorvida durante a terapêutica e se se tiver em consideração os níveis de hemoglobina pré e pós-terapêuticos, especialmente quando o intervalo entre as flebotomias é superior a uma semana [203].

### *Rastreio familiar*

Os irmãos de doentes com HC relacionada com o gene HFE devem efetuar um rastreio, dado que têm uma probabilidade de 25% vir a desenvolver a doença. Tanto a ferritina sérica como a saturação de transferrina devem ser avaliadas. Idealmente, recomenda-se a análise da mutação do gene HFE apenas após um aconselhamento adequado, tendo em consideração os prós e contras dos testes (hipoteca, questões relativas a seguros).

O rastreio através do procedimento acima depende da idade, do estado de saúde e da atitude da família.

Os indivíduos que são homozigotos C282Y, ou que têm HC relacionada com o gene HFE, pedem frequentemente conselhos sobre a avaliação da suscetibilidade dos seus filhos, que muitas vezes têm uma idade inferior à idade de consentimento. Nesta situação, a genotipagem do gene HFE do cônjuge é valiosa [206] para que se possa determinar a probabilidade da suscetibilidade genética e, consequentemente, a necessidade de testar as crianças quando forem mais velhas.

### **Recomendações para o diagnóstico de HFE-HC:**

- Os doentes suspeitos de apresentarem sobrecarga de ferro devem primeiro ser sujeitos à medição da saturação da transferrina e da ferritina sérica em jejum (1 B); os testes genéticos ao HFE apenas devem ser realizados nos doentes que apresentam uma saturação de transferrina aumentada (1 A).
- Os doentes de clínicas especializadas em hepatologia devem ser

rastreados relativamente à saturação da transferrina e à ferritina sérica em jejum (1 C) e sujeitos a testes genéticos realizados ao HFE se a saturação de transferrina estiver aumentada (1 B).

- Os testes genéticos ao HFE para os polimorfismos C282Y e H63D devem ser realizados em todos os doentes que possuem ferritina sérica e saturação de transferrina aumentadas de forma inexplicável (1 B).
- O diagnóstico da hemocromatose associada ao gene HFE não se deve basear apenas na homozigotia de C282Y, mas também em evidências do aumento das reservas de ferro (1 B).
- Os heterozigotos compostos C282Y/H63D e os homozigotos H63D que apresentam um aumento da ferritina sérica (> 200 µg/l em mulheres; > 300 µg/l em homens), um aumento da saturação de transferrina (> 45% nas mulheres; > 50% nos homens) ou um aumento de ferro hepático devem primeiro ser estudados para apurar outras causas de hiperferritinemia (1 C).
- Em doentes homozigotos C282Y com reservas de ferro aumentadas, a biópsia hepática deixa de ser necessária para diagnosticar a hemocromatose. A biópsia hepática poderia ser disponibilizada a doentes homozigotos C282Y com ferritina sérica superior a 1000 µg/l, AST aumentada, hepatomegalia ou idade superior a 40 anos (1 C).
- Os testes genéticos a «outros genes da hemocromatose» (TFR2, SLC40A1, HAMP, HJV) poderiam ser considerados em doentes com reservas de ferro aumentadas, após a exclusão de homozigotia de C282Y, se (i) o excesso de ferro for comprovado por avaliação direta, ou seja, por RM ou biópsia hepática e (ii) se se excluir a presença de outras doenças hepáticas e hematológicas (2 C).
- De acordo com a transmissão autossómica recessiva de HFE-HC, deve submeter-se os irmãos de indivíduos com HFE-HC a testes genéticos. Deve considerar-se a realização de testes genéticos a outros familiares de 1.º grau (1 B). (Foram publicadas estratégias práticas e económicas para o rastreio familiar [206].)

### **Que estratégia deve ser utilizada para diagnosticar a HFE-HC?**

Para delinear uma estratégia de diagnóstico em doentes suspeitos de terem HC, foram selecionados vários cenários clínicos para os doentes que devem ser estudados no âmbito da HFE-HC. A secção seguinte descreverá uma abordagem de diagnóstico prática para doentes suspeitos de apresentarem sobrecarga de ferro.

Ao contrário das secções anteriores, onde foram efetuadas recomendações baseadas na evidência, esta secção baseia-se no parecer dos especialistas que constituem o painel de CPG da EASL (Y.D., J.D., A.E., A.P., R.S., H.Z.).

### *Sintomas e sinais sugestivos*

Nos doentes com sintomas ou sinais sugestivos de HC (doença hepática, condrocalcinose, diabetes tipo 1, artralgia, HCC, cardiomiopatia ou porfíria cutânea tarda inexplicados), devem determinar-se os parâmetros de ferro sérico. Se algum destes sintomas estiver relacionado com a HC ou com sobrecarga de ferro, estes estarão associados a concentrações de ferritina sérica aumentadas. Neste caso, deve efetuar-se o diagnóstico conforme descrito abaixo.

### *Hiperferritinemia*

Em doentes que apresentam concentrações de ferritina sérica aumentadas, é obrigatório procurar causas comuns de hiperferritinemia antes da realização de testes genéticos (Fig. 3). Estima-se que uma das seguintes causas possam ser identificadas em mais de 90% de doentes tratados em regime de ambulatório com hiperferritinemia: consumo crónico de álcool, inflamação (verificar a PCR), ne-

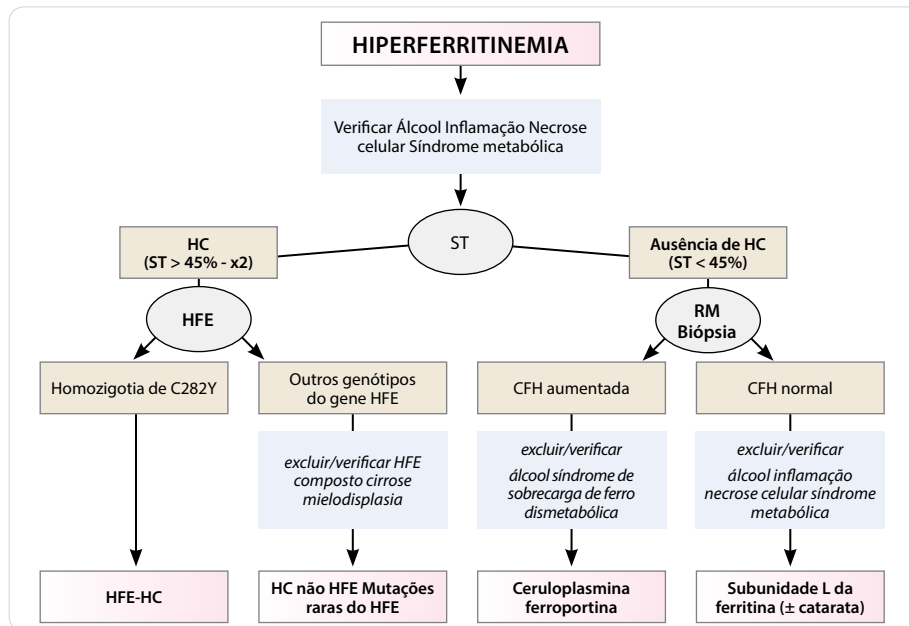


Fig. 3. Algoritmo proposto para o diagnóstico das causas genéticas de hiperferritinemia.

crose celular (verificar a AST, ALT e CK), tumores (VS, tomografia computadorizada) e doença hepática não alcoólica (NAFLD) e/ou síndrome metabólica (verificar a pressão arterial, o IMC, o colesterol, os triglicerídeos e a glicemia sérica). Na ausência destas condições ou em caso de persistência da hiperferritinemia apesar do tratamento de uma outra causa subjacente potencial, deve determinar-se a saturação de transferrina (ST). Após a confirmação do aumento da ST, deve efetuar-se a genotipagem do gene HFE.

Se o doente for um homozigoto C282Y, pode estabelecer-se o diagnóstico de HFE-HC. Para todos os outros genótipos, deve considerar-se a presença de cofatores de confusão, anemia compensada com sobrecarga de ferro ou hemocromatose não associada ao gene HFE. Se se suspeitar de outros fatores, é possível realizar uma análise molecular para as mutações raras de HFE, HJV, HAMP e TFR2, com a incidência genética selecionada de acordo com as características clínicas, laboratoriais e patológicas. Os doentes com heterozigotia composta para C282Y e H63D apresentam, geralmente, uma ligeira sobrecarga de ferro que está associada a fatores de comorbilidade, tais como a obesidade, a DHGNA, o consumo crónico de álcool e a cirrose em fase terminal.

Se a saturação de transferrina for normal ou baixa, a presença ou ausência de sobrecarga de ferro orientará os procedimentos de diagnóstico futuros. Recomenda-se proceder à avaliação das reservas de ferro hepático através de meios diretos (isto é, RM ou biópsia hepática). Se a concentração de ferro hepático estiver aumentada, deve considerar-se a sobrecarga de ferro relacionada com o consumo de álcool ou com anormalidades metabólicas antes da realização de testes genéticos para doenças genéticas de sobrecarga de ferro não associadas à hemocromatose (doença da ferroportina, aceruloplasminemia).

Se a concentração de ferro hepático for normal, devem considerar-se as causas comuns de hiperferritinemia antes da realização de testes genéticos para as mutações no gene da subunidade L da ferritina (para investigar a síndrome hiperferritinemia-atarata).

Quando os doentes têm uma apresentação incerta, devem avaliar-se os respetivos familiares relativamente à evidência de sobrecarga de ferro e/ou calcular a quantidade exata de ferro que será removido através de flebotomia antes se proceder a testes de doenças genéticas raras, através da sequenciação de genes candidatos e da análise de ligação por um laboratório de investigação.

#### Homozigotia de C282Y

Se se descobrir que um indivíduo é homozigoto C282Y, a gestão é orientada pela concentração de ferritina sérica (Fig. 4). Se a concentração de ferritina sérica for normal, recomenda-se o seguimento uma vez por ano. Se a ferritina sérica for elevada, a avaliação inicial deve incluir a verificação da AST sérica, da atividade da ALT e da glicemia em jejum. Devem ser solicitados testes adicionais de acordo com as características clínicas (exames imagiológicos ao fígado, ECG, ecocardiografia, hormonas gonadotróficas). Para determinar o estágio da fibrose hepática, deve considerar-se a realização de uma biópsia hepática nos doentes com ferritina sérica >1000 µg/l, a não ser que os exames imagiológicos determinem a existência óbvia de cirrose.

#### Sobrecarga de ferro nos tecidos documentada (biópsia hepática ou RM)

Nos doentes que apresentam deposição de ferro hepático na biópsia hepática, as considerações de diagnóstico adicionais dependem da distribuição celular e lobular de ferro e da presença ou ausência de condições associadas, incluindo fibrose, esteatose, esteatohepatite, inclusões cristalinas anormais e hepatite crónica (Fig. 5).

Nos doentes com sobrecarga de ferro parenquimatosa pura (isto é, hepatocelular), os dois principais diagnósticos diferenciais são: (i) HC precoce na ausência de cirrose após a exclusão de anemia compensada com sobrecarga de ferro e (ii) cirrose em fase terminal, em que a distribuição de ferro é heterogênea de um nódulo para o seguinte e não há depósitos de ferro nos tecidos fibrosos, nas paredes biliares ou nas paredes vasculares. Em doentes com sobrecarga de ferro mesenquimatosa ou mista, pode sugerir-se o diagnóstico correto de acordo com o tipo de lesões associadas.

#### Como se deve gerir a HFE-HC?

Existem muito poucos dados sobre o limiar do excesso de ferro nos tecidos no qual a lesão dos tecidos é visível. Foi realizado um estudo sobre o grau de peroxidação lipídica em doentes com HC tratados e não tratados, bem como em heterozigotos, que sugeria a existência de alterações quando os níveis de carga de ferro estavam baixos [207]. No entanto, este estudo não foi confirmado. A relação entre a concentração de ferro hepático [208], a ferritina sérica (>1000 µg/l) [202] e as lesões hepáticas não ajuda a definir o momento em que se deve iniciar o tratamento da sobrecarga de ferro. Outro marcador

## Normas de Orientação Clínica

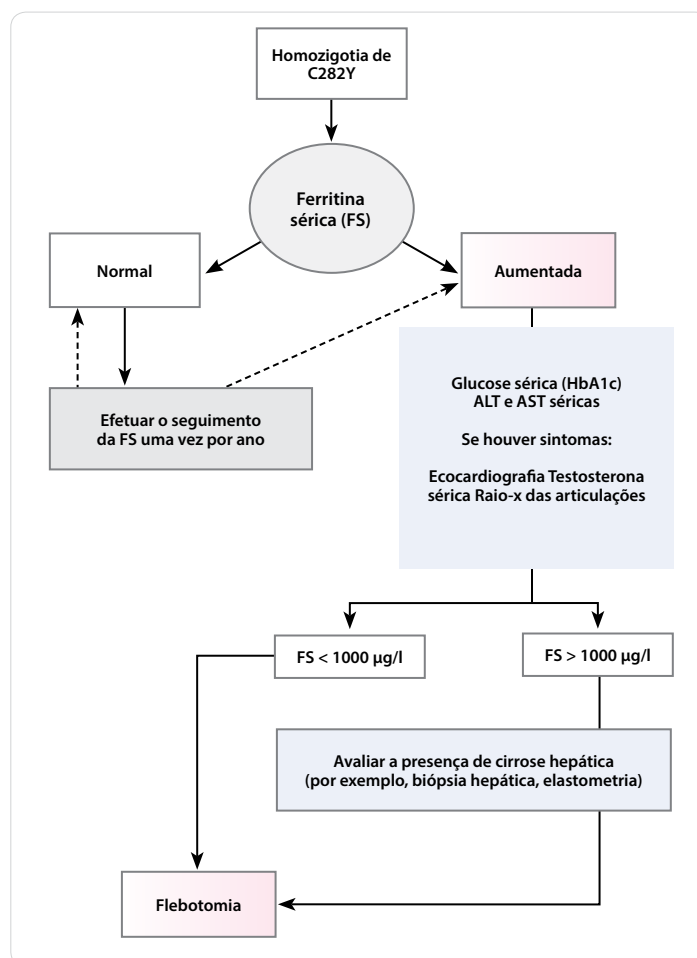


Fig. 4. Algoritmo proposto para a gestão do diagnóstico de doentes com homozigotia de C282Y.

de toxicidade e lesões dos tecidos poderá ser o ferro plasmático não ligado à transferrina (isto é, livre ou lábil) devido ao seu potencial para catalisar a geração de espécies reativas de oxigénio in vivo [209].

#### Como gerir a sobrecarga de ferro na HFE-HC

##### Como se deve tratar a HFE-HC?

Até ao momento, foram utilizadas três abordagens para remover o excesso de ferro. Nenhuma foi submetida a ensaios controlados aleatorizados. A flebotomia é a base do tratamento. Os quelantes de ferro encontram-se disponíveis e podem constituir uma opção para doentes que são intolerantes ou quando a flebotomia é contraindicada. A eritrocitoférese foi relatada no tratamento da HC, mas não é muito utilizada.

Não há estudos que abordam a sobrevida em doentes com HC homozigotos C282Y genotipados. Os benefícios da flebotomia foram demonstrados por uma série de casos de HC diagnosticada clinicamente através da comparação com grupos históricos de doentes não tratados através de flebotomia [210] ou inadequadamente tratados através de flebotomia [211], com base nas medições de depleção de ferro. Neste último estudo, a análise de Kaplan-Meier revelou uma taxa de sobrevida ao fim de 5 anos igual a 93% para os doentes adequadamente tratados através de flebotomia e igual a 48% para os doentes inadequadamente tratados através de flebotomia (taxa de sobrevida ao fim de 10 anos de 78% vs. 32%).

Há estudos sobre as melhorias clínica e histopatológica derivadas da flebotomia: dois destes estudos incluíram doentes genotipados como HFE [212,213]. A fadiga e a pigmentação da pele melhoraram, e as transaminases aumentaram [214]. Milman *et al.* [211] relataram melhorias no estágio da fibrose em biópsias hepáticas repetidas em 15%–50% dos doentes. Noutro estudo, esta situação verificou-se em

todos os casos (exceto quando a cirrose estava presente) [213]. Falize *et al.* [212] relataram melhorias no estágio da fibrose com base na escala METAVIR em 35%–69% dos casos em função do estágio da fibrose inicial. Em doentes cirróticos, também foi relatado o desaparecimento ou a melhoria de varizes esofágicas [215].

Reconhece-se, contudo, que é improvável que várias características clínicas melhorem com a depleção de ferro, em particular, a artralgia [211,214]. É provável que a melhoria das perturbações endócrinas, incluindo a diabetes mellitus, e das anormalidades cardíacas varie em função do grau das lesões nos tecidos/órgãos apresentado no início do tratamento.

Os benefícios associados à depleção de ferro por flebotomia foram, assim, estabelecidos apesar da ausência de ensaios controlados aleatorizados, sendo este tratamento o padrão de cuidados aceite. A flebotomia é bem tolerada pelos doentes [216], e a maioria dos doentes cumpre o tratamento [217]. Não foram relatados efeitos indesejáveis da venaessecção a longo prazo.

Não há estudos que disponibilizem dados que indiquem o momento ideal para o início da venaessecção. As recomendações atuais relativas ao momento em que se deve iniciar o tratamento são empíricas. Concluiu-se que a taxa de sobrevida dos doentes tratados que não apresentam cirrose nem diabetes é equivalente à da população normal, ao passo que os que apresentam estas complicações têm uma taxa de sobrevida significativamente reduzida [211,214]. Estes dados enfatizam o início precoce da remoção de ferro. O limiar de ferritina sérica em que se inicia o tratamento é atualmente considerado acima do intervalo normal. Não existem estudos a partir dos quais se pode fornecer uma base de evidência para o protocolo da venaessecção terapêutica (ou seja, frequência, objetivo).

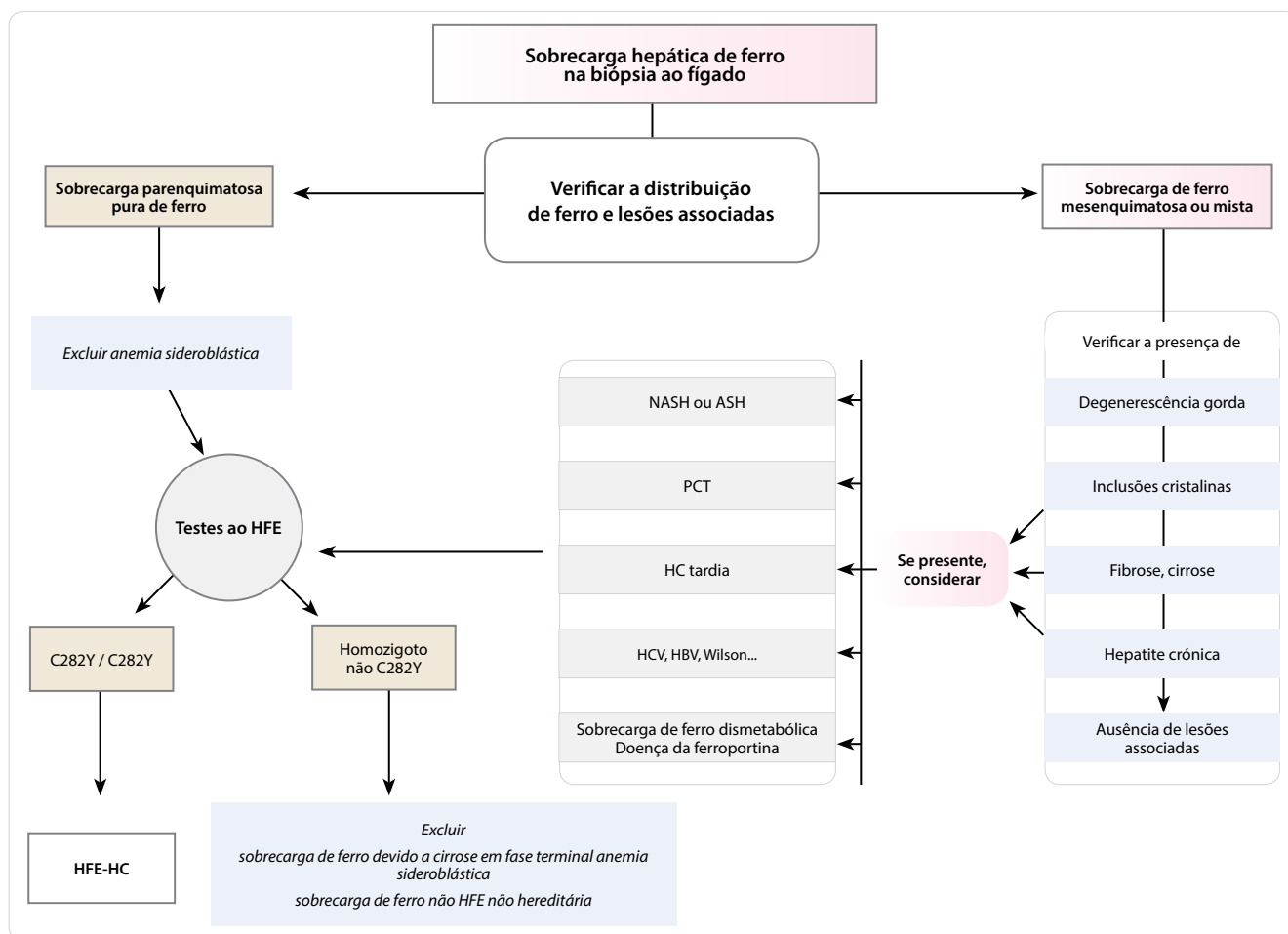


Fig. 5. Algoritmo proposto para a gestão do diagnóstico de sobrecarga de ferro nos tecidos.

#### Como monitorizar a HFE-HC:

Com base na experiência empírica e clínica, a hemoglobina e o hematócrito devem ser monitorizados aquando de cada veneseção. Se se detetar anemia, a flebotomia deve ser adiada até que a anemia seja tratada.

A ferritina sérica deve ser medida e é suficiente para monitorizar a depleção de ferro. A frequência das medições depende da concentração absoluta. Enquanto os níveis de ferritina estiverem altos, as medições devem ser feitas com menos frequência (a cada 3 meses ou mais); no entanto, à medida que a ferritina se aproximar dos valores normais, as medições devem tornar-se mais frequentes.

#### Objetivo da flebotomia terapêutica:

Não existe uma base com evidências contra a qual se possa medir o objetivo da flebotomia terapêutica. As recomendações existentes baseiam-se (i) num argumento teórico que defende que para se conseguir baixar os valores de ferro tecidual para níveis normais é necessário criar uma carência de ferro e (ii) que um objetivo definido é melhor do que uma declaração de “ao normal”, que provavelmente levaria a várias interpretações e práticas. A prática clínica padrão consiste em atingir um alvo de ferritina sérica inferior a 50 µg/l.

#### Tratamento de manutenção

Não existem dados nos quais possamos basear o regime de tratamento ideal e os índices de ferro sérico alvo. Uma vez atingida a depleção de ferro, o objetivo é evitar a reacumulação. A prática padrão defendida consiste em manter a ferritina sérica a 50-100 µg/l. Geralmente, é possível obter estes valores com 3-6 meses de veneseção.

Pode-se propor aos doentes uma abordagem alternativa em que se cessa a veneseção monitorizando-se a ferritina sérica, com a reintrodução de um curto programa de tratamento quando a ferritina sérica atinge o limite superior do intervalo normal [218].

Após a flebotomia terapêutica, alguns doentes podem não apresentar reacumulação de ferro à taxa esperada. Nalguns casos, os doentes estão a tomar inibidores da bomba de protões. Existem relatos que associam os inibidores da bomba de protões a uma redução na absorção de ferro e a uma redução na necessidade de veneseção [219]. Outros doentes poderão estar a tomar anti-inflamatórios não esteroides. No entanto, em doentes mais velhos é necessário estar alerta para condições que podem levar à perda de ferro, como úlceras pépticas, doença do cólon e hematuria, as quais têm de ser corretamente diagnosticadas.

#### Dieta

Não existem estudos que comprovem que as intervenções dietéticas e de privação de ferro na dieta têm um efeito benéfico adicional sobre os resultados em doentes submetidos a veneseção. Embora se tenha discutido as dietas para evitar o excesso de ferro, este painel considera que o mais importante é manter uma dieta variada e saudável. Os multivitamínicos e alimentos fortalecidos com ferro, como os cereais de pequeno-almoço, devem ser evitados. A adesão à flebotomia impede a sobrecarga de ferro.

Existem relatos de que o consumo de chá poderá reduzir o aumento das reservas de ferro em doentes com HC [220], mas esta observação não foi confirmada num estudo subsequente [221]. Também existem relatos de que o consumo de frutas não cítricas foi associado a uma redução na ferritina sérica, no entanto, ainda não foi demonstrado se

## Normas de Orientação Clínica

estes dados refletem um verdadeiro efeito biológico sobre as reservas de ferro [221].

Têm surgido relatos de que a vitamina C seria potencialmente tóxica em doentes com sobrecarga de ferro [222]. Contudo, não existem artigos sobre o efeito da vitamina C na absorção do ferro ou nas reservas de ferro na presença de HFE-HC. Um único relatório de caso, relativo a um doente com HC geneticamente não categorizada, no qual a vitamina C poderia ter tido um efeito negativo sobre a função cardíaca [223], teve como resultado a recomendação de que é prudente limitar a ingestão de suplementos de vitamina C a 500 mg/dia [224].

Tal como em muitas outras doenças hepáticas, o excesso de ingestão de álcool leva a um aumento dos danos hepáticos com HFE-HC [225]. Além disso, estudos experimentais recentes mostram que o álcool inibe a expressão da hepcidina hepática em modelos experimentais [226]. Isto poderia explicar a observação da existência de uma correlação linear entre a ingestão de álcool, os índices de ferro sérico e o aumento da absorção de ferro em alcoólicos [227–229].

### Gravidez

Uma gravidez a termo normal remove cerca de 1 g de ferro da mãe [230]. Não se deve administrar por rotina suplementos de ferro a mulheres grávidas com HC relacionada com HFE. A ferritina sérica deve ser monitorizada. A carência de ferro deve ser tratada de acordo com as normas de orientação normalmente aplicadas à gravidez. Se a ferritina estiver alta, a flebotomia terapêutica deve ser adiada até o final da gravidez, exceto nos casos em que existam problemas cardíacos ou hepáticos, nesses casos será necessário consultar um especialista adequado para discutir os efeitos positivos e negativos do tratamento.

### Como abordar os danos nos tecidos/órgãos

#### Cirrose (EUA, AFP, transplante):

É importante definir se o doente com HFE-HC tem ou não cirrose. A biópsia do fígado é recomendada para doentes afetados diagnosticados recentemente, a fim de se avaliar a arquitetura do fígado quando a ferritina sérica é  $> 1000 \mu\text{g/L}$ . A elastografia transitória é um instrumento não invasivo que pode ser útil para diagnosticar a fibrose avançada e a cirrose hepática [205].

Os doentes com HFE-HC e cirrose têm 100 vezes mais hipóteses de desenvolver HCC do que a população normal [214]. Tal como acontece nos casos de cirrose por outras causas (por exemplo, hepatite C e B), recomenda-se o rastreio para detetar um tumor inicial utilizando-se ecografia e medição da alfa-fetoproteína sérica de seis em seis meses. Apesar de alguns relatos de casos de HCC em doentes com HC não cirróticos, estes são muito raros, e o rastreio da HCC não é considerado necessário neste grupo.

A descompensação hepática com ascite, a peritonite bacteriana espontânea, a encefalopatia, a hemorragia por varizes e a formação de um pequeno tumor inicial podem exigir uma avaliação para transplantação do fígado.

Os primeiros relatórios sobre os resultados da HFE-HC após a transplantação do fígado para HFE-HC [59,231,232] indicam que a sobrevida pode ser inferior à de outros grupos. A sobrevida para doentes transplantados ronda os 64% após um ano e os 34% após 5 anos [231]. Considera-se que a redução na sobrevida comparativamente a outros grupos etiológicos está relacionada com a sobrecarga de ferro; alguns doentes apresentavam depleção de ferro antes do transplante. As causas de morte foram doenças cardíacas, infeções e malignidade [231].

**Diabetes mellitus:** o tratamento com flebotomia pode resultar numa melhoria ao nível do controlo da glucose, mas a dependência de in-

sulina não é eliminada [214]. O tratamento da diabetes mellitus é igual ao administrado a outros doentes com diabetes.

**Artralgia, artrite:** têm de ser avaliadas física e radiologicamente. Infelizmente, os sintomas raramente são aliviados com o tratamento de flebotomia. Os sintomas, tais como a destruição das articulações, muitas vezes agravam-se.

Os agentes anti-inflamatórios são muitas vezes ineficazes, mas podem ser utilizados. A avaliação podológica é importante assim como a utilização de palmilhas nos sapatos para ajudar a controlar as dores nos pés. Poderá ser necessário substituir a articulação (anca e joelho).

**Cardiopatias:** apesar de a insuficiência cardíaca ser uma complicação reconhecida da sobrecarga de ferro grave, é clinicamente invulgar (exceto em doentes com HC juvenil). Foram relatadas alterações eletrocardiográficas num terço dos doentes [214] e um terço destes apresentou melhorias com flebotomia.

No entanto, todos os sintomas cardíacos devem ser investigados por um cardiologista, se necessário, com eletrocardiograma (ECG), ecocardiograma e ECG ambulatorio de 24 h. Não existe um nível de ferritina reconhecido acima do qual a avaliação cardíaca seja recomendada.

**Endocrinopatia:** O hipotireoidismo foi relatado em 10% dos homens com HC [233]. O hipogonadismo com perda de potência é uma complicação reconhecida [214]. Assim, deve-se obter a história clínica dos doentes com estes sintomas e os testes à função da tiroide e aos níveis séricos de testosterona devem ser monitorizados.

**Osteoporose:** os doentes com HC estão em risco de desenvolver osteoporose e devem ser submetidos a um scan de avaliação de absorção com raio X de energia dupla (DEXA) e receber conselhos de rotina adequados ou tratamento para a osteoporose, se diagnosticada [234].

### Recomendações para o tratamento da HFE-HC:

- Os doentes com HFE-HC e evidências de excesso de ferro devem ser tratados com flebotomia (1 C).
- Os homozigotos C282Y sem evidência de sobrecarga de ferro podem ser monitorizados anualmente e o tratamento pode ser iniciado quando a ferritina subir acima do normal (2 C).
- O procedimento de flebotomia deve consistir na remoção de 400–500 ml de sangue (200–250 mg de ferro) semanalmente ou de duas em duas semanas. Recomenda-se uma hidratação adequada antes e após o tratamento e evitar atividade física vigorosa durante 24 horas após a flebotomia (1 C).
- A flebotomia também pode ser realizada em doentes com fibrose avançada ou cirrose (2 C).
- Antes do início da flebotomia, os doentes com HFE-HC devem ser avaliados quanto a complicações, incluindo diabetes mellitus, artropatia, carência endócrina (hipotireoidismo), doença cardíaca, porfiria cutânea tarda e osteoporose (1 C).
- As complicações da HFE-HC (cirrose hepática, diabetes, artropatia, hipogonadismo e PCT) devem ser tratadas independentemente de a HC ser ou não a causa subjacente e de haver alívio sintomático ou melhora durante a flebotomia (1 C).

Para minimizar o risco de mais complicações, os doentes com HFE-HC podem ser vacinados contra as hepatites A e B mesmo enquanto ainda sofrem de sobrecarga de ferro (2 C).

## Associações de doentes, o uso de sangue de flebotomia, políticas de reembolso e isenção de taxas

### Associações de doentes

A Federação Europeia das Associações de Doentes com Hemocromatose (EFAPH) reúne as associações nacionais europeias de doentes. A sua missão é informar os doentes com HC e os seus familiares, sensibilizar o público e melhorar a qualidade dos cuidados aos doentes com HC através do apoio à pesquisa básica e clínica. (<http://www.european-haemochromatosis.eu/index2.html>)

### Testes genéticos

Devem ser postas em prática medidas para evitar a discriminação de doentes com HC. Segundo os regulamentos legais da maioria dos países, os testes genéticos para HFE-HC só devem ser realizados após se obter consentimento informado e os resultados devem ser disponibilizados apenas para o doente e os médicos envolvidos no tratamento da HFE-HC.

### Utilização de sangue

O sangue colhido de doentes com HFE-HC por flebotomia deve ser disponibilizado aos serviços nacionais de transfusão de sangue para o bem público, se não houver contra-indicação médica e o doente der o seu consentimento. Reconhece-se que muitos doentes com HFE-HC terão características clínicas que os excluirão como dadores (testes de função hepática elevada, diabetes e medicamentos). Mas, na ausência destes fatores, parece não haver qualquer razão médica que justifique a não utilização do sangue colhido, podendo no entanto existir razões administrativas e burocráticas. Na Europa, o facto de o sangue ser colhido por razões terapêuticas não deveria ser um impedimento para a sua utilização.

Um levantamento recente da EFAPH mostrou que os regulamentos para a utilização de sangue obtido por veneseção podem variar dentro da Europa e até mesmo dentro de alguns países (Alemanha, Portugal, Reino Unido, Noruega e Itália). Na Irlanda e na França, o sangue de doentes com HFE-HC pode ser utilizado para transfusão em circunstâncias médicas apropriadas. Na França, a doação de sangue de doentes com HC não é proibida, embora não explicitamente permitida. Segundo o levantamento da EFAPH, que abrangeu apenas algumas partes da Europa, a utilização de sangue obtido por veneseção terapêutica de doentes com HC é explicitamente proibido nalguns países (Áustria, Hungria, Islândia, Itália, Holanda e Espanha). O Conselho para as CPG sobre a HFE-HC da EASL defende a utilização do sangue de flebotomia terapêutica (caso não existam contra-indicações médicas) para transfusão.

### Isenção de taxas e políticas de reembolso

A HFE-HC é uma causa significativa de doença hepática, portanto, os testes de fenótipo da HC devem ser oferecidos a todos os indivíduos suspeitos de sofrer de sobrecarga de ferro ou doentes que estejam em risco de desenvolver a doença. Os testes genéticos para a HFE-HC não são pagos na maioria dos países; no entanto, em alguns, como na França, são reembolsados. O Conselho para as CPG sobre a HC da EASL defende o reembolso integral dos testes de fenótipo e, quando indicado, dos testes genéticos para a HFE-HC.

Segundo o levantamento da EFAPH, o reembolso do tratamento também varia muito por toda a Europa e até mesmo dentro dos países, existindo casos em que o reembolso pode depender do local onde o tratamento é realizado. O Conselho para as CPG sobre a HC da EASL defende o reembolso integral do tratamento da HFE-HC, tanto na fase terapêutica como na fase de manutenção.

## Colaboradores

Painel para as Normas de Orientação Clínica: Antonello Pietrangelo, Yves Deugnier, James Dooley, Andreas Erhardt, Heinz Zoller e Rifaat Safadi.

Revisores: Bruce Bacon, John Crowe e Claus Niederau.

## Conflitos de interesse

Heinz Zoller recebeu honorários de palestras da Novartis. Claus Niederau recebeu fundos para pesquisa e honorários de consultoria da Novartis. Todos os outros colaboradores e revisores afirmam que não têm nada a declarar.

## Referências

- [1] Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F, Domingo Jr R, Ellis MC, Fullan A, Hinton LM, Jones NL, Kimmel BE, Kronmal GS, Lauer P, Lee VK, Loeb DB, Mapa FA, McClelland E, Meyer NC, Mintier GA, Moeller N, Moore T, Morikang E, Wolff RK, *et al.* A novel M1X class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399–408.
- [2] Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, Kunz R, Falck-Ytter Y, Alonso-Coello P, Schunemann HJ. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2008;336:924–926.
- [3] Guyatt GH, Oxman AD, Kunz R, Vist GE, Falck-Ytter Y, Schunemann HJ. What is “quality of evidence” and why is it important to clinicians? *BMJ* 2008;336:995–998.
- [4] Guyatt GH, Oxman AD, Kunz R, Jaeschke R, Helfand M, Liberati A, Vist GE, Schunemann HJ. Incorporating considerations of resources use into grading recommendations. *BMJ* 2008;336:1170–1173.
- [5] Guyatt GH, Oxman AD, Kunz R, Falck-Ytter Y, Vist GE, Liberati A, Schunemann HJ. Going from evidence to recommendations. *BMJ* 2008;336: 1049–1051.
- [6] Atkins D, Best D, Briss PA, Eccles M, Falck-Ytter Y, Flottorp S, Guyatt GH, Harbour RT, Haugh MC, Henry D, Hill S, Jaeschke R, Leng G, Liberati A, Magrini N, Mason J, Middleton P, Mrukowicz J, O’Connell D, Oxman AD, Phillips B, Schunemann HJ, Edejer TT, Varonen H, Vist GE, Williams Jr JW, Zaza S. Grading quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2004;328:1490.
- [7] Beckman LE, Saha N, Spitsyn V, Van Landeghem G, Beckman L. Ethnic differences in the HFE codon 282 (Cys/Tyr) polymorphism. *Hum Hered* 1997 Sep–Oct;47(5):263–267.
- [8] Merryweather-Clarke AT, Pointon JJ, Shearman JD, Robson KJ. Global prevalence of putative haemochromatosis mutations. *J Med Genet* 1997;34(4):275–278.
- [9] Datz C, Lalloz MR, Vogel W, Graziadei I, Hackl F, Vautier G, *et al.* Predominance of the HLA-H Cys282Tyr mutation in Austrian patients with genetic haemochromatosis. *J Hepatol* 1997;27(5):773–779.
- [10] Burt MJ, George PM, Upton JD, Collett JA, Frampton CM, Chapman TM, Walsley TA, Chapman BA. The significance of haemochromatosis gene mutations in the general population: implications for screening. *Gut* 1998;43:830–836.
- [11] Jouanolle AM, Fergelot P, Raoul ML, Gandon G, Roussey M, Deugnier Y, *et al.* Prevalence of the C282Y mutation in Brittany: penetrance of genetic hemochromatosis? *Ann Genet* 1998;41(4):195–198.
- [12] Merryweather-Clarke AT, Simonsen H, Shearman JD, Pointon JJ, Norgaard-Pedersen B, Robson KJ. A retrospective anonymous pilot study in screening newborns for HFE mutations in Scandinavian populations. *Hum Mutat* 1999;13(2):154–159.
- [13] Distant S, Berg JP, Lande K, Haug E, Bell H. High prevalence of the hemochromatosis-associated Cys282Tyr HFE gene mutation in a healthy Norwegian population in the city of Oslo, and its phenotypic expression. *Scand J Gastroenterol* 1999;34:529–534.
- [14] Olynyk JK, Cullen DJ, Aquilia S, Rossi E, Summerville L, Powell LW. A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999;341:718–724.
- [15] Marshall DS, Linfert DR, Tsongalis GJ. Prevalence of the C282Y and H63D polymorphisms in a multi-ethnic control population. *Int J Mol Med* 1999;4(4):389–393.
- [16] Beutler E, Felitti V, Gelbart T, Ho N. The effect of HFE genotypes on measurements of iron overload in patients attending a health appraisal clinic. *Ann Intern Med* 2000;133(5):329–337.
- [17] Steinberg KK, Cogswell ME, Chang JC, Caudill SP, McQuillan GM, Bowman BA, *et al.* Prevalence of C282Y and H63D mutations in the hemochromatosis (HFE) gene in the United States. *JAMA* 2001;285(17): 2216–2222.
- [18] Andrikovics H, Kalmar L, Bors A, Fandl B, Petri I, Kalasz L, *et al.* Genotype screening for hereditary hemochromatosis among voluntary blood donors in

# Normas de Orientação Clínica

- Hungary. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27(1):334–341.
- [19] Pozzato G, Zorat F, Nascimben F, Gregorutti M, Comar C, Baracetti S, *et al.* Haemochromatosis gene mutations in a clustered Italian population: evidence of high prevalence in people of Celtic ancestry. *Eur J Hum Genet* 2001;9(6):445–451.
  - [20] Byrnes V, Ryan E, Barrett S, Kenny P, Mayne P, Crowe J. Genetic hemochromatosis, a Celtic disease: is it now time for population screening? *Genet Test* 2001;5(2):127–130.
  - [21] Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G→A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002;359:211–218.
  - [22] Guix P, Picornell A, Parera M, Galmes A, Obrador A, Ramon MM, *et al.* Distribution of HFE C282Y and H63D mutations in the Balearic Islands (NE Spain). *Clin Genet* 2002;61(1):43–48.
  - [23] Deugnier Y, Jouanolle AM, Chaperon J, Moirand R, Pithois C, Meyer JF, Pouchard M, Lafraise B, Brigand A, Caserio-Schoenemann C, Mosser J, Adams P, Le Gall JY, David V. Gender-specific phenotypic expression and screening strategies in C282Y-linked haemochromatosis: a study of 9396 French people. *Br J Haematol* 2002;118:1170–1178.
  - [24] Cimburova M, Putova I, Provaznikova H, Horak J. Hereditary hemochromatosis: detection of C282Y and H63D mutations in HFE gene by means of guthrie cards in population of Czech Republic. *Genet Epidemiol* 2002;23(3):260–263.
  - [25] Van Aken MO, De Craen AJ, Gussekloo J, Moghaddam PH, Vandenbroucke JP, Heijmans BT, *et al.* No increase in mortality and morbidity among carriers of the C282Y mutation of the hereditary haemochromatosis gene in the oldest old: the Leiden 85-plus study. *Eur J Clin Invest* 2002 Oct;32(10):750–754.
  - [26] Phatak PD, Ryan DH, Cappuccio J, Oakes D, Braggins C, Provenzano K, *et al.* Prevalence and penetrance of HFE mutations in 4865 unselected primary care patients. *Blood Cells Mol Dis* 2002;29(1):41–47.
  - [27] Jones DC, Young NT, Pigott C, Fuggle SV, Barnardo MC, Marshall SE, Bunce M. Comprehensive hereditary hemochromatosis genotyping. *Tissue Antigens* 2002;60:481–488.
  - [28] Candore G, Mantovani V, Balistreri CR, Lio D, Colonna-Romano G, Cerreta V, *et al.* Frequency of the HFE gene mutations in five Italian populations. *Blood Cells Mol Dis* 2002;29(3):267–273.
  - [29] Salvioni A, Mariani R, Oberkanins C, Moritz A, Mauri V, Pelucchi S, *et al.* Prevalence of C282Y and E168X HFE mutations in an Italian population of Northern European ancestry. *Haematologica* 2003;88(3):250–255.
  - [30] Papazoglou D, Exiara T, Speletas M, Panagopoulos I, Maltezos E. Prevalence of hemochromatosis gene (HFE) mutations in Greece. *Acta Haematol* 2003;109(3):137–140.
  - [31] Sanchez M, Villa M, Ingelmo M, Sanz C, Bruguera M, Ascaso C, *et al.* Population screening for hemochromatosis: a study in 5370 Spanish blood donors. *J Hepatol* 2003;38(6):745–750.
  - [32] Mariani R, Salvioni A, Corengia C, Erba N, Lanzafame C, De Micheli V, *et al.* Prevalence of HFE mutations in upper Northern Italy: study of 1132 unrelated blood donors. *Dig Liver Dis* 2003 Jul;35(7):479–481.
  - [33] Altes A, Ruiz A, Barcelo MJ, Remacha AF, Puig T, Maya AJ, *et al.* Prevalence of the C282Y, H63D, and S65C mutations of the HFE gene in 1,146 newborns from a region of Northern Spain. *Genet Test* 2004;8(4):407–410.
  - [34] Adams PC, Reboussin DM, Barton JC, McLaren CE, Eckfeldt JH, McLaren GD, Dawkins FW, Acton RT, Harris EL, Gordeuk VR, Leiendecker-Foster C, Speechley M, Snively BM, Holup JL, Thomson E, Sholinsky P. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population. *N Engl J Med* 2005;352:1769–1778.
  - [35] Barry E, Derhammer T, Elsea SH. Prevalence of three hereditary hemochromatosis mutant alleles in the Michigan Caucasian population. *Community Genet* 2005;8(3):173–179.
  - [36] Meier P, Schuff-Werner P, Steiner M. Hemochromatosis gene HFE Cys282Tyr mutation analysis in a cohort of Northeast German hospitalized patients supports assumption of a North to South allele frequency gradient throughout Germany. *Clin Lab* 2005;51(9-10):539–543.
  - [37] Matas M, Guix P, Castro JA, Parera M, Ramon MM, Obrador A, *et al.* Prevalence of HFE C282Y and H63D in Jewish populations and clinical implications of H63D homozygosity. *Clin Genet* 2006;69(2):155–162.
  - [38] Hoppe C, Watson RM, Long CM, Lorey F, Robles L, Klitz W, *et al.* Prevalence of HFE mutations in California newborns. *Pediatr Hematol Oncology* 2006;23(6):507–516.
  - [39] Aranda N, Viteri FE, Fernandez-Ballart J, Murphy M, Arijia V. Frequency of the hemochromatosis gene (HFE) 282C → Y, 63H → D, and 65S → C mutations in a general Mediterranean population from Tarragona, Spain. *Ann Hematol* 2007;86(1):17–21.
  - [40] Terzic R, Sehic A, Teran N, Terzic I, Peterlin B. Frequency of HFE gene mutations C282Y and H63D in Bosnia and Herzegovina. *Coll Antropol* 2006;30(3):555–557.
  - [41] Floreani A, Rosa Rizzotto E, Basso D, Navaglia F, Zaninotto M, Petridis I, *et al.* An open population screening study for HFE gene major mutations proves the low prevalence of C282Y mutation in Central Italy. *Aliment Pharmacol Ther* 2007 Aug 15;26(4):577–586.
  - [42] Raszeja-Wyszomirska J, Kurzawski G, Suchy J, Zawada I, Lubinski J, Milkiewicz P. Frequency of mutations related to hereditary haemochromatosis in northwestern Poland. *J Appl Genet* 2008;49(1):105–107.
  - [43] Jazwinska EC, Cullen LM, Busfield F, Pyper WR, Webb SI, Powell LW, *et al.* Haemochromatosis and HLA-H. *Nat Genet* 1996 Nov;14(3):249–251.
  - [44] Jouanolle AM, Gandon G, Jezequel P, Blayau M, Campion ML, Yaouanq J, *et al.* Haemochromatosis and HLA-H. *Nat Genet* 1996 Nov;14(3):251–252.
  - [45] Beutler E, Gelbart T, West C, Lee P, Adams M, Blackstone R, *et al.* Mutation analysis in hereditary hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 1996;22(2): 187–194; discussion 194a–194b.
  - [46] Borot N, Roth M, Malfroy L, Demangel C, Vinel JP, Pascal JP, *et al.* Mutations in the MITX class I-like candidate gene for hemochromatosis in French patients. *Immunogenetics* 1997;45(5):320–324.
  - [47] Carella M, D'Ambrosio L, Totaro A, Grifa A, Valentino MA, Piperno A, *et al.* Mutation analysis of the HLA-H gene in Italian hemochromatosis patients. *Am J Hum Genet* 1997 Apr;60(4):828–832.
  - [48] Willis G, Jennings BA, Goodman E, Fellows IW, Wimperis JZ. A high prevalence of HLA-H 845A mutations in hemochromatosis patients and the normal population in eastern England. *Blood Cells Mol Dis* 1997;23(2):288–291.
  - [49] The UK Haemochromatosis Consortium. A simple genetic test identifies 90% of UK patients with haemochromatosis. *Gut* 1997 Dec;41(6):841–844.
  - [50] Press RD, Flora K, Gross C, Rabkin JM, Corless CL. Hepatic iron overload: direct HFE (HLA-H) mutation analysis vs quantitative iron assays for the diagnosis of hereditary hemochromatosis. *Am J Clin Pathol* 1998;109(5): 577–584.
  - [51] Cardoso EM, Stal P, Hagen K, Cabeda JM, Esin S, de Sousa M, *et al.* HFE mutations in patients with hereditary haemochromatosis in Sweden. *J Intern Med* 1998 Mar;243(3):203–208.
  - [52] Sanchez M, Bruguera M, Bosch J, Rodes J, Ballesta F, Oliva R. Prevalence of the Cys282Tyr and His63Asp HFE gene mutations in Spanish patients with hereditary hemochromatosis and in controls. *J Hepatol* 1998;29(5):725–728.
  - [53] Ryan E, O'Keane C, Crowe J. Hemochromatosis in Ireland and HFE. *Blood Cells Mol Dis* 1998 Dec;24(4):428–432.
  - [54] Nielsen P, Carpinteiro S, Fischer R, Cabeda JM, Porto G, Gabbe EE. Prevalence of the C282Y and H63D mutations in the HFE gene in patients with hereditary haemochromatosis and in control subjects from Northern Germany. *Br J Haematol* 1998 Dec;103(3):842–845.
  - [55] Murphy S, Curran MD, McDougall N, Callender ME, O'Brien CJ, Middleton D. High incidence of the Cys 282 Tyr mutation in the HFE gene in the Irish population – implications for haemochromatosis. *Tissue antigens* 1998;52(5):484–488.
  - [56] Mura C, Raguene O, Ferec C. HFE mutations analysis in 711 hemochromatosis probands: evidence for S65C implication in mild form of hemochromatosis. *Blood* 1999;93:2502–2505.
  - [57] Brissot P, Moirand R, Jouanolle AM, Guyader D, Le Gall JY, Deugnier Y, *et al.* A genotypic study of 217 unrelated probands diagnosed as "genetic hemochromatosis" on "classical" phenotypic criteria. *J Hepatol* 1999 Apr;30(4):588–593.
  - [58] 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(12):953–962.
  - [59] Brandhagen DJ, Alvarez W, Therneau TM, Kruckeberg KE, Thibodeau SN, Ludwig J, Porayko MK. Iron overload in cirrhosis-HFE genotypes and outcome after liver transplantation. *Hepatology* 2000;31:456–460.
  - [60] Rivard SR, Mura C, Simard H, Simard R, Grimard D, Le Gac G, *et al.* Mutation analysis in the HFE gene in patients with hereditary haemochromatosis in Saguenay-Lac-Saint-Jean (Quebec, Canada). *Br J Haematol* 2000 Mar;108(4): 854–858.
  - [61] Papanikolaou G, Politou M, Terpos E, Fourlemadis S, Sakellaropoulos N, Loukopoulou D. Hereditary hemochromatosis: HFE mutation analysis in Greeks reveals genetic heterogeneity. *Blood Cells Mol Dis* 2000;26(2):163–168.
  - [62] Guix P, Picornell A, Parera M, Tomas C, Muncunill J, Castro JA, *et al.* Prevalence of the C282Y mutation for haemochromatosis on the Island of Majorca. *Clin Genet* 2000;58(2):123–128.
  - [63] Brandhagen DJ, Fairbanks VF, Baldus WP, Smith CI, Kruckeberg KE, Schaid DJ, *et al.* Prevalence and clinical significance of HFE gene mutations in patients with iron overload. *Am J Gastroenterol* 2000;95(10):2910–2914.
  - [64] Sham RL, Raubertas RF, Braggins C, Cappuccio J, Gallagher M, Phatak PD. Asymptomatic hemochromatosis subjects: genotypic and phenotypic profiles. *Blood* 2000;96(12):3707–3711.
  - [65] Van Vlierberghe H, Messiaen L, Hautekeete M, De Paepe A, Elewaut A. Prevalence of the Cys282Tyr and His63Asp mutation in Flemish patients with hereditary hemochromatosis. *Acta Gastro-enterol Belg* 2000 Jul–Sep;63(3):250–253.
  - [66] Bell H, Berg JP, Undlien DE, Distante S, Raknerud N, Heier HE, Try K, Thomasen Y, Haug E, Raha-Chowdhury R, Thorsby E. The clinical expression of hemochromatosis in Oslo, Norway. Excessive oral iron intake may lead to secondary hemochromatosis even in HFE C282Y mutation negative subjects. *Scand J Gas-*

- troenterol 2000;35:1301–1307.
- [67] Hellerbrand C, Bosserhoff AK, Seegers S, Lingner G, Wrede C, Lock G, *et al.* Mutation analysis of the HFE gene in German hemochromatosis patients and controls using automated SSCP-based capillary electrophoresis and a new PCR-ELISA technique. *Scand J Gastroenterol* 2001;36(11):1211–1216.
  - [68] de Juan D, Reta A, Castiella A, Pozueta J, Prada A, Cuadrado E. HFE gene mutations analysis in Basque hereditary haemochromatosis patients and controls. *Eur J Hum Genet* 2001 Dec;9(12):961–964.
  - [69] De Marco F, Liguori R, Giardina MG, D'Armiendo M, Angelucci E, Lucariello A, *et al.* High prevalence of non-HFE gene-associated haemochromatosis in patients from southern Italy. *Clin Chem Lab Med* 2004 Jan;42(1):17–24.
  - [70] 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(2):99–102.
  - [71] Cukjati M, Vapotic T, Ruprecht R, Curin-Serbec V. Prevalence of H63D, S65C and C282Y hereditary hemochromatosis gene mutations in Slovenian population by an improved high-throughput genotyping assay. *BMC Med Genet* 2007;69.
  - [72] Walsh A, Dixon JL, Ramm GA, Hewett DG, Lincoln DJ, Anderson GJ, Subramaniam VN, Dodemaide J, Cavanaugh JA, Bassett ML, Powell LW. The clinical relevance of compound heterozygosity for the C282Y and H63D substitutions in hemochromatosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1403–1410.
  - [73] Rossi E, Olynyk JK, Cullen DJ, Papadopoulos G, Bulsara M, Summerville L, Powell LW. Compound heterozygous hemochromatosis genotype predicts increased iron and erythrocyte indices in women. *Clin Chem* 2000;46:162–166.
  - [74] Lim EM, Rossi E, De-Boer WB, Reed WD, Jeffrey GP. Hepatic iron loading in patients with compound heterozygous HFE mutations. *Liver Int* 2004;24: 631–636.
  - [75] Cadet E, Capron D, Perez AS, Crepin SN, Arlot S, Ducroix JP, Dautreux M, Fardellone P, Leflon P, Merryweather-Clarke AT, Livesey KJ, Pointon JJ, Rose P, Harcourt J, Emery J, Sueur JM, Feyt R, Robson KJ, Rochette J. A targeted approach significantly increases the identification rate of patients with undiagnosed haemochromatosis. *J Intern Med* 2003;253:217–224.
  - [76] Swinkels DW, Aalbers N, Elving LD, Bleijenberg G, Swanink CM, van der Meer JW. Primary haemochromatosis: a missed cause of chronic fatigue 527. syndrome? *Neth J Med* 2002;60:429–433.
  - [77] Vital Durand D, Francois S, Nove-Josserand R, Durupt S, Durieu I, Morel Y, Rousset H. [Haemochromatosis screening in 120 patients complaining with persistent fatigue]. *Rev Med Interne* 2004;25:623–628.
  - [78] Willis G, Scott DG, Jennings BA, Smith K, Bukhari M, Wimperis JZ. HFE mutations in an inflammatory arthritis population. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41:176–179.
  - [79] Li J, Zhu Y, Singal DP. HFE gene mutations in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000;27:2074–2077.
  - [80] Rovetta G, Grignolo MC, Buffrini L, Monteforte P. Prevalence of C282Y mutation in patients with rheumatoid arthritis and spondylarthritis. *Int J tissue react* 2002;24:105–109.
  - [81] Timms AE, Sathananthan R, Bradbury L, Athanasou NA, Wordsworth BP, Brown MA. Genetic testing for haemochromatosis in patients with chondrocalcinosis. *Ann Rheum Dis* 2002;61:745–747.
  - [82] Carroll GJ. Primary osteoarthritis in the ankle joint is associated with finger metacarpophalangeal osteoarthritis and the H63D mutation in the HFE gene: evidence for a hemochromatosis-like polyarticular osteoarthritis phenotype. *J Clin Rheumatol* 2006;12:109–113.
  - [83] Cauza E, Hanusch-Enserer U, Bischof M, Spak M, Kostner K, Tammaa A, Dunky A, Ferenci P. Increased C282Y heterozygosity in gestational diabetes. *Fetal Diagn Ther* 2005;20:349–354.
  - [84] Acton RT, Barton JC, Passmore LV, Adams PC, Speechley MR, Dawkins FW, Sholinsky P, Reboussin DM, McLaren GD, Harris EL, Bent TC, Vogt TM, Castro O. Relationships of serum ferritin, transferrin saturation, and HFE mutations and self-reported diabetes in the Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) study. *Diabetes Care* 2006;29:2084–2089.
  - [85] Hahn JU, Steiner M, Bochnig S, Schmidt H, Schuff-Werner P, Kerner W. Evaluation of a diagnostic algorithm for hereditary hemochromatosis in 3,500 patients with diabetes. *Diabetes Care* 2006;29:464–466.
  - [86] Frayling T, Ellard S, Grove J, Walker M, Hattersley AT. C282Y mutation in HFE (haemochromatosis) gene and type 2 diabetes. *Lancet* 1998;351:1933–1934.
  - [87] Davis TM, Beilby J, Davis WA, Olynyk JK, Jeffrey GP, Rossi E, Boyder C, Bruce DG. Prevalence, characteristics and prognostic significance of HFE gene mutations in type 2 diabetes: The Fremantle Diabetes Study. *Diabetes Care* 2008;31:1795–1801.
  - [88] Habeos IG, Psyrriannis A, Kyriazopoulou V, Psilopanagiotou A, Papavasiliou AG, Vagenakis AG. The role of Hemochromatosis C282Y and H63D mutations in the prevalence of type 2 diabetes mellitus in Greece. *Hormones (Athens)* 2003;2:55–60.
  - [89] Qi L, Meigs J, Manson JE, Ma J, Hunter D, Rifai N, Hu FB. HFE genetic variability, body iron stores, and the risk of type 2 diabetes in U.S. women. *Diabetes* 2005;54:3567–3572.
  - [90] Halsall DJ, McFarlane I, Luan J, Cox TM, Wareham NJ. Typical type 2 diabetes mellitus and HFE gene mutations: a population-based case-control study. *Hum Mol Genet* 2003;12:1361–1365.
  - [91] Fernandez-Real JM, Vendrell J, Baiget M, Gimferrer E, Ricart W. C282Y and H63D mutations of the hemochromatosis candidate gene in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:525–526.
  - [92] Braun J, Donner H, Plock K, Rau H, Usadel KH, Badenhop K. Hereditary haemochromatosis mutations (HFE) in patients with Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 1998;41:983–984.
  - [93] Malecki MT, Klupa T, Walus M, Czogala W, Greenlaw P, Sieradzki J. A search for association between hereditary hemochromatosis HFE gene mutations and type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Med Sci Mon Int Med J Exp Clin Res* 2003;9:BR91–95.
  - [94] Sampson MJ, Williams T, Heyburn PJ, Greenwood RH, Temple RC, Wimperis JZ, Jennings BA, Willis GA. Prevalence of HFE (hemochromatosis gene) mutations in unselected male patients with type 2 diabetes. *J Lab Clin Med* 2000;135:170–173.
  - [95] Njajou OT, Alizadeh BZ, Vaessen N, Vergeer J, Houwing-Duistermaat J, Hofman A, Pols HA, Van Duijn CM. The role of hemochromatosis C282Y and H63D gene mutations in type 2 diabetes: findings from the Rotterdam Study and meta-analysis. *Diabetes Care* 2002;25:2112–2113.
  - [96] Peterlin B, Globocnik Petrovic M, Makuc J, Hawlina M, Petrovic D. A hemochromatosis-causing mutation C282Y is a risk factor for proliferative diabetic retinopathy in Caucasians with type 2 diabetes. *J Hum Genet* 2003;48:646–649.
  - [97] Ellervik C, Mandrup-Poulsen T, Nordestgaard BG, Larsen LE, Appleyard M, Frandsen M, Petersen P, Schlichting P, Saermark T, Tybjaerg-Hansen A, Birgens H. Prevalence of hereditary haemochromatosis in late-onset type 1 diabetes mellitus: a retrospective study. *Lancet* 2001;358:1405–1409.
  - [98] Poullis A, Moodie SJ, Ang L, Finlayson CJ, Levin GE, Maxwell JD. Routine transferrin saturation measurement in liver clinic patients increases detection of hereditary haemochromatosis. *Ann Clin Biochem* 2003;40:521–527.
  - [99] Poullis A, Moodie SJ, Maxwell JD. Clinical haemochromatosis in HFE mutation carriers. *Lancet* 2002;360:411–412.
  - [100] Nichols L, Dickson G, Phan PG, Kant JA. Iron binding saturation and genotypic testing for hereditary hemochromatosis in patients with liver disease. *Am J Clin Pathol* 2006;125:236–240.
  - [101] Willis G, Bardsley V, Fellows IW, Lonsdale R, Wimperis JZ, Jennings BA. Hepatocellular carcinoma and the penetrance of HFE C282Y mutations: a cross sectional study. *BMC Gastroenterol* 2005;5:15–17.
  - [102] Cauza E, Peck-Radosavljevic M, Ulrich-Pur H, Datz C, Gschwanter M, Schöninger-Heckle M, Hackl F, Polli C, Rasoul-Rockenschau S, Müller C, Wrba F, Gangl A, Ferenci P. Mutations of the HFE gene in patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2003;98:442–447.
  - [103] Hellerbrand C, Poppl A, Hartmann A, Scholmerich J, Lock G. HFE C282Y heterozygosity in hepatocellular carcinoma: evidence for an increased prevalence. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2003;1:279–284.
  - [104] Boige V, Castera L, de Roux N, Ganne-Carrie N, Ducot B, Pelletier G, Beaugrand M, Buffet C. Lack of association between HFE gene mutations and hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. *Gut* 2003;52:1178–1181.
  - [105] Lauret E, Rodriguez M, Gonzalez S, Linares A, Lopez-Vazquez A, Martinez-Borra J, Rodrigo L, Lopez-Larrea C. HFE gene mutations in alcoholic and virus-related cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1016–1021.
  - [106] Pirisi M, Toniutto P, Uzzau A, Fabris C, Avellini C, Scott C, Apollonio L, Beltrami CA, Bresadola F. Carriage of HFE mutations and outcome of surgical resection for hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *Cancer* 2000;89:297–302.
  - [107] Fargion S, Stazi MA, Fracanzani AL, Mattioli M, Sampietro M, Tavazzi D, Bertelli C, Patriarca V, Mariani C, Fiorelli G. Mutations in the HFE gene and their interaction with exogenous risk factors in hepatocellular carcinoma. *Blood Cells Mol Dis* 2001;27:505–511.
  - [108] Bonkovsky HL, Poh Fitzpatrick M, Pimstone N, Obando J, Di Bisceglie A, Tattler C, Tortorelli K, LeClair P, Mercurio MG, Lambrecht RW. Porphyria cutanea tarda, hepatitis C, and HFE gene mutations in North America. *Hepatology (Baltimore, Md)* 1998;27:1661–1669.
  - [109] Chiaverini C, Halimi G, Ouzan D, Halfon P, Ortonne JP, Lacour JP. Porphyria cutanea tarda, C282Y, H63D and S65C HFE gene mutations and hepatitis C infection: a study from southern France. *Dermatology (Basel, Switzerland)* 2003;206:212–216.
  - [110] Cribier B, Chiaverini C, Dali Youcef N, Schmitt M, Grima M, Hirth C, Lacour JP, Chosidow O. Porphyria cutanea tarda, hepatitis C, uroporphyrinogen decarboxylase and mutations of HFE gene. A case-control study. *Dermatology (Basel, Switzerland)* 2009;218:15–21.
  - [111] Egger NG, Goeger DE, Payne DA, Miskovsky EP, Weinman SA, Anderson KE. Porphyria cutanea tarda: multiplicity of risk factors including HFE mutations, hepatitis C, and inherited uroporphyrinogen decarboxylase deficiency. *Dig Dis Sci* 2002;47:419–426.

# Normas de Orientação Clínica

- [112] Frank J, Poblete Gutierrez P, Weiskirchen R, Gressner O, Merk HF, Lammert F. Hemochromatosis gene sequence deviations in German patients with porphyria cutanea tarda. *Physiol Res* 2006;55:S75–83.
- [113] Gonzalez Hevilla M, de Salamanca RE, Morales P, Martinez Laso J, Fontanellas A, Castro MJ, Rojo R, Moscoso J, Zamora J, Serrano Vela JI, Arnaiz Villena A. Human leukocyte antigen haplotypes and HFE mutations in Spanish hereditary hemochromatosis and sporadic porphyria cutanea tarda. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:456–462.
- [114] Hift RJ, Corrigan AV, Hancock V, Kannemeyer J, Kirsch RE, Meissner PN. Porphyria cutanea tarda: the etiological importance of mutations in the HFE gene and viral infection is population-dependent. *Cellular and molecular biology* Noisy le Grand, France 2002;48:853–859.
- [115] Kratka K, Dostalíkova Cimburova M, Michalíkova H, Stránský J, Vranová J, Horák J. High prevalence of HFE gene mutations in patients with porphyria cutanea tarda in the Czech Republic. *Br J Dermatol* 2008;159:585–590.
- [116] Lamoril J, Andant C, Gouya L, Malonova E, Grandchamp B, Martasek P, Deybac JC, Puy H. Hemochromatosis (HFE) and transferrin receptor-1 (TFR1) genes in sporadic porphyria cutanea tarda (sPCT). *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2002;48:33–41.
- [117] Martinelli AL, Zago MA, Roselino AM, Filho AB, Villanova MG, Secaf M, Tavella MH, Ramalho LN, Zucoloto S, Franco RE. Porphyria cutanea tarda in Brazilian patients: association with hemochromatosis C282Y mutation and hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 2000;95:3516–3521.
- [118] Mehrany K, Drage LA, Brandhagen DJ, Pittelkow MR. Association of porphyria cutanea tarda with hereditary hemochromatosis. *J Am Acad Dermatol* 2004;51:205–211.
- [119] Nagy Z, Koszo F, Par A, Emri G, Horkay I, Horányi M, Karádi O, Rumi Jr G, Morvay M, Varga V, Dobozó A, Mozsik G. Hemochromatosis (HFE) gene mutations and hepatitis C virus infection as risk factors for porphyria cutanea tarda in Hungarian patients. *Liver Int* 2004;24:16–20.
- [120] Roberts AG, Whatley SD, Morgan RR, Worwood M, Elder GH. Increased frequency of the haemochromatosis Cys282Tyr mutation in sporadic porphyria cutanea tarda. *Lancet* 1997;349:321–323.
- [121] Stolzel U, Kostler E, Schuppan D, Richter M, Wollina U, Doss MO, Wittekind C, Tannapfel A. Hemochromatosis (HFE) gene mutations and response to chloroquine in porphyria cutanea tarda. *Arch dermatol* 2003;139:309–313.
- [122] Stuart KA, Busfield F, Jazwinska EC, Gibson P, Butterworth LA, Cooksley WG, Powell LW, Crawford DH. The C282Y mutation in the haemochromatosis gene (HFE) and hepatitis C virus infection are independent cofactors for porphyria cutanea tarda in Australian patients. *J Hepatol* 1998;28:404–409.
- [123] Tannapfel A, Stolzel U, Kostler E, Melz S, Richter M, Keim V, Schuppan D, Wittekind C. C282Y and H63D mutation of the hemochromatosis gene in German porphyria cutanea tarda patients. *Virchows Arch* 2001;439:1–5.
- [124] Toll A, Celis R, Ozalla MD, Bruguera M, Herrero C, Ercilla MG. The prevalence of HFE C282Y gene mutation is increased in Spanish patients with porphyria cutanea tarda without hepatitis C virus infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006;20:1201–1206.
- [125] Sampietro M, Piperno A, Lupica L, Arosio C, Vergani A, Corbetta N, Malosio I, Mattioli M, Fracanzani AL, Cappellini MD, Fiorelli G, Fargion S. High prevalence of the His63Asp HFE mutation in Italian patients with porphyria cutanea tarda. *Hepatology* Baltimore, Md 1998;27:181–184.
- [126] Ellervik C, Birgens H, Tybjaerg Hansen A, Nordestgaard BG. Hemochromatosis genotypes and risk of 31 disease endpoints: meta-analyses including 66,000 cases and 226,000 controls. *Hepatology* (Baltimore, Md) 2007;46:1071–1080.
- [127] McDonnell SM, Hover A, Gloe D, Ou CY, Cogswell ME, Grummer-Strawn L. Population-based screening for hemochromatosis using phenotypic and DNA testing among employees of health maintenance organizations in Springfield, Missouri. *Am J Med* 1999;107(1):30–37.
- [128] Delatycki MB, Allen KJ, Nisselle AE, Collins V, Metcalfe S, du Sart D, *et al.* Use of community genetic screening to prevent HFE-associated hereditary hemochromatosis. *Lancet* 2005 Jul 23–29;366(9482):314–316.
- [129] Adams PC, Kertesz AE, McLaren CE, Barr R, Bamford A, Chakrabarti S. Population screening for hemochromatosis: a comparison of unbound iron-binding capacity, transferrin saturation, and C282Y genotyping in 5,211 voluntary blood donors. *Hepatology* 2000;31:1160–1164.
- [130] Barton JC, Acton RT, Lovato L, Speechley MR, McLaren CE, Harris EL, Reboussin DM, Adams PC, Dawkins FW, Gordeuk VR, Walker AP. Initial screening transferrin saturation values, serum ferritin concentrations, and HFE genotypes in Native Americans and whites in the Hemochromatosis and Iron Overload Screening Study. *Clin Genet* 2006;69:48–57.
- [131] Asberg A, Hveem K, Thorstensen K, Ellekjer E, Kannelonning K, Fjosne U, Halvorsen TB, Smethurst HB, Sagen E, Bjerve KS. Screening for hemochromatosis: high prevalence and low morbidity in an unselected population of 65,238 persons. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:1108–1115.
- [132] Gordeuk VR, Reboussin DM, McLaren CE, Barton JC, Acton RT, McLaren GD, *et al.* Serum ferritin concentrations and body iron stores in a multicenter, multiethnic primary-care population. *Am J Hematol* 2008;83(8):618–626.
- [133] Waalen J, Felitti VJ, Gelbart T, Beutler E. Screening for hemochromatosis by measuring ferritin levels: a more effective approach. *Blood* 2008;111:3373–3376.
- [134] Bax L, Yu LM, Ikeda N, Tsuruta H, Moons KG. Development and validation of MIX: comprehensive free software for meta-analysis of causal research data. *BMC Med Res Methodol* 2006;6:50.
- [135] Bax L, Yu LM, Ikeda N, Tsuruta H, Moons KGM. MIX: comprehensive free software for meta-analysis of causal research data. Version 1.7., 2009.
- [136] Distant S, Berg JP, Lande K, Haug E, Bell H. HFE gene mutation (C282Y) and phenotypic expression among a hospitalised population in a high prevalence area of haemochromatosis. *Gut* 2000 Oct;47(4):575–579.
- [137] Bulaj ZJ, Ajioka RS, Phillips JD, LaSalle BA, Jorde LB, Griffen LM, *et al.* Disease-related conditions in relatives of patients with hemochromatosis. *N Engl J Med* 2000 Nov 23;343(21):1529–1535.
- [138] Barton JC, Rothenberg BE, Bertoli LF, Acton RT. Diagnosis of hemochromatosis in family members of probands: a comparison of phenotyping and HFE genotyping. *Genet Med* 1999 Mar–Apr;1(3):89–93.
- [139] Waalen J, Felitti V, Gelbart T, Ho NJ, Beutler E. Prevalence of hemochromatosis-related symptoms among individuals with mutations in the HFE gene. *Mayo Clin Proc* 2002 Jun;77(6):522–530.
- [140] Olynyk JK, Hagan SE, Cullen DJ, Beilby J, Whittall DE. Evolution of untreated hereditary hemochromatosis in the Busselton population: a 17-year study. *Mayo Clin Proc* 2004;79:309–313.
- [141] Andersen RV, Tybjaerg-Hansen A, Appleyard M, Birgens H, Nordestgaard BG. Hemochromatosis mutations in the general population: iron overload progression rate. *Blood* 2004;103:2914–2919.
- [142] Gleeson F, Ryan E, Barrett S, Crowe J. Clinical expression of haemochromatosis in Irish C282Y homozygotes identified through family screening. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004;16:859–863.
- [143] Rossi E, Kuek C, Beilby JP, Jeffrey GP, Devine A, Prince RL. Expression of the HFE hemochromatosis gene in a community-based population of elderly women. *J Gastroenterol Hepatol* 2004 Oct;19(10):1150–1154.
- [144] Powell LW, Dixon JL, Ramm GA, Purdie DM, Lincoln DJ, Anderson GJ, Subramaniam VN, Hewett DG, Searle JW, Fletcher LM, Crawford DH, Rodgers H, Allen KJ, Cavanaugh JA, Bassett ML. Screening for hemochromatosis in asymptomatic subjects with or without a family history. *Arch Intern Med* 2006;166:294–301.
- [145] Asberg A, Hveem K, Kannelonning K, Irgens WO. Penetrance of the C282Y/C282Y genotype of the HFE gene. *Scand J Gastroenterol* 2007;42: 1073–1077.
- [146] Allen KJ, Gurrin LC, Constantine CC, Osborne NJ, Delatycki MB, Nicoll AJ, McLaren CE, Bahlo M, Nisselle AE, Vulpe CD, Anderson GJ, Southey MC, Giles GG, English DR, Hopper JL, Olynyk JK, Powell LW, Gertig DM. Iron-overload-related disease in HFE hereditary hemochromatosis. *N Engl J Med* 2008;358:221–230.
- [147] Whitlock EP, Garlitz BA, Harris EL, Beil TL, Smith PR. Screening for hereditary hemochromatosis: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2006;145:209–223.
- [148] Feder JN. The hereditary hemochromatosis gene (HFE): a MIX class I-like gene that functions in the regulation of iron homeostasis. *Immunol Res* 1999;20(2):175–185.
- [149] Jazwinska EC, Powell LW. Hemochromatosis and “HLA-H”: definite! *Hepatology* 1997 Feb;25(2):495–496.
- [150] Koeken A, Cobbaert C, Quint W, van Doorn LJ. Genotyping of hemochromatosis-associated mutations in the HFE gene by PCR-RFLP and a novel reverse hybridization method. *Clin Chem Lab Med FESCC* 2002;40(2):122–125.
- [151] Cunat S, Giansily Blaizot M, Bismuth M, Blanc F, Dereure O, Larrey D, *et al.* Global sequencing approach for characterizing the molecular background of hereditary iron disorders. *Clin Chem* 2007;53(12):2060–2069.
- [152] Cukjati M, Koren S, Curin Serbec V, Vidan-Jeras B, Ruprecht R. A novel homozygous frameshift deletion c.471del of HFE associated with hemochromatosis. *Clin Genet* 2007;71(4):350–353.
- [153] Steiner M, Ocran K, Genschel J, Meier P, Gerl H, Ventz M, Schneider ML, Buttner C, Wadowska K, Kerner W, Schuff-Werner P, Lochs H, Schmidt H. A homozygous HFE gene splice site mutation (IVS5+1 G/A) in a hereditary hemochromatosis patient of Vietnamese origin. *Gastroenterology* 2002; 122:789–795.
- [154] Barton JC, Sawada Hirai R, Rothenberg BE, Acton RT. Two novel missense mutations of the HFE gene (I105T and G93R) and identification of the S65C mutation in Alabama hemochromatosis probands. *Blood Cells Mol Dis* 1999; 25:147–155.
- [155] de Kok JB, Wiegierinck ET, Giesendorf BA, Swinkels DW. Rapid genotyping of single nucleotide polymorphisms using novel minor groove binding DNA oligonucleotides (MGB probes). *Hum Mutat* 2002;19(5):554–559.
- [156] Behrens M, Lange R. A highly reproducible and economically competitive SNP analysis of several well characterized human mutations. *Clin Lab* 2004; 50(5–6):305–316.
- [157] Alsmadi OA, Al Kayal F, Al Hamed M, Meyer BF. Frequency of common HFE variants in the Saudi population: a high throughput molecular beacon-based

- study. *BMC Med Genet* 2006;7:43.
- [158] Castley A, Higgins M, Ivey J, Mamotte C, Sayer DC, Christiansen FT. Clinical applications of whole-blood PCR with real-time instrumentation. *Clin Chem* 2005;51(11):2025–2030.
- [159] Walburger DK, Afonina IA, Wydro R. An improved real time PCR method for simultaneous detection of C282Y and H63D mutations in the HFE gene associated with hereditary hemochromatosis. *Mutat Res* 2001;432(3–4): 69–78.
- [160] Cheng J, Zhang Y, Li Q. Real-time PCR genotyping using displacing probes. *Nucleic Acids Res* 2004;32(7):e61.
- [161] Bach V, Barcelo MJ, Altes A, Remacha A, Felez J, Baiget M. Genotyping the HFE gene by melting point analysis with the LightCycler system: Pros and cons. *Blood Cells Mol Dis* 2006;36(2):288–291.
- [162] Moyses CB, Moreira ES, Asprino PF, Guimaraes GS, Alberto FL. Simultaneous detection of the C282Y, H63D and S65C mutations in the hemochromatosis gene using quenched-FRET real-time PCR. *Braz J Med Biol Res [Rev Bras Pesq Med Biol, Sociedade Brasileira de Biofísica]* 2008;41(10):833–838.
- [163] Biasiotto G, Belloli S, Ruggeri G, Zanella I, Gerardi G, Corrado M, Gobbi E, Albertini A, Arosio P. Identification of New Mutations of the HFE, Hfe, Hfeidin, and Transferrin Receptor 2 Genes by Denaturing HPLC Analysis of Individuals with Biochemical Indications of Iron Overload. *Clin Chem* 2003;49:1981–1988.
- [164] Smillie D. A PCR-SSP method for detecting the Cys282Tyr mutation in the HFE gene associated with hereditary haemochromatosis. *Mol Pathol* 1997 Oct;50(5):275–276.
- [165] Smillie D. A PCR-SSP method for detecting the His63Asp mutation in the HFE gene associated with hereditary haemochromatosis. *Mol Pathol* 1998 Aug;51(4):232–233.
- [166] Steffensen R, Varming K, Jersild C. Determination of gene frequencies for two common haemochromatosis mutations in the Danish population by a novel polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *Tissue Antigens* 1998 Sep;52(3):230–235.
- [167] Wenz HM, Baumhueter S, Ramachandra S, Worwood M. A rapid automated SSCP multiplex capillary electrophoresis protocol that detects the two common mutations implicated in hereditary hemochromatosis (HH). *Hum Genet* 1999 Jan;104(1):29–35.
- [168] Guttridge MG, Carter K, Worwood M, Darke C. Population screening for hemochromatosis by PCR using sequence-specific primers. *Genet Test* 2000; 4(2):111–114.
- [169] Guttridge MG, Thompson J, Worwood M, Darke C. Rapid detection of genetic mutations associated with haemochromatosis. *Vox Sang* 1998;75(3):253–256.
- [170] Kaur G, Rapthap CC, Xavier M, Saxena R, Choudhary VP, Reuben SK, *et al.* Distribution of C282Y and H63D mutations in the HFE gene in healthy Asian Indians and patients with thalassaemia major. *Natl Med J India* 2003 Nov-Dec;16(6):309–310.
- [171] Turner MS, Penning S, Sharp A, Hyland VJ, Harris R, Morris CP, *et al.* Solid-phase amplification for detection of C282Y and H63D hemochromatosis (HFE) gene mutations. *Clin Chem* 2001;47(8):1384–1389.
- [172] Bosserhoff AK, Seegers S, Hellerbrand C, Scholmerich J, Buttner R. Rapid genetic screening for hemochromatosis using automated SSCP-based capillary electrophoresis (SSCP-CE). *Biotechniques* 1999;26(6):1106–1110.
- [173] Simonsen K, Dissing J, Rudbeck L, Schwartz M. Rapid and simple determination of hereditary haemochromatosis mutations by multiplex PCR-SSCP: detection of a new polymorphic mutation. *Ann Hum Genet* 1999;63(Pt 3):193–197.
- [174] Kim S, Edwards JR, Deng L, Chung W, Ju J. Solid phase capturable dideoxynucleotides for multiplex genotyping using mass spectrometry. *Nucleic Acids Research* 2002;30(16):e85.
- [175] Bernacki SH, Farkas DH, Shi W, Chan V, Liu Y, Beck JC, *et al.* Bioelectronic sensor technology for detection of cystic fibrosis and hereditary hemochromatosis mutations. *Arch Pathol Lab Med* 2003;127(12):1565–1572.
- [176] Footz T, Somerville MJ, Tomaszewski R, Elyas B, Backhouse CJ. Integration of combined heteroduplex/restriction fragment length polymorphism analysis on an electrophoresis microchip for the detection of hereditary haemochromatosis. *Analyst* 2004;129(1):25–31.
- [177] Bosserhoff AK, Buettner R, Hellerbrand C. Use of capillary electrophoresis for high throughput screening in biomedical applications. A minireview. *Comb Chem High Throughput Screen* 2000 Dec;3(6):455–466.
- [178] Devaney JM, Pettit EL, Kaler SG, Vallone PM, Butler JM, Marino MA. Genotyping of two mutations in the HFE gene using single-base extension and high-performance liquid chromatography. *Anal Chem* 2001 Feb 1;73(3):620–624.
- [179] Lubin IM, Yamada NA, Stansel RM, Pace RG, Rohlfes EM, Silverman LM. HFE genotyping using multiplex allele-specific polymerase chain reaction and capillary electrophoresis. *Arch Pathol Lab Med* 1999;123(12):1177–1181.
- [180] Oberkanins C, Moritz A, de Villiers JN, Kotze MJ, Kury F. A reverse- hybridization assay for the rapid and simultaneous detection of nine HFE gene mutations. *Genet Test* 2000;4:121–124.
- [181] Rivers CA, Barton JC, Acton RT. A rapid PCR-SSP assay for the hemochromatosis-associated Tyr250Stop mutation in the TFR2 gene. *Genet Test* 2001;5(2):131–134.
- [182] Somerville MJ, Sprysak KA, Hicks M, Elyas BG, Vican-Wyhyony L. An HFE intronic variant promotes misdiagnosis of hereditary hemochromatosis. *Am J Hum Genet* 1999;65:924–926.
- [183] Klaassen CH, van Aarsen YA, van der Stappen JW. Improved real-time detection of the H63D and S65C mutations associated with hereditary hemochromatosis using a SimpleProbe assay format. *Clin Chem Lab Med* 2008;46:985–986.
- [184] Schranz M, Talasz H, Graziadei I, Winder T, Sergi C, Bogner K, Vogel W, Zoller H. Diagnosis of hepatic iron overload: a family study illustrating pitfalls in diagnosing hemochromatosis. *Diagn Mol Pathol* 2009;18:53–60.
- [185] Sebastiani G, Wallace DF, Davies SE, Kulhali V, Walker AP, Dooley JS. Fatty liver in H63D homozygotes with hyperferritinemia. *World J Gastroenterol* 2006;12:1788–1792.
- [186] Jackson HA, Carter K, Darke C, Guttridge MG, Ravine D, Hutton RD, Napier JA, Worwood M. HFE mutations, iron deficiency and overload in 10,500 blood donors. *Br J Haematol* 2001;114:474–484.
- [187] Jde Villiers JN, Hillermann R, Loubser L, Kotze MJ. Spectrum of mutations in the HFE gene implicated in haemochromatosis and porphyria. *Hum Mol Genet* 1999;8:1517–1522.
- [188] Bradbury R, Fagan E, Payne SJ. Two novel polymorphisms (E277K and V212V) in the haemochromatosis gene HFE. *Hum Mutat* 2000;15:120.
- [189] Floreani A, Navaglia F, Basso D, Zambon CF, Basso G, Germano G, Rizzotto ER, Guido M, Plebani M. Intron 2 [IVS2, T-C +4] HFE gene mutation associated with S65C causes alternative RNA splicing and is responsible for iron overload. *Hepatology* 2005;33:57–60.
- [190] Piperno A, Arosio C, Fossati L, Vigano M, Trombini P, Vergani A, Mancina G. Two novel nonsense mutations of HFE gene in five unrelated Italian patients with hemochromatosis. *Gastroenterology* 2000;119:441–445.
- [191] Wallace DF, Dooley JS, Walker AP. A novel mutation of HFE explains the classical phenotype of genetic hemochromatosis in a C282Y heterozygote. *Gastroenterology* 1999;116:1409–1412.
- [192] Gochee PA, Powell LW, Cullen DJ, Du Sart D, Rossi E, Olynyk JK. A population-based study of the biochemical and clinical expression of the H63D hemochromatosis mutation. *Gastroenterology* 2002;122:646–651.
- [193] Kotze MJ, de Villiers JN, Bouwens CS, Warnich L, Zaahl MG, van der Merwe S, *et al.* Molecular diagnosis of hereditary hemochromatosis: application of a newly-developed reverse-hybridization assay in the South African population. *Clin Genet* 2004;65(4):317–321.
- [194] Wallace DF, Walker AP, Pietrangelo A, Clare M, Bomford AB, Dixon JL, Powell LW, Subramaniam VN, Dooley JS. Frequency of the S65C mutation of HFE and iron overload in 309 subjects heterozygous for C282Y. *J Hepatol* 2002;36:474–479.
- [195] Aguilar Martinez P, Biron C, Blanc F, Masmejean C, Jeanjean P, Michel H, Schved JF. Compound heterozygotes for hemochromatosis gene mutations: may they help to understand the pathophysiology of the disease? *Blood Cells Mol Dis* 1997;23:269–276.
- [196] Gandon Y, Olivie D, Guyader D, Aube C, Oberti F, Sebille V, Deugnier Y. Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet* 2004;363:357–362.
- [197] St Pierre TG, Clark PR, Chua-Anusorn W, Fleming AJ, Jeffrey GP, Olynyk JK, Pootrakul P, Robins E, Lindeman R. Noninvasive measurement and imaging of liver iron concentrations using proton magnetic resonance. *Blood* 2005; 105:855–861.
- [198] Ernst O, Sergeant G, Bonvarlet P, Canva-Delcambre V, Paris JC, L'Hermine C. Hepatic iron overload: diagnosis and quantification with MR imaging. *AJR Am J Roentgenol* 1997;168:1205–1208.
- [199] Brittenham GM, Farrell DE, Harris JW, Feldman ES, Danish EH, Muir WA, Tripp JH, Bellon EM. Magnetic-susceptibility measurement of human iron stores. *N Engl J Med* 1982;307:1671–1675.
- [200] Nielsen P, Engelhardt R, Duerken M, Janka GE, Fischer R. Using SQUID biomagnetic liver susceptometry in the treatment of thalassemia and other iron loading diseases. *Transfus Sci* 2000;23:257–258.
- [201] Fischer R, Piga A, Harmatz P, Nielsen P. Monitoring long-term efficacy of iron chelation treatment with biomagnetic liver susceptometry. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1054:350–357.
- [202] Guyader D, Jacquelinet C, Moirand R, Turlin B, Mendler MH, Chaperon J, David V, Brissot P, Adams P, Deugnier Y. Noninvasive prediction of fibrosis in C282Y homozygous hemochromatosis. *Gastroenterology* 1998;115:929–936.
- [203] Morrison ED, Brandhagen DJ, Phatak PD, Barton JC, Krawitt EL, El-Serag HB, Gordon SC, Galan MV, Tung BY, Ioannou GN, Kowdley KV. Serum ferritin level predicts advanced hepatic fibrosis among U.S. patients with phenotypic hemochromatosis. *Ann Intern Med* 2003;138:627–633.
- [204] Crawford DH, Murphy TL, Ramm LE, Fletcher LM, Clouston AD, Anderson GJ, Subramaniam VN, Powell LW, Ramm GA. Serum hyaluronic acid with serum ferritin accurately predicts cirrhosis and reduces the need for liver biopsy in C282Y hemochromatosis. *Hepatology* 2009;49:418–425.
- [205] Adhoute X, Foucher J, Laharie D, Terreboune E, Vergniol J, Castera L, Lovato

## Normas de Orientação Clínica

- B, Chanteloup E, Merrouche W, Couzigou P, de Ledinghen V. Diagnosis of liver fibrosis using FibroScan and other noninvasive methods in patients with hemochromatosis: a prospective study. *Gastroenterol Clin Biol* 2008;32:180–187.
- [206] El Serag HB, Inadomi JM, Kowdley KV. Screening for hereditary hemochromatosis in siblings and children of affected patients. A cost-effectiveness analysis. *Ann Intern Med* 2000;132:261–269.
- [207] Houghlum K, Ramm GA, Crawford DH, Witztum JL, Powell LW, Chojkier M. Excess iron induces hepatic oxidative stress and transforming growth factor beta1 in genetic hemochromatosis. *Hepatology* 1997;26:605–610.
- [208] Bassett ML, Halliday JW, Powell LW. Value of hepatic iron measurements in early hemochromatosis and determination of the critical iron level associated with fibrosis. *Hepatology* 1986;6:24–29.
- [209] Le Lan C, Lortal O, Cohen T, Ropert M, Glickstein H, Laine F, Pouchard M, Deugnier Y, Le Treut A, Breuer W, Cabantchik ZI, Brissot P. Redox active plasma iron in C282Y/C282Y hemochromatosis. *Blood* 2005;105:4527–4531.
- [210] Bomford A, Williams R. Long term results of venesection therapy in idiopathic haemochromatosis. *Q J Med* 1976;45:611–623.
- [211] Milman N, Pedersen P, a Steig T, Byg KE, Graudal N, Fenger K. Clinically overt hereditary hemochromatosis in Denmark 1948-1985: epidemiology, factors of significance for long-term survival, and causes of death in 179 patients. *Ann Hematol* 2001;80:737–744.
- [212] Falize L, Guillygomarc'h A, Perrin M, Laine F, Guyader D, Brissot P, Turlin B, Deugnier Y. Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: a study of 36 cases. *Hepatology* 2006;44:472–477.
- [213] Powell LW, Kerr JF. Reversal of "cirrhosis" in idiopathic haemochromatosis following long-term intensive venesection therapy. *Australas Ann Med* 1970;19:54–57.
- [214] Niederau C, Fischer R, Purschel A, Stremmel W, Haussinger D, Strohmeyer G. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996;110:1107–1119.
- [215] Fracanzani AL, Fargion S, Romano R, Conte D, Piperno A, D'Alba R, Mandelli C, Fraquelli M, Pacchetti S, Braga M, *et al.* Portal hypertension and iron depletion in patients with genetic hemochromatosis. *Hepatology* 1995;22:1127–1131.
- [216] Adams PC. Factors affecting the rate of iron mobilization during venesection therapy for genetic hemochromatosis. *Am J Hematol* 1998;58:16–19. [217] Adams PC, Kertesz AE, Valberg LS. Rate of iron reaccumulation following iron depletion in hereditary hemochromatosis. Implications for venesection therapy. *J Clin Gastroenterol* 1993;16:207–210.
- [218] Hicken BL, Tucker DC, Barton JC. Patient compliance with phlebotomy therapy for iron overload associated with hemochromatosis. *Am J Gastroenterol* 2003;98:2072–2077.
- [219] Hutchinson C, Geissler CA, Powell JJ, Bomford A. Proton pump inhibitors suppress absorption of dietary non-haem iron in hereditary haemochromatosis. *Gut* 2007;56:1291–1295.
- [220] Kaltwasser JP, Werner E, Schalk K, Hansen C, Gottschalk R, Seidl C. Clinical trial on the effect of regular tea drinking on iron accumulation in genetic haemochromatosis. *Gut* 1998;43:699–704.
- [221] Milward EA, Baines SK, Knuiman MW, Bartholomew IX, Divitini ML, Ravine DG, Bruce DG, Olynyk JK. Noncitrus fruits as novel dietary environmental modifiers of iron stores in people with or without HFE gene mutations. *Mayo Clin Proc* 2008;83:543–549.
- [222] Nienhuis AW. Vitamin C and iron. *N Engl J Med* 1981;304:170–171.
- [223] Schofield RS, Aranda Jr JM, Hill JA, Streiff R. Cardiac transplantation in a patient with hereditary hemochromatosis: role of adjunctive phlebotomy and erythropoietin. *J Heart Lung Transplant* 2001;20:696–698.
- [224] Barton JC, Grindon AJ, Barton NH, Bertoli LF. Hemochromatosis probands as blood donors. *Transfusion* 1999;39:578–585.
- [225] Fletcher LM, Dixon JL, Purdie DM, Powell LW, Crawford DH. Excess alcohol greatly increases the prevalence of cirrhosis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 2002;122:281–289.
- [226] Harrison-Findik DD, Klein E, Crist C, Evans J, Timchenko N, Gollan J. Iron-mediated regulation of liver hepcidin expression in rats and mice is abolished by alcohol. *Hepatology* 2007;46:1979–1985.
- [227] Chapman RW, Morgan MY, Boss AM, Sherlock S. Acute and chronic effects of alcohol on iron absorption. *Dig Dis Sci* 1983;28:321–327.
- [228] Ioannou GN, Dominitz JA, Weiss NS, Heagerty PJ, Kowdley KV. The effect of alcohol consumption on the prevalence of iron overload, iron deficiency, and iron deficiency anemia. *Gastroenterology* 2004;126:1293–1301.
- [229] Ioannou GN, Weiss NS, Kowdley KV. Relationship between transferrin-iron saturation, alcohol consumption, and the incidence of cirrhosis and liver cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:624–629.
- [230] Barton JC, McDonnell SM, Adams PC, Brissot P, Powell LW, Edwards CQ, Cook JD, Kowdley KV. Management of hemochromatosis. Hemochromatosis Management Working Group. *Ann Intern Med* 1998;129:932–939.
- [231] Kowdley KV, Brandhagen DJ, Gish RG, Bass NM, Weinstein J, Schilsky ML, Fontana RJ, McCashland T, Cotler SJ, Bacon BR, Keeffe EB, Gordon F, Polisars N. Survival after liver transplantation in patients with hepatic iron overload: the national hemochromatosis transplant registry. *Gastroenterology* 2005;129:494–503.
- [232] Yu L, Ioannou GN. Survival of liver transplant recipients with hemochromatosis in the United States. *Gastroenterology* 2007;133:489–495.
- [233] Edwards CQ, Kelly TM, Ellwein G, Kushner JP. Thyroid disease in hemochromatosis. Increased incidence in homozygous men. *Arch Intern Med* 1983;143:1890–1893.
- [234] Guggenbuhl P, Deugnier Y, Boisdet JF, Rolland Y, Perdriger A, Pawlotsky Y, Chales G. Bone mineral density in men with genetic hemochromatosis and HFE gene mutation. *Osteoporos Int* 2005;16:1809–1814.