

REBES REVISTA BRASILEIRA DE EDUCAÇÃO E SAÚDE

ISSN - 2358-2391



GVAAG - GRUPO VERDE DE AGROECOLOGIA E ABELHAS - POMBAL - PB
Revisão de Literatura

Análises genético-moleculares da hemocromatose hereditária

Fernanda Simionato dos Santos

Graduanda em Biomedicina, IUNI Educacional, UNIC Sinop Aeroporto, Sinop, MT, Brasil

Juliana Roriz Aarestrup

Bióloga, Mestre em Genética e Melhoramento, Doutora em Genética, Professora orientadora
IUNI Educacional, UNIC Sinop Aeroporto, Sinop, MT, Brasil

Endereço para correspondência: Estrada Nanci km 1

Sinop, MT, CEP:78.550-000

E-mail: jrroz@yahoo.com.br

Resumo: A hemocromatose hereditária (HH) é uma patologia bastante comum em indivíduos caucasianos. Apresenta padrão autossômico de herança e é classificada de acordo com sua origem genética. Em todos os pacientes, há sobrecarga de íons ferro no organismo, pois o processo regulatório da absorção do mineral está alterado geneticamente. A HH pode estar associada aos genes HFE (tipo1), HJV (tipo 2A), HAMP (tipo 2B), TFR2 (tipo 3) e SLC40A1 (tipo 4) e o seu quadro clínico é muito variável e condicionado ao depósito de ferro em órgãos importantes, como o fígado, pâncreas e coração. Geralmente, os primeiros sintomas da HH são inespecíficos e ocorrem a partir dos 40 anos de idade, podendo levar os pacientes a óbito. Portanto, é de suma importância o conhecimento sobre os genes envolvidos na HH e suas identificações, para que estratégias diagnósticas e terapêuticas sejam efetivamente alcançadas.

Palavras-chave: Ferro, Genes, Marcadores moleculares, Metabolismo.

Molecular genetic characterization of hereditary hemochromatosis

Abstract: Hereditary hemochromatosis (HH) is a fairly common in caucasian individuals. Presents autosomal inheritance pattern and is classified according to its genetic origin. In all patients, there are iron overload in the body, because the regulatory process mineral absorption is changed genetically. The HH can be associated with the HFE gene (type1), HJV (type 2A), HAMP (type 2B), TFR2 (type 3) and SLC40A1 (type 4) and its clinical picture is highly variable and conditional on the deposit of iron in organs such as the liver, pancreas, and heart. Generally, the first symptoms of HH are nonspecific and occur from 40 years old, and may lead patients to death. Therefore, it is of utmost importance the knowledge about the genes involved in the HH and its identification, for which diagnostic and therapeutic strategies are effectively met.

Keywords: Iron, Gene, Molecular markers, Metabolism.

1 Introdução

Os íons ferro são componentes moleculares de eritrócitos e da mioglobina, participam da síntese de DNA, respiração celular e metabolismo de nutrientes e fármacos em hepatócitos, sendo considerado um mineral essencial à homeostase do organismo humano. Apresentam-se sob duas alternativas básicas: ferro heme, encontrado em alimentos de

origem animal e rapidamente absorvido pelo epitélio do intestino delgado; ferro não heme, presente em produtos de origem vegetal e com menor assimilação pela mucosa intestinal, se comparado com sua forma heme (Motta, 2009).

De acordo com Cunha (2010), a quantidade de ferro no indivíduo adulto pode variar entre 1,5 g e 3,0 g, o que corresponde a 35 mg (em mulheres) e 45 mg (em homens) por peso corporal. A regulação

da quantidade deste mineral dependente da assimilação pelo intestino e, alterações nas suas concentrações estão relacionadas à depleção ou sobrecarga no organismo humano. Em casos de hemocromatose hereditária (HH), a captação e o acúmulo de ferro tornam-se progressivamente incontroláveis.

A hemocromatose pode ter origem genética ou ser adquirida, sendo classificada como primária ou secundária, respectivamente. Cerca de 80 a 90% dos indivíduos afetados pela doença apresentam mutações no gene HFE, mas outros genes podem estar envolvidos na sua etiopatologia (Cunha, 2010).

A HH é uma doença genética muito comum na população caucasiana, acometendo cerca de 1 a cada 220-250 indivíduos com descendência celta ou do norte da Europa (Martinelli, 2012). Estudos preliminares realizados no Brasil confirmam a prevalência da patologia em pessoas de origem européia (Barbosa et al., 2005; Torres et al., 2008; Santos et al., 2012)

Os portadores da HH apresentam predisposição natural para a absorção excessiva de íons ferro através da dieta, armazenando-se principalmente no fígado, pâncreas e coração, com possibilidades de ocasionar cirrose, hepatocarcinoma, diabetes, insuficiência cardíaca e até mesmo o óbito do paciente (Cançado & Chiatton, 2008). Nesse contexto, o presente estudo tem como objetivo realizar um *review* literário sobre os aspectos genético-moleculares da HH.

2. Desenvolvimento

2.1. Metabolismo de ferro

O ferro é um elemento metálico presente nas moléculas de hemoglobina, mioglobina, transferrina, ferritina, porfirinas, catalases, peroxidase e citocromos (Motta, 2009). Está relacionado à capacidade que os glóbulos vermelhos apresentam de carrear oxigênio e dióxido de carbono (Albuquerque, 2010). O ferro heme e sérico correspondem à sua forma associada à molécula de hemoglobina e presente na circulação sanguínea, respectivamente. O ferro hêmico é absorvido pelas células da mucosa do intestino, parte é utilizada pelas próprias células e o restante migra para a circulação do sangue (Motta, 2009).

A dependência de humanos pelo ferro demonstrou que mecanismos evolutivos ocorreram para que o metal fosse eficientemente absorvido, transportado, distribuído e armazenado no organismo. Desta forma, os íons ferrosos (Fe^{2+}) ligam-se aos receptores dos enterócitos, adentram as células, são oxidados a férrico (Fe^{3+}) e conectados à molécula de apoferritina. Em condições de saturação, o Fe^{2+} não é mais oxidado e migra,

automaticamente, para a circulação sanguínea. Neste local, é oxidado a Fe^{3+} e, juntamente com a enzima transferrina, é transportado e depositado no fígado, baço e, ou na medula óssea. O ferro é transformado em ferritina (fígado) ou bilirrubina (baço) e, na medula óssea, é utilizado para a gênese de hemácias (Harvey & Ferrier et al., 2012).

Em humanos, o ferro pode ser armazenado como alternativa de reserva interna ou ser eliminado para evitar os efeitos tóxicos. Entretanto, o aumento da excreção de ferro não ocorre naturalmente e qualquer deficiência em seu processo metabólico pode inibir a síntese de ferritina e ocasionar síndromes clínicas por sobrecarga de ferro. (Cunha, 2010).

2.2. Aspectos clínicos da hemocromatose hereditária

O termo hemocromatose é utilizado para descrever a hiperpigmentação da pele ou das vísceras, ocasionada pelo aumento da absorção de íons ferro e seu progressivo acúmulo nas células epiteliais (Cançado & Chiatton, 2008).

Essa sobrecarga de ferro no organismo humano pode ter etiologia genética e hereditária ou ocorrer devido a causas secundárias (Motta, 2009) e sua evolução clínica manifesta-se de formas variadas, dependendo da intensidade da saturação de ferro na circulação sanguínea. Podem ocorrer sinais como alterações da coloração normal da pele e de outros órgãos, cirrose hepática, diabetes mellitus, disfunções do miocárdio e artropatias (Cançado & Chiatton, 2008).

Os sintomas da sobrecarga de ferro são mais graves quando os pacientes são do sexo masculino, apresentam anemia hemolítica crônica ou infecções por vírus B ou C da hepatite e se há o consumo excessivo de bebidas alcoólicas, medicamentos com ferro ou vitamina C (Cançado et al., 2007). Pesquisas recentes demonstram também que as condições fisiológicas de indivíduos com HH podem ser agravadas por poluentes do ar (Power et al., 2013).

Segundo Weiss (2010), a identificação da sobrecarga de ferro pode ser realizada por meio das estimativas de ferro e ferritina séricos e da capacidade total de ligação da enzima transferrina com os íons ferro (CTLF). Na Conferência Internacional em Hemocromatose (*International Consensus Conference on Haemochromatosis*, 2000), foi estabelecido que os valores de saturação da transferrina iguais ou superiores a 50% e 60%, nos sexos feminino e masculino, respectivamente, sugerem que a hemocromatose tenha origem genética (Brissot et al., 2008).

2.3. Etiologia genética da hemocromatose hereditária

Atualmente, sabe-se que a forma hereditária da hemocromatose pode ser provocada por diferentes mutações gênicas e pode ter padrão

autossômico recessivo ou dominante de herança, dependendo do gene afetado. Segundo Omim (2013), os principais genes candidatos para a patologia são HFE, HJV, HAMP, TFR2 e SLC40A1, presentes em diferentes cromossomos (Tabela 1).

Tabela 1. Aspectos gênicos da hemocromatose hereditária (HH)

Tipos de HH	Gene	Proteína codificada pelo gene	Padrão de herança	Localização Cromossômica	Frequência (em %)
1	HFE	HFE	HAR	6p21.3	90
2A	HJV	Hemojuvelina	HAR	1p21	2
2B	HAMP	Hepcidina	HAR	19q13	3
3	TFR2	TFR2	HAR	7q22	3
4	SLC40A1	Ferroportina	HAD	2q32	4

HAR: Herança autossômica recessiva; HAD: Herança autossômica dominante

O HFE é o principal responsável pela HH, pois cerca de 85% dos pacientes apresenta mutações nesse gene (Martinelli, 2012). O seu produto gênico é uma proteína de superfície celular, que se liga ao receptor da transferrina, inibindo a captação de ferro. A proteína HFE é expressa na maioria das células do organismo e localiza-se, principalmente, na membrana das células duodenais. Uma vez sintetizada, a proteína HFE se associa à β 2-microglobulina e é assim levada do citoplasma para a superfície celular, próximo ao receptor de transferrina (Cunha, 2010).

De acordo com Santos et al. (2012), as mutações relacionadas à hemocromatose hereditária podem ser avaliadas através da análise dos polimorfismos genéticos mais frequentes no gene HFE (p.C282Y, p.H63D, p.S65C). Em tais análises,

utiliza-se a técnica de marcadores moleculares RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), pois é sensível à identificação de indivíduos com alterações na sequência de nucleotídeos ao longo da fita de DNA. Entretanto, os autores afirmam que os efeitos das mutações podem ser exacerbados ou abrandados pela interação desses genes com outros fatores genéticos e, ou ambientais.

A HH pode ser avaliada em determinadas populações ou famílias com histórico da doença, como pode ser observado na figura 1. Contudo, Segundo Bacon et al. (2011), o seu diagnóstico molecular é dependente da expressão dos sintomas mais comuns à doença, pois certas combinações alélicas para o gene HFE desencadeiam sinais fisiopatológicos mais graves do que outros.

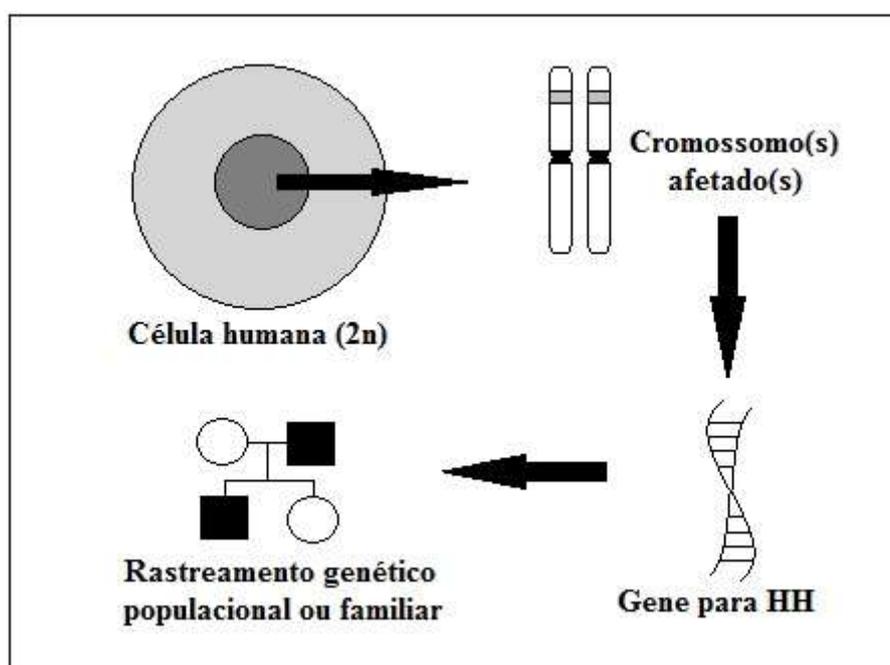


Figura 1. Avaliação de alelos em indivíduos com predisposição genética à HH.

Alexander & Kowdler, (2009); Camaschella & Poggiali (2009) e Rochette et al., (2010) descreveram algumas mutações no gene HFE, conhecidas como p.C282Y, p.H63D, p.63D, p.S65C, p.V53M, p.V59M, p.Q127H, p.R330M, p.I105T, p.G93R, p.Q283P. Entretanto, as alterações que ocorrem em maior frequência em portadores de HH são p.C282Y, p.H63D e p.S65C.

Há prevalência da p.C282Y em caucasóides, e cerca de 83% dos pacientes com HH são homocigotos para a variação C282Y. Esta modificação ocasiona a permuta de tirosina por cisteína na posição 282 da proteína HFE (Feder et al., 1996).

A mutação p.H63D tem distribuição mundial (Merryweather-Clarke et al., 1997) e, quando em homocigose simultânea com a mutação p.C282Y, ou seja, se o indivíduo for mutante para C282Y e H63D, o seu risco de desenvolver HH é alto (Carella et al., 1997).

De acordo com Barton et al. (1999), outra mutação encontrada no gene HFE é p.S65C, analisada em indivíduos com aumento de ferro no organismo. A proteína HFE, neste caso, possui o aminoácido de número 65 alterado de serina para cisteína, como pode ser observado na figura 2.

Os tipos 2A e B da HH ocorrem por mutações nos genes HJV e HAMP, relacionados às proteínas hemojuvelina (HJV) e hepcidina (HAMP), respectivamente. Sabe-se que HJV é expressa em células hepáticas, cardíacas e musculares esqueléticas, mas sua função e seu mecanismo de ação não são totalmente conhecidos (Papanikolaou et al., 2004).

A HAMP é fundamental ao controle da homeostase do ferro, pois controla a ferroportina e, em consequência, o transporte do metal no organismo humano (Rivera et al., 2005).

A HJV age como um dos receptores das moléculas BMP (bone morphogenetic protein), aumentando a fosforilação de proteínas dependentes de BMP e auxiliando na transcrição de HAMP (Kautz et al., 2008).

Indivíduos heterocigotos para tais mutações são assintomáticos e somente o genótipo homocigoto está associado à sobrecarga de ferro (Camaschella & Poggiali, 2009). As mutações nos alelos para HJV e HAMP podem se interagir e a somatória de tais transformações desencadeia ou exacerba a concentração do metal no organismo (Rochette et al., 2010).

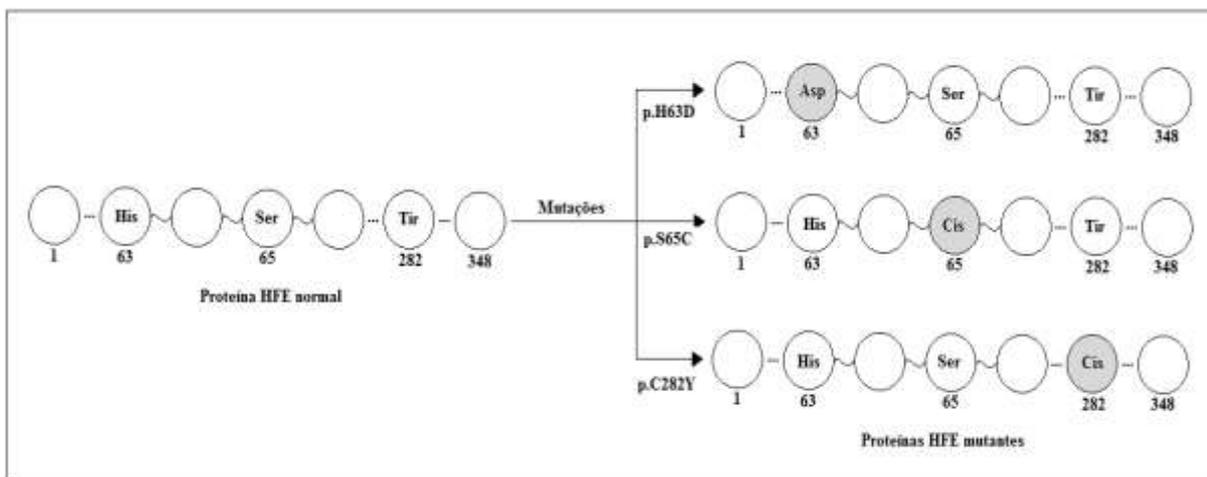


Figura 2. Esquema representativo da proteína HFE, antes e após mutações simples.

A proteína TFR2, produzida pelo gene TFR2, é expressa seletivamente no fígado, estando relacionada à absorção de ferro pelos hepatócitos. Quando em estado mutante, esta proteína ocasiona a HH tipo 3 (Ganz, 2004).

Segundo Camaschella & Poggiali (2009), a proteína TFR2 pode interferir a síntese de HAMP, visto que pacientes portadores de HH tipo 3 possuem menores concentrações dessa proteína na urina. Mutações Y250X e Q690P foram observadas em indivíduos de origem européia com quadro severo de sobrecarga no organismo (Camaschella et al., 2000; Mattman et al., 2002).

A HH tipo 4 é originada por mutações no gene SLC40A1, que produz a ferroportina. Esta enzima participa do trânsito de ferro por macrófagos do sistema reticuloendotelial e, conseqüentemente, há discreta anemia e sobrecarga do metal nos tecidos. Os efeitos das mutações foram associados à perda de função do gene SLC40A1, com a diminuição da exportação de ferro (Mayr et al., 2010).

A triagem das principais mutações possibilita a conscientização do risco da instalação da HH em uma família, embora a contribuição de cada genótipo seja imprevisível, pois significa apenas suscetibilidade genética. O teste gênico consiste na

identificação das mutações p. C282Y e p.H63D em pessoas com HH ou que tenham parentesco em primeiro grau com esses pacientes, pois apresentam chances aumentadas de serem portadoras do gene alterado. A finalidade da triagem, contudo, consiste na terapêutica preventiva e em evitar a ocorrência ou minimizar a gravidade da HH (Pietrangelo, 2011).

3 Conclusão

A HH é uma doença genética grave, que atinge principalmente pessoas com ascendência europeia. Pesquisas diversas têm demonstrado o impacto dos conhecimentos sobre a etiopatologia da HH, como a identificação das mutações nos genes HFE, HJV, HAMP, TFR2 e SLC40A1.

Sabe-se que a presença do gene HFE alterado é um dos principais fatores desencadeantes da doença, o que tornaria o seu rastreamento gênico uma ferramenta laboratorial útil ao diagnóstico de pacientes.

O zelo pelos indivíduos com predisposição genética para a doença é fundamental, uma vez que o seu acompanhamento pode retardar ou impedir as lesões e complicações orgânicas maiores. Entretanto, vários obstáculos necessitam ser ultrapassados, pois a simples presença do alelo mutante não prediz a gravidade da sua expressão fenotípica.

A condição genética dos indivíduos, se heterozigotos ou homozigotos, também representa grande impacto na severidade da HH e estudos futuros sobre os aspectos gênicos e proteicos envolvidos no metabolismo do ferro podem ampliar os horizontes sobre as formas preventivas da doença.

4 Referências

Albuquerque, G.C.; Xavier, R.M.; Barros, E. (2010). *Laboratório na prática clínica – Consulta rápida*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed.

Alexander, J.& Kowdler, K.V. (2009). HFE-associated hereditary hemochromatosis. *Genet. Med.*, 11(5): 307-313.

Bacon, B.R.; Adams, P.C.; Kowdley, K.V.; Powell, L.W.; Tavill, A.S. (2011). Diagnosis and management of heterochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatopatologia*, 54(1): 328-343.

Barbosa, K.V.;Souz, A.F.; Chebli, J.M.; Proietti, F.A.; Meirelles, R.S.; Souza, J.L. (2005). Hereditary hemochromatosis: population screening based on phenotype in Brazilian blood donors. *J. Clinical Gastroent.*, 39(5): 1-434.

Barton, J.C.; Sawada-Hirai, R.; Rothenberg, B.E.; Acton, R.T. (1999). Two novel missense mutations of the HFE gene (I105T and G93R) and identification of the S65C mutation in Alabama hemochromatosis probands. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 25(3/4): 147-155.

Brissot, P.; Troadec, M.B.; Bardou-Jacquet, E.; Le Lan, C.; Jouanolle, A.M.; Deugnier, Y.; Loreal, O. (2008). Current approach to hemochromatosis. *Blood Rev.*, 22: 195-210.

Camaschella, C.; Roetto, A.; Cali, A.; De Gobbi, M.; Garozzo, G.; Carella, M.; Majorano, N.; Totaro, A.; Gasparin, P. (2000). The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nature Genetics.*, 25(1): 14-15.

Camaschella, C.; Poggiali, E. (2009). Rare types of genetic hemochromatosis. *Acta Haematol.*, 122: 140-145.

Cançado, R.D.; Guglielmi, A.C.O.; Vergueiro, C.S.V.; Rolim, E.G.; Figueiredo, M.S.; Chiattonne, C.S. (2007). Estudo das mutações C282Y, H63D e S65C do gene HFE em doentes brasileiros com sobrecarga de ferro = study of C282Y, H63D and S65C mutations in the HFE gene in Brazilian patients with iron overload. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.*, 29(4): 351-360.

Cançado, R.D.; Chiattonne, C.S.(2010). Visão atual da hemocromatose hereditária. *Rev. Bras. Hematol.*, 32(6): 469-475.

Carella, M.; D'Ambrosio, L.; Totaro, A.; Grifa, A.; Valentino, M.A.; Piperno, A.; Girelli, D.; Roetto, A.; Franco, B.; Gasparini, P.; Camaschella, C. (1997). Mutation analysis of the HLA-H gene in Italian hemochromatosis patients. *Am. J. Human Genet.*, 60(4): 828-832.

Cunha, P.R. Hemocromatose Hereditária. *Ciência News*. Revista Eletrônica, ed. 2010. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/revistavirtual/artpamella.pdf>. Acesso em: 15 de fevereiro de 2013.

Feder, J.N.; Gnirke, A.; Thomas, W.; Tsuchihashi, Z.; Ruddy, D.A.; Basava, A. (1996). A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat. Genet.*, 13(4): 399-408.

Ganz, T. (2004). Hcpidin in iron metabolism. *Curr. Opin. Hematol.*, 11(4): 251-254.

- Harvey, R.A. & Ferrier, D.R. (2012) *Bioquímica ilustrada*. 5. ed. Porto Alegre: Editora Artmed.
- Kautz, L.; Meynard, D.; Monnier, A.; Darnaud, V.; Bouvet, R.; Wang, R.H.; Deng, C.; Valount, S.; Mosser, J.; Coppin, H.; Roth, M.P. (2008). Iron regulates phosphorylation of Smad1/5/8 and gene expression of Bmp6, Smad7, Id1 and Atoh8 in the mouse liver. *Blood*, 112(4): 1503-1509.
- Martinelli, A.L.C. (2012). Hemocromatose Hereditária: muito além do HFE. *Soc. Bras. Hepatol.*, 1-6.
- Mattman, A; Huntsman, D.; Locktich, G.; Langlois, S.; Buskard, N.; Ralston, D. (2002). Transferrin receptor 2 (TfR2) and HFE mutational analysis in non-C282Y iron overload: identification of a novel TfR2 mutation. *Blood*, 100(3): 1075-1077.
- Mayr, R.; Janecke, A.r.; Schranzz, M.; Griffiths, W.J.; Vogel, W.; Pietrangelo, A.; Zoller, H. (2010). Ferroportin disease: a systematic meta-analysis of clinical and molecular findings. *J. Hepatol.*, 53: 941-949.
- Merryweather-Clarke, A.T.; Pointon, J.J.; Shearman, J.D.; Robson, K.J. (1997). Global prevalence of putative haemochromatosis mutations. *J. Medical Genetics*, 34(4): 275-278.
- Motta, V.T. (2009). *Bioquímica clínica para o laboratório: princípios e interpretações*. 5. ed. Rio de Janeiro: MedBook.
- OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/OMIM>. Acesso em: 11 de junho de 2013.
- Papanikolaou, G.; Samuels, M.E.; Ludwig, E.H.; MacDonald, M.L.; Franchini, P.L.; Dubé, M.P. (2004). Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat. Genet.*, 36(1): 77-82.
- Pietrangelo, A. (2011). Heparidin in human iron disorders: Therapeutic implications. *J. Hepatol.*, 54: 173-181.
- Power, M.C.; Weisskopf, M.G.; Alexeeff, S.E.; Wright, R.O.; Coull, B.A.; Spiro III, A.; Schwartz, J. (2013). Modification by hemochromatosis gene polymorphisms of the association between traffic-related air pollution and cognition in older men: a cohort study. *Environmental Health*, 12(16): 1-8.
- Rivera, S.; Nemeth, E.; Gabayan, V.; Lopez, M.A.; Farshidi, D.; Ganz, T. (2005). Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood*, 106(6): 2196-2199.
- Rochette, j.; Le Gac, g.; Lassoued, K.; Ferec, C.; Robson, K.J.H. (2010). Factors influencing disease phenotype and penetrance in HFE haemochromatosis. *Human Genetics*, 128(3): 233-248.
- Santos, P.C.J.L.; Krieger, J.E.; Pereira, A.C. (2012). Molecular diagnostic and pathogenesis of hereditary hemochromatosis. *Int. J. Mol. Sci.*, 13: 1497-1511.
- Torres, F.R.; Souza-Neiras, W.C.; D'Almeida Couto, A.A.; D'Almeida Couto, V.S.C.; Cavasin, C.E.; Rossit, A.R.; Machado, R.L.D.; Bonini-Domingos, C.R. (2008). Frequency of the HFE C282Y and H63D polymorphisms in Brazilian malaria patients and blood donors from the Amazon region. *GMR*, 7(1): 60-64.
- Weiss, G. (2010). Genetic mechanisms and modifying factors in hereditary hemochromatosis. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*, 7(1): 50-58.