



## ANÁLISE DA FREQUÊNCIA DE PORTADORES DE HEMOCROMATOSE HEREDITÁRIA EM BANCO DE DADOS DE UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS NA REGIÃO SUL DO BRASIL

Josiane Silveira Sant'Anna<sup>1,2</sup>; Danielle L. C. F. Souza<sup>1</sup>; Paulo de Sá Osório<sup>1,2</sup>;  
Álvaro Largura<sup>1,2</sup>; Alex Sandro Jorge<sup>3</sup>; Michele Ana Flores Chaves<sup>3</sup>.

**RESUMO:** A hemocromatose pode ser considerada uma das doenças genéticas mais comuns entre os caucasianos descendentes de norte-europeus, sendo uma desordem do metabolismo do ferro que resulta em absorção excessiva com acúmulo progressivo no fígado, pâncreas, coração e outros órgãos. É uma doença decorrente de mutações ocorridas no braço curto do cromossomo 6, podendo apresentar-se de várias maneiras: pela substituição da cisteína pela tirosina no aminoácido 282 (C282Y), ou da substituição da histidina pelo aminoácido ácido aspártico na posição 63 (H63D) e ainda uma terceira mutação, a S65C decorrente da substituição da cisteína pela serina na posição 65, entre outras. A análise dos dados demonstrou que dos 95 pacientes analisados, 53 (55,78%) não possuíam qualquer tipo de mutação; entre os 42 portadores, 30 (31,58%) foram positivos para H63D, sendo 27 (28,42%) heterozigotos e 3 (3,15%) homozigotos. A mutação C282Y estava presente em 11 pacientes (11,58%), sendo 6 (6,32%) heterozigotos e 5 (5,26%) homozigotos para C282Y. Apenas 1 paciente (1,05%) era portador da mutação S65D em heterozigose.

**PALAVRAS-CHAVE:** Hemocromatose, mutação, desordem de ferro.

### 1. INTRODUÇÃO

A hemocromatose hereditária é uma doença autossômica recessiva, caracterizada por uma desordem no metabolismo do ferro, ocorrendo absorção excessiva e seu depósito em vários tecidos, particularmente no fígado, pâncreas, articulações, coração e glândula pituitária (CANCADO et al., 2006; BURT et al., 1998; MARTINELLI et al., 1999).

O gene HFE (gene para hemocromatose) foi descrito pela primeira vez em 1996, decorrendo da substituição da cisteína pela tirosina no aminoácido 282, localizado no braço curto do cromossomo 6 (mutação C282Y). Existe, porém, outras mutações, como a H63D, que é resultante da substituição da histidina pelo aminoácido ácido aspártico na posição 63 (BITTENCOURT et al., 2002), e ainda uma terceira mutação, a S65C, decorrente da substituição da cisteína pela serina na posição 65 (CANCADO et al., 2006).

A proteína HFE é expressa nas células intestinais e, juntamente com a  $\beta$ 2-microglobulina, estão envolvidas na regulação da afinidade do receptor de transferrina, formando um complexo que controla a quantidade de ferro absorvida (BITTENCOURT et al., 2002; HANSEN; IMPERATORE; BURKE, 2001). Quando esse complexo é internalizado, a proteína HFE também acompanha o processo e, no interior do endossomo, inibe a liberação dos átomos de ferro pelo complexo transferrina e seu receptor (JACKOWSKI; REBELLO; FAUCZ, 2004).

<sup>1</sup> Laboratório Álvaro, Cascavel – Pr.

<sup>2</sup> Instituto de Investigação Científica do Paraná, Cascavel – Pr.

Cada uma das mutações causa danos diferentes ao metabolismo celular. No caso da C282Y, há uma incapacidade da célula na associação com a  $\beta$ 2-microglobulina, gerando um aumento permanente na afinidade do receptor. Já na H63D ocorre a associação com a  $\beta$ 2-microglobulina, porém ocorre perda parcial da função, gerando um discreto aumento na afinidade (EASL, 2000; LE GAC; MURA; FEREC, 2001).

A hemocromatose pode ser considerada uma das doenças genéticas mais comuns entre os caucasianos descendentes de norte europeus (EASL, 2000). A expressão da doença é variável, podendo ocorrer de maneira precoce em algumas pessoas e tardiamente em outras. As manifestações clínicas são influenciadas pela idade, sexo, dieta de ferro, uso de álcool, hepatite C, entre outras ainda desconhecidas (BRANDHAGEM; FAIRBANKS; BALDUS, 2002). Caso a doença não seja diagnosticada e tratada em tempo, várias manifestações clínicas severas podem ocorrer, principalmente entre a quinta e sexta década de vida, como cirrose (com suscetibilidade ao desenvolvimento de hepatocarcinoma), diabetes, complicações endócrinas (hipogonadismo) e artrites, diminuindo a qualidade de vida do paciente. Quanto mais cedo diagnosticado e iniciado o tratamento, melhor a qualidade e expectativa de vida dos pacientes (CANCADO et al., 2006).

Vários estudos em populações caucasianas têm concluído que cerca de 80% dos portadores do gene são homocigotos para C282Y (JACKOSKI; REBELLO; FAUCZ, 2004), e que menos de 4 a 7% das mutações são heterocigotos C282Y/H63. Existe, porém, outras mutações que aparecem com menor frequência (S65C, I105T, entre outras) (JACKOSKI; REBELLO; FAUCZ, 2004). A prevalência das mutações C282Y e H63D em pacientes brasileiros portadores de hemocromatose ainda é pouco conhecida. Análise destas populações tem mostrado que a frequência do alelo C282Y é menor nos brasileiros, se comparados com caucasianos do norte europeu, enquanto que a mutação H63D tem uma maior prevalência, similar àquela encontrada principalmente entre os italianos (BITTENCOURT et al., 2002). No entanto, é possível encontrar um alelo mutante em 4 a 7% da população geral da região nordeste do país (HANSON; IMPERATORE; BURKE, 2001). Devido à grande extensão geográfica brasileira, que juntamente com as diferentes etnias que colonizaram cada região, e a miscigenação entre negróides, caucasoídes e ameríndios, nota-se a ocorrência de diferentes frequências regionais nas mutações (BITTENCOURT et al., 2002; HANSON; IMPERATORE; BURKE, 2001). Sendo assim, este estudo tem como objetivo analisar frequência das mutações em pacientes portadores de hemocromatose hereditária em exames realizados pelo Laboratório Álvaro, Cascavel – Pr.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados resultados presentes no banco de dados do laboratório, totalizando 95 pacientes no período entre janeiro de 2003 e junho de 2006, sendo as amostras provenientes de toda a área abrangida pela entidade.

Os resultados foram obtidos pela análise de sangue periférico coletado com EDTA e processado de acordo com a técnica de PCR/Hibridização reversa da ViennaLab Haemochromatosis Strip assay B, sendo o processo composto pelo isolamento do DNA seguindo os procedimentos e reagentes especificados pelo fabricante, amplificação por Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) utilizando *primers* biotinizados e hibridização de produtos de amplificação em uma tira de teste corada com sondas oligonucleotídicas específicas de alelos dispostos em linhas paralelas, utilizando fosfatase alcalina-estreptavidina e substratos de cor para a detecção das seqüências biotinizadas ligadas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dos 95 pacientes analisados, 53 (55,78%) não apresentaram nenhum tipo de mutação; entre os portadores de mutação, 30 (31,58%) foram positivos para H63D, dos quais 27 (28,42%) dos pacientes mostraram-se portadores da mutação H63D em heterozigose, e 3 (3,15%) em homozigose.

A mutação C282Y fez-se presente em 11 pacientes (11,58%), sendo 6 (6,32%) portadores heterozigotos e 5 (5,26%) homozigotos. Apenas 1 paciente (1,05%) identificou-se como portador da mutação S65D em heterozigose, conforme demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Distribuição das mutações quanto ao tipo e sexo

Tipo de mutação	Número de pacientes	Sexo	
		Masc	Fem
H63D heterozigose	27	19	8
H63D homozigose	3	3	0
C282Y heterozigose	6	3	3
C282Y homozigose	5	3	2
S65D heterozigose	1	0	1
<i>Total</i>	<i>42</i>	<i>28</i>	<i>14</i>

FONTE: Laboratório Álvaro, 2006.

Como as amostras analisadas provêm de várias cidades brasileiras, verificaram-se algumas particularidades: a região sul apresentou maior freqüência de mutação, sendo 21 casos (50%), seguida pela região nordeste com 10 casos (23,81%), centro-oeste 2 (4,76%), norte e sudeste, cada uma com 1 caso (2,38%) e sete casos (16,67%) não foram identificados quanto à origem, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tanto na região sul, quanto na nordeste, que são as que possuem o maior número de pacientes portadores de mutação, a H63D foi a mais freqüente. Respectivamente para o sul e nordeste, foram 33,33% e 16,67% em heterozigose e 2,38% e 4,76% em homozigose. Quanto à mutação C282Y, a região nordeste apresentou somente 1 caso (2,38%) em heterozigose. Já a freqüência da mesma mutação na região sul foi de 4,76% (2 casos), além dos 7,15% que foram pacientes homozigotos. Também foi da região sul o único caso da mutação S65C (2,38%). As regiões norte e sudeste apresentaram somente um caso cada (2,38%), ambas com a mutação C282Y em heterozigose.

Tabela 2. Distribuição de casos de acordo com as regiões do Brasil

Região	Número de casos
Sul	21
Nordeste	10
Centro- oeste	2
Norte	1
Sudeste	1

FONTE: Laboratório Álvaro, 2006.

A análise dos resultados obtidos confirma a alta freqüência de pacientes portadores de hemocromatose com ascendência caucasóide, uma vez que a região sul foi aquela

com maior incidência de mutação, sendo uma região brasileira colonizada principalmente por europeus. Partindo deste princípio, inicialmente esperava-se encontrar uma frequência semelhante àquela relatada para este grupo étnico, ou seja, com uma maior prevalência da mutação C282Y, no entanto não foi isto o que ocorreu.

A frequência encontrada para a mutação H63D foi de 31,58%, semelhante àquelas determinadas em dois outros estudos brasileiros, 31,1% (MARTINELLI et al, 1999) e 32,6% (AGOSTINHO et al, 1999), realizados, porém na região sudeste do Brasil. Em relação à mutação C282Y obteve-se 11,58%, valores bem acima daqueles identificados pelos mesmos estudos, que foram de 1,2% e 2,8% respectivamente. Esta grande diferença evidenciada em relação à região sul e sudeste podem sim, se referir à ascendência predominantemente européia da população residente na região sul do país.

Em relação aos dados encontrados referentes à região nordeste, pode-se supor uma possível razão para a segunda maior frequência de pacientes portadores dos genes para hemocromatose. Todos os pacientes eram provenientes de algumas capitais litorâneas, e como a região nordeste atrai turistas do mundo todo, inclusive europeus caucasianos, sendo que muitos destes acabam residindo nestas áreas, é possível que tenhamos uma miscigenação e conseqüentemente uma maior frequência desta mutação em partes da população.

#### 4. CONCLUSÃO

As publicações relativas ao perfil da população brasileira para hemocromatose hereditária (HH) ainda são bastante escassas.

Nossos resultados apresentaram uma concordância com outros estudos. Por causa de nossa miscigenação racial, acreditamos nós que é muito importante executar um estudo maior para definir as características genéticas de HH em pacientes brasileiros.

#### REFERÊNCIAS

AGOSTINHO, M.F.; ARRUDA, V.R.; et al. Mutations analysis of the HFE gene in Brazilian populations. **Blood Cells Mol.Dis.** v.25, p. 324-327, 1999.

BITTENCOURT, P.L.; PALACIOS, S.A.; et al. Analysis of HLA-Antigens and C282 Y and H63D mutations of the HFE gene in Brazilian patients with haemochromatosis. **Brasilian Journal of Medical and Biological Research.** V.35, p. 329-335, 2002.

BRANDHAGEN, D.J.; FAIRBANKS, V.; BALDUS, W. Recognition and management of hereditary haemochromatosis. **American Family Physician.** v. 65, p. 853-860. 2002.

BURT, M. J.; GEORGE, P.M, et al. The significance of haemochromatosis gene mutations in the general populations: implications for screening. **Gut B.M. Journals.** v. 43, p.830-836, 1998.

CANCADO, R.D.; GUGLIELMI, A.C.O.; et al. Analysis of HFE gene mutations and HLA-A alleles in Brazilian patients with iron overload. **São Paulo Med Journal.** v.124, n.2, p. 55-60, 2006.

EASL - International Consensus Conference on Haemochromatosis. **Journal of Hepatology.** v.33, p. 485-504, 2000.

HANSON, E.H.; IMPERATORE, G.; BURKE, W. HFE gene and hereditary haemochromatosis: a HuGe review. **American Journal of Epidemiology**. v.154, n.3, p.193-206, 2001.

JACKOWSKI D.; REBELLO E. S.; FAUCZ F. R . Análise da frequência da mutação C282 na população paranaense. **Revista Estudos de Biologia**. v.26, n.55, p.11-18, 2004.

LE GAC, G.; MURA, C.; FEREC, C. Complete scanning of the hereditary haemochromatosis gene (HFE) by use of denaturing HPLC. **Clinical Chemistry**. v. 47, n.9, p. 1633-1640. 2001.

MARTINELLI, A.L.; FRANCO, R.F.; et al. Are haemochromatosis mutations related to the severity of liver disease in hepatitis C virus infection? **Acta Haematol**. v.102. p.152-156. 1999.