

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**AVALIAÇÃO MOLECULAR E BIOQUÍMICA DO METABOLISMO  
DO FERRO EM PACIENTES PORTADORES DE SÍNDROME  
METABÓLICA.**

MARIANA REIS RAUBER

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**AVALIAÇÃO MOLECULAR E BIOQUÍMICA DO METABOLISMO  
DO FERRO EM PACIENTES PORTADORES DE SÍNDROME  
METABÓLICA.**

MARIANA REIS RAUBER

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber

Co-orientador: Prof. Dr. Diogo André Pilger

Dissertação apresentada como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre/Doutor em  
Medicina: Ciências Médicas, da Universidade  
Federal do Rio Grande do Sul, Programa de  
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas.

Porto Alegre

2014

## CIP - Catalogação na Publicação

Reuber, Mariana Reis  
AVALIAÇÃO MOLECULAR E BIOQUÍMICA DO METABOLISMO  
DO FERRO EM PACIENTES PORTADORES DE SÍNDROME  
METABÓLICA. / Mariana Reis Reuber. -- 2014.  
55 f.

Orientador, Gustavo Adolpho Moreira Paulhaber.  
Coorientador, Diogo André Pilger.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Medicina, Ciências Médicas, Porto  
Alegre, RS-RS, 2014.

1. Ferro. 2. Ferritina. 3. Hepcidina. 4. Síndrome  
metabólica. I. Paulhaber, Gustavo Adolpho Moreira,  
orient. II. Pilger, Diogo André, coorient. III.  
Título.

## Agradecimentos

Primeiramente, agradeço aos meus pais Paulino e Maria Lourdes e minha irmã Fernanda pelo amor incondicional, apoio, compreensão;

Ao André, pelo amor, companheirismo e pelas horas de sono perdidas;

Ao meu orientador, Prof. Dr. Gustavo por ser um exemplo de pesquisador, pela calma, disponibilidade e sobretudo pelos ensinamentos que vão além da vida acadêmica;

Ao meu co-orientador, Prof. Dr Diogo A. Pilger, por ter sido tão presente, e ter dividido tantas experiências acadêmicas ou não comigo;

À colega de mestrado e grande amiga Angélica B. Cechinel, pela amizade, companheirismo e doçura;

À Dra. Ana Lúcia Souza Antunes, por ter sido tantas vezes minha mãe porto-alegrense, chorando e rindo comigo em tantos momentos;

À minha i.c. Daiane Cecconello, que participou diretamente deste trabalho e me ajudou em tantos momentos;

À todos do Laboratório de Análises Bioquímicas e Citológicas (LABC) da Faculdade de Farmácia da UFRGS, em especial a Prof. Dra. Andréia Buffon, e as queridas Denise Wohlmeister e Aline Schuster pelo companheirismo;

À todos do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia da UFRGS, em especial a Ms. Laura Alencastro de Azevedo por ter me ajudado tanto e tantas vezes;

À Prof Dra. Simone Castro que me auxiliou na fase inicial deste projeto tão prontamente;

À Ms. Natália Aydos Marcondes pelas experiências compartilhadas;

Aos pacientes, por gentilmente doarem não apenas seu sangue, mas também seu tempo;

Aos médicos residentes do ambulatório de Medicina Interna;

Ao FIPE/HCPA pelo suporte financeiro;

Ao PPGCM pelo apoio em todas as horas.

## RESUMO

**Introdução:** A síndrome metabólica (SM) apresenta elevada prevalência na população mundial, sendo a hiperferritinemia um achado frequente nestes pacientes. A investigação do aumento da ferritina nesta doença representa um desafio diagnóstico, muitas vezes necessitando exames de alto custo, mas sendo fundamental para identificação dos pacientes que apresentam sobrecarga de ferro.

**Objetivo:** Avaliar os parâmetros bioquímicos e moleculares relacionados ao metabolismo do ferro em pacientes portadores de SM.

**Métodos:** Através de um estudo transversal, foram avaliados 94 pacientes portadores de SM de acordo com os critérios da *International Diabetes Federation* que estavam em acompanhamento no ambulatório de Medicina Interna do HCPA. Foram avaliados dados antropométricos e de diagnóstico para SM, dosagem de ferro, ferritina, a saturação da transferrina, hepcidina, além das mutações C282Y e H63D do gene HFE da hemocromatose.

**Resultados:** A prevalência de hiperferritinemia na população em estudo foi de 27,7%, sendo maior no sexo masculino (53,8%) que no sexo feminino (14,5%) ( $p < 0,001$ ). A elevação da saturação de transferrina, e não da ferritina, se correlacionou com mutações do gene da hemocromatose. A hiperferritinemia se associou com saturação de transferrina ( $p < 0,001$ ) e a hepcidina ( $p = 0,008$ ), após análise de regressão logística.

**Conclusão:** A hiperferritinemia é um achado frequente na SM, sendo mais comum em homens. A dosagem da saturação de transferrina é um bom parâmetro para *screening* de pacientes com mutação da hemocromatose, como já demonstrado na literatura. Sugere-se a hepcidina como um novo biomarcador com potencial promissor na investigação da hiperferritinemia associada à SM.

**Palavras-Chave:**

Ferro; ferritina; hepcidina; síndrome metabólica;

## ABSTRACT

**Introduction:** Metabolic syndrome (MS) has a high prevalence in the world population, and hyperferritinemia is a frequent finding in these patients. The investigation of the increased ferritin in this syndrome represents a diagnostic challenge, often requiring expensive tests, but is essential for identification of patients with iron overload.

**Objective:** To evaluate biochemical and molecular parameters related to iron metabolism in patients with MS.

**Methods:** In a cross-sectional study, we evaluated 94 patients with MS according to the criteria of the International Diabetes Federation who were accompanied in the outpatient clinics of internal medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. We evaluated anthropometric data and diagnostic criteria for MS, iron dosage, ferritin, transferrin saturation, hepcidin, besides the C282Y and H63D mutations in the HFE hemochromatosis gene.

**Results:** The prevalence of hyperferritinemia in the study population was 27.7% and was higher in males (53.8%) than in females (14.5%) ( $p < 0.001$ ). The elevation of transferrin saturation, but not ferritin, did relate with mutations the hemochromatosis gene. Hyperferritinemia related to transferrin saturation ( $p < 0.001$ ) and hepcidin ( $p = 0.008$ ) after logistic regression analysis.

**Conclusion:** Hyperferritinemia is a frequent finding in metabolic syndrome, most frequently in men. Determination of transferrin saturation is a good parameter for screening of patients with hemochromatosis mutation, as already demonstrated in literature. It is suggested hepcidin as a new biomarker with promising potential in research hyperferritinemia associated with MS.

**Keywords:** ferritin; hepcidin; metabolic syndrome; iron;

**LISTA DE TABELAS DO ARTIGO**

Table 1: Patients demographics.....	47
Table 2: Hyperferritimia and associated factors.....	48



**LISTA DE FIGURAS**

Figura 1. Ciclo do ferro. ....	15
Figura 2: Regulação da expressão da hepcidina.....	24
Figura 3: Resistência à insulina induzida pelo ferro. ....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS

- BMI – índice de massa corpórea (*body mass index*)
- DIOS – síndrome da sobrecarga dismetabólica de ferro (*dysmetabolic iron overload syndrome*)
- DMT1 – transportador de metal divalente 1 (*divalente metal transporter 1*)
- DNA – ácido desoxirribonucleico (*deoxyribonucleic acid*)
- EDTA – ácido etilenodiamino tetra-acético (*Ethylenediamine tetraacetic acid*)
- ELISA – enzima imunoensaio (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*)
- HCP1 – proteína carreadora do heme 1 (*heme carrier protein 1*)
- HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre
- HDL – lipoproteína de alta densidade (*high-density lipoprotein*)
- HH – hemocromatose hereditária
- IDF – *International Diabetes Federation*
- IL6 – interleucina 6
- IMC – índice de massa corpórea
- IRE – elementos responsivos ao ferro (*iron responsive elements*)
- IRP – proteína reguladora do ferro (*iron regulatory protein*)
- LDL – lipoproteína de baixa densidade (*low-density lipoprotein*)
- MS – síndrome metabólica (*metabolic syndrome*)
- NAFLD – doença gordurosa não-alcoólica do fígado (*nonalcoholic fatty liver disease*)
- NASH – esteatohepatite não-alcoólica (*nonalcoholic steatohepatitis*)
- NCEP – *National Cholesterol Education Program*
- RNA<sub>m</sub> – ácido ribonucleico mensageiro (*messenger ribonucleic acid*)
- SM – síndrome metabólica
- Tf – transferrina
- TfR1 – receptor de transferrina 1 (*transferrin receptor 1*)
- TfR2 – receptor de transferrina 2 (*transferrin receptor 2*)
- TNF – fator de necrose tumoral (*tumoral necrosis factor*)
- UFRGS – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

WHO – *World Health Organization*

## LISTA DE SÍMBOLOS

mg – miligrama

Fe<sup>2+</sup> - íon ferroso

µg/dL – microgramas por decilitro

µg/L – microgramas por litro

kDa – kilodaltons

mg/dL – miligramas por decilitro

% - por cento

cm – centímetro

kg/m<sup>2</sup> – quilograma por metro quadrado

mmHg – milímetros de mercúrio

g – grama

® - marca registrada

ng/mL – nanograma por mililitro

°C – graus Celsius

h – hora

min – minutos

p – erro alfa

## SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO .....	12
2.REVISÃO DA LITERATURA .....	13
2.1METABOLISMO DO FERRO .....	13
2.2HEMOCROMATOSE .....	18
2.3SÍNDROME METABÓLICA.....	19
2.4DIOS .....	22
2.5ESTRATÉGIA PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES	27
3.JUSTIFICATIVA .....	29
4.OBJETIVOS .....	30
4.1OBJETIVOS GERIAS .....	30
2.1OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
5.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA REVISÃO .....	31
6.ARTIGO ORIGINAL .....	38
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	50
8.ANEXOS .....	52

## 1.INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica (SM) apresenta elevada prevalência na população mundial. Ela é caracterizada por fatores que aumentam o risco para doenças cardiovasculares e diabetes. Os critérios diagnósticos para síndrome metabólica variam na literatura, sendo alguns universais nas diferentes classificações: pressão arterial maior que 130/85 mmHg, triglicerídeos acima de 150mg/dL, HDL (*high density lipoprotein*) abaixo de 50mg/dL em mulheres e abaixo de 40mg/dL em homens, glicemia em jejum acima de 100mg/dL e aumento de circunferência abdominal (1-4).

Dados em relação a população brasileira são escassos e discrepantes, considerando a extensão do país e suas diferenças populacionais(5-9). Em recente revisão sistemática, Carvalho Vidigal *et al.* estimaram a prevalência de SM na população brasileira em 29,6% (4).

Algumas condições clínicas estão associadas à SM, destacando-se a esteatose hepática e esteato-hepatite não-alcoólica (NAFLD-*Nonalcoholic fatty liver disease*) e a hiperferritinemia. Estudos indicam que cerca de 15% dos pacientes com SM apresentem ferritina elevada, e quando associada à presença de NAFLD esse percentual eleva-se a 30% (10,11). A combinação de hiperferritinemia, NAFLD e SM vem sendo considerada por alguns autores como síndrome dismetabólica de sobrecarga de ferro (DIOS- *Dysmetabolic Iron Overload Syndrome*). Esta síndrome é detectada em cerca de um terço dos pacientes que apresentam NAFLD e SM, e sua incidência aumenta junto com o sobrepeso e diabetes(10,12).

Os sintomas de DIOS não são específicos, porém ela pode ser facilmente detectada com exames de rotina. A ferritina apresenta-se elevada enquanto que a saturação da transferrina está dentro dos valores normais (10-13). Embora ainda não disponível para fins de diagnóstico, a hepcidina é um importante marcador para avaliação de DIOS, já que se apresenta em valores elevados, auxiliando no diagnóstico diferencial de sobrecarga de ferro por hemocromatose, onde este hormônio encontra-se reduzido (11-15).

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Metabolismo do Ferro

O ferro é um mineral indispensável para o metabolismo humano, atuando como coadjuvante em processos orgânicos essenciais com o como transporte de oxigênio, síntese de DNA (ácido desoxirribonucleico), produção de energia oxidativa, respiração mitocondrial e inativação de radicais livres (16,17). O ferro é obtido de duas fontes: da dieta (proveniente de carnes, na forma heme e de vegetais na forma de ferro inorgânico) e da reciclagem de hemácias senescentes (como ferro heme). Uma dieta normal fornece em média 15 mg de ferro, dos quais apenas 1 a 2 mg são absorvidos, de acordo com a necessidade do organismo (16). Para todos esses processos, o ferro é absorvido e metabolizado de maneira controlada, evitando falhas que podem resultar tanto em uma deficiência do mineral quanto em sua sobrecarga. Este último provoca um acúmulo prejudicial ao organismo, já que através de reações do tipo Fenton são formados radicais livres que danificam proteínas, membranas lipídicas e ácidos nucleicos (17,18).

A falta de controle na excreção deste metal expõe o ser humano a um risco de sobrecarga, porém o controle rigoroso da entrada, armazenamento e distribuição do ferro no organismo evita desta forma um desequilíbrio na quantidade do mineral (17-19). Existem quatro tipos celulares importantes para a manutenção da homeostase do ferro: os enterócitos, envolvidos com a absorção de ferro, os precursores eritróides, que utilizam o ferro, os macrófagos reticuloendoteliais, que estocam e reutilizam/reciclam, e os hepatócitos que estocam e ainda são responsáveis pela regulação metabólica (17,20).

Para que o ferro possa ser absorvido no epitélio duodenal, que é o principal sítio de absorção, ele é primeiramente reduzido a  $Fe^{2+}$  e então transportado para o interior do enterócito através do DMT1 (transportador de metal divalente). De acordo com as necessidades metabólicas, parte deste ferro é estocado na forma de ferritina intracelular e parte é exportada ao plasma através da ferroportina. Todas estas etapas são reguladas através da

tensão de oxigênio no enterócito, disponibilidade intracelular e necessidade sistêmica de ferro (18). A internalização do ferro heme da dieta é realizado pela proteína HCP1 (*heme carrier protein*), que realiza a digestão enzimática da hemoglobina e mioglobina possibilitando o transporte do heme (17,18).

A ferroportina é a única exportadora de ferro para o plasma e circulação sistêmica que é conhecida. Ela é expressa nos enterócitos, macrófagos do sistema retículo endotelial e ainda nos hepatócitos (21). Sua regulação é realizada pela hepcidina, que é secretada principalmente pelos hepatócitos, atuando como um hormônio regulador negativo da absorção e liberação do ferro, uma vez que ao se ligar a ferroportina ela promove a sua internalização e proteólise. A expressão da ferroportina na membrana celular é um passo crucial para a regulação do ferro que irá ser disponibilizado ao organismo (18-22). Além do status do ferro outro importante estímulo para o aumento da expressão de hepcidina é a interleucina 6 (IL6), que apresenta-se elevada em estados inflamatórios (17).

Os precursores eritróides expressam a proteína TfR1 (receptor de transferrina 1) que regula a entrada de transferrina ligada ao ferro na célula. Através de um processo de endocitose, o ferro é desligado da transferrina dentro do endossomo após a redução do pH no interior deste e, então, é transportado através da DMT1 para a célula, tornando-se disponível para síntese da hemoglobina e metabolismo celular (18,20). Os TfR2 (receptor de transferrina 2) são expressos em altos níveis nos hepatócitos; estes receptores são homólogos aos TfR1, porém não possuem regulação via IRE (*Iron responsive elements*) e ainda apresentam baixa afinidade pela transferrina, sendo considerados sensores da saturação de transferrina (16,18,20,21). Os macrófagos desempenham papel fundamental na captação de ferro através da fagocitose de hemácias senescentes e servem ainda como importante forma de estoque de ferro na forma de ferritina. Além disso, esta célula controla a síntese de hepcidina, hormônio que regula o ferro a nível extracelular. De maneira semelhante aos macrófagos, os hepatócitos também armazenam ferro. A maior parte deste, porém, é proveniente do ferro não ligado a transferrina, que circula ligado a compostos de baixo peso molecular quando a saturação de transferrina está muito elevada (18,20,21).

Proteínas citoplasmáticas ligadas ao RNAm também regulam o metabolismo do ferro, induzindo ou então inibindo a síntese de DMT1, ferroportina, ferritina e do TfR. Elas são conhecidas como IRPs (*Iron regulatory proteins*) e se ligam às IREs que estão unidas ao RNAm em determinadas regiões. Na região 3' não traduzida do RNAm do TfR e da DMT1, a interação entre IRE-IRP aumenta a estabilidade da molécula de RNAm, reduzindo sua degradação e dessa forma aumentando a síntese destas proteínas. Já na região 5' do RNAm que codifica a ferritina e ferroportina, a interação IRE-IRP não altera a quantidade de RNAm citoplasmático, mas sim reduz a biossíntese destes elementos (18,23).

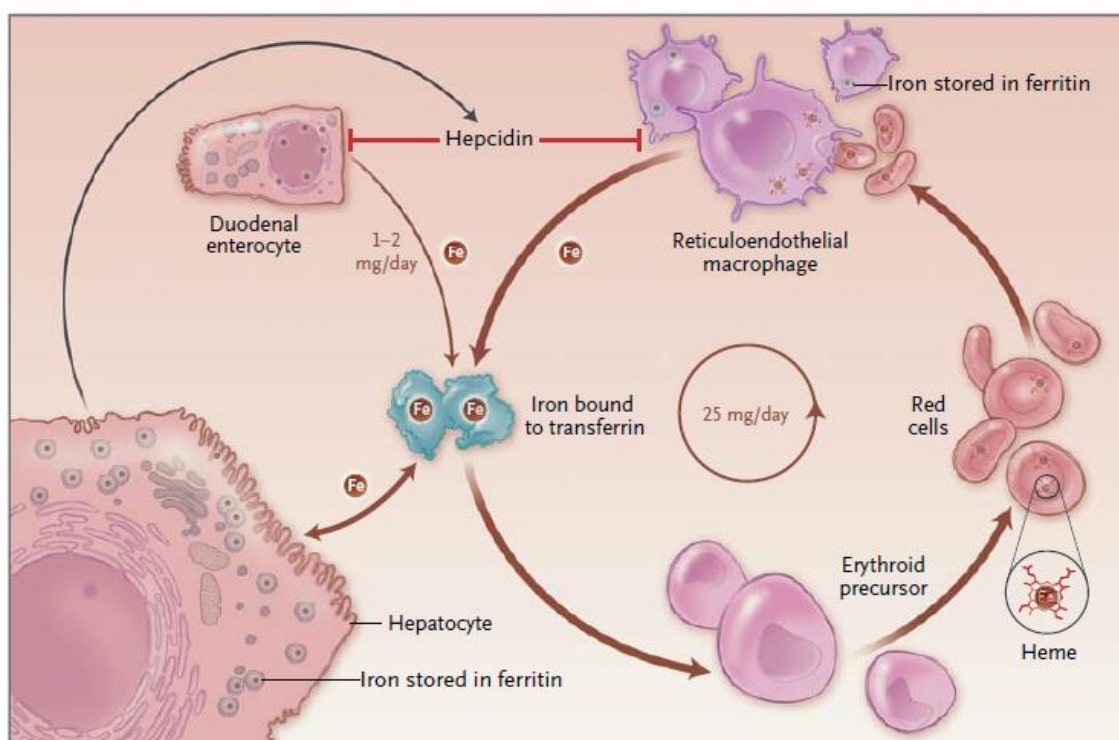


Figura 1: Ciclo do metabolismo do ferro.

Fonte: Fleming, 2012 (18).

Após a sua absorção, o ferro pode ser estocado na forma de ferritina, ou então transportado pelo plasma ligado a transferrina. Por isso, estes dois parâmetros são fundamentais na avaliação do *status* do ferro de um indivíduo (23).

O ferro sérico pode ser dosado laboratorialmente, porém a concentração encontrada através deste teste é equivalente ao ferro que circula ligado a transferrina apenas, não sofrendo influência do ferro ligado a hemoglobina ou



ferritina (22). A ampla variação circadiana deste teste indica que isoladamente ele não é ideal para avaliação do *status* do ferro. Seus valores de referência variam de acordo com sexo, sendo 75 a 175 µg/dL para homens e 65 a 165µg/dL para mulheres.

A transferrina (Tf) é uma proteína pequena (80kDa) que se liga firmemente a duas moléculas de ferro (24). Considerada a principal transportadora de ferro do plasma, é sintetizada no fígado e regulada por estímulos do aumento ou da redução da quantidade de ferro disponível que ainda não estão completamente esclarecidos. Normalmente, um terço da Tf circulante está ligada ao ferro. Em condições de anemia ferropriva e anemias crônicas, entre outras, a saturação está reduzida; por outro lado, ela apresenta-se aumentada em casos de hemocromatose, anemia sideroblástica, doença hepática com redução da produção de Tf, dentre outros. Para que as células possam captar o ferro ligado a transferrina, elas expressam, de maneira controlada, um receptor de transferrina (TfR), que é uma proteína transmembrana homodimérica (18,24,25). Através de imunoenaios a transferrina pode ser quantificada, sendo um importante parâmetro na avaliação do indivíduo. A capacidade ferropéxica ou capacidade total de ligação ao ferro é uma medida estimada da concentração sérica de transferrina. Em casos de anemias, o nível de Tf encontra-se aumentado. Já quando há uma sobrecarga férrica, seus níveis diminuem. Os valores de referência para esta proteína variam entre 200 e 360mg/dL.

A saturação da Tf é um índice calculado através do valor de concentração do ferro sérico e da capacidade ferropéxica, – que é uma medida estimada da concentração de Tf. O TfR também pode ser avaliado laboratorialmente, indicando a atividade eritopoiética da medula óssea e ainda a disponibilidade de ferro tecidual (13). Em casos de privação de ferro, a transferrina está pouco saturada com o ferro, e o contrário ocorre em casos de excesso de ferro no organismo, apresentando uma saturação superior aos valores considerados normais (30-50%).

A ferritina é uma proteína grande (440kDa), composta por 24 subunidades de dois tipo diferentes: H, a mais pesada com 21KDa, e L, a mais leve com 19KDa. Ela pode estocar até 4500 átomos de ferro, e é responsável

pelo armazenamento de ferro e doação deste metal às células de acordo com a necessidade (18,26). É considerada a principal fonte de ferro aos precursores eritróides na fase inicial da síntese do heme, quando a transferrina ainda não está disponível (26). É um importante marcador do status do ferro, por se alterar precocemente em variações do ferro disponível. Possui alta especificidade e sensibilidade quando apresenta valores baixos, indicando privação de ferro, porém por ser uma proteína de fase aguda, eleva-se em processos inflamatórios, neoplasias, processos infecciosos, alcoolismo, doenças hepáticas e neurodegenerativas, entre outros (26-29). Estas alterações ocorrem devido a sua capacidade de defesa celular contra estresse oxidativo e inflamação(26).

A hiperferritinemia deve ser criteriosamente avaliada, uma vez que valores elevados não representam necessariamente sobrecarga de ferro. Estima-se que apenas 10% dos casos de ferritina acima dos limites da normalidade são devidos a sobrecarga de ferro, portanto a eliminação de fatores que possam elevar a ferritina deve ser realizada (28). Doenças hepáticas tais como hepatites B e C, alcoolismo crônico, devem ser excluídas mediante testes de função hepática, sorologias e testes de triagem para etilismo. Para exclusão de infecções, doenças inflamatórias e malignidades a triagem deve ser realizada mediante a avaliação clínica criteriosa do paciente, dosagem da proteína C-reativa, velocidade de sedimentação glomerular e pesquisa de marcadores de auto-imunidade (28). Excluídas as condições descritas anteriormente, a saturação da transferrina auxilia na discriminação da sobrecarga de ferro por hemocromatose, quando ela se apresentará elevada (valores superiores a 45%)(18).

Adam e colaboradores pesquisaram a presença das principais mutações que acometem o gene HFE em pacientes caucasianos que apresentavam ferritina com valores no intervalo de 200 µg/L to 1000 µg/L, verificando que a presença de mutações não era a principal causa de hiperferritinemia (30).

A ferritina pode ser dosada através de métodos imunológicos tais como enzimoimunoensaio e quimioluminescência, sendo um indicador do depósito de ferro do organismo. O valor de referência em homens adultos é de 22 a 322 µg/dL, enquanto nas mulheres é 10 a 291 µg/dL. Tal diferença nos valores de

referência decorre das menores reservas de ferro nas mulheres devido a perda de ferro pela menstruação.

## **2.2. Hemocromatose**

A hemocromatose é uma doença que se caracteriza por uma sobrecarga de ferro. O acúmulo do elemento nos tecidos provoca alterações como diabetes mellitus, pigmentação característica da pele e lesão hepática que varia de acordo com o tempo de evolução da doença. Pode ser classificada com hemocromatose primária ou hemocromatose hereditária, quando a sobrecarga ocorre devido a uma mutação que interfere no metabolismo do ferro, ou ainda como hemocromatose secundária onde a sobrecarga ocorre mais comumente em pacientes anêmicos (exceto anemia ferropriva) submetidos a múltiplas transfusões sanguíneas, tais como talassemias e mielodisplasias (31,32).

A Hemocromatose Hereditária (HH) decorre de um descontrole na absorção do ferro dietético com conseqüente acúmulo deste nas células, podendo causar danos às células principalmente através da formação de radicais livres (32). É considerada a doença genética mais comum na população caucasiana do norte da Europa (20,33,34). Apesar de escassos, dados brasileiros demonstraram uma menor frequência de HH na população, e ainda certa discrepância entre as populações analisadas (34-38).

Diversas mutações já foram descritas como causadoras de HH. Entre elas, as mais estudadas são as que acometem o gene HFE, responsável por codificar a proteína HFE que regula a absorção do ferro a nível intestinal (18,32,34). Neste caso, a ferroportina exporta descontroladamente o ferro para o plasma, pois a produção de hepcidina, que deveria se ligar a ferroportina e inativá-la, está prejudicada devido à presença de alterações genéticas que desregulam a sinalização da transcrição deste hormônio (21). Dentre as mutações, a mais frequente é a C282Y, onde há a substituição de uma cisteína por uma tirosina na posição 282 da proteína. A homozigose de C282Y é encontrada em aproximadamente 80% dos pacientes com sintomatologia típica de HH. Ainda existem outras duas mutações que podem ser encontradas, porém com menor frequência - a H63D, onde o aspartato da posição 63 é

trocado por uma histidina, e a S65C, onde há a substituição de uma cisteína por uma serina na posição 65. Todas essas mutações são de caráter autossômico recessivo (32,34).

Mutações mais raras envolvem os genes que codificam a hemojuvelina, também conhecida como HH tipo II com caráter autossômico recessivo, o receptor da transferrina II (TfR2), HH tipo III também autossômica recessiva, a ferroportina, HH tipo IV, com padrão autossômico dominante. Ainda, existem mutações que envolvem as cadeias da ferritina, HH tipo V e VI, que exibem padrão autossômico dominante (20,39,40,41).

Os sintomas mais comuns que levam o paciente a procurar atendimento são fraqueza, letargia, dor abdominal, artralgia, disfunção erétil, perda de libido, além de sintomas de diabetes mellitus e insuficiência cardíaca. Ao exame físico geralmente o paciente apresenta hepatomegalia, atrofia testicular e pigmentação cutânea característica (20,32). Em fases avançadas, podem ser encontrados estigmas de hepatopatia crônica (42,43). O diagnóstico clínico é confirmado através da documentação de níveis aumentados da saturação da transferrina, e a ferritina pode apresentar-se elevada ou dentro da faixa de normalidade. Devido a ampla disponibilidade desses exames laboratoriais, os pacientes muitas vezes são diagnosticados em exames de rotina, ainda na fase assintomática. Os depósitos de ferro podem ser revelados através de biópsia hepática, entretanto essa abordagem invasiva vem sendo substituída pela quantificação hepática e cardíaca do ferro por ressonância magnética, além do amplo emprego da pesquisa molecular das mutações da hemocromatose (20,27).

### **2.3. Síndrome Metabólica**

A síndrome metabólica (SM) é caracterizada por uma série de fatores que aumentam o risco de doenças cardiovasculares e diabetes, tais como obesidade abdominal, hiperglicemia combinada a resistência à insulina, dislipidemia e hipertensão. Também é conhecida como Síndrome X, Síndrome de resistência a insulina, quarteto mortal, entre outros. Os critérios diagnósticos para síndrome metabólica variam na literatura, sendo alguns universais nas diferentes classificações: pressão arterial maior que 130/85 mmHg,

triglicéridos acima de 150mg/dL, HDL (*high density lipoprotein*) abaixo de 50mg/dL em mulheres e abaixo de 40mg/dL em homens, glicemia em jejum acima de 100mg/dL e aumento de circunferência abdominal (1-4).

Em 2001 a NCEP (*The National Cholesterol Education Program*) publicou um relatório com critérios para o diagnóstico da SM. Em 2005 este foi atualizado e considera portador de SM o indivíduo que apresentar três ou mais dos seguintes critérios: obesidade abdominal, dislipidemia, hipertensão, hiperglicemia, ou tratamento para as três últimas citadas (2). Já a IDF (*International Diabetes Federation*) divulgou em 2006 que os valores de corte para medida da circunferência abdominal devem considerar a origem étnica dos indivíduos e o sexo. Ainda de acordo com o IDF, é considerado portador de SM o indivíduo que apresentar obesidade abdominal acima dos valores estabelecidos e dois ou mais dos seguintes parâmetros alterados: hiperglicemia, dislipidemia, hipertensão, ou tratamento para estas três últimas citadas (1). A Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, publicada em 2005, preconiza o uso dos critérios da NCEP/ATP III para avaliação e diagnóstico da SM (44). Os critérios de diagnóstico de Síndrome Metabólica de acordo com as entidades que os propõem encontram-se na Tabela 1.

Tabela1. Critérios de Inclusão de Síndrome Metabólica

Parâmetros	IDF*	NCEP**	WHO***
<b>Requisito</b>	Cintura $\geq 94$ cm (homens) ou $\geq 80$ cm (mulheres)		Resistência à insulina maior que 25%; glicemia jejum $\geq 110$ mg/dL, glicemia $120' \geq 140$ mg/dL
<b>Números de anormalidades</b>	Duas ou mais	Três ou mais	Duas ou mais
<b>Glicemia jejum</b>	$\geq 100$ mg/dL ou tratamento para diabetes	$\geq 100$ mg/dL ou tratamento para diabetes	
<b>Colesterol HDL</b>	$< 40$ mg/dL (homens) e $< 50$ mg/dL (mulheres)	$< 40$ mg/dL (homens) e $< 50$ mg/dL (mulheres)	$< 35$ mg/dL (homens) e $< 40$ mg/dL (mulheres)
<b>Triglicerídeos</b>	$\geq 150$ mg/Dl	$\geq 150$ mg/dL	$\geq 150$ mg/Dl
<b>Circunferência abdominal</b>		$\geq 102$ cm (homens) ou $\geq 88$ cm (mulheres)	Razão Cintura/quadril $> 0,9$ (homens) ou $> 0,85$ (mulheres) ou IMC $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup>
<b>Pressão arterial</b>	$\geq 130/85$ ou tratamento para hipertensão	$\geq 130/85$ ou tratamento para hipertensão	$\geq 140/90$ mmHg

\* *International Diabetes Federation*(2006); \*\* *National Cholesterol Education Program/ATP III* (2005); \*\*\* *World Health Organization* (1999).

A prevalência da SM está aumentando. De acordo com os dados da *National Health and Nutrition Examination Survey*, entre 1988 e 1994 vinte e dois por cento dos indivíduos em análise possuíam SM (45). Já entre 1999 e 2002, aproximadamente 34% enquadravam-se dentro dos critérios de SM (45,46). Um estudo brasileiro indica a presença de SM em 46% dos pacientes usando critérios da IDF e em 35% quando o critério adotado é da *National Cholesterol Education Program/ATP III* (5). Dados em relação a população brasileira são escassos e discrepantes considerando a extensão do país e suas diferenças populacionais(31,35,36,37,38,39). Em recente revisão sistemática, Carvalho Vidigal *et al.* estimaram a prevalência de SM na população brasileira em 29,6% (4).

As causas da SM ainda não estão totalmente esclarecidas, porém há o consenso de que a resistência à insulina e obesidade central são os principais fatores, associados a predisposição genética, sedentarismo, fumo, dieta desbalanceada, envelhecimento, estados inflamatórios, alterações hormonais e grupo étnico (1-4,44). Estudos demonstram o aumento de risco de desenvolvimento de diabetes do tipo 2 em pacientes com SM. Ford ES e colaboradores afirmam que o risco relativo para desenvolvimento de diabetes

do tipo 2 varia de 3,53 a 4,42 utilizando critérios da NCEP e IDF, respectivamente(47). Ainda, a IDF afirma que o indivíduo com SM possui um risco de 5 vezes maior para desenvolver diabetes do tipo 2 (1). Outra importante implicação clínica da SM é o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, uma das principais causas de mortalidade em todo o mundo. Estudos indicam um risco que varia de 1,53 a 2,35 maior do paciente com SM apresentar alguma complicação cardíaca quando comparados a pessoas sem esta condição (48-52). Este aumento de risco parece ocorrer independentemente do grau de obesidade (53). A doença gordurosa do fígado, que varia desde esteatose hepática isolada até variados graus de inflamação e fibrose, também é comumente associada a SM. Estudos indicam que a resistência à insulina é o principal fator associado ao depósito de gordura no fígado (47,48). NAFLD afeta 20-34% da população ocidental e já pode ser considerada um componente da SM, pois aumenta o risco de doença cardiovascular, independente dos clássicos fatores de risco (55). Embora apenas 15% dos pacientes com SM apresentem hiperferritinemia, o crescente número de casos desta síndrome faz que com, em números absolutos, esses valores sejam bastante consideráveis (11). Esse percentual eleva-se a 30% quando junto a SM associa-se NAFLD, fazendo com que sejam necessários exames que apurem se há ou não sobrecarga de ferro hepática (10). Algumas hipóteses tentam explicar a correlação entre SM e suas implicações clínicas, dentre elas a de que a ingestão excessiva de calorias, combinada a uma condição inflamatória, aumentaria as taxas de mediadores que induziriam possivelmente a resistência à insulina e o estresse oxidativo (4).

#### **2.4. DIOS**

A associação entre hiperferritinemia, NAFLD (*Nonalcoholic fatty liver disease*) e SM vem sendo descrita como DIOS (*Dysmetabolic Iron Overload Syndrome*), hiperferritinemia dismetabólica, entre outros (10,14). Mendler et al. definem DIOS como a sobrecarga hepática de ferro associada a pelo menos uma característica de SM, com ou sem NAFLD (56). Acredita-se que esteatose, SM, resistência a insulina e predisposição genética podem alterar o mecanismo de transporte do ferro, e conseqüentemente gerar acúmulo de ferro no fígado, embora o mecanismo ainda não esteja esclarecido

(10-15). DIOS é detectada em cerca de um terço dos pacientes que apresentam NAFLD e SM, e sua incidência aumenta junto com o sobrepeso e diabetes(10,12).

Apesar de não apresentar sintomas claros, DIOS pode ser diagnosticado em consultas de rotina facilmente. O ferro sérico e a saturação da transferrina permanecem normais ou suavemente elevados, enquanto a ferritina apresenta valores bastante elevados (10,12,13). O fígado pode apresentar depósitos de ferro com padrão misto de acúmulo no hepatócito e no sinusóide hepático, porém a quantidade de ferro acumulada em geral é leve, diferente da hemocromatose onde o acúmulo de ferro é mais pronunciado (12).

A hepcidina, considerada a principal reguladora do metabolismo do ferro, apresenta-se elevada em pacientes com DIOS, indicando que a síntese deste hormônio não está prejudicada e é responsiva aos níveis de ferritina, quando comparada com pacientes portadores de HH, onde os níveis geralmente menores sugerem uma produção deficiente (10,11,14,15,57). Tanto a proteína quanto seu mRNA apresentam-se elevados em paciente com DIOS quando comparados a portadores de SM e HH (14,15,57).

A modulação da hepcidina se dá pela quantidade de ferro circulante e estocado, atividade eritopoiética, hipóxia, inflamação, entre outros, e envolve vias da IL6 e citocinas (14,57). A produção hepática de hepcidina correlaciona-se diretamente com a quantidade de ferro hepático, porém ainda não está totalmente esclarecido o aumento da produção da hepcidina em pacientes portadores de SM (57).

Alguns estudos demonstram a produção de hepcidina pelo tecido adiposo em obesos mórbidos, podendo contribuir discretamente na elevação da taxa deste hormônio (15). A apresentação clínica de DIOS é bastante similar a um tipo específico de HH tipo IV, que acomete a ferroportina, onde ocorre perda de função, elevação dos níveis de hepcidina e acúmulo de ferro nas células reticuloendoteliais. Nestes casos, é de valia diagnóstica a pesquisa de mutação SLC40A1, afim de diferenciar as doenças (11). Aparentemente, no DIOS a progressão do acúmulo de ferro é neutralizado pela elevada produção de



hepcidina, gerando uma sobrecarga hepática de ferro mediana que tende a um platô (14).

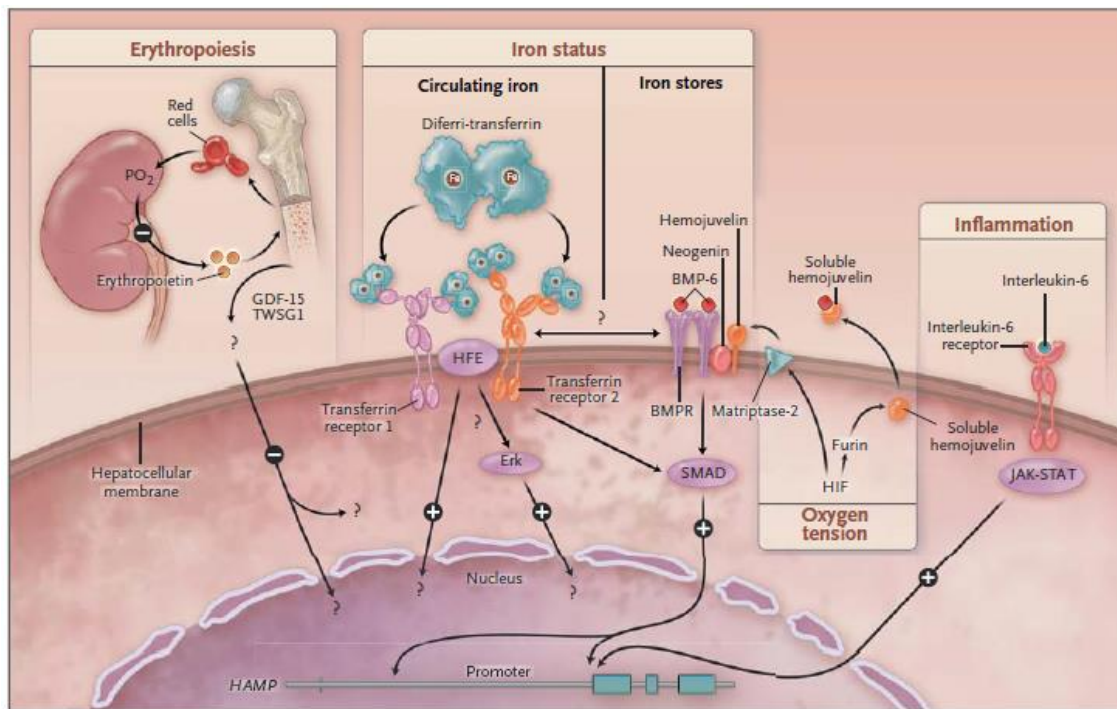


Figura 2: Regulação da expressão da hepcidina

Fonte: Fleming, 2012 (18)

Inúmeras alterações metabólicas são provocadas pelo DIOS. Acredita-se que alterações nas moléculas que regulam a liberação do ferro (ceruloplasmina, ferroportina) possam estar alteradas pela inflamação e desbalanço de micronutrientes. Foi observada uma regulação negativa da ferroportina em pacientes com NASH (*Non-alcoholic steatohepatitis*), mesmo com a hepcidina em altos níveis (10). A ceruloplasmina também sofre alterações, já que os níveis de cobre em pacientes com NAFLD são menores que os esperados. A ferroportina também sofre influencia do cobre, visto que este metal induz a expressão de ambas, ferroportina e ceruloplasmina. A enzima SOD1, responsável pela neutralização do dano oxidativo, também necessita de quantia de cobre para seu correto funcionamento, e neste caso está com sua atividade anti-oxidante reduzida (10,15,58).

Alterações no tecido adiposo também estão presentes em pacientes com NAFLD e sobrepeso. A obesidade por si só está associada a um processo inflamatório crônico do tecido adiposo, que quando associado com NAFLD pode

a agravar o dano hepático evoluindo a NASH. Alguns estudos demonstram alteração em importantes adipocinas, como a adiponectina, a leptina e a resistina. A adiponectina desempenha papel anti-inflamatório inibindo a esteatose e está reduzida em obesos, portadores de diabetes do tipo 2 ou com resistência à insulina e em NAFLD. A leptina, que controla o apetite e estimula o gasto energético revertendo os danos da esteatose, apresenta níveis elevados em obesos, sugerindo resistência. A resistina, que atua inibindo a sinalização insulínica, está presente em elevadas concentrações em obesos e em ratos submetidos a uma dieta com excesso de ferro (10,59-63).

Contribuições para o desenvolvimento de resistência à insulina (RI) em pacientes com DIO são sendo estudadas por vários grupos que propõem mecanismos que por si só são capazes de induzir a RI, e quando associados tem esse efeito aumentado. O ferro, por estar em excesso, aumenta a geração de radicais livres que promove um estresse oxidativo nas células beta das ilhotas de Langerhans, reduzindo a secreção de insulina (63). A liberação do fator de necrose tumoral (TNF $\alpha$ ) nos macrófagos e nas células de Kupffer promove uma regulação negativa da sinalização da insulina e ainda é capaz de reduzir os níveis de adiponectina (64). As alterações no tecido adiposo também podem induzir a resistência à insulina, como já exposto por diversos grupos. Nestes estudos, camundongos e cultura de adipócitos tratados com sobrecarga de ferro reduzem a expressão e a quantidade de adiponectina, que também atua na sensibilização à insulina (61). A associação entre resistência à insulina e a sobrecarga de ferro pode ser bidirecional, já que elevados níveis de insulina estimulam a produção de ferritina, que facilita a absorção de ferro, porém contraditoriamente o ferro diminui a extração e metabolismo de insulina pelo fígado, gerando uma hiperinsulinemia periférica que pode elevar o estresse oxidativo e este inibe a ação da insulina (63).

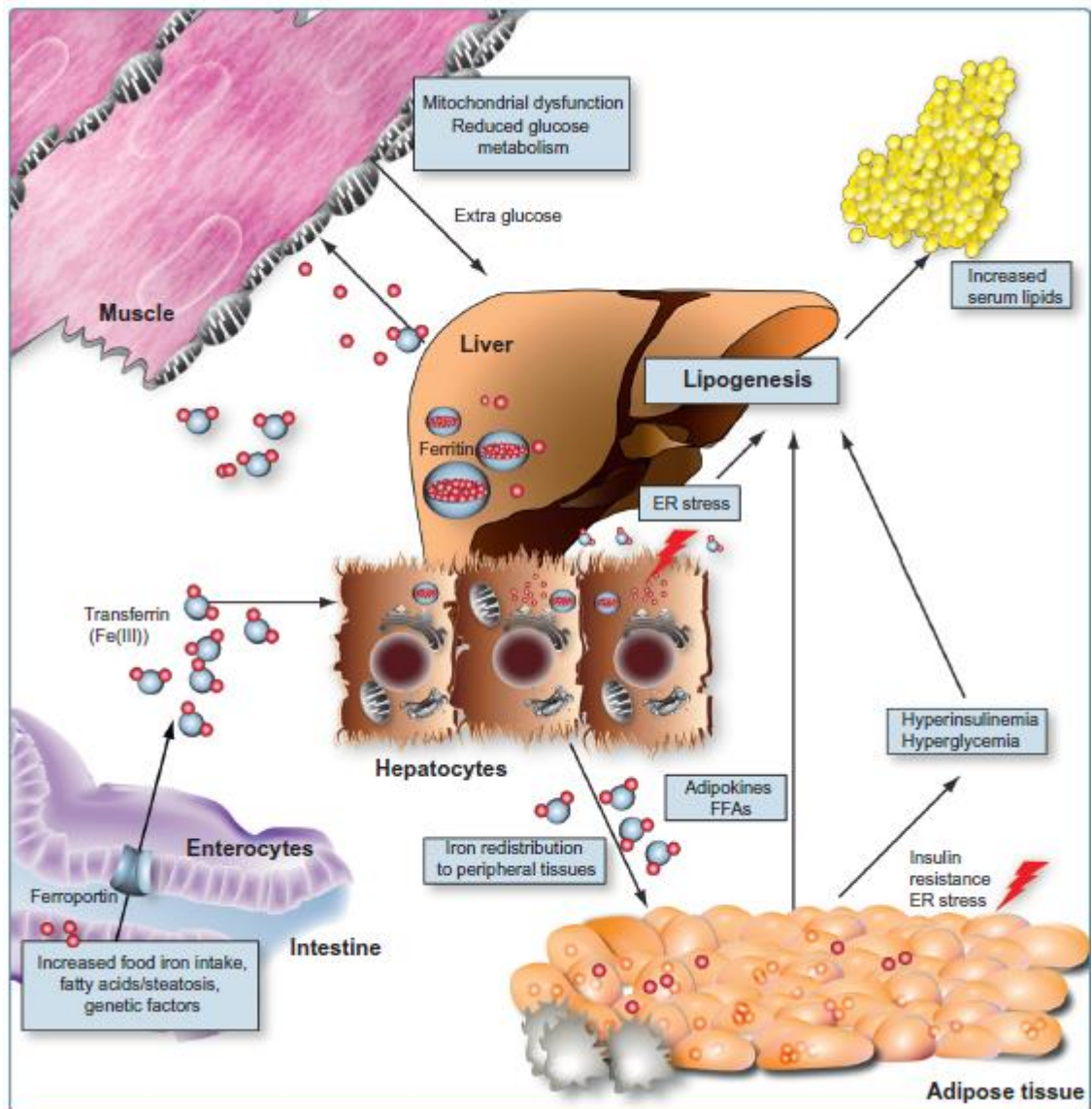


Figura 3: Resistência à insulina induzida pelo ferro.

Fonte: Dongiovanni, 2011 (10)

Dados da literatura sugerem que independente do acometimento hepático de indivíduos portadores de NAFLD, o fato de possuir depósito de ferro, mesmo que em níveis intermediários, por si só já é capaz de contribuir para a evolução da doença (65,66). O ferro com seu poder catalítico de formação de radicais livres através das reações de Fenton, pode causar peroxidação de lipídios gerando produto capaz de ativar as células estreladas do fígado, levando a fibrogênese. Ainda, as células estreladas possuem receptores para ferritina, sugerindo que a esta, atuando como uma citocina pró-inflamatória, estimule os fibroblastos hepáticos (67). Acredita-se que o ferro

funcione como um fator adicional de agressão a um órgão que já está lesado(10,65,66).

A deposição de ferro nas placas ateromatosas também correlaciona DIOs com aumento de risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Vários mecanismos já foram propostos na tentativa de elucidar o mecanismo do dano, entre eles a transformação dos macrófagos em células espumosas devido ao aumento de estresse oxidativo causado pelo ferro em excesso, a toxicidade direta do metal ao endotélio, e que altos níveis de hepcidina, induzidos pela inflamação e obesidade promoveriam uma maior captação de ferro pelos macrófagos presentes na placa ateromatosa, contribuindo com o dano (10,55,68).

Embora controversa, a depleção de ferro através de flebotomias tem mostrado bons resultados, não apenas normalizando os níveis de ferro, mas também mostrando impacto positivo sobre a resistência à insulina, níveis de glicose e hemoglobina glicada, pressão sanguínea, melhor relação da relação LDL/HDL, melhoria na frequência cardíaca de repouso e redução do dano vascular (10,12,15,55,69). Antes da decisão por esta conduta, alguns parâmetros devem ser avaliados com cautela, uma vez que a hiperferritinemia pode não indicar um estado de sobrecarga de ferro, já que altera-se mediante quadros inflamatórios, por exemplo. A quantificação do ferro hepático deve ser realizada mediante biópsia ou por ressonância magnética e, se confirmada, a flebotomia é indicada (15). O acompanhamento dos níveis de ferritina são necessários para detectar a recorrência de sobrecarga e indicar ou não novas flebotomias (12). É um procedimento seguro, geralmente bem tolerado e de baixo custo, além daqueles instituídos para a SM. Ademais, o aumento de estoques dos bancos de sangue é benéfico para fins de saúde pública em países cuja legislação permite a doação nestes pacientes (69).

## **2.5 ESTRATÉGIAS PARA LOCALIZAR E SELECIONAR AS INFORMAÇÕES**

Esta revisão da literatura está focada nos aspectos relacionados à hiperferritinemia associada a SM. A estratégia de busca envolveu as seguintes bases de dados: PubMed e banco de teses da CAPES, no período de 1990 a

2014. Foram realizadas buscas através dos termos “*metabolic syndorme*”, “*hyperferritinemia*”, “*hepcidin*”, “*hereditary hemochromatosis*”, “*dysmetabolic iron overload disease*” e suas combinações.

### 3. JUSTIFICATIVA

I

Pacientes com SM podem apresentar distúrbios do metabolismo do ferro, sendo a ferritina sérica elevada um parâmetro comumente observado nesta síndrome. Não havendo um claro mecanismo fisiopatológico para esta condição, e levando em consideração que poucos estudos avaliaram a sua prevalência em nosso meio, faz-se necessário um estudo que avalie tal relação na população brasileira bem como a proposição de um biomarcador que permita sua análise diferencial em relação a outras condições relacionadas ao acúmulo de ferro.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo geral**

Avaliar a prevalência das alterações de marcadores do metabolismo do ferro e alterações moleculares no gene HFE em pacientes portadores de Síndrome Metabólica que estão em acompanhamento no Ambulatório de Medicina Interna do HCPA.

### **4.2 Objetivos específicos**

a) Avaliar o metabolismo de ferro através de três parâmetros - ferritina, saturação da transferrina e hepcidina – em pacientes que apresentam Síndrome Metabólica.

b) Correlacionar parâmetros de sobrecarga de ferro (ferritina, saturação da transferrina e hepcidina) com parâmetros metabólicos (medida da cintura, glicemia de jejum, H HDL, triglicerídeos e pressão arterial) e presença de mutações mais comuns da hemocromatose.

c) Avaliar a prevalência das mutações C282Y e H63D que acometem o gene HFE.

## 5. REFERÊNCIAS

1. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome. Disponível em [http://www.idf.org/webdata/docs/IDF\\_Meta\\_def\\_final.pdf](http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf).
2. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). JAMA, 2001 May 16;285(19):2486-97.
3. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO Consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1999. Disponível em: [http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/who\\_ncd\\_ncs\\_99.2.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/who_ncd_ncs_99.2.pdf).
4. de Carvalho Vidigal F, Bressan J, Babio N, Salas-Salvadó J1. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. BMC Public Health. 2013 Dec 18;13:1198.
5. Nakazone MA et al. Prevalence of metabolic syndrome using NCEP-ATPIII and IDF definitions in Brazilian individuals. Rev Assoc Med Bras. 2007 Sep-Oct;53(5):407-13.
6. Vieira EC, et al. Prevalence and factors associated with Metabolic Syndrome in elderly users of the Unified Health System. Rev Bras Epidemiol. 2014 Dec;17(4):805-17.
7. Moreira GC, et al. Prevalence of metabolic syndrome: association with risk factors and cardiovascular complications in an urban population. PLoS One. 2014 Sep 2;9(9):e105056.
8. Salaroli LB, et al. Prevalence of metabolic syndrome in population-based study, Vitória, ES-Brazil. Arq Bras Endocrinol Metabol. 2007 Oct;51(7):1143-52.



9. da Rocha AK, et al. Prevalência da síndrome metabólica em indígenas com mais de 40 anos no Rio Grande do Sul, Brasil. *Rev Panam Salud Publica*. 2011 Jan;29(1):41-5.
10. Dongiovanni P et al. Iron in fatty liver and in the metabolic syndrome: a promising therapeutic target. *J Hepatol*. 2011 Oct;55(4):920-32.
11. Chen LY, et al. Dysmetabolic hyperferritinemia is associated with normal transferrin saturation, mild hepatic iron overload, and elevated hepcidin. *Ann Hematol*. 2011 Feb;90(2):139-43.
12. Bardou-Jacquet E et al. Long-term course after initial iron removal of iron excess in patients with dysmetabolic iron overload syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2014 Apr;26(4):418-21.
13. Martinelli N, et al. Increased serum hepcidin levels in subjects with the metabolic syndrome: a population study. *PLoS One*. 2012;7(10):e48250
14. Trombini P, et al. Hepcidin response to acute iron intake and chronic iron loading in dysmetabolic iron overload syndrome. *Liver Int*. 2011 Aug;31(7):994-1000
15. Datz C, et al. Iron homeostasis in the metabolic syndrome. *Eur J Clin Invest*. 2013 Feb;43(2):215-24.
16. Grotto HZW. Metabolismo do ferro: uma revisão sobre os principais mecanismos envolvidos na sua homeostase. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2008;30(5):390-397
17. Santos PCJL et al. Alterações moleculares associadas à hemocromatose hereditária. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. 2009;31(3):192-202
18. Fleming, R. E. and P. Ponka (2012). Iron overload in human disease. *N Engl J Med* 366(4): 348-359.
19. Ganz T et al. Iron metabolism: interactions with normal and disordered erythropoiesis. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 May;2(5):a011668.

20. Bacon BR et al. Diagnosis and management of hemochromatosis: 2011 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2011 Jul;54(1):328-43.
21. Simpson RJ et al. Regulation of intestinal iron absorption: the mucosa takes control? *Cell Metab*. 2009 Aug;10(2):84-7.
22. Henneberg R et al. Ferrocínética e Índices hematológicos no diagnóstico laboratorial da Anemia Ferropriva - Revisão Bibliográfica. *NewsLab*, v. 107, p. 134-144, 2011
23. Dunn LL et al. Iron uptake and metabolism in the new millennium. *Trends Cell Biol*. 2007 Feb;17(2):93-100.
24. Bartnikas TB. Known and potential roles of transferrin in iron biology. *Biometals*. 2012 Feb 1.
25. Torti FM et al. Regulation of ferritin genes and proteins. *Blood*. 2002 May 15;99(10):3505-16.
26. Vaisman B et al. Ferritin expression in maturing normal human erythroid precursors. *Br J Haematol*. 2000 Aug;110(2):394-401.
27. Colli ML. Prevalência das mutações C282Y e H63D no gene da Hemocromatose Hereditária (HFE) em pacientes com Diabetes Mellito tipo 2 e a sua relação com as complicações crônicas. 2007. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas: Endocrinologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Maio 2007.
28. Goot K. et al. Elevated serum ferritin - what should GPs know? *Aust Fam Physician*. 2012 Dec;41(12):945-9.
29. Chang JS, et al. Serum ferritin and risk of the metabolic syndrome: a population-based study. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2013;22(3):400-7.
30. Adams, PC. et al. HFE mutations in Caucasian participants of the Hemochromatosis and Iron Overload Screening study with serum ferritin level <1000 microg/L *Can J Gastroenterol*. 2013 Jul;27(7):390-2.

31. McLaren GD et al. Clinical manifestations of hemochromatosis in HFE C282Y homozygotes identified by screening. *Can J Gastroenterol*. 2008 Nov;22(11):923-30.
32. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology*. 2010 Aug;139(2):393-408, 408.
33. Cançado RD et al. Estudo das mutações C282Y, H63D e S65C do gene HFE em doentes brasileiros com sobrecarga de ferro. *Rev. bras. hematol. hemoter*. 2007;29(4):351-360
34. Bittencourt PL et al. Analysis of HFE and non-HFE gene mutations in Brazilian patients with hemochromatosis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009;64(9):837-41
35. Cançado RD et al. Analysis of HFE gene mutations and HLA-A alleles in Brazilian patients with iron overload. *Sao Paulo Med J*. 2006 Mar 2;124(2):55-60.
36. Torres FR et al. Frequency of the HFE C282Y and H63D polymorphisms in Brazilian malaria patients and blood donors from the Amazon region. *Genet Mol Res*. 2008 Jan 25;7(1):60-4.
37. Santos PC et al. Hereditary hemochromatosis Mutations in genes involved in iron homeostasis in Brazilian patients. *Blood Cells Mol Dis*. 2011 Apr 15;46(4):302-7.
38. Ganz T et al. The hepcidin-ferroportin system as a therapeutic target in anemias and iron overload disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2011;2011:538-42.
39. Siddique A et al. Review article: the iron overload syndromes. *Aliment Pharmacol Ther*. 2012 Apr;35(8):876-93.
40. Chen J et al. Hereditary hemochromatosis and transferrin receptor 2. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Mar;1820(3):256-63.

41. Lima Santos PC et al. Hemojuvelin and Hpcidin Genes Sequencing in Brazilian Patients with Primary Iron Overload. *Genet Test Mol Biomarkers*. 2010 Dec;14(6):803-6.
42. Kowdley KV. Iron, Hemochromatosis, and Hepatocellular Carcinoma. *Gastroenterology*. 2004;127:S79–S86
43. Hernaez R et al. Hemochromatosis gene and nonalcoholic fatty liver disease. A systematic review and meta-analysis. *J Hepatol*. 2011 Nov;55(5):1079-85.
44. Sociedade Brasileira de Hipertensão, Sociedade Brasileira de Cardiologia, Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia, Sociedade Brasileira de Diabetes, Sociedade Brasileira de Estudos da Obesidade: I Diretriz brasileira de diagnóstico e tratamento da síndrome metabólica. *Arq Bras Cardiol* 2005, 84:3–28.
45. Ford ES et al. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: finding from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA*. 2002 Jan 16;287(3):356-9.
46. Ford ES. Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. *Diabetes Care*. 2005 Nov;28(11):2745-9.
47. Ford ES et al. Metabolic syndrome and incident diabetes: current state of the evidence. *Diabetes Care*. 2008 Sep;31(9):1898-904
48. Galassi A, et al. Metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis. *Am J Med*. 2006 Oct;119(10):812-9.
49. Gami AS, et al. Metabolic syndrome and risk of incident cardiovascular events and death: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Jan 30;49(4):403-14.

50. Mansur Ade P, et al. Mortality due to cardiovascular diseases in Brazil and in the metropolitan region of São Paulo: a 2011 update. *Arq Bras Cardiol.* 2012 Aug;99(2):755-61.
51. Ford ES. Risks for all-cause mortality, cardiovascular disease, and diabetes associated with the metabolic syndrome: a summary of the evidence. *Diabetes Care.* 2005 Jul;28(7):1769-78.
52. Mottillo S, et al. The metabolic syndrome and cardiovascular risk a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2010 Sep 28;56(14):1113-32.
53. Meigs JB, et al. Body mass index, metabolic syndrome, and risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Aug;91(8):2906-12.
54. Sanyal AJ, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology.* 2001 Apr;120(5):1183-92.
55. Valenti L, et al. Serum ferritin levels are associated with vascular damage in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011 Aug;21(8):568-75.
56. Mendler MH, et al. Insulin resistance-associated hepatic iron overload. *Gastroenterology.* 1999 Nov;117(5):1155-63.
57. Barisani D, et al. Hcpidin and iron-related gene expression in subjects with Dysmetabolic Hepatic Iron Overload. *J Hepatol.* 2008 Jul;49(1):123-33.
58. Aigner E, et al. A role for low hepatic copper concentrations in nonalcoholic Fatty liver disease. *Am J Gastroenterol.* 2010 Sep;105(9):1978-85.
59. Aigner E, et al. Obesity as an emerging risk factor for iron deficiency. *Nutrients.* 2014 Sep 11;6(9):3587-600

60. Gabrielsen JS, et al. Adipocyte iron regulates adiponectin and insulin sensitivity. *J Clin Invest*. 2012 Oct 1;122(10):3529-4010.
61. Dongiovanni P, et al. Dietary iron overload induces visceral adipose tissue insulin resistance. *Am J Pathol*. 2013 Jun;182(6):2254-63.12
62. Nikonorov AA, et al. Mutual interaction between iron homeostasis and obesity pathogenesis. *J Trace Elem Med Biol*. 2014 May 24.12.
63. Choi JS, et al. Effects of excess dietary iron and fat on glucose and lipid metabolism. *J Nutr Biochem*. 2013 Sep;24(9):1634-44
64. Valenti L, et al. Tumor necrosis factor alpha promoter polymorphisms and insulin resistance in nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*. 2002 Feb;122(2):274-80.
65. Kew MC. Hepatic iron overload and hepatocellular carcinoma. *Liver Cancer*. 2014 Mar;3(1):31-4015.
66. Dongiovanni P, et al. Hepatocellular carcinoma in nonalcoholic fatty liver: role of environmental and genetic factors. *World J Gastroenterol*. 2014 Sep 28;20(36):12945-55.
67. Ruddell RG, et al. Ferritin functions as a proinflammatory cytokine via iron-independent protein kinase C zeta/nuclear factor kappaB-regulated signaling in rat hepatic stellate cells. *Hepatology*. 2009 Mar;49(3):887-900
68. Sullivan JL. Macrophage iron, hepcidin, and atherosclerotic plaque stability. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2007 Sep;232(8):1014-20.
69. Houshyar KS et al. Effects of phlebotomy-induced reduction of body iron stores on metabolic syndrome: results from a randomized clinical trial. *BMC Med*. 2012 May 30;10:54.

## **6. ARTIGO ORIGINAL**

O presente trabalho foi submetido em 30/11/2014 para apreciação na revista *Annals of Internal Medicine* e encontra-se em avaliação pelos revisores desta.

## **Hepcidin is a useful biomarker to evaluate hyperferritinemia associated with metabolic syndrome**

Mariana Reis Rauber<sup>I</sup>, Diogo André Pilger<sup>II</sup>, Daiane Keller Cecconello<sup>II</sup>, Frederico S. Falcetta<sup>IV</sup>, Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber<sup>I, III, IV</sup>

I Programa de Pós Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

II Departamento de Análises, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

III Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

IV Serviço de Medicina Interna, Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Porto Alegre, Brazil

### **Corresponding Author:**

Gustavo Adolpho Moreira Faulhaber

Serviço de Medicina Interna, Hospital de Clínicas de Porto Alegre,

Rua Ramiro Barcelos 2350 - Sala 700 – CEP 90035-903

Porto Alegre, Brazil

E-mail: [gfaulhaber@hcpa.ufrgs.br](mailto:gfaulhaber@hcpa.ufrgs.br)

Tel: + 55 51 3359-8152

### **FINANCIAL SUPPORT**

Incentive Fund for Research and Events of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (FIPE/HCPA)



**Abstract**

**Introduction:** Metabolic syndrome (MS) has a high prevalence in the world population, and hyperferritinemia is a frequent finding in these patients. The investigation of the increased ferritin in this syndrome represents a diagnostic challenge, often requiring expensive tests, but is essential for identification of patients with iron overload.

**Objective:** To evaluate biochemical and molecular parameters related to iron metabolism in patients with MS.

**Methods:** In a cross-sectional study, we evaluated 94 patients with MS according to the criteria of the International Diabetes Federation who were accompanied in the outpatient clinics of internal medicine, Hospital de Clínicas de Porto Alegre. We evaluated anthropometric data and diagnostic criteria for MS, iron dosage, ferritin, transferrin saturation, hepcidin, besides the C282Y and H63D mutations in the HFE hemochromatosis gene.

**Results:** The prevalence of hyperferritinemia in the study population was 27.7% and was higher in males (53.8%) than in females (14.5%) ( $p < 0.001$ ). The elevation of transferrin saturation, but not ferritin, did relate with mutations the hemochromatosis gene. Hyperferritinemia related to transferrin saturation ( $p < 0.001$ ) and hepcidin ( $p = 0.008$ ) after logistic regression analysis.

**Conclusion:** Hyperferritinemia is a frequent finding in metabolic syndrome, most frequently in men. Determination of transferrin saturation is a good parameter for screening of patients with hemochromatosis mutation, as already demonstrated in literature. Hepcidin is a new biomarker with promising potential in investigating hyperferritinemia associated with metabolic syndrome.

Keywords: ferritin, hepcidin, metabolic syndrome, iron

## **Introduction**

Metabolic Syndrome (MS) affects approximately 20 to 25% of the adult population and is characterized by factors that increase the risk for cardiovascular disease and diabetes, such as abdominal obesity, hyperglycemia associated with insulin resistance, dyslipidemia and hypertension (1-4). Among laboratorial findings, hyperferritinemia is present in approximately 15% of cases (5).

Hyperferritinemia should be carefully assessed in this population, since only 10% are due to true iron overload (6). Other conditions can cause an increase of this protein, such as inflammatory processes, cancer, infections, alcoholism, nonalcoholic steatohepatitis (NASH), neurodegenerative and chronic liver diseases (6-9).

Hepcidin acts as a negative regulator of iron absorption and release, and could be an important marker to differentiate hyperferritinemia associated with MS and one due to hereditary hemochromatosis, which typically has a low serum hepcidin (10-12).

The objective of this study is to evaluate hyperferritinemia in patients with MS, its associated factors and the use of hepcidin dosage as a potential biomarker to help analysing common causes of iron accumulation.

## **Materials and methods**

A total of 94 patients from Internal Medicine clinic of Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) were enrolled. All of them were 18 years or older, with SM according to criteria of the IDF (International Diabetes Federation) (1) and consulted from May 2013 to November 2013. We excluded patients with daily intake of ethanol greater than or equal to 60g for men and 30g for women, diagnosis of chronic viral hepatitis, previous diagnosis of hereditary hemochromatosis and individuals who did more than two donations of blood in the previous year. Patients signed informed consent and were weighted, had height and waist circumference measured and a peripheral blood sample was

collected. The projects were approved by the Ethics Committee of HCPA under number 80094 and 182301.

#### *Biochemical analysis*

Serum samples were collected for determination of iron, ferritin and transferrin saturation. Analyses were performed in HCPA Clinical Pathology Service using Advia 1800® and Advia Centaur (Siemens Diagnostics, Deerfield, IL, USA). To determine the serum iron, ferritin and transferrin saturation were used the colorimetric methods, direct chemiluminescence and release and sequentially iron sequestration, respectively. The reference values for ferritin adjusted for gender were 10 to 291ng/mL for women and 22 to 322 ng/mL for men. Being considered hyperferritinemia values above the upper limit. Determination of glucose, cholesterol, HDL cholesterol and triglycerides were obtained from medical records.

#### *Determination of hepcidin*

To determine the levels of serum hepcidin, we used the enzyme immunoassay (ELISA) method through Hepcidin25 kit ® (bioactive) ELISA (DRG Diagnostics, Germany) according to manufacturer's recommendations. The method has a sensitivity of 0.35ng/mL and linearity of 0.35 to 80ng/mL.

#### *Molecular analysis of the presence of C282Y and H63D mutations in the HFE gene*

Immediately after sample collection using EDTA anticoagulant, its DNA was extracted through commercial kit PureLink Genomic DNA Mini Kit® (Invitrogen, USA) and subsequently the nucleic acid was freezed at -80°C for the analysis. To evaluate the presence of C282Y and H63D mutations in the HFE gene, initially the gene was amplified as described by Cardoso et al. (12). The amplifications were performed on a Veriti thermocycler (Applied Biosystems, USA) with annealing temperature of 63°C for C282Y and 50°C for H63D. The products were analyzed by electrophoresis in 1.5% agarose gel impregnated with GelRed®. Then, the amplified products were digested using restriction enzymes (C282Y by SnaBI at 37°C for 1h30min and for H63D by BclI for

1h30min at 50°C) adapted from Cardoso et al (12). The analysis of the fragments was performed by electrophoresis in 3.0% agarose gel impregnated with GelRed®. As positive controls, we used heterozygote and homozygote samples identified by direct DNA sequencing.

### *Statistical Analysis*

Data were analyzed in the Statistical Package for the Social Sciences, SPSS for Windows v16.0 (SPSS, Chicago, Ill., USA). Results were expressed as mean and standard deviation when parametric and medians and quartiles intervals when nonparametric. Patients with normal ferritin and hyperferritinemia were compared by T-student test or Mann–Whitney test, where applicable. Spearman correlation was done among all quantitative variables. Variables with  $p < 0.05$  were considered significant and were included in the logistic regression model.

### **Results**

Table 1 summarizes demographics, clinical and biochemical parameters analyzed in the study patients. Most patients consisted of women with a mean age of 62.9 years and BMI of 34.69 and were classified on average as obese. According to the IDF (1), the other parameters are in accordance with the criteria for diagnosis of metabolic syndrome.

Hyperferritinemia prevalence in the study population was 27.7%. No patient was homozygous for C282Y; heterozygous for C28Y represented 14.9% and the absence of this mutation represented 85.1% of the population. Only 2 (2.1%) patients had a homozygous for H63D mutation, 24.5% were heterozygous and 73.4% didn't have the mutation. One patient (1.6%) was heterozygous for both analyzed mutations.

Subsequently, patients were divided into two distinct groups: normal ferritin and with hyperferritinemia. Among the analyzed diagnostic criteria for metabolic syndrome, only the dosage of triglycerides and HDL showed differences between the groups. Presence high blood glucose levels, BMI and waist circumference had similar results, as well as the presence or absence of C282Y and H63D mutations.

Ferritin did not correlate with glucose ( $p=0.306/\rho=0.10$ ), HDL-cholesterol ( $p=0.185/\rho=-0.135$ ), LDL cholesterol ( $p=0.577/\rho=0.058$ ), diabetes ( $p=0.052/\rho=-0.201$ ), hypertension ( $p=0.426/\rho=0.083$ ) and dyslipidemia ( $p=0.190/\rho=-0.136$ ). There was a significant correlation with cholesterol ( $p=0.037/\rho=0.216$ ). Transferrin saturation correlated with the presence of heterozygosity in H63D ( $p=0.031/\rho=0,225$ ).

## Discussion

Approximately a quarter of the world population has MS, and although only 15% of patients with MS show hyperferritinemia, a large number of patients have this condition (1-3,5). Although the large number of female included, our results indicate the presence of hyperferritinemia in 27.7% of the study population, which are superior to those already found by Chen et al (5).

Hyperferritinemia were more common among men. This could be related to a greater prevalence of NASH among men (13). Women have also lower iron storage due to menstrual loss and may reflect a lower serum ferritin. This is in agreement with other studies that consider the male as a risk factor for iron accumulation (10).

Hepcidin presented in higher levels in patients with hyperferritinemia, indicating that synthesis of this hormone is not impaired and is responsive to ferritin levels. Some studies demonstrate the same hepcidine increase pattern in patients with or without metabolic syndrome associated hyperferritinemia when compared with patients with hereditary hemochromatosis and insulin resistance (15-18). Hepatic production of hepcidin is directly related to the amount of liver iron, but the increased production of hepcidin in patients with MS is not yet fully clarified (19).

There was significant difference in transferrin saturation between patients with and without hyperferritinemia, but both groups had levels within the normal range, indicating a small increase in patients with higher amount of available iron. Transferrin saturation, when high, suggests iron overload due to hemochromatosis, becoming an important tool for diagnosis (12). In cases of hyperferritinemia associated with MS, transferrin saturation is usually within normal levels, being less useful in investigating this cases (5).

This study investigated the hepcidin levels in patients with MS and hyperferritinemia, discarding the iron accumulation was caused by the most common mutations in the HFE gene (C282Y and H63D). A limitation of our study was not testing for the mutation that affects the ferroportin, which has similar clinical presentation (hyperferritinemia and hiperhepcidinemia), and did not assess the burden of liver iron using magnetic resonance imaging or liver biopsy (12).

Hyperferritinemia is a common finding in patients with MS. When evaluated in conjunction with the transferrin saturation and this presents high, one can direct research for mutations in the HFE gene. However, transferrin saturation values within the normal range need more testing, and hepcidin proved to be a promising tool in the diagnosis of hyperferritinemia related to metabolic syndrome.

#### REFERENCES:

1. International diabetes federation, the IDF consensus worldwidedefinition of the metabolic syndrome. Available: [http://www.idf.org/webdata/docs/IDF\\_Meta\\_def\\_final.pdf](http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Meta_def_final.pdf).
2. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP). JAMA, 2001 May 16;285(19):2486-97
3. World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO Consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 1999. Available: [http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/who\\_ncd\\_ncs\\_99.2.pdf](http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/who_ncd_ncs_99.2.pdf) . OMS Expert
4. de Carvalho Vidigal F, Bressan J, Babio N, Salas-Salvadó J1. Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. BMC Public Health. 2013 Dec 18;13:1198.

5. Chen LY, et al. Dysmetabolic hyperferritinemia is associated with normal transferrin saturation, mild hepatic iron overload, and elevated hepcidin. *Ann Hematol.* 2011 Feb;90(2):139-43.
6. Goot K. et al. Elevated serum ferritin - what should GPs know? *Aust Fam Physician.* 2012 Dec;41(12):945-9.
7. Chang JS, et al. Serum ferritin and risk of the metabolic syndrome: a population-based study. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2013;22(3):400-7.
8. Vaisman B et al. Ferritin expression in maturing normal human erythroid precursors. *Br J Haematol.* 2000 Aug;110(2):394-401.
9. Colli ML. Prevalência das mutações C282Y e H63D no gene da Hemocromatose Hereditária (HFE) em pacientes com Diabetes Melito tipo 2 e a sua relação com as complicações crônicas. 2007. 87f. Dissertação (Mestrado em Ciências Médicas: Endocrinologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Maio 2007.
10. Dongiovanni P et al. Iron in fatty liver and in the metabolic syndrome: a promising therapeutic target. *J Hepatol.* 2011 Oct;55(4):920-32.
11. Trombini P, et al. Hepcidin response to acute iron intake and chronic iron loading in dysmetabolic iron overload syndrome. *Liver Int.* 2011 Aug;31(7):994-1000 Fleming, R. E. and P. Ponka (2012). "Iron overload in human disease." *N Engl J Med* 366(4): 348-359.
12. Cardoso EM, et al. HFE mutations in patients with hereditary haemochromatosis in Sweden. *J Intern Med.* 1998 Mar;243(3):203-8.
13. Williams CD et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology.* 2011 Jan;140(1):124-31
14. Adams, PC. et al. HFE mutations in Caucasian participants of the Hemochromatosis and Iron Overload Screening study with serum ferritin level <1000 microg/L *Can J Gastroenterol.* 2013 Jul;27(7):390-2.

15. Santos JL et al. Alterações moleculares associadas à hemocromatose hereditária Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2009;31(3):192-202
16. Datz C, et al. Iron homeostasis in the metabolic syndrome. Eur J Clin Invest. 2013 Feb;43(2):215-24
17. Martinelli N, et al. Increased serum hepcidin levels in subjects with the metabolic syndrome: a population study. PLoS One. 2012;7(10):e48250
18. Barisani D, et al. Hepcidin and iron-related gene expression in subjects with Dysmetabolic Hepatic Iron Overload. J Hepatol. 2008 Jul;49(1):123-33.



**Table 1: Patients demographics (n=94)**

Gender	
Male *	39 (41.5)
Female*	55 (58.5)
Age (years)*	62.19 ±8.63
BMI*	34.69 ± 5.91
Abdominal Circumference (cm) *	114.61±11.7
SBP (mmHg)*	137±18
DBP (mmHg)*	81.97±13
Glucose (mg/dL)*	143±56
Cholesterol (mg/dL) *	187.2±46
HDL(mg/dL) *	41.7±8
Triglycerides(mg/dL) **	181 (133-182)
Iron (µg/dL) *	78.96±24.56
Saturation of Transferrin (%)*	25.7±8.9
Ferritin(ng/mL) **	165.8 (73.9-355.9)
Hepcidin(ng/dL) **	34 (7-480)

Data expressed in \*mean ±SD and n(%) and \*\*median (quartis)

BMI=body means index; SBP= systolic blood pressure; DBP= diastolic blood pressure; HDL= high-density lipoprotein.

Table 2: Hyperferritinemia and associated factors

	Normal ferritin level	Hiperferritinemia	<i>P</i> Univariate	<i>P</i> Multivariate*
Gender				
Male	18/39(46,1)	21/39 (53,8)	<b>&lt;0.001</b>	0.148
Female	47/55 (85.4)	8/55 (14.5)		
Age (years)	62.1	62.2	0.957	
BMI			0.481	
Abdominal Circumference(cm)	114.5	114.8	0.919	
Glucose (mg/dL)	139.9	151.1	0.392	
Cholesterol (mg/dL)	179.7	206.8	<b>0.010</b>	0.771
Triglycerides (mg/dL)	202.0	339.8	<b>&lt;0.001</b>	0.395
HDL (mg/dL)	42.9	38.6	<b>0.020</b>	0.376
Saturation of Transferrin (%)	23.3	31.9	<b>&lt;0.001</b>	<b>&lt;0.001</b>
Hepcidin (ng/dL)	28.0	49.8	<b>&lt;0.001</b>	<b>0.008</b>
<i>Diabetes</i>	59/77 (76.6)	18/77 (23.3)	0.07	
No-Diabetes	9/17 (52.9)	8/17 (47.0)	0.07	
C282Y Normal	58/80 (72.5)	22/80 (27.5)	1.0	
Mutation C282Y	10/14 (71.4)	4/14(28.5)	1.0	
H63D Normal	52/69 (75.3)	17/69 (24.6)	0.49	
Mutation H63D	16/25 (64)	9/25 (36)	0.49	

\* Logistic Regression

BMI=body means index; HDL= high-density lipoprotein

## 7. CONSIDERAÇÕES FINAIS:

O presente trabalho é o primeiro estudo nacional avaliando metabolismo de ferro e hiperferritinemia na síndrome metabólica. Estes resultados agregam maior conhecimento sobre o assunto, uma vez que existem poucos relatos sobre a associação entre SM e hiperferritinemia em nossos pacientes.

A presença de hiperferritinemia na nossa população foi superior a já relatada por outros autores, alertando que este número pode ser mais prevalente que o imaginado em nosso país.

A hepcidina, por sua vez, parece ser um ensaio promissor para avaliação da hiperferritinemia nesta população, devendo ser alvo de estudos maiores sendo comparando com a medida direta do ferro hepático. Parece ter papel importante na fisiopatologia da hiperferritinemia associada a SM.

A pesquisa das mutações da hemocromatose tem papel pouco relevante na avaliação da hiperferritinemia nesta condição clínica, devendo seu uso ser reservado a um pequeno subgrupo de pacientes: aqueles com saturação de transferrina elevada e/ou hepcidina baixa.


Outro estudo promissor nessa área seria a avaliação do polimorfismo da ferroportina em pacientes com hiperferritinemia e síndrome metabólica, uma vez que seus mecanismos fisiopatológicos parecem semelhantes.

Os projetos de pesquisa, bem como o TCLE foram aprovados pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) do HCPA (anexos 8.1 e 8.2).

## 8. ANEXOS

### ANEXO I

Cartas de aprovação dos projetos 12.0281 e 13.0003



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE**  
**GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

**COMISSÃO CIENTÍFICA**

A Comissão Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre analisou o projeto:

**Projeto:** 120281  
**Data da Versão do Projeto:**


**Pesquisadores:**  
GUSTAVO ADOLPHO MOREIRA FAULHABER  
SIMONE MARTINS DE CASTRO  
TANIA WEBER FURLANETTO  
MARIANA REIS RAUBER  
VLADIMIR VICENTE CANTARELLI  
DIOGO ANDRÉ PILGER

**Título:** Avaliação do metabolismo do ferro em pacientes portadores de Síndrome Metabólica.

Este projeto foi **APROVADO** em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.  
Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG)

Porto Alegre, 24 de setembro de 2012.

  
Prof. Nadine Clausell  
Coordenadora GPPG



HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE  
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

COMISSÃO CIENTÍFICA

A Comissão Científica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre analisou o projeto:

**Projeto:** 130003

**Data da Versão do Projeto:**

**Pesquisadores:**

GUSTAVO ADOLPHO MOREIRA FAULHABER

SIMONE MARTINS DE CASTRO

TANIA WEBER FURLANETTO

FREDERICO SOARES FALCETTA

MARIANA REIS RAUBER

VLADEMIR VICENTE CANTARELLI

DIOGO ANDRÉ PILGER

**Título:** Avaliação molecular do gene HFE em pacientes com Hiperferritinemia associada à Síndrome Metabólica

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos, metodológicos, logísticos e financeiros para ser realizado no Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Esta aprovação está baseada nos pareceres dos respectivos Comitês de Ética e do Serviço de Gestão em Pesquisa.

- Os pesquisadores vinculados ao projeto não participaram de qualquer etapa do processo de avaliação de seus projetos.

- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação (GPPG)

Porto Alegre, 16 de janeiro de 2013.

  
Prof. Flávio Kapczinski  
Coordenador GPPG/HCPA

## ANEXO II

## Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O Serviço de Medicina Interna do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), pelo presente termo de consentimento, convida o (a) Sr(a) \_\_\_\_\_ a participar de um estudo que tem o objetivo de avaliar os níveis de ferritina, saturação de transferrina e hepcidina em paciente que possuem Síndrome Metabólica (conjunto de condições que aumentam o risco de doenças cardiovasculares). Concordando em participar, o (a) Senhor (a) responderá a um questionário e será submetido a uma única coleta de sangue e, caso necessário, uma ecografia abdominal. Estes materiais serão analisados no Serviço de Patologia Clínica do HCPA e na Faculdade de Farmácia da UFRGS, na cidade de Porto Alegre. O risco de estudo é apenas o da “picada da agulha”, que pode causar uma mancha roxa no local e, raramente, inflamação da veia. A ecografia pode apresentar um leve desconforto ao passar gel na sua pele. A sobra da amostra coletada vai ser congelada para futuras análises genéticas. Todos os pacientes poderão saber os resultados de seus exames. Os nomes dos voluntários serão mantidos em segredo e os resultados serão utilizados apenas para publicação científica. Se for identificada alguma alteração nos exames, seu médico assistente será informado. Para seu esclarecimento, o Sr (a) poderá entrar em contato com o Dr. Gustavo Faulhaber, no Serviço de Medicina Interna do HCPA (Rua Ramiro Barcelos, 2350 sala 700) telefone 3359-8152, ou com a mestranda Mariana Rauber.

O Sr (a) é livre para participar do estudo ou não. O atendimento na unidade será mantido do mesmo modo, mesmo que não queira participar.

Eu, \_\_\_\_\_ aceito participar do estudo “*Avaliação do metabolismo de ferro em pacientes portadores de Síndrome Metabólica.*” e declaro que também fui informado:

- Da garantia de receber resposta de qualquer pergunta sobre o estudo e da liberdade de retirar meu consentimento a qualquer momento, sem prejuízo em seu atendimento na instituição;
- Do caráter confidencial das informações relacionadas com minha privacidade;
- De que não terei despesas por participar do estudo.

Este termo foi elaborado em duas vias, uma ficará com o Sr(a) e a outra ficará com os pesquisadores.

Em casos de dúvidas éticas, o Sr(a) poderá entrar em contato o Grupo de Pesquisa do HCPA pelo telefone (51) 3359 8304.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do paciente

\_\_\_\_\_  
Nome e Assinatura do pesquisador

Data:

## ANEXO III

## Instrumento de coleta de dados

Nome: \_\_\_\_\_

Número: \_\_\_\_\_

Prontuário: \_\_\_\_\_ Telefone: \_\_\_\_\_ Data da  
Coleta: \_\_\_\_\_

Data de Nascimento: \_\_\_\_\_

Sexo: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ Altura: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_ Cintura: \_\_\_\_\_

Circunferência Abdominal: \_\_\_\_\_ Pressão Arterial: \_\_\_\_\_

Glicemia Jejum \_\_\_\_\_ Colesterol Total: \_\_\_\_\_ Triglicerídeos: \_\_\_\_\_  
HDL: \_\_\_\_\_Hemoglobina Glicada: \_\_\_\_\_ TGO: \_\_\_\_\_ TGP: \_\_\_\_\_ Gama-  
GT: \_\_\_\_\_ PCR: \_\_\_\_\_**Diagnóstico/Tratamento:**

Diabetes: ( ) Metformina ( ) Sulfoniluréia ( ) Insulina ( ) Outros: \_\_\_\_\_

Dislipidemia: ( ) Sinvastatina ( ) Pravastatina ( ) Fibrato ( ) Outros: \_\_\_\_\_

Hipertensão: ( ) Diurético ( ) IECA ( ) Beta-Bloq ( ) Inibidor de Cálcio ( )  
Outros: \_\_\_\_\_

Hipotireoidismo: ( ) Levotiroxina

Anticoncepcional Oral ( ) Outras Medicções/Diagnósticos \_\_\_\_\_

Doação sangue (vezes ao ano) \_\_\_\_\_

**Critérios de Exclusão:**

Hepatite viral Crônica ( ) Hemocromatose: ( )

Ingestão alcoólica: Dose (mL ao dia) \_\_\_\_\_ Tipo de bebida \_\_\_\_\_

**Resultados:**

Ferritina \_\_\_\_\_ Transferrina: \_\_\_\_\_ Ferro: \_\_\_\_\_ Sat transferrina \_\_\_\_\_

Hepcidina \_\_\_\_\_ Eco abdominal: \_\_\_\_\_

C282Y: \_\_\_\_\_ H63D: \_\_\_\_\_