

# Demir Birikimi Olan Hastada C282y/H63d Mutasyonu: Herediter Hemokromatozis Olgusu

## C282y/H63d Mutation In A Patient with Iron Overload: A Case of Hereditary Hemochromatosis

**Mutay Aslan**

Akdeniz üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Antalya

**Başvuru Tarihi:** 27.12.2012

**Kabul Tarihi:** 24.02.2013

### ÖZET

Herediter Hemokromatozis (HH) demir metabolizmasının genetik bir bozukluğudur. Bu hastalık tanısını alanlarda barsaktan anormal miktarda demir emilmesine bağlı demir birikimi görülür. Demir birikimi olan hastaların çoğu HFE geninde C282Y mutasyonu için homozigot olmakla beraber, bir kısım hastada C282Y/H63D heterozigotluğu da rapor edilmektedir. Bu çalışmada HFE geninde birleşik C282Y/H63D heterozigotluğu tespit edilen bir olgu sunumu yapılmıştır.

C282Y/H63D mutasyonları 5' nükleaz gerçek zamanlı PCR analizi ile değerlendirilmiştir. Serum ferritin düzeyi elektrokemilüminesans yöntemiyle, transferrin ölçümleri ise nefelometrik yöntemle yapılmıştır. Diğer biyokimyasal parametreler Roche Hitachi Cobas 8000 modüler oto-analizöründe ölçülmüştür.

Hasta demir birikimi, artmış serum ferritin ve transferrin saturasyonuna sahiptir. Bileşik C282Y/H63D heterozigotluğu tespit edilen hastaya HH tanısı konulmuştur.

Serum ferritin ve transferrin yüksekliği tespit edilen olgularda hasta ve birinci derece akrabalarına HFE mutasyon taraması önerilmesi HH tanısı konulmasına olanak sağlayacaktır.

**Anahtar Sözcükler:** Hemokromatozis; ferritin; transferrin

### ABSTRACT

Hereditary hemochromatosis (HH) is a genetic disorder of iron metabolism which leads to irregular iron absorption from the intestine and iron overload in patients diagnosed with the disease. The majority of patients with clinical iron overload are homozygous for the C282Y mutation in the HFE gene, however C282Y/H63D heterozygosities are reported in some patients. In this study, we report a case of compound heterozygosity (C282Y/H63D) in the HFE gene.

C282Y and H63D mutations were evaluated via 5' nuclease real time PCR analysis. Serum ferritin was measured by electro-chemiluminescence immunoassay while transferrin was determined via nephelometric method. Other biochemical parameters were measured by Roche Hitachi Cobas 8000 Modular Analyzer.

The patient had increased serum ferritin and transferrin saturation. C282Y/H63D compound heterozygote mutations were determined in the patient that was subsequently diagnosed with hereditary hemochromatosis.

Conclusion: Screening of HFE mutations in all patients and first degree relatives that have increased serum ferritin and transferrin saturation will enable the diagnosis of HH.

**Key Words:** Hemochromatosis; ferritin; transferrin

## GİRİŞ

Hemokromatozis terimi, bütün demir birikim hastalıklarını kapsamaktadır (1). Demir birikim hastalıklarından bazısının altında hastalığı oluşturacak herhangi ikincil bir bozukluk bulunmamaktadır ve bunlar primer hemokromatozis olarak isimlendirilir (2). Diğerleri başka bir hastalığa, özellikle ineffectif eritropoez ile ilişkili hastalıklara bağlı gelişir ki bunlar sekonder olarak tanımlanır (2).

Geleneksel olarak genetik aşırı demir birikimi herediter hemokromatozis (HH) olarak isimlendirilir. Demir metabolizma bozukluğunun prototipidir. Çeşitli parankimal organlarda progresif demir birikimine bağlıdır. Otozomal resesif geçiş gösterir (3). Kuzey Avrupa'da sık görülmektedir. Prevalansı 1:250 ile 1:500 arasındadır (4). Herediter hemokromatozis kompleks, patogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin rol aldığı kalıtsal bir hastalıktır. Duodenumdan ve üst ince barsaktan fazla miktarda demir emilmesine bağlı karaciğer, dalak, pankreas, eklem, kalp, hipofiz bezi ve deri gibi bir çok organda progresif demir birikimi sonucu geri dönüşümsüz son organ hasarı görülür. Hastaların erken tanı alması ve flebotomiye uygun zamanda başlanmasıyla siroz, hepatoselüler kanser, artrit, diyabetes mellitus (DM) ve diğer endokrin sisteme ait komplikasyonlar önlenir (5).

Hemokromatozis gen (HFE) mutasyonunun 1996 yılında keşfedilmesiyle, tarama yapılarak HH'nin klinik semptomları gelişmeden önce hastalığın saptanabilmesi mümkün olmuştur. Hemokromatozis geni (HFE) 6. kromozomda, HLA-A lokusunda bulunur. HFE geni MHC klas I molekülü olan 343 aminoasitlik HFE proteinini kodlar (1).

Hereditör Hemokromatozis: I- Hemokromatozis proteini (HFE) ilişkili HH; II- Non-HFE ilişkili HH olarak sınıflandırılmaktadır. Hemokromatozis proteini ilişkili HH, C282Y homozigotluğu (282ci aminoasitte sisteinin tirozine yer değiştirmesi) veya C282Y/H63D heterozigotluğu (282ci aminoasitte sisteinin tirozine yer değiştirmesi/ 63cü aminoasitte histidin aspartik asid yer değiştirmesi) olarak görülür. Non-HFE ilişkili HH ise, Juvenil Hemokromatozis (hemojuvelin ve hepsidin ilişkili), Transferrin Reseptör-2 ilişkili Hemokromatozis veya Ferroportin ilişkili HH şeklinde ortaya çıkar (6).

## OLGU SUNUMU

On beş yaşında erkek hasta hepatit B taşıyıcısı olan kardeşi ile beraber kontrol amaçlı doktora gittiklerinde yapılan tetkiklerde karaciğer enzimleri yüksek bulunmuş. Karaciğer enzim yüksekliği ile ilgili yapılan araştırmaları sonucunda demirinin de yüksek olduğu tespit edilmiş. Flebotomiye başlanmış ve tüm kontrollerde demir düzeyi yüksek çıkan hasta ileri tetkik ve tedavi için Pediatrik Gastroenteroloji Polikliniğine gönderilmiş. Öz geçmişinde prenatal ve natal özellik yok. Suni sancıyla 40. haftada doğmuş. 2.5 yaşında kasık fitiği ameliyatı olmuş. Soy geçmişinde, anne 48 yaşında, hepatit B taşıyıcısı, hipotiroid. Baba 52 yaşında, hepatit B taşıyıcısı. Ablası ve ikiz kardeşi hepatit B taşıyıcısı. Anne ve baba teyze çocukları. Fizik muaynesinde hastanın genel durumu iyi, koopere, oryante. Ağırlık 32 kg, boy 143 cm (3. persentilin altında). Baş-boyun, solunum, kardiyovasküler sistem, batin muayenesi (hepatosplenomegali yok), ekstremiteler ve nörolojik muayene doğal. Hastanın laboratuvar sonuçları Tablo 1'de verilmiştir. Hasta-

**Tablo 1.** Sunulan olgunun laboratuvar sonuç bilgileri.

Test	Sonuç	Alt Sınır	Üst Sınır
Albumin	4.55 g/L	3.4	4.8
ALT	172 U/L	0	41
AST	116 U/L	0	38
GGT	14 U/L	8	61
Total Bilirubin	0.47 mg/dl	0.1	1.1
Direkt Bilirubin	0.05	0	0.3
Total CK Aktivitesi	356 U/L	38	174
CK-MB Aktivitesi	29 U/L	0	24
Demir	246 µg/dL	59	158
Ferritin	1272 ng/ml	30	400
Transferrin	282 mg/dl	200	360
Total Demir Bağlama Kapasitesi	255 µg/dL	228	428
Alfa-1 Antitripsin	102 mg/dL	90	200
HAV IGM	Negatif		
HBS AG	Negatif		
HBS AB	1000 IU/L		
HBC IGM	Negatif		
HBC AB Total	Negatif		
HBE AG	Negatif		
HBE AB	Negatif		
HCV AB	Negatif		
Delta AB	Negatif		
HIV 1+2 AB (CORE+ENV)	Negatif		
HBV DNA (Kantitatif)	Negatif		

da alanin transaminaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), total kreatin kinaz (CK) aktivitesi, CK-MB aktivitesi, demir ve ferritin düzeyleri yüksek bulunmuştur. Transferrin saturasyonu (TS)'nin %45'in üstünde olması hemokromatozis tanısında değerlidir. Transferrin saturasyonunun hesaplanması için gerekli formül:  $TS = (\text{serum demir konsantrasyonu} / \text{total demir bağlama kapasitesi}) \times 100$ . Sunulan olguda TS %96 olarak hesaplanmıştır  $((246 \mu\text{g/dL} / 255 \mu\text{g/dL}) \times 100 = 96)$ . Laboratuvar analizlerinde hastanın hepatit B taşıyıcısı olmadığı da tespit edilmiştir.

Hastanın genomik DNA örneğinden yapılan HFE ilişkili HH mutasyon analizi 5' nükleaz real-time polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) analizi ile gerçekleştirilmiştir. Bu analizde hem normal HFE geni primerleri hem de mutant HFE geni primerleri hasta DNA örneği ile muamele edilmiş ve real time PCR

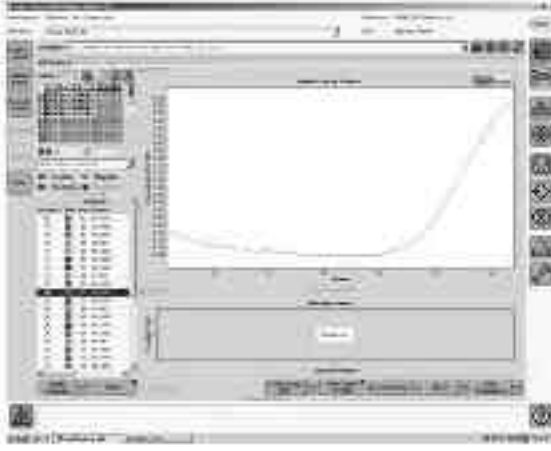
analizi gerçekleştirilmiştir. Hastada yapılan HFE ilişkili HH mutasyon analizi sonuçları Şekil 1'de verilmiştir. Hasta HFE C282Y/H63D birleşik heterozigot birey olarak tespit edilmiş ve tanı primer Hereditör Hemokromatozis olarak konulmuştur.

#### TARTIŞMA

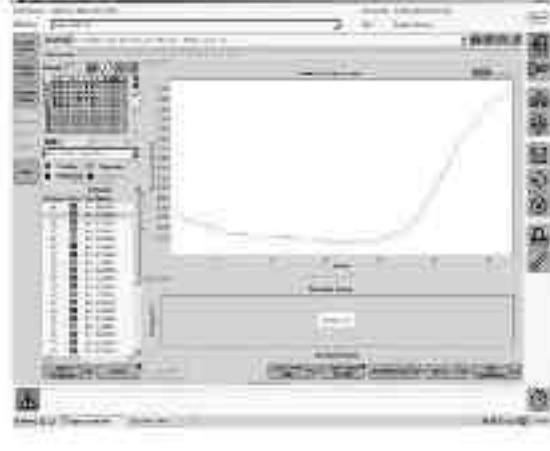
Hemokromatozisten şüphelenilen hastaların tanısında öncelikle serum ferritin düzeyi ve açlık serum transferrin saturasyonu (TS) bakılmalıdır (7). Sunulan olguda ALT, AST, serum ferritin düzeyi ve serum transferrin saturasyonu yüksek bulunmuştur. Laboratuvar analizlerinde hastanın hepatit B taşıyıcısı olmadığı tespit edilmiştir. Serum ferritin düzeyi alkolik karaciğer hastalığı, hepatit C enfeksiyonu, nonalkolik steatohepatit gibi bazı durumlarda da yükselebilir. Ayrıca, bilindiği gibi ferritin bir akut faz reaktandır;

**Şekil 1.** Sunulan olguda HFE ilişkili Herediter Hemokromatozis mutasyon analizi.

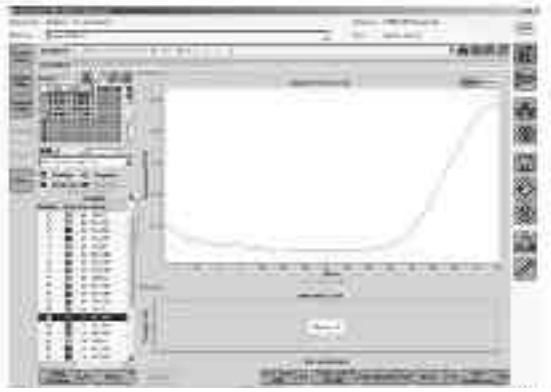
A) H63D mutant PCR sonucu



B) H63D normal PCR sonucu



C) C282Y mutant PCR sonucu



D) C282Y normal PCR



A, B, C ve D'deki şekiller mutant ve normal HFE gen bölgelerinin amplifikasyon eğrilerini göstermektedir. Y eksenini floresan şiddetini, X eksenini ise PCR döngülerini göstermektedir. C282Y ve H63D gen bölgelerinde hem mutant hem de normal primerler amplifikasyon göstermiştir.

enfeksiyon ve neoplastik hastalık varlığında düzeyini yüksek saptayabiliriz (8). Dolayısıyla ferritin HH tanısı için spesifik değildir, bu nedenle TS ile birlikte değerlendirilmesi doğru olacaktır. TS'nin %45'in üstünde olması tanıda değerlidir. Serum ferritin düzeyi ve TS'nun normal sınırlar içinde çıkması HH tanısından uzaklaştırmaktadır (9).

1996 yılından önce HH tanısı koymak için demir düzeyleri yüksek saptanan hastalara karaciğer biyopsisi planlanırdı, fakat HFE gen mutasyonunun keşfedilmesinden sonra biyopsi yerini zamanla genetik incelemelere bırakmıştır (10). Günümüzde C282Y ve H63D mutasyonu tam kandan PCR ile saptanabilmektedir. Hastalarda biyokimyasal olarak demir birikiminin olması ve homozigot

C282Y mutasyonunun saptanması HH tanısı için yeterlidir ve hastalar flebotomi ile tedavi edilebilirler (11). En yaygın görülen ve en belirgin demir aşırı birikimiyle karakterize durum C282Y homozigot hastalardır. C282Y, H63D birlikte heterozigot tespit edilen hastalar orta şiddette demir birikimi gösterirken, H63D homozigot ve C282Y heterozigot fenotipe sahip kişiler genellikle normaldir (12). Herediter hemokromatozis tanısı için karaciğer biyopsisi yapılması gerekli değildir fakat biyopsi karaciğerdeki siroz ve fibrozis varlığını göstermede bize önemli bilgiler sağlar (13).

Ülkemizde 2004 yılında yapılan bir çalışmada 2677 sağlıklı kan donörü TS kullanılarak taranmıştır. TS %45 üzerinde olan

86 birey ve TS %45 altında olan 57 birey (kontrol grubu) C282Y ve H63D mutasyonu, ferritin ve ALT düzeyleri için test edilmiştir (14). C282Y mutasyonu saptanmazken, H63D mutasyon sıklığı TS %45 üzerinde olan bireylerde %27.3; TS% 45 altında olan bireylerde ise %21.1 olarak bulunmuştur. Genel grupta ise H63D sıklığı %24.8 olarak saptanmıştır. Bu çalışma sonucunda C282Y mutasyonu tespit edilmemiş fakat daha sonra yapılan çalışmalarda ve hastanemizde C282Y mutasyonu olan bireyler tespit edilmiştir. Ülkemizde tarama için öncelikle serum ferritin düzeyi ve TS'nun birlikte değerlendirilmesi daha uygun ve maliyet-etkin olacaktır.

Sonuç olarak; Sunulan olguda ALT, AST, serum ferritin düzeyi ve serum transferrin saturasyonu yüksek bulunmuştur. Günümüzde HH tanısı birinci basamakta biyokimyasal (TS ve serum ferritin düzeyi) ve ikinci basamakta genetik testlere dayanmaktadır. Böylece karaciğer biyopsisi ihtiyacında azalma görülmektedir. Yüksek ferritin düzeyi tespit edilirse ve TS %45 üzerinde ise HH tanısını kuvvetle destekler. Bu hastalarda genetik analiz için C282Y ve H63D mutasyonları araştırılabilir. C282Y homozigotluğu veya C282Y/H63D heterozigotluğu hemokromatozis proteini ilişkili HH tanısını kesinleştirir.

#### KAYNAKLAR

1. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996; 13(4): 399-408.
2. Bruce R. Bacon and Robert S. Britton. Hemochromatosis. In: Feldman Mark, ed. *Gastrointestinal and liver disease pathophysiology, diagnosis, management*. 8th ed. Canada: Saunders Elsevier, 2006: 1589-99.
3. Beutler E. Hemochromatosis: genetics and pathophysiology. *Annu Rev Med* 2006; 57: 331-47.
4. Olynyk JK, Cullen DJ, Aquilia S, Rossi E, Summerville L, Powell LW. A population-based

study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999; 341(10): 718-24.

5. O'Neil J, Powell L. Clinical aspects of hemochromatosis. *Semin Liver Dis* 2005; 25(4): 381-91.
6. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology* 2010; 139(2): 393-408.
7. Murtagh LJ, Whiley M, Wilson S, Tran H, Bassett ML. Unsaturated iron binding capacity and transferrin saturation are equally reliable in detection of HFE hemochromatosis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97(8): 2093-9.
8. Adams PC, Reboussin DM, Barton JC, McLaren CE, Eckfeldt JH, McLaren GD, et al. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population. *N Engl J Med* 2005; 352(17): 1769-78.
9. McCullen MA, Crawford DH, Dimeski G, Tate J, Hickman PE. Why there is discordance in reported decision thresholds for transferrin saturation when screening for hereditary hemochromatosis. *Hepatology* 2000; 32(6): 1410-1.
10. Janssen MC, Swinkels DW. Hereditary haemochromatosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23(2): 171-83.
11. Adams PC, Barton JC. Haemochromatosis. *Lancet* 2007; 370(9602): 1855-60.
12. Pietrangelo A. Hereditary haemochromatosis—a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004; 350(25): 2383-97.
13. Clark P, Britton LJ, Powell LW. The diagnosis and management of hereditary haemochromatosis. *Clin Biochem Rev* 2010; 31(1): 3-8.
14. Simsek H, Sumer H, Yilmaz E, Balaban YH, Ozcebe O, Hascelik G, Buyukask Y, Tatar G. Frequency of HFE mutations among Turkish blood donors according to transferrin saturation: genotype screening for hereditary hemochromatosis among voluntary blood donors in Turkey. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38(8): 671-5.

#### Yazışma adresi:

Dr. Mutay Aslan  
Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi,  
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Antalya  
Tel : 0 242 249 68 91  
Faks : 0 312 227 55 40  
E-posta: mutayaslan@akdeniz.edu.tr