

HFE geninde, C282Y homozigot mutasyonu saptanan bir olgu takdimi ve bu nedenle ailesinde HFE gen mutasyonu sıklığı

[Presentation of a case with C282Y mutation detected in HFE gene and research of HFE gene mutation frequency in patient's family]

Belkıs Aydınol¹,
Sedat Yılmaz¹,
Sedat Genç¹,
Muhammet Mustafa Aydınol²

¹Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Diyarbakır
²İl Sağlık Müdürlüğü, Diyarbakır

Yazışma Adresi
[Correspondence Address]

Belkıs Aydınol

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Diyarbakır, Türkiye
Faks. 04122488440
E-mail. aydinolb@dicle.edu.tr

Kayıt Tarihi: 7 Mart 2013; Kabul Tarihi: 29 Kasım 2013
[Registered: 7 March 2013; Accepted: 29 November 2013]

ÖZET

Giriş: Bu çalışmada D.Ü. Tıp Fakültesine müracaat eden ve homozigot C282Y mutasyonu taşıdığı saptanan 55 yaşında bir erkek hasta (indeks vaka) sunulmuş ve nadir rastlanan bir mutasyon olması dolayısıyla ailesi ve yakın akrabaları taranmıştır.

Hasta ve Metod: Çalışmada indeks vakanın ailesi ve akrabalarında, serum ALT, AST, Fe, TIBC, ferritin, %TS parametreleri incelendi. HFE genindeki Hemokromatosis mutasyonları Real-Time-PCR ile saptandı.

Bulgular: İndeks vakada homozigot C282Y mutasyonu saptandığı için akrabalarından 34 kişi de tarama yapıldı. İndeks hastada serum ferritin seviyesi 7134 ng/mL olarak ölçüldü. Hepatomegali ve KC de demir fazlalığı saptandı. Hastanın dahiliye servisinden flebotomi tavsiyesiyle taburcu edildiği öğrenildi. Akrabalarından 17 kişide C282Y heterozigot mutasyonu saptandı. 4 vakada H63D heterozigot mutasyonu saptandı. 2 vakada ise C282Y homozigot mutasyon bulundu.

Sonuç: Hereditör hemokromatosis'e yol açan HFE gen mutasyonu taraması Türkiye'de oldukça azdır. Türkiye'de ilk olarak Karadeniz bölgesinde bir ailede HFE gen mutasyonlarına rastlanmış ve bu ailede nadir görülen C282Y mutasyonu saptanmıştır. Bu çalışmada ise Diyarbakır yöresinde aile içi evliliklerin çok olduğu bir köyde yoğun HFE gen mutasyonu taşıyan ikinci bir geniş bir aile odağı ortaya çıkarılmıştır. Özellikle C282Y homozigot gen mutasyonu taşıyan iki vakanın gözetim altına alınması için gerekli girişim yapılmış ve biyokimyasal ve genetik taramaların ve genetik danışma verilmesinin toplum sağlığı açısından önemli olduğu sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hemokromatosis, HFE gen mutasyonu, C282Y, H63D

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması bulunmadığını beyan ederler.

ABSTRACT

Introduction: In this study we present a 55-year-old male patient (index case) who came to Dicle University and detected to have a homozygous C282Y mutation. His family and close relatives were also evaluated for the same reason as it is a rare mutation.

Patient and Method: We have evaluated ALT, AST, Fe, TIBC, ferritin, %TS parameters of the patient, his family, and the close relatives. Hemochromatosis mutations in HFE gene detected with Real-Time-PCR.

Result: 34 relatives of the patient were evaluated upon detection of homozygous C282Y mutation in index case. Ferritin level was 7134 ng/mL in index patient. Hepatomegaly and excess iron in liver was detected. It was learned that patient was discharged from internal diseases department by phlebotomy recommendation. In 17 relatives of the patient heterozygous C282Y mutation, in four of them heterozygous H63D mutation was detected. In two cases homozygous C282Y mutation was detected.

Conclusion: HFE gene mutation survey causing hereditary hemochromatosis is very rare in Turkey. For the first time, HFE gene mutations were encountered in a family living in Black Sea region and rare C282Y mutation was detected. In this study a second extended family focus with frequent HFE gene mutation was discovered in a village with high frequency of endogamy in Diyarbakır region. Necessary attempts were made especially for close surveillance of the two patients carrying C282Y homozygous gene mutation. We concluded that biochemical and genetic surveys and genetic consulting are important for public health.

Key Words: Hemochromatosis, HFE gene mutation, C282Y, H63D

Conflict of Interest: Authors have no conflict of interest.

Giriş

Hereditör hemokromatozis(HH), otosomal resessif geçişli bir hastalık olup vücutta demir artışıyla karakterizedir. Karaciğer başta olmak üzere çeşitli organlarda intestinal demir emilimine bağlı olarak demir birikir. Kuzey Avrupa orijinli Kafkas toplumunda % 0,2- 0,5 oranında görülmektedir. Celt orijinli Kuzey Avrupa popülasyonunda yüksek oranda C282Y mutasyonuna rastlanmıştır [1-2]. Hereditör hemokromatozisten sorumlu HFE geni 6. kromozomun HLA bölgesinde yerleşmiştir. Tek nokta mutasyonu olan G845A değişimi, 282. pozisyonadaki kodonda sisteinin, tirozine dönüşmesine sebep olur. Hemokromatozisin ağır seyretmesine sebep olan bu tiptir. Diğer iki mutasyon H63D ve S65C ise hemokromatozisin hafif formlarıdır [3]. C282Y mutasyonu Türkiyede çok nadirdir. Türkiyede daha önce yapılmış birkaç hemokromatozis araştırmalarında ise C282Y mutasyonuna hiç rastlanmamıştır [4]. Yönel ve arkadaşları 2007 de Karadeniz bölgesinde yaşayan ailede bu mutasyonu rapor etmişlerdir [5,6,7]. Bu mutasyonun görülme sebebini; tarihte Celt'lerin Türkiye'nin kuzey bölgelerine göç edip yerleşmelerine bağlamışlardır [8].

Hasta ve Yöntem: Dicle Üniversitesi Gastroenteroloji servisinde yatan 55 yaşında bir erkek hastanın(indeks vaka) genetik tetkikinin yapılması sonucu C282Y homozigot tipi bulunması üzerine hastanın aile üyeleri ve akrabalarında(toplam 34 kişide) HFE gen mutasyonları arandı. Mutasyonlar için real- time PCR tabanlı TaqMan floresans metodu uygulandı. Ayrıca serum demiri, TIBC (total demir bağlama kapasitesi), ferritin, ALT, AST ölçüldü. Ayrıca %TS (transferin satürasyon) değerleri hesaplandı.

İstatistiksel Analiz: Elde edilen verilerin tanımlayıcı istatistik değerleri ortalama ve Standart Sapma ile verildi. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin tanımlayıcı istatistikleri için minimum , maksimum ve medyan değerleri kullanıldı. Değişkenler arası ilişkiler için Pearson korelasyon katsayısı hesaplanarak test sonuçları verildi. Hipotezler çift yönlü olup,

$p \leq 0.05$ değerinde, istatistiksel farkın önemli olduğu sonucu kabul edildi. İstatistiksel analizler SPSS 15.0 for Windows (SPSS Inc., CHICAGO,IL,USA) paket programı kullanılarak yapıldı.

Bulgular: İndeks vakada, serum ferritin seviyesi 7134 nanogram/mL idi. MRI ile KC de Fe yükü fazlalığı saptandı. KC biyopsisinde aşırı demir birikimi gözleendi. Biyokimyasal parametrelerinden glukoz: 263 mg/dL, üre: 149 mg/dL, total bilirubin: 3,2 mg/dL, direkt bilirubin: 3 mg/dL, AST: 132 U/L, ALT: 82 U/L, GGT :1140 U/L, ALP: 533 U/L, TIBC <10, yaklaşık % TS : %850 idi. C282Y homozigot mutasyon saptanan İndeks vakanın akrabalarından , 17 kişide C282Y heterozigot mutasyonu, 4 vakada H63D mutasyonu, 2 vakada ise C282Y homozigot mutasyon bulundu. C282Y homozigot bulunan 2 erkek vakada %TS : % 50 ve % 52 idi. Serum demir değerleri sırayla 121 ve 127 $\mu\text{g/dL}$ idi.

Yaşları 7 ve 17 idi. Hasta yakınlarından 34 kişide ölçülen parametreler, kadın ve erkek olarak gruplanarak istatistiki sonuçlarıyla birlikte Tablo.1, 2 , 3 te verilmiştir. Hasta yakınlarının yaşları 7- 75 arasında idi: 21 kadın(4 ü çocuk), 13 erkek(2 si çocuk) idi.

Ölçülen parametrelerin normal değerleri: Serum demiri(Fe): 50-150 $\mu\text{g/dL}$, TIBC: 150-450 $\mu\text{g/dL}$,Ferritin: 13-150 ng/ml, ALT : 0-55 U/L, AST: 5-40 U/L, %TS: 25-45 alındı.

Cinsiyet dikkate alınarak değişkenler arası korelasyonlar, pearson korelasyon katsayısı (r değerleri) hesaplanarak incelenmiştir. (r) değerleri ve önemlilik düzeyleri tablo 3 te gösterilmiştir.

Tablo 3 sonuçları incelendiğinde, 34 kişilik bu grupta yaş ile demir arasında ve yaş ile %TS arasında korelasyon bulunmamıştır. Yaş ile ferritin arasındaki korelasyonun, kadınlarda orta derecede (% 51 düzeyinde) önemli olduğu bulunmuştur. ($p=0.009$). Erkeklerde ise önemsiz bulunmuştur. Ferritin ve %TS arasındaki korelasyon; kadınlarda %33 düzeyinde, erkeklerde ise, % 40.1 düzeyinde saptanmasına rağmen, korelasyon katsayılarının istatistiksel olarak önemli olmadığı bulunmuştur. ($p > 0.05$).

Tartışma ve sonuç

C282Y mutasyonu, Kuzey Avrupa kökenlilerde görülen en yaygın HFE gen mutasyonudur. Avrupa da kuzeyden güneye doğru görülme sıklığında azalma görülmektedir. Bu bulgu dünyaya da kuzey Avrupa'dan dağıldığını düşündürmektedir [9]. Bu mutasyonun sıklığının araştırıldığı bir meta-analizde 63 ayrı Avrupa popülasyonundan oluşan 10,708 akraba olmayan kişide HH 'in Avrupa'daki major sebebini bu mutasyon olduğu vurgulanmakta ve sıklığının doğuya ve kuzeye gittikçe azaldığı gösterilmektedir [10]. H63D mutasyonu dünya genelinde daha yaygın görülen bir mutasyondur. Klinik etkisi daha zayıf olmakla birlikte homozigot veya C282Y ile compound heterozigot mutasyonunun, HH riskini arttırdığı bildirilmektedir [11]. Türkiyede HFE gen mutasyonu çalışmaları çok azdır. Yapılan birkaç çalışmada H63D mutasyonuna rastlanmış, fakat C282Y bulunmamıştır [6,7,8]. C282Y taşıyan ilk aile 2007 de Yönel ve arkadaşları tarafından rapor edilmiştir [5]. Bu çalışmada ise Diyarbakır yöresinde aile içi evliliklerin çok olduğu bir köyde yoğun HFE gen mutasyonu taşıyan ikinci bir geniş bir aile odağı ortaya çıkarılmıştır. Bu ailede hastaneye müracaat eden bir C282Y homozigot mutasyon saptanan hastanın akrabalarından, 17 kişide C282Y heterozigot mutasyonu, 4 vakada H63D heterozigot mutasyonu, 2 vakada ise C282Y homozigot mutasyon bulunmuştur. C282Y homozigot bulunan 2 erkek vakada %TS : % 50 ve % 52 idi. Serum demir değerleri sırayla 121 ve 127 ($\mu\text{g/dL}$), yaşları 7 ve 17 idi. Bu vakaların ileride KC, pankreas kalp gibi organlarda demir birikiminden dolayı siroz, diabet ve eklem bozuklukları gibi hastalıklara maruz kalmaması için takip edilmeleri ve erken tedavileri gerekmektedir. Bu hastalarda

Tablo 1. HFE gen analizi yapılan kadınların biyokimyasal değişkenleri ve istatistik hesaplamalar.

Hasta	Yaş	Fe(μ g/dl)	TIBC(μ g/dL)	Ferritin (ng/mL)	ALT(U/L)	AST(U/L)	HFE mutasyon tipi (i)	%TS
1K	43	44	326	35,4	15	16	Wild (-/-)	13,4
2K	8	49	424	19,6	17	25	Wild (-/-)	11,5
3K	41	41	341	17,2	12	20	H63D (+/-)	12
4K	24	46	395	25,8	20	22	C282Y (+/-)	11,6
5K	13	63	359	51,8	15	26	H63D (+/-)	17,5
6K	12	37	313	18,3	18	23	C282Y (+/-)	11,8
7K	7	24	324	19	12	24	C282Y (+/-)	7
8K	8	63	291	40,4	14	31	C282Y (+/-)	21,6
9K	7	51	288	54,3	11	26	C282Y (+/-)	17,7
10K	26	54	318	20	10	18	C282Y (+/-)	16,9
11K	55	43	417	19,7	16	19	Wild (-/-)	10,3
12K	19	29	390	7,5	12	19	C282Y (+/-)	7,4
13K	30	45	326	159,3	36	21	H63D (+/-)	13,8
14K	30	83	385	38	9	14	C282Y (+/-)	21,5
15K	55	47	370	263	16	15	Wild (-/-)	12
16K	46	68	231	262,4	33	25	C282Y (+/-)	29
17K	31	82	256	26,8	28	28	Wild (-/-)	32
18K	75	52	290	126	10	16	C282Y (+/-)	18
19K	35	65	321	35,6	13	15	Wild (-/-)	20
20K	18	16	483	5	13	19	C282Y (+/-)	3,3
21K	20	38	426	15,7	12	14	Wild (-/-)	9
\bar{x}	28,7	49,52	346,38	*	16.28	20.76		15,1
SD	18.53	17,06	62,26	*	7.36	4.9		6,88

(i) wild:normal genotip –mutasyon yok, (+/+):homozigot mutasyon, (+/-):heterozigot mutasyon

* Kadınlarda serum ferritin, (minimum: 5 , medyan: 26.8 , maksimum: 263)ng/ml olarak gösterilmiştir

Tablo 2. HFE gen analizi yapılan erkeklerde biyokimyasal değişkenler ve istatistik hesaplamalar.

Hasta	Yaş	Fe(μ g/dL)	TIBC(μ g/dL)	Ferritin (ng/mL)	ALT(U/L)	AST(U/L)	HFE mutasyon tipi	%TS
1E	49	46	314	76.9	15	16	C282Y (+/-)	14.6
2E	10	68	280	123.6	21	27	Wild (-/-)	24
3E	45	118	321	529	20	20	C282Y (+/-)	36.7
4E	7	121	242	118.5	16	30	C282Y (+/+)	50
5E	50	84	282	292.7	15	22	C282Y (+/-)	29
6E	17	127	241	225.4	20	32	C282Y (+/+)	52
7E	65	63	212	158	12	24	Wild (-/-)	29
8E	75	118	342	35.6	15	18	C282Y (+/-)	34
9E	18	29	284	108	12	19	Wild (-/-)	10
10E	8	52	358	51.3	13	24	Wild (-/-)	14.5
11E	16	65	441	44.6	13	21	C282Y (+/-)	14.7
12E	45	107	427	175	21	17	H63D (+/-)	25
13E	31	85	284	150	20	15	C282Y (+/-)	30
\bar{x}	33.5	83.3	309	**	16.38	21,92		27.96
SD	22.76	32.4	68.51	**	3.52	5.2		13.11

**Erkeklerde serum ferritin değerleri(minimum:35.6 , medyan: 123.6 , maksimum: 529) olarak gösterilmiştir.

Tablo 3. Değişkenler arasındaki Pearson korelasyon (r) değerleri ve önem kontrolü.

	Kadınlar		Erkekler	
	r	p	r	p
Yaş-Demir	0,18	0.21	0,167	0.292
Yaş-Ferritin	0,51	0.009	0,181	0.277
Ferritin-% TS	0,33	0.07	0,401	0.087
Yaş- %TS	0,20	0.19	0,033	0.457

erken teşhis önemlidir. Aksi takdirde geri dönüşümsüz organ hasarları oluşur. Ölçülen parametrelerden % TS değerlerinin, demir birikimini göstermesi bakımından önemli bir parametre olduğu gözlenmiştir. Tablo 3 incelendiğinde kadınlarda yaş ve ferritin arasındaki korelasyon önemli bulunmuştur. Yaş ile demir ve yaş ile %TS arasında önemli bir korelasyon olmadığı görülmüştür. Ferritin ve %TS arasındaki korelasyon hem kadınlarda

hem de erkeklerde orta derecede gözlenmesine rağmen istatistiki olarak önemli bulunmamıştır. Her ikisinin beraber ölçümünün hemokromatozis çalışmalarında bir gösterge olabileceğine kesin karar verebilmek için daha geniş gruplarda araştırma yapılarak ilişkinin önemi araştırılmalıdır.

Ferritinin, HH tanısı için tek başına spesifik olmadığı, bu nedenle %TS ile birlikte değerlendirilmesinin , ayrıca %TS nin, % 45' in üstünde olmasının da tanıda değerli olacağı bazı yayınlarda belirtilmektedir [12].

Sonuç olarak, Diyarbakır'da birçok etnik grup yaşadığı için, klinik belirtiler ve işaretler belirmeden önce, hastalıkların önlenmesi ve gerekli tedbirlerin alınması için aileler, biyokimyasal ve genetik testlerle taranmalı ve akraba evliliklerinden ötürü genetik danışma hizmetleri verilmelidir. Bu ailede C282Y homozigot gen mutasyonu taşıyan iki vakanın takibi için gerekli bilgilendirme yapılmıştır.

Bilgi ve Teşekkür: Bu çalışma, 36. FEBS CONGRESS, June 25-30, 2011, Torino,İtalya'da poster olarak sunulmuştur.

Kaynaklar

- [1] Merryweather-Clarke, AT, Pointon JJ, Jouanolle AM, Rochette J, Robson KJH. Geography of HFE C282Y and H63D Mutations, *GenetTest*. 2000; 4(2): 183-198.
- [2] Burt MJ, George PM, Upton JD, Collet J A, Frampton, C M A, et al. The significance of heamochromatosis gene mutations in the general population: implications for screening. *Gut* 1998; 43: 830-836.
- [3] Candore G, Mantovani V, Balistreri CR, Lio D, Colonna-Romano G, et al. Frequency of the HFE gene Mutations in Five Italian Populations. *Blood Cells Mol. Dis*. 2002; 29(3):267-273.
- [4] Yönal O, Hatırnaz Ö, Akyüz F, Özbek U, Demir K, et al. HFE mutation, Chronic Liver Disease, and Iron Overload in Turkey. *Dig Dis Sci*. 2007; 52:3298- 3302.
- [5] Yönal O, Hatırnaz Ö, Akyüz F, Köroğlu G, Özbek U, Cefle K, et al. Definition of C282Y mutation in a hereditary hemochromatosis family from Turkey. *Turk J Gastroenterol*. 2007; 18(1) 53-57.
- [6] Şimşek H, Balaban YH, Yılmaz E, Özcebe O, Haşçelik G, et al. 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): 671-675.
- [7] Şimşek H, Balaban YH, Yılmaz E, Sümer H, Büyükaşık, Y, et al. Mutations of the HFE gene among Turkish hereditary hemochromatosis patients. *Ann Hematol*. 2005; 84(10): 646-649.
- [8] Bozkaya H, Bektas M, Metin O, Erkan O, İbrahimoğlu D, et al. Screening for hemochromatosis in Turkey. *Dig Dis Sci*. 2004; 49: 444-449.
- [9] Lucotte G, Frequency analysis and allele map in favor of the Celtic origin of the C282Y mutation of hemochromatosis. *Blood Cells Mol. Dis*. 2001; 27:549- 556.
- [10] Lucotte G, Dieterlen F. A European allele map of the C282Y mutation of hemochromatosis: Celtic versus Viking origin of the mutation. *Blood Cells Mol. Dis*. 2003; 31:262-267.
- [11] Beutler E. Genetic irony beyond haemochromatosis: clinical effects of HLA-H mutations. *Lancet*. 1997; 349:296- 297.
- [12] Aslan M. C282Y/H63D Mutation In A Patient with Iron Overload: A Case of Hereditary Hemochromatosis. *Türk Klinik Biyokimya Derg*. 2013;11(1):31-35