



Molekulargenetische Diagnostik

Eisenstoffwechsel und Hämochromatose (MIM 235200)

Häufigstes Kausales Gen :

HFE (Mutationen C282Y, H63D und S65C)

Indikationen :

Hinweise für Eisenüberladung = Transferrinsättigung > 45-50% und Serumferritin > 200-300µg/dl

Diagnosesicherung bei symptomatischen Patienten mit Leberzirrhose, Diabetes mellitus, Hypogonadismus, Kardiomyopathie, Pigmentierung (Bronzehaut), Arthritis

Identifizierung homozygoter Genträger bei positiver Familienanamnese

Anforderung :

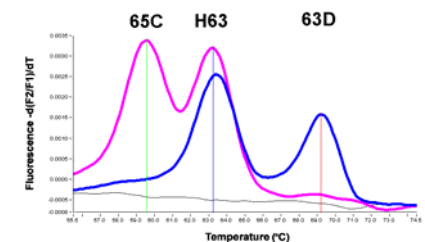
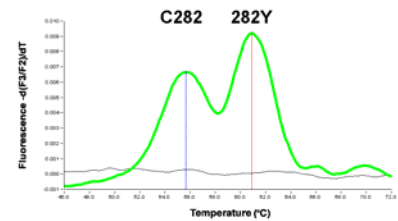
DNA-Diagnostik HFE-Gen

bestehend aus
HFE C282Y
HFE H63D
HFE S65C

Ausnahmeziffer 32010

Untersuchungsmaterial : 2 ml EDTA Blut; normaler Postversand

Dauer der Untersuchung : 3 - 5 Arbeitstage.



Selten Kausale Gene :

HFE2 a = Hämojuvelin-Gen
HFE 2b = HAMP-Gen
HFE 3 = Transferrinrezeptor (TfR 2)
HFE 4 = IREG bzw. Ferroportin 1-Gen

Indikationen : Wie oben, zusätzlich juvenile Hämochromatose, Patienten aus dem Mittelmeerraum, V.a. dominante Hämochromatose. Kontaktaufnahme empfohlen.

Anforderung :

**DNA-Diagnostik
für HFE 2a, 2b, 3 oder 4**

Ausnahmeziffer 32010

Untersuchungsmaterial : 2 ml EDTA Blut; normaler Postversand

Dauer der Untersuchung : 2 - 6 Wochen

Das Ziel der molekularen Diagnostik ist hier die frühzeitige Erkennung von Patienten mit einem erhöhten Risiko einer Eisenüberladung. Dadurch kann eine gezielte jährliche Überwachung mittels Ferritin- und Transferrinsättigungswerten bzw. die rechtzeitige präventive Therapie mittels Phlebotomien gewährleistet werden. Hinzu kommt bei der durch Mutationen im HFE-4 Gen bedingten Hämochromatose eine klare Stellung der Kontraindikation für Phlebotomien .



Häufigkeit und Klinik

Die hereditäre Hämochromatose ist eine autosomal rezessiv vererbte Erkrankung des Eisenstoffwechsels mit einer Prävalenz von 1:300 bis 1:400 in der zentraleuropäischen Bevölkerung. Die Heterozygotenfrequenz liegt bei etwa 1:10. Damit zählt die Hämochromatose zu den häufigsten vererbten Stoffwechselerkrankungen. Die Erkrankung manifestiert sich (laborchemisch) bei Männern im 4.-5. Lebensjahrzehnt, betroffene Frauen erkranken meist etwas später in der Postmenopause.

Ursächlich ist eine pathologisch gesteigerte Eisenresorption im Dünndarm. Eisen wird in der Leber an Ferritin gebunden in einer nicht-toxischen Form gespeichert. Bei chronisch progredienter Überladung wirkt das Metallion zytotoxisch und führt zur Leberzellnekrose, Fibrose und Zirrhose. Die Leberzirrhose ist irreversibel und birgt ein signifikant erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Leberzellkarzinoms. Im Pankreas löst die Toxizität des Eisens einen Diabetes mellitus aus, in der Hypophyse einen hypogonadotropen Hypogonadismus, im Herzmuskel eine Kardiomyopathie. Die Pathogenese der Arthropathie ist noch ungeklärt.

Molekulargenetik und Pathogenese

HFE oder HFE-1: 1995 wurden Mutationen des sogen. HFE-Gens auf Chromosom 6 als molekulare Ursache der Erkrankung erkannt. Bei mehr als 80% der betroffenen Patienten in Zentraleuropa, Nordamerika und Australien handelt es sich um eine homozygote Punktmutation, **C282Y**. Etwa 5% der Patienten sind compound heterozygot für zwei verschiedene Mutationen (z.B. Kombination von C282Y mit den Mutationen H63D oder S65C). Homozygot werden die H63D bzw. S65C Mutation bei etwa 1-3% der Patienten nachgewiesen. In der Regel liegt bei diesen Patienten eine milde Form der Eisenstoffwechselstörung vor.

Die **Penetranz** der ursächlichen HFE-Mutation wird derzeit auf etwa 60% geschätzt. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die klinische Symptomatik bis zum 5. Lebensjahrzehnt (Männer) bzw. nach der Menopause unspezifisch ist: Müdigkeit, Leistungsminderung, Gelenksbeschwerden, Impotenz. Veränderungen der Eisenparameter (Transferrinsättigung und Ferritin) beginnen im 3. Lebensjahrzehnt. 95% der Männer mit einer homozygoten HFE-Mutation zeigen jenseits des 40. Lebensjahres eine erhöhte Transferrinsättigung und erhöhte Ferritinwerte, aber nur 50% sind klinisch symptomatisch.

Indikationen für die Untersuchung des HFE-Genes:

Diagnosesicherung bzw. Differentialdiagnose bei Patienten mit laborchemischen Hinweisen für eine Eisenüberladung, erhöhter Transferrinsättigung (> 45-50%) und erhöhtem Serumferritin (> 200-300µg/dl)

Diagnosesicherung bei symptomatischen Patienten mit Leberzirrhose, Diabetes mellitus, Hypogonadismus, Kardiomyopathie, Pigmentierung (Bronzehaut), Arthritis

Identifizierung homozygoter Genträger bei positiver Familienanamnese

Weiter findet sich eine HFE-Mutation in **heterozygoter Form** signifikant gehäuft bei der hepatischen Porphyrrie (ca. 40% der Patienten) und Nicht-alkoholischen Steatohepatitis (ebenfalls ca. 40% der Patienten) vs. 12% der durchschnittlichen Bevölkerung: Es handelt sich bei der HFE-Mutation um einen klassischen „genetic modifying factor“ für diese Erkrankungen.

Für ausschliesslich heterozygote Anlageträger einer HFE-Mutation besteht kein erhöhtes Risiko, an einer Hämochromatose zu erkranken. Die Eisenparameter (Ferritin, Transferrinsättigung) können hier leicht erhöht sein, erreichen jedoch nicht die für eine Hämochromatose relevante diagnostische Grenze.

Bei etwa 5-15% der Patienten mit klinisch-histologisch gesicherter Hämochromatose findet sich keine der genannten Mutationen im HFE-Gen. Hier hilft die Analyse weiterer Gene des Eisenstoffwechsels weiter :

HFE2 a = Hämojuvelin-Gen : Die molekulare Grundlage der früh manifestierenden **juvenilen Hämochromatose** mit ausgeprägter Beteiligung von Myokard und Hypophyse konnte 2004 charakterisiert werden. Mutationen in einem als Hämojuvelin bezeichneten Gen wurden bei bislang allen untersuchten Patienten nachgewiesen. Auch diese Hämochromatoseform ist rezessiv erblich.



HFE 2b = HAMP-Gen : Das sogen. HAMP-Gen kodiert für ein sehr kleines Peptid, Hepzidin, das in der Leber synthetisiert wird und die duodenale Eisenresorption reguliert (inhibiert). Homozygote Mutationen des HAMP-Gens führen über eine verminderte Sekretion des Peptids in der Leber zu einer übermäßigen duodenalen Eisenresorption. Auch die Kombination einer heterozygoten Hepzidin- mit einer heterozygoten HFE-Mutation wurde bei klinisch gesicherter Hämochromatose nachgewiesen. Hepzidinmutationen in heterozygoter Form gelten als signifikanter genetischer „modifier“ bei der klinischen Ausprägung der HFE-Hämochromatose! Die zentrale Bedeutung des Hepzidins bei der infektionsbedingten Anämie ist im Tiermodell wie auch in klinischen Studien nachgewiesen.

HFE 3: Im Mittelmeerraum sind die bisher genannten HFE-Mutationen nur bei etwa 60% der Hämochromatosepatienten nachweisbar. Mutationen in einem zweiten Transferrinrezeptor (TfR 2) auf Chromosom 7 wurden bei einzelnen betroffenen italienischen Familien nachgewiesen.

HFE 4: Eine seltene **dominant** erbliche Hämochromatoseform konnte auf Mutationen des Gens für eines der beiden enteralen Eisentransportproteine α -IREG bzw. Ferroportin 1 –zurückgeführt werden. Diese Hämochromatoseform unterscheidet sich histologisch von der HFE-induzierten Hämochromatose : Hier sind primär die v. Kupfferschen Sternzellen eisenüberladen. Der Pathomechanismus ist bislang nicht geklärt. Die betroffenen Patienten zeigen erhöhte Ferritinwerte bei *normaler* Transferrinsättigung –im strengen Sinne handelt es sich hier um eine **Hyperferritinämie**. Phlebotomien sind **kontraindiziert**.

Differentialdiagnostisch kommt bei deutlich erhöhten Ferritinwerten und sonst normalen Eisenparametern auch das dominant erbliche **Hyperferritinämie-Katarakt-Syndrom** in Frage. Dieses klinisch benigne Krankheitsbild wird durch eine Mutation im L-Ferritingen verursacht. Die hier eisenunabhängige Synthese von Ferritin nimmt keinen Einfluss auf die Eisenparameter. Einzige behandlungsbedürftige Konsequenz ist evtl. ein milder Katarakt. **Phlebotomien** sind bei diesen Patienten **kontraindiziert**, sie führen rasch zu einer Anämie, die sich nur langsam wieder normalisiert.

Die **Therapie** der HFE-Hämochromatose (1-3) ist einfach und nebenwirkungsarm: Wöchentliche Phlebotomien von 300-500 ml bis zum Erreichen eines therapeutischen Ferritinzielwertes zwischen 20 und 50 μ g/l. Nach Entleerung der Lebereisenspeicher sind Phlebotomien nur noch in großen Intervallen erforderlich, in seltenen Fällen auch gar nicht mehr. Eisenarme Diäten haben sich nicht als hilfreich in der Behandlung bzw. Prävention der Hämochromatose erwiesen. Bei frühzeitiger, konsequenter Therapie ist die Lebenserwartung homozygoter Mutationsträger normal. Der Insulinbedarf beim hämochromatosebedingten Diabetes mellitus lässt sich bei entleerten Eisenspeichern deutlich reduzieren. Die sehr schmerzhafteste Arthropathie, insbesondere des Zeige- und Mittelfingers in Grund- und Mittelgelenk, ist leider bislang therapierefraktär und erfahrungsgemäß auch mit Analgetika nur schwer einzustellen.

Methode:

DNA-Extraktion; PCR, Hybridisierung mit Mutations-spezifischen Sonden für die Mutationen HFE C282Y, H63D und S65C, Schmelzkurvenanalyse auf dem Light Cycler
PCR und vollständige DNA-Sequenzierung der Gene für HFE Typ 2-4

Untersuchungsmaterial:

2 ml EDTA Blut; normaler Postversand

Dauer der Untersuchung:

3 - 5 Arbeitstage (HFE-1)

8 –10 Wochen HFE 2-4 (nach Rücksprache)

Literatur

Stand 02/2006

Hentze MW et al. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism (2004) Cell 117: 285-97

Pietrangelo A. Hereditary Hemochromatosis - a new look at an old disease (2004) N Eng J Med 350: 2383-97

Niederau C, Strohmeyer G. Strategies for early diagnosis of hemochromatosis (2002) Eur J Gastroenterol Hepatol 14: 217-221

Trinder D et al. Molecular pathogenesis of iron overload (2001) Gut 51: 290-295

Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation (2003) Blood 102: 783-788



Roetto A et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis (2003) Nature Genetics 33: 21-22

Hediger MA et al. Iron transport and hemochromatosis (2002) J Investig Med 50: 239S-246S

Merryweather-Clarke AT et al. Geography of HFE C282Y and H63D mutations (2000) Genetic Testing 4: 183-198

Meyer R. Hämochromatose - Ist ein Screening mittels Gentest sinnvoll? (2001) Deut. Ärzteblatt 98: C536-C537

Pietrangelo A et al. Hereditary hemochromatosis in adults without pathogenic mutations in the hemochromatosis gene (1999) N Engl J Med 341: 725-732

Martin ME et al. A point mutation in the bulge of the iron-responsive element of the L-ferritin gene in two families with the hereditary hyperferritinemia-cataract syndrome (1998) Blood 91: 319-323

Literatur können Sie per Fax (0211-602-1713) oder E-mail (info@labor-maly.org) anfordern.