

---

**SOUHRNNÉ PRÁCE • PŮVODNÍ PRÁCE • KAZUISTIKY**

---

**Hereditární hemochromatóza**

---

Novotný J.<sup>1,2</sup>, Smejkal P.<sup>1</sup>, Čech Z.<sup>1</sup><sup>1</sup>Oddělení klinické hematologie FN Brno<sup>2</sup>Transfuzní oddělení a krevní banka FN Brno

---

**Souhrn**

Železo je biogenní prvek, vyskytující se ve všech živých buňkách od jednobuněčných organismů (bakterie, kvasinky) až po savce. Atom železa je schopen velmi snadno vázat i uvolňovat elektron, čehož živé buňky využívají v celé řadě vitálních biochemických reakcí. Nadbytek železa však na druhé straně ohrožuje organismus generací toxických volných radikálů, které mohou oxidací poškozovat proteiny, lipidy a nukleové kyseliny a způsobit tak závažné poškození až smrt buněk. Organismy proto regulují homeostázu železa na buněčné i celotělové úrovni, jemnější detaily této integrované regulační sítě začínáme poznávat až v současnosti. Hereditární hemochromatóza byla popsána v 19. století jako tzv. bronzový diabetes. Šlo o plně vyjádřenou penetraci vrozené dispozice k přetížení železem s postižením parenchymatózních orgánů, srdce, kloubů, kůže a endokrinního systému. Hlavní kandidátní gen pro hemochromatózu byl popsán až v roce 1996 Federem a kol. jako tzv. HFE gen. Tento gen je lokalizován na 6. chromozomu v blízkosti lokusů HLA systému a vykazuje s geny hlavního histokompatibilního komplexu jistou homologii. Bylo publikováno již přes třicet mutací i polymorfismů HFE genu, z nich nejčastější jsou bodové mutace C282Y, H63D a S65C. Mutace C282Y tvoří nejčastější genetický základ pro hemochromatózu v kavkazské populaci – frekvence heterozygotů zde obnáší 5–12 %, homozygotní stav C282Y lze detekovat až u 80 % pacientů s hereditární hemochromatózou v kavkazské populaci. Klasická HFE hemochromatóza představuje autozomálně recesivní onemocnění s inkompletní penetrací (1–50 %). Byly popsány mutace v dalších genech, kódujících proteiny regulace metabolismu železa, které zapříčiňují vrozenou dispozici k přetížení organismu železem pod obrazem tzv. non-HFE hemochromatóz. Klinický obraz non-HFE hemochromatóz se mnohdy liší od klasické HFE hemochromatózy, některé mutace jsou dokonce autozomálně dominantní. V současné době jsou nejdiskutovanějšími tématy mechanismy, jakými nejrůznější mutace způsobují přetížení železem, oprávněnost širokého genetického screeningu na mutaci HFE C282Y v rizikových populacích a vztah přetížení železem k rozvoji diabetu, kardiovaskulárních onemocnění a zhoubného bujení.

**Klíčová slova:** železo, přetížení železem, HFE mutace, hereditární hemochromatóza

**Summary**

Novotný J., Smejkal P., Čech Z.: Hereditary hemochromatosis

Iron is an ubiquitously occurring vital element which can be found in all living cell from bacterias and yeast to mammals. The cells explore the redox potential of iron, which can be used in many essential and vital biochemical reactions. The iron homeostasis must be very finely tuned because iron overload may lead to the generation of very toxic reactive oxid radicals, which may damage lipids, proteins and nucleic acids with possible severe cellular damage and death. Iron homeostasis is maintained on cellular and whole body levels and details of this fascinating network are disclosed only very recently. Hereditary hemochromatosis was firstly described in the 19th century as so called bronze diabetes. It was the full penetrance of hereditary iron overload, which affected the parenchymatous organs, heart, joints, skin and endocrine glands. The main candidate gene was firstly described in 1966 by Feder et al. and was called HFE gene. HFE gene maps to the 6th chromosome close to the HLA locuses and reveals some homology with the MHC genes. More than 30 mutations and polymorphisms in the HFE gene were discovered, the most frequent are the point mutations C282Y, H63D, and S65C. The most frequent genetic basis of hereditary hemochromatosis in caucasoids is the C282Y mutation, prevalence of heterozygotes in the caucasoid populations being from 5 to 12 percent. The C282Y mutation can be revealed in about 80% of caucasoid patients with the diagnosis of hereditary hemochromatosis. The classic hereditary hemochromatosis represents the autosomal recessive trait with incomplete penetrance, which is estimated in the broad interval from 1 to 50 percent. The mutations in other genes, which code for other proteins of iron metabolism, were discovered. This mutations cause so called non-HFE hemochromatosies. The clinical picture of these diseases may be other than the picture of classic hemochromatosis, some the non-HFE iron overloads may be inherited in the dominant manner. The most frequently discussed topic today is the exact mechanism/s leading to iron overload in HFE and non-HFE hemochromatosis, the genetic screening for HFE mutations in general population at risk and the relation of iron overload to atherosclerosis, diabetes and malignant diseases.

**Key words:** iron, iron overload, HFE mutations, hereditary hemochromatosis

*Trans. Hemat. dnes, 11, 2005, No. 3, p. 87–97.*

## 1. Úvod

Železo je biogenní prvek, který se vyskytuje prakticky ve všech živých organismech. Najdeme je v jednobuněčných organismech (kvasinky, bakterie), v buňkách rostlin a v tělech bezobratlých i obratlovců až po savce. Je tomu tak proto, že atom železa je schopen velmi snadno vázat i uvolňovat elektron a tak měnit své mocenství z dvojmocné ferroformy na trojmocnou ferriformu a naopak.

Vedle své neznámější funkce transportéru kyslíku v podobě hemoglobinu plní železo i řadu dalších vitálních funkcí – je nutné pro syntézu nukleových kyselin (DNA i RNA), syntézu řady proteinů, účastní se řízení buněčné proliferace a diferenciaci a apoptózy, je nutné pro syntézu myelinu a formování dendritů neuronů, což se odráží v ovlivňování pochodu učení a paměti.

Pozornost řady vědeckých týmů je upřena na úlohu železa v procesech stárnutí tkání, neurodegenerace, maligního bujení, aterosklerózy a role železa v imunitním systému.

Vlastnost atomu železa snadno vázat a uvolňovat elektron může však mít i negativní dopady na živé buňky generací toxických radikálů (zvláště hydroxyradikály  $\text{OH}^\cdot$ , a superoxidové radikály  $\text{O}_2^\cdot$ ), které mohou oxidací poškodovat proteiny, lipidy i nukleové kyseliny. Je proto vitálně důležité, aby homeostáza železa byla citlivě regulována.

## 2. Homeostáza železa a její regulace

Organismy jemně regulují homeostázu železa jak na buněčné, tak i na vyšších úrovních. Buněčnou a systémovou regulaci metabolismu železa nelze od sebe navzájem oddělit, jelikož tvoří integrovaný celek vzájemně se ovlivňujících pochodů, které začínáme podrobněji poznávat teprve v posledních několika letech.

Z celkového pohledu je pro lidský organismus nejdůležitější **regulace vstřebávání železa enterocyty**, největší podíl na **exkreci železa** má exfoliace epitelii trávicího traktu, u žen ve fertilním věku se přidávají ztráty menstruačním krvácením. Malé množství železa se z organismu ztrácí odlučováním buněk jiných sliznic, kožního epitelu a kožních adnex a močí.

Železo je v krevním proudu vázáno na bílkoviny. Z největší části jde o transportní protein **transferin**. Molekula transferinu váže dva atomy trojmocného železa  $\text{Fe}^{3+}$ . Denně dochází k obratu asi 25 mg železa v krvi. Za normálních okolností je transferin saturován pouze asi ze třetiny své vazebné kapacity. U stavů vrozeného a/nebo získaného přetížení organismu železem stoupá saturace transferinu na 45 % a více.

Molekula transferinu, obsahující železo, má vysokou afinitu ke specializovaným receptorům, lokalizovaným na buněčných membránách s nejhustší expresí v buňkách hemopoézy. Byly již popsány 2 typy **transferinových receptorů** – **TfR** a **TfR2**. Po vazbě transferinu na TfR je komplex transferin/TfR přijat do cytoplazmy v podobě

endozomu. Uvnitř endozomu jsou výrazně kyselým pH atomy Fe disociovány z vazby na transferin a zároveň dochází k jejich redukci na dvojmocné železo  $\text{Fe}^{2+}$ , které je pak dále exportováno do cytoplazmy. Transferin se váže hlavně na molekuly TfR, funkce TfR2 je méně jasná, nově byla popsána vrozená dispozice k přetížení organismu železem, související s mutací v genu pro TfR2. Po uvolnění Fe jsou molekuly TfR recyklovány k expresi na povrch cytoplazmatické membrány, kde slouží opět jako receptory pro transferin. Celý proces nazýváme **buněčná endocytóza transferinového železa**.

### 2.1 Regulace buněčné homeostázy železa

Regulace metabolismu železa na buněčné úrovni je řízena několika geny na transkripční, posttranskripční a posttranslační úrovni. Je nutno zdůraznit, že jisté aspekty celulární homeostázy železa jsou společné všem buňkám organismu, jiné mechanismy jsou tkáňově nebo orgánově specifické (například exprese DMT1 enterocyty, homeostáza železa v monocyto/makrofágovém systému a hematopoetických tkáních, akumulace zásobního železa v hepatocytech). Prvou úrovní regulace homeostázy Fe na buněčné úrovni je ovlivňování influxu tohoto prvku do buňky, což se děje prostřednictvím regulace exprese TfR a TfR2. Molekuly TfR2 jsou exprimovány hlavně hepatocyty.

Volné atomární železo v cytoplazmě buněk tvoří tzv. **labilní pool** nitrobuněčného železa a je potencionálně toxické. Buňky mohou tuto toxicitu eliminovat v podstatě třemi způsoby (1).

1. Volné železo je rozdělováno do různých kompartmentů, kde je dále využíváno k syntéze důležitých proteinů, ovlivňujících získávání energie, detoxikaci volných radikálů, proliferaci, diferenciaci a řadu dalších celulárních funkcí.

Velmi důležitými kompartmenty utilizace nitrobuněčného železa jsou například mitochondrie, kde probíhají reakce Krebsova cyklu se syntézou ATP, dále buněčné jádro, lyzozomy s železo obsahujícími enzymy aj.

2. Volné cytoplazmatické Fe je exportováno z buňky. Tento pochod je relativně dobře prozkoumán u enterocytů, existence mechanismů exportu Fe se však předpokládá ve všech ostatních buňkách.

3. Nevyužitá nebo nevyložená Fe je uloženo do depotů.

Zásobní železo je v eukaryotických buňkách uloženo ve formě **ferritinu**. U většiny obratlovců je ferritin tvořen dvěma typy podjednotek, označovaných jako L-(Light, Liver) a H-(Heavy, Heart) ferritin. Tyto podjednotky se organizují do schránek, z nichž každá je složena ze čtyřřadvaceti molekul L- nebo H-ferritinu. Ferritinové schránky jsou schopné každá pojmout několik tisíc atomů  $\text{Fe}^{3+}$ . Jednotlivé ferritiny se od sebe liší zastoupením L- a H-podjednotek a jsou označovány jako **izoferritiny**. H-ferritin je feroxidáza a jeho aktivita usnadňuje rychlou inkorporaci atomu Fe do ferritinových komplexů a na druhé

straně je toto železo rychleji z feritinu uvolňováno. Izoferitiny, bohaté na L-podjednotky, přijímají Fe pomaleji a déle jej skladují. Jednotlivé tkáně a orgány se liší zastoupením exprese a translace m-RNA pro L- a H- podjednotky feritinu.

**TfR a feritin představují dva hlavní proteiny regulace buněčné homeostázy železa.** Exprese obou proteinů je regulována na transkripční a hlavně na posttranskripční úrovni.

Savčí buňky se liší od rostlinných a nižších eukaryotických buněk i regulací metabolismu železa. Zatímco rostlinné a nižší eukaryotické buňky ovlivňují expresi regulátorů homeostázy Fe převážně na transkripční úrovni, savčí buňky využívají vedle regulace transkripce hojně i posttranskripční mechanismy. Messenger RNA mnoha ferotropních proteinů obsahuje ve své molekule specifické sekvence, schopné vázat regulační molekuly, které takto mohou modulovat translaci těchto mRNA. Tyto molekuly nazýváme **IRPs – Iron Regulatory Proteins** a jejich specifické vazebné sekvence v mRNA označujeme jako **IREs – Iron Regulatory Elements**. IRPs jsou považovány za centrální regulátory metabolismu železa u savců. Po vazbě IRPs na IRE je translace mRNA buď zablokována, nebo potencionována, což je dáno **lokací IRE v molekule mRNA**. Vazba IRP na IRE v 5'UTR (untranslated region) molekuly mRNA zablokuje následnou translaci, zatímco vazba na IRE, lokalizované v 3'UTR stabilizuje mRNA a potencuje tak její translaci.

Přestože IRP regulují další osud mRNA, mohou faktory, ovlivňující transkripci genů regulovaného proteinu, v mnoha případech převážit a konečná hladina produkce těchto proteinů je pak více výsledkem transkripce než posttranskripčních úprav (změna nebo „override“ IRP/IRE regulace).

**Nadbytek železa** v labilním poolu buňky interferuje s vazbou **IRP1 i IRP2** na IRE s následnou zvýšenou transkripcí mRNA s IRE v 5' UTR (mRNA pro feritin) nebo degradací mRNA s IRE v 3' UTR (mRNA pro TfR). Vazebná afinita IRP1 a stabilita IRP2 je kromě koncentrace a buněčné lokalizace atomů Fe výrazně ovlivňována dalšími faktory – volnými radikály, NO, kyslíkem, peroxidy apod. (2–4).

## 2.2 Systémová regulace homeostázy železa

Na celotělové, systémové úrovni jsou citlivě regulovány vstřebávání, transport, utilizace a skladování železa. Jde o předávání signálů mezi hepatocyty, enterocyty, monocyto-makrofágovým systémem, erytronem, kosterními svaly i jinými kompartmenty, majícím za následek jemné řízení homeostázy železa přesně podle potřeb tkání i celého organismu. Klíčovými se v této souvislosti jeví **regulace absorpce železa enterocyty** a jeho **transport přes bazolaterální membránu do krve** a retence nebo uvolňování železa z **elementů monocyto-makrofágového systému** (5).

### 2.2.1 Vstřebávání železa

Zdrojem železa v potravě jsou hlavně živočišné bílkoviny, kde je nacházíme v podobě vázané na hem a jako nehemové železo. **Hemové železo** se vyskytuje v hemoglobinu a v myoglobinu svalstva. Vstřebávání hemového železa je pro organismus nejsnadnější, řízení tohoto procesu však zůstává prozatím z velké části neobjasněno. Je prokázáno, že hem se z hemoglobinu a myoglobinu uvolňuje působením kyseliny solné a fermentů trávicích šťáv. **Nehemové železo** se v lumen GIT vyskytuje hlavně ve formě trojmocného  $Fe^{3+}$ , na rozdíl od hemového železa je resorpce této formy železa ovlivněna přítomností řady faktorů, které mohou resorpci ovlivnit jak pozitivně, tak i negativně, takže tato může kolísat až desetinásobně (6). Hlavními faktory, usnadňujícími resorpci železa, jsou kyselina askorbová a bílkoviny masa, s resorpcí železa výrazněji interferují například vaječný bílek, kravské mléko a hlavně fytáty, obsažené v rostlinné dietě. Polyfenoly, obsažené v kávě, čaji a víně, rovněž inhibují vstřebávání železa (7).

Železo při své cestě ze střevního lumen do krve překračuje **biomembrány enterocyty – apikální membránu a bazolaterální membránu**. Přes apikální membránu je regulován influx železa do cytoplazmy enterocytů, přes bazolaterální membránu je regulován vstup železa do krve.

Nejlépe je probádáno vstřebávání dvojmocného atomu železa, zprostředkované molekulou **DMT1 (divalent metal transporter1**, dříve rovněž **NRAMP2** nebo **DCT1**). Exprese DMT1 v oblasti apikální membrány je regulována vlivem celotělových zásob železa, koncentrací železa v dietě nebo posttranslačně přes IRP1 a IRP2 (8). Tento nosič ovšem vedle železa váže a transportuje přes buněčnou membránu enterocyty i další dvojmocné atomy kovů – například  $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  a  $Pb^{2+}$ . O mechanismech řízení absorpce těchto kovů a o možné interferenci se vstřebáváním železa například kompeticí je známo jen velmi málo.

Nově byl popsán protein, označovaný jako **CYBRD1** nebo **DCYB**. Jde o ferrireduktázu, exprimovanou na apikální membráně enterocytů (**duodenální cytochrom b**). Tento enzym redukuje trojmocné železo na dvojmocné, které se pak stává substrátem pro DMT1 (9, 10).

K pochopení mechanismů řízení absorpce železa je nutné zmínit aspekty **proliferace a diferenciacie enterocytů**. Zralé enterocyty se vyskytují na povrchu klků enterální sliznice, diferencují se z prekurzorových buněk krypt, které jsou lokalizovány mezi klky. Při diferenciaci se buňky krypt postupně přesunují na vrcholy klků, kde nahrazují odlučované zralé enterocyty. Z pohledu regulace absorpce železa je důležité, že exprese několika genů, kódujících důležité proteiny systému vstřebávání a transportu železa, je odlišná u prekurzorové buňky a u zralého enterocyty. Labilní pool železa v enterocytech dále tuto expresi modifikuje. **Prekurzorové buňky krypt** exprimují **molekuly TfR** a mohou tak akumulovat železo z krve. V případě normální nebo zvýšené hladiny

železa, vázaného na transferin, přechází do labilního cytoplazmatického poolu dostatečné množství železa a prekursorové buňky jsou takto předprogramovány („primovány“) tak, aby vstřebávání a následný transport železa byly sníženy. Při sideropenii je tomu obráceně. V prekursorových buňkách je rovněž exprimován tzv. **HFE protein**, který vazbou na TfR modifikuje transport transferinového železa do buňky. Přesná povaha této modifikace není jasná, porucha funkce HFE proteinu má však za následek dispozici k zvýšenému vstřebávání nehemového železa ze střevního lumen. Jelikož prekursorové buňky krypt neexprimují molekuly DMT1, není množství železa v labilním poolu ovlivněno koncentrací nehemového železa v potravě a obráží tak převážně hladinu transferinového Fe. **U zralých enterocytů** dochází naproti tomu k útlumu exprese TfR a HFE proteinu a je zde dle potřeb organismu řízeně zvyšována exprese genů pro **DMT1, Dcytb, ferroportin a hefestin** s rezultující jemnou regulací vstřebávání železa a jeho transportu do krve.

### 2.2.2 Regulace influxu železa do organismu

**Bazolaterální membrána enterocytu** představuje velmi pravděpodobně klíčovou strukturu regulace influxu železa do organismu. Železo, které není přeneseno přes bazolaterální membránu, je **vyloučeno exfoliací enterocytů**.

Enterocyty hrají klíčovou roli v regulaci příjmu železa a musejí proto zpracovávat signály o aktuálním stavu zásob i potřeb tohoto biogenního prvku v jednotlivých tkáních i celotělově. Na hypotetické úrovni bylo postulováno několik regulátorů homeostázy železa, předávajících tyto signály enterocytům (8).

**Regulátor zásob – „Stores regulator“** monitoruje množství železa především v játrech, kosterních svalech a v krvi a při depleci tohoto prvku zvyšuje pomalou akumulaci nehemového železa, vstřebávání hemového železa není touto regulací výrazněji ovlivněno. Uvádí se, že stores regulator je schopen zvýšit akumulaci železa jen asi o 1 mg za den. Kandidátními molekulami signalizace stavu zásob železa jsou feritin, transferin a solubilní transferinové receptory.

**Erytropoetický regulátor** signalizuje zvýšenou erytropoetickou aktivitu a působí do jisté míry nezávisle na zásobním regulátoru, jelikož pacienti s anémií se zvýšenou erytropoetickou aktivitou mohou akumulovat železo i při normálních nebo dokonce zvýšených zásobách železa. Erytropoetický regulátor je výrazným faktorem řízení absorpce, neboť anemičtí pacienti mohou touto cestou zvýšit vstřebávání železa až o 40 mg za den.

Bylo prokázáno, že **hypoxie** rovněž zvyšuje akumulaci železa, není však jasné, zda působí nezávisle na erytropoetickém regulátoru.

Zralé enterocyty exprimují v oblasti bazolaterální membrány proteiny **feroportin** a **hefestin**, které zde slouží transportu železa z enterocytů do krve.

### Feroportin (Ireg1, MTP1)

Lokalizace exprese feroportinu svědčí pro jeho významnou roli v **transportu železa přes biomembrány**. Exprimují jej zralé enterocyty enterálních klků a to v oblasti bazolaterální membrány, dále Kupfferovy buňky jaterních sinusoid, nižší exprese je prokázána v hepatocytech. Na bazolaterálních membránách placentálního trofoblastu byla rovněž detekována silná exprese Ireg1. Regulace exprese feroportinu probíhá jak na úrovni ovlivnění translace mRNA vazbou IRP1 a IRP2 na IRE v 5'UTR, tak i dalšími mechanismy. Významnou se zdá regulace hladiny feroportinu erytropoetickým regulátorem, hladinou hemoglobinu a hypoxií. Další možností regulace funkce Ireg1 je ovlivnění cílové lokalizace exprese feroportinu, jelikož enterocyty myši s replecí železa vykazovaly vyšší podíl cytoplazmatické lokalizace exprese feroportinu, než enterocyty zvířat s deplecí železa (převážně bazolaterální lokalizace exprese) (11). Ferroportin hraje rovněž důležitou roli v **recyklaci železa, fagocytovaného v buňkách RES** při odbourávání hemoglobinu ze zanikajících erytrocytů. Prvá popsaná mutace **SLC11A3 genu**, který kóduje feroportin, má za následek záměnu aminokyselin A77D s rezultující poruchou funkce feroportinu s fenotypickými projevy **autozomálně dominantní non-HFE hemochromatózy** s výrazným časným hromaděním železa v makrofázích. Jde velmi pravděpodobně o poruchu recyklace železa z makrofágů s následným sekundárním zvýšením jeho střevní resorpce, pravděpodobně přes erytropoetický regulátor. Sideróza hepatocytů se rozvíjí na rozdíl od klasické HFE hemochromatózy až v pozdějších stádiích choroby. Další fenotypickou odchylkou oproti klasické HFE hemochromatóze představuje snížená saturace transferinu železem a lehká hypochromní anémie (12, 13). Zajímavé a nevysvětlené zůstává, že přes poruchu funkce feroportinu je přenos železa přes bazolaterální membránu zvýšen.

### Hefestin

Molekula hefestinu vykazuje signifikantní homologii s molekulou ceruloplazminu. Jde o **feroxidázu**, bohatou na atomy mědi. Hefestin v oblasti bazolaterální membrány oxiduje dvojmocné Fe<sup>2+</sup>, transportované feroportinem, na Fe<sup>3+</sup>, které je pak schopno vazby na transferin.

### HFE protein

HFE gen byl popsán v roce 1996 Federem a spol. Je lokalizován na 6. chromozmu v blízkosti genů hlavního histokompatibilního komplexu a kóduje transmembránový protein, složený ze tří extracelulárních smyček (loops), transmembránové domény a krátké intracelulární domény, obsahující C-terminálový konec této bílkoviny. HFE protein je těsně asociován s molekulou β2-mik-

roglobulinu ( $\beta 2m$ ). Komplex HFE/ $\beta 2m$  váže molekuly TfR na povrchu buněčných membrán a ovlivňuje tak influx transferinového železa do buněk. Mechanismus **modifikace endocytózy transferinového železa** není jasný, mohlo by jít o vliv HFE na konformaci TfR s rezultující modifikovanou afinitou k ligandu (14), ale může se jednat i o ovlivnění recyklace TfR1 na povrch buněk a/nebo uvolňování atomů železa z transferinu (15, 16). V literatuře nacházíme zprávy postulující **jak snížení, tak zvýšení endocytózy železa**, vázaného na transferin. Zvýšená exprese normálního HFE proteinu v HeLa buňkách vedla ke snížení vychytávání transferinového železa, avšak v těchto experimentech byl HFE protein zvýšeně exprimován bez koexpresy s  $\beta 2m$ , což mohlo nefyziologicky modifikovat metabolismus železa (17). Waheed a kol. studovali ovlivnění influxu transferinového železa v CHO (Chinese hamster ovary) buňkách za podmínek koexpresy HFE a  $\beta 2m$  a zjistili zvýšení vychytávání železa, zatímco samostatná exprese pouze HFE vedla ke snížení vstřebávání transferinového železa do CHO buněk (!) (18).

Montosi a kol. našli u pacientů s HFE hemochromatózou snížené vychytávání transferinového železa makrofágy, stav se upravoval po transfekci buněk normálním HFE proteinem (19). Ve světle těchto poznatků nabývá i „preprogramovací teorie“ **prekurzorových buněk enterálních krypt** logičtějších obrysů – porucha funkce HFE proteinu by pak vedla k sníženému vychytávání transferinového železa prekurzorovými buňkami duodenálních krypt s rezultující sideropenií zralých enterocytů s následnou upregulací transportního proteinu DMT1, vedoucí k zvýšenému vstřebávání železa z duodena. Zvýšená exprese DMT1 i feroportinu v duodenální sliznici pacientů s hereditární hemochromatózou byla opakovaně prokázána, duodenální tkáň HFE knock-out myši vykazuje snížené vychytávání transferinového železa a zvýšenou duodenální expresi DMT1 i feroportinu (20, 21). Je velmi zajímavé, že **upregulace DMT1 i feroportinu je modifikována různě v různých genetických liniích myši**, což jednak implikuje vliv dalších genů na fenotypické projevy hereditární hemochromatózy a dále částečně vysvětluje klinickou zkušenost o různé míře penetrance genotypu lidské hereditární hemochromatózy (22).

HFE protein velmi pravděpodobně není exprimován v hepatocytech a proto vychytávání transferinového železa těmito buňkami nepodléhá modifikaci tímto proteinem. Bylo prokázáno, že **hepatocyty zvýšeně exprimují TfR2** a vychytávání železa by tak mohl probíhat prostřednictvím tohoto receptoru (16).

Nejčastější příčinou vrozeného přetížení organismu železem je bodová mutace (single nucleotide polymorphism, SNP) G845A v HFE genu, zapříčínující záměnu aminokyseliny **Cys282Tyr (C282Y) v molekule HFE proteinu** (missense mutation). Tato záměna porušuje důležitou disulfidovou vazbu (disulphide bridge) v molekule HFE proteinu s následnou změnou konformace celé molekuly, zapříčínující poruchu transportu mutovaného

proteinu z endoplazmatického retikula a Golgiho komplexu s jeho následnou zvýšenou degradací s rezultující sníženou expresí v cytoplazmatické membráně. Udává se i snížená asociace s  $\beta 2$ -mikroglobulinem. Nejde však přitom o totální výpadek funkce HFE (null alela), ale o její snížení (23). Kauzální roli mutací HFE genu v rozvoji HH prvního typu prokazují mimo jiné i pokusy na myších modelech. „HFE knockout“ myš a HFE C282Y myš vykazují zvýšenou koncentraci plazmatického železa, zvýšenou saturaci transferinu, vysokou hladinu sérového feritinu a rozvíjí se u nich obraz přetížení organismu železem, který je velmi podobný manifestaci lidské hereditární hemochromatózy typu 1. U HFE „knockout“ myši je přitom obraz přetížení železem závažnější než u HFE C282Y zvířat, což dokazuje jistou reziduální funkci mutovaného C282Y HFE proteinu. Je rovněž velmi zajímavé, že u  $\beta 2m$  „knockout“ myši byly prokázány zvýšený pool zásobního železa, implikující významnou roli asociace HFE proteinu s  $\beta 2m$  pro normální funkci modifikace endocytózy transferinového železa (24).

### 3. Přetížení organismu železem

#### 3.1 Úvod

Přetížení organismu železem vzniká při pozitivní bilanci tohoto prvku, zapříčiněné zvýšeným vstřebáváním a/nebo příivodem železa, dále při zvýšeném katabolismu hemoglobinu u hemolýz a inefektivní erythropoézy a konečně při poruchách transportu železa z buněk. Při hemolytických anémiích, zvláště při vrozených hemoglobinopatiích, je prokázáno i zvýšené vstřebávání železa v duodenu, pravděpodobně důsledkem signalizace přes erythropoetický regulátor. **Nejčastější příčiny a mechanismy vzniku přetížení organismu železem** jsou uvedeny v **tabulce 1**.

Tab. 1. Nejčastější příčiny pozitivní bilance železa.

Mechanismus	Výskyt
Zvýšený příivod Fe parenterálně	<b>Polytransfundování pacientů</b> , vzácněji při iatrogením předávkování parenterálním Fe.
Zvýšený příivod Fe potravou	Africká forma hemochromatózy, je zde velmi pravděpodobně i vrozená porucha enterálního bloku vstřebávání Fe.
„Iron loading anemias“	Zvýšené vstřebávání železa při <b>zvýšené (i inefektivní) erythropoéze</b> – např. talasémie, jiné hemolýzy ...
Hereditární hemochromatóza I-V	<b>Mutace v genech</b> , kódujících <b>proteiny regulace metabolismu Fe</b> .
Poruchy utilizace Fe	<b>Anémie chronických onemocnění, sideroplastické anémie</b> . Přetížení železem zde však, pokud nejsou pacienti polytransfundováni, většinou nevede k výraznějším orgánovým poruchám. Zvýšené ukládání Fe v hepatocytech při <b>jaterních afekcích jakékoliv etiologie</b> .

V klinice v našich podmínkách jsou daleko nejčastějšími příčinami přetížení železem mnohočetné transfuze u nejrůznějších typů anémií, nereagujících na jinou léčbu a dále hereditární hemochromatóza.

U **anémie chronických onemocnění (ACD – Anemia of Chronic Diseases)** jde o sekundární poruchu utilizace Fe, kdy je železo zadržováno v RES a je obtížněji dostupné pro erytropoézu. Lze v tom spatřovat snahu organismu o obranu proti příčině ACD – železo je takto odebráno nejen erytropoéze, ale i neoplastické či infekční buňce. Nejčastějšími příčinami ACD jsou chronické záněty, infekty a neoplázie. Mechanismus vzniku ACD je však složitější než pouhá porucha utilizace Fe a je často multifaktoriální.

**Těžké hepatopatie jakékoliv etiologie** (alkoholická cirhóza, chronické hepatitidy, Wilsonova nemoc aj.) jsou spojeny se zvýšeným ukládáním železa do hepatocytů. Je známou skutečností, že abusus alkoholu potencuje hypesiderózu jater u pacientů s hereditární hemochromatózou.

U **sideroblastických anémií** nacházíme primárně či sekundárně porušenou utilizaci Fe s typickým nálezem prstěncitých či jinak patologických sideroblastů při barvení na nehemové Fe v kostní dřeni. Sekundární sideroblastické anémie detekujeme nejčastěji u neoplázií, chronických zánětů nebo po některých léčích a chemikáliích. Častěji však jde o tzv. primární nebo idiopatické sideroblastické anémie, které jsou dnes řazeny k tzv. myelodysplastickým syndromům (MDS). Podrobnější rozbor výše uvedené problematiky překračuje rámeček této práce.

**Tab. 2.** Klinická manifestace hereditární hemochromatózy.

Hepatopatie: fibróza, cirhóza, karcinom, porfyria cutanea tarda
Slabost, malátnost, úbytek hmotnosti
Hypopituitarismus, hypotyreóza, hyperpigmentace, hypogonadismus
Kardiomyopatie – dysrytmie, srdeční selhávání
Diabetes mellitus
Insuficience nadledvin
Bolesti břicha
Atropatie

### 3.2 Hereditární hemochromatóza

Metabolismus Fe je výrazně pozměněn u osob s hereditární hemochromatózou (HH). U klasické formy jde autozomálně recesivní onemocnění, při němž jsou tito jedinci ohroženi nadměrným ukládáním Fe do parenchymatozních orgánů, především do jater. Sideróza orgánů se klinicky manifestuje širokým spektrem nespecifických symptomů, typický plně vyjádřený obraz v podobě „**bronzového diabetu**“, tradovaný v učebnicích, je spíše vzácný. HH představuje model primárního přetížení organismu železem v důsledku poruchy regulace metabolismu železa a je jí nutno odlišit od sekundárního přetížení železem a od stavů, zapříčiněných parenterálním přívodem nadměrného množství železa do organismu. V **tabulce 2** jsou uvedeny **klinické symptomy, spojené s manifestací hereditární hemochromatózy.**

**Patofyziologický mechanismus HH není přesně znám,** jde především o poruchu regulace vstřebávání Fe

v gastrointestinálním traktu (vadný tzv. slizniční blok, nebo porucha negativních zpětných vazeb resorpce Fe). Devadesátá léta minulého století byla svědky intenzivní snahy o identifikaci genů, zodpovědných za tuto poruchu. Z dřívějších studií bylo zřejmé, že kandidátní gen nebo geny pro HH budou ležet v blízkosti lokusů hlavního histokompatibilního komplexu (MHC - major histocompatibility complex). Jak již bylo výše uvedeno, byl izolován a identifikován gen, ležící 4,5 Mb telomericky od HLA-A lokusu a byl nazván nejprve **HLA-H** a posléze **HFE gen** (25). Další výzkumy prokázaly, že daleko nejčastější genetikou příčinou HH jsou mutace v HFE genu. V převážné většině případů se jedná o bodovou mutaci G845A, mající za následek záměnu aminokyselin Cys282Tyr = C282Y.

Frekvence heterozygotních nosičů mutace HFE C282Y v kavkazské populaci se odhaduje na 5–12 %, frekvence hemochromatózy, diagnostikované na bázi vyšetření parametrů metabolismu železa, se zde pohybuje mezi 1:200 až 1:400. **Homozygotní stav HFE C282Y** lze detekovat u 80–100 % těchto pacientů (26).

Další mutací, spojenou s HH, je záměna H63D v molekule HFE (mutace HFE H63D). Její frekvence u kavkazské populace obnáší až 25 %, u HH je však méně frekventní než HFE C282Y. Asi u 5 % pacientů s HH je nalézán smíšený heterozygotní stav C282Y + H63D. Třetí detekovanou mutací HFE genu je S65C, její význam pro rozvoj manifestní HH je však méně jasný, nejspíše i zde půjde o dvojitě heterozygoty C282Y + S65C.

Současný výčet mutací a polymorfismů, detekovaných v oblasti HFE genu, obnáší výše jak třicet drobných molekulárních odchylek od sekvence wild type HFE genu, jejich klinický význam je však zatím nejasný a jejich frekvence je nízká. Některé z nich (např. HFE\*09 T314C a HFE\*10 G277C) se nacházejí v oblasti HFE genu, kódující oblast, ovlivňující afinitu HFE proteinu k TfR, jiné (např. HFE\*04 v intronu 4) mohou zkreslovat diagnostiku běžných HFE mutací. HFE mutace se nyní nově označují symboly HFE\*01... HFE\*25..., přičemž nejčastější tři jsou označeny jako HFE\*01 (G845A=C282Y), HFE\*02 (C187G=H63D) a HFE\*03 (A193T=S65C) (26).

Nový pohled na regulaci metabolismu železa včetně mechanismu, jakým by deficit funkčního HFE proteinu mohl vést k manifestaci přetížení železem, přináší poznatky o nově objevené regulační molekule, zvané **hepcidin**. Gen **HAMP**, kódující peptidový hormon hepcidin, leží v oblasti 19q13 a jeho exprese se zvyšuje při zvýšeném přívodu železa v dietě a při zánětech (protein akutní fáze). Přírodním produktem exprese HAMP genu je propeptid, čítající 84 aminokyselin, který dále podléhá enzymatickému štěpení ve zralé peptidy, dlouhé 20, 22 a 25 aminokyselin. Zralé peptidy jsou syntetizovány v játrech, v enterocytech a monocyto-makrofágovém systému, kde působí jako **negativní regulátory transportu železa** přes buněčné membrány ven z buněk. V makrofázích navíc zastává funkci **antimikrobiálního agens**. Při zvýšené expresi hepcidinu klesá transport železa přes bazolaterální membrány enterocytů a dochá-

zí k zadržování železa v monocyto-makrofágovém systému. Ukazuje se, že **HFE protein** může působit jako **induktor a/nebo regulátor exprese HAMP genu**. Myší modely HFE hemochromatózy a studie u lidí prokázaly, že HFE-deficientní homozygoti vykazují neadekvátně nízkou expresi HAMP genu navzdory přetížení organismu železem (27). U HFE hemochromatózy se rovněž železo ukládá převážně v hepatocytech a Kupfferovy buňky vykazují zvýšené ukládání železa až v pozdějších stádiích rozvoje HH, což je kompatibilní se sníženou funkcí hepcidinu v těchto jaterních makrofázích. Nicolas a spolupracovníci publikovali velmi zajímavou studii na myších modelech HFE hemochromatózy. U myších homozygotů Hfe -/- (Hfe- = nulová alela Hfe genu) byla detekována výrazně nižší exprese Hamp genu ve srovnání s Hfe +/- linií při zátěži železem v potravě. Linie Hfe -/- byla poté zkřížena s třemi liniemi myší, konstitutivně zvýšeně exprimujícími Hamp gen. Zkřížené linie Hfe -/- Hamp ++/++ myší nevykazovaly známky přetížení organismu železem, jinými slovy **konstitutivně zvýšená exprese hepcidinu zabránila u Hfe -/- linie zvýšené akumulaci železa** (5). Muckenthaler a spolupracovníci vyšetřovali expresi genů u myších modelů lidské hemochromatózy (Hfe -/- nebo Hfe 845A/845A homozygoti) pomocí mikroarray IronChip, obsahujícího 300 genů, kódujících proteiny přímo či nepřímo zasahující do metabolismu železa. Expresie byla vyšetřena ve vzorcích duodenální sliznice a jaterní tkáň, byla sledována odpověď na přetížení organismu železem u Hfe- a Hfe 845A homozygotů ve srovnání s normálními Hfe wild

type zvířaty. Významné rozdíly byly pozorovány v duodenální expresi Cybrd1 a hefestinu (vyšší exprese u Hfe mutací) a zejména v jaterní expresi Hamp genu, jehož exprese byla snížena, zatímco Hfe wild type pokusná zvířata reagovala na přetížení železem zvýšením exprese genu pro hepcidin. Autoři navíc nepotvrdili zvýšenou expresi DMT1 a ferroportinu u Hfe mutovaných myších linií (10). Pacienti s konstitutivně nebo neoplasticky zvýšenou expresí HAMP genu vykazují známky na železo refrakterní anémie s defektem vstřebávání železa enterocyty a s retencí železa v monocyto-makrofágovém systému podobně jako pacienti s anémiemi při chronických zánětech (27). Na druhé straně byly již popsány **mutace v HAMP genu**, zapříčiňující brzkou klinickou manifestaci **juvenilní hemochromatózy typu 2b** (28). Vzhledem k těžkému obrazu přetížení železem, který se navíc u postižených jedinců manifestuje do 30. roku života, hraje hepcidin velmi pravděpodobně jednu z vedoucích rolí v regulaci homeostázy železa. Spekuluje se i o možnosti terapeutického využití hepcidinu v prevenci přetížení železem u HH (5).

Nově jsou nalézány **mutace v dalších genech**, kódujících jiné regulační proteiny homeostázy železa. V současnosti se proto **HH rozděluje do 5 typů**, které se liší nejenom lokalizací mutací, ale často i klinickým obrazem. Typ 2 až 5 se někdy označuje jako **non-HFE hemochromatóza**. Narozdíl od frekventních HFE\*01-\*03 mutací jsou ostatní HFE i non-HFE mutace vzácné. **Současný pohled na genetiku a kliniku HH shrnuje tabulka 3.**

Zatím nedeřešena je problematika etiopatogeneze tzv. **africké formy hemochromatózy**, která se frekventně vyskytuje u určitých černošských populací v subsaharské oblasti Afriky (29).

Lze dále předpokládat, že v blízké budoucnosti budou jednak objeveny další regulátory metabolismu Fe a dále budou detekovány další patogenní mutace v kandidátních i nekandidátních genech a oblastech DNA, mající za následek přetížení organismu železem.

Z hlediska **selektce nejfrekventnějších mutací, zapříčiňujících HH**, je vzhledem k jejich vysoké frekvenci v kavkazské populaci pravděpodobné, že **v minulosti přinášely svým nositelům určitou výhodu**. Situace je zde analogická s výskytem jiné frekventní kavkazské mutace – totiž mutace R506Q v genu pro koagulační faktor V (FV Leiden), která zapříčiňuje mírný hyperkoagulační stav. Obě mutace jsou nej-

Tab. 3. Rozdělení hereditární hemochromatózy.

Typ HH	Mutace, dědičnost	Klinický obraz
HH typ 1, HFE1	HFE C282Y, H63D, S65C, vzácně jiné exonové i intronové mutace Autozomálně recesivní (AR)	Penetrance i u homozygotů C282Y variabilní, současné zprávy udávají pouze 1–2 %.  Fibróza až cirhóza jater, kardiomyopatie, pankreatopatie, diabetes, artropatie, pigmentace kůže.
HH typ 2a, HFE2a	Donedávna mutovaný gen neznám, jde o oblast 1q21. v genu, kódujícím hemojuvelin. AR	Juvenilní typ HH s manifestací do 30. roku života, rozvoj především těžké kardiomyopatie a hypogonadismu. Plná penetrance.
HH typ 2b, HFE2b	19q13 mutace genu HAMP, kódující hepcidin AR	Klinický obraz shodný s 2a.
HH typ 3, HFE3	Několik mutací v genu pro TfR2 AR	Obraz je podobný typu 1 Přesná frekvence penetrance není známa.
HH typ 4, HFE4	Několik mutací v genu pro ferroportin1 Autozomálně dominantní ! (AD)	Na rozdíl od typu 1 a 3 je vysoká koncentrace Fe v makrofázích, je jen lehce zvýšená saturace transferinu železem. Organová sideróza se liší dle konkrétní mutace. AD s plnou penetrací.
HH typ 5, HFE5	Mutace v genu FTH1, kódujícím H-řetězec feritinu	AD.

více detekovány v populacích severských zemí. Lze si představit, že mírně zvýšená srážlivost krve a zvýšené vstřebávání Fe z potravy zvýhodňovalo své nositele ve tvrdých severských podmínkách boje o potravu, teritorium a přežití. V současnosti se však podmínky zevního prostředí v průmyslově rozvinutých zemích dramaticky změnilo ve smyslu nadbytku potravy a nedostatku přímého boje a pohybu a původně výhodné mutace se tak staly spíše nevýhodnými, jelikož ohrožují své nositele hyperkoagulací a přetížením orgánů železem.

Přes výrazné pokroky ve výzkumu HH zůstává nedeřešena a nezodpovězena řada závažných otázek, týkajících se přesného mechanismu vzniku, penetrace a možností prevence HH. V době prvních popisů případů HH v 19. století se HH považovala za vzácnou chorobnou jednotku. Ve světle výrazně vysoké frekvence HFE mutací v kavkazské populaci se objevila v odborné literatuře tvrzení, že jde o vůbec nejčastější vrozenou metabolickou poruchu s vysokou morbiditou i mortalitou. Další výzkumy však ukázaly, že **klinická penetrace u homozygotních nositelů HFE mutace C282Y není vysoká** a pravděpodobně nepřesahuje 5 %. Současné studie se však liší jak populačním složením vyšetřených souborů, tak i kritérii pro diagnózu iron overload a pro klinickou manifestaci tj. skutečnou klinickou penetraci nejčastějších HFE mutací. Lze si představit kontinuum od pouhého homozygotního nosičství C282Y mutace přes prokázané odchylky v metabolismu železa až ke klinické manifestaci hereditární hemochromatózy v podobě poškození parenchymatózních orgánů železem. **Intermediální fenotyp HH představují parametry metabolismu železa – saturace transferinu železem a koncentrace feritinu v séru.** „Cutoff“ hladiny pro **saturaci transferinu (TS – transferrin saturation)** se pohybují od 45 do 62 %, „cutoff“ hodnoty pro **sérový feritin** od 125 µg/l po 200 µg/l pro ženy a od 250 µg/l po 325 µg/l pro muže. Je však nutno latentní přetížení organismu železem potvrdit **nejméně jedenkrát opakovaným vyšetřením TS a feritinu**, jelikož například až u 45–85 % vyšetřených osob se při druhém vyšetření nedaří prokázat zvýšenou TS (29). Je rovněž zřejmé, že i u většího počtu osob, jejichž laboratorní hodnoty se pohybují nad arbitrárně stanovenými „cutoff“ limity, nemusí dojít ke klinické manifestaci HH. Odhaduje se, že **klinické příznaky HH** vykazuje asi **třetina až polovina pacientů s prokázaným přetížením železem**. Studií, které prospektivně sledovaly soubory osob s pozitivními testy metabolismu železa je překvapivě málo. Navíc jen málo studií objektivně prokazovalo stav přetížení organismu železem buď jaterní biopsií, nebo kvantitativní flebotomií. Bradley a spolupracovníci shrnuli poznatky ze studií, které prokazovaly přetížení železem výše jmenovanými vyšetřeními a konstatují, že u 58 % mužů a 44 % žen s objektivně prokázaným přetížením železem byl detekován jeden nebo více z následujících příznaků klinické manifestace HH: jaterní fibróza nebo cirhóza, hepatomegalie, kardiomyopatie, artropatie, diabetes, nitrobřišní bolest. Základním nedostatkem všech těchto studií je však vcelku překvapivá **neexistence kontrolního souboru**, což dosti

komplikuje konečnou interpretaci výše uvedených nálezů (29, 30).

Beutler a kolektiv vyšetřili v roce 2002 41 038 osob v rámci zdravotní studie v San Diegu v Kalifornii. Bylo odhaleno 0,4 % (152 z 41038) C282Y homozygotů, u nichž byla studována klinická penetrace ve srovnání s kontrolní skupinou s normálním 282 HFE genotypem. Byl zjištěn dvakrát vyšší výskyt elevace AST (8 % versus 4 %) a elevace plasmatického kolagenu typu IV jako markeru jaterní fibrózy (26 % versus 11 %). U C282Y homozygotů nebyl shledán statisticky významný zvýšený výskyt příznaků ve smyslu slabosti, atralgií, impotence, hyperpigmentace kůže nebo diabetu. (31). Při bližším rozboru studie však lze konstatovat, že 75 % mužských a 40 % ženských homozygotů vykazovalo TS nad 50 %, zvýšená hladina feritinu (nad 250 µg/l u mužů a nad 200 µg/l u žen) byla detekována u 76 % mužských a 54 % ženských homozygotů. U 25 % C282Y homozygotů byla navíc detekována zvýšená hladina kolagenu typu IV. Autoři odhadli klinickou penetraci u C282Y homozygotů na cca 1 % s tím, že jak laboratorní známky přetížení železem, tak nepřímé známky hepatopatie (jaterní biopsie nebyly provedeny) dle jejich názoru neměly větší vliv („little or no effect“) na přežití, což je diskutabilní. Navíc 45 z 152 homozygotů bylo již léčeno venepunkcemi pro laboratorně prokázané přetížení železem.

Olynyk a spolupracovníci vyšetřili v roce 1999 v rámci populační studie 3011 osob a našli 16 (0,5 %) C282Y homozygotů. Všechny 16 homozygotů vykazovalo laboratorní známky přetížení železem ve smyslu hladiny feritinu nad 300 µg/l, u 15 se saturace transferinu pohybovala nad 45 %. U 11 těchto homozygotů byla provedena jaterní biopsie a u všech byl nalezen **zvýšený jaterní index železa** (32).

Několik studií nenalezlo sníženou frekvenci C282Y u seniorských populací, což hovoří proti tvrzení o vysoké morbiditě i mortalitě homozygotů. Zajímavou z tohoto pohledu je i francouzská studie Coppinové a spol., prokazující **vysokou frekvenci HFE mutací u stoletých probandů** (33). Rodinné studie dále prokázaly různou klinickou penetranci u homozygotních nosičů C282Y mutace – někteří homozygotní příbuzní probandů s HFE hemochromatózou zůstávají asymptomaticti do vysokého věku, zatímco u jiných se genetická dispozice klinicky manifestovala (34). Lze shrnout, že **penetrace HFE genotypu u homozygotů je velmi pravděpodobně pod vlivem dalších genetických i zevních faktorů a je nižší, než se původně předpokládalo**, i když často není přesně definováno, co se pojmem penetrace myslí (laboratorní známky přetížení železem? Hepatopatie? Plně vyjádřený klasický obraz „bronzového diabetu“?). Analýzou všech dostupných dat se proto penetrace HFE hemochromatózy v současnosti **odhaduje v širokém intervalu mezi 1–50 %** (29). Ve světle výše uvedených skutečností byly revidovány návrhy na všeobecné genetické testování obecné populace na nejčastější HFE mutace. V současnosti se nepovažuje za

přesvědčivě prokázané, že by toto testování přineslo výraznější užitek, avšak problematika není definitivně uzavřena s tím, že nové klinické studie by měly vnést více jasna do závažných otázek **benefitu obecného populačního screeningu na HH** (29).

Definitivně není uzavřena ani problematika testování v rámci **rodinných příslušníků probandů** s klinickou manifestací HH. Zcela jistě nelze stanovit diagnózu HH pouze na základě vyšetření HFE genotypu, je nutno zohlednit i opakované vyšetření parametrů metabolismu železa, eventuálně i dalších faktorů, jelikož homozygotní rodinní příslušníci probandů s manifestní HH vykazují různou míru a frekvenci klinické penetrace C282Y genotypu (34). Penetrace jiných než C282Y HFE genotypů se odhaduje ještě níže než 1 % a genetické poradenství u takto stigmatizovaných osob je proto ještě obtížnější. Stanovování HFE genotypu u dětí z postižených rodin není dle současných poznatků o klinické manifestaci HFE hemochromatózy ve středním a vyšším věku indikováno (35).

Další závažnou nedořešenou otázkou zůstávají mechanismy, jakými se liší jednotlivé typy HH co do orgánové lokalizace přetížení železem.

Velmi zajímavý je rovněž vliv HFE mutací na manifestaci **kardiální i extrakardiální aterosklerózy**. Data, shromážděná řadou klinických studií, nejsou jednoznačná, ale zdá se, že převažují informace negující vliv HFE mutací a poruch metabolismu železa na manifestaci vaskulárních onemocnění, i když poslední dobou byly publikovány práce, podporující vliv přetížení organismu železem na rozvoj aterosklerózy (36–45).

**Kancerogenní vliv** přetížení organismu železem je jednoznačně prokázán u hepatocelulárního karcinomu, který představuje nejzávažnější komplikaci siderogenní jaterní cirhózy. Uvádí se, že riziko vzniku hepatocelulárního karcinomu je u pacientů s cirhózou na bázi hemochromatózy u mužů starších 55 let až 200krát vyšší oproti kontrolní populaci (46). O hemochromatózou podmíněné kancerogeneze v jiných orgánech a lokalizacích není dostatek důkazů. Vzhledem k vlivu Fe na proliferaci a diferenciaci buněk však studie kancerogenního efektu přetížení organismu Fe dále pokračují.

Nejasnou oblastí je i vliv přetížení organismu železem na manifestaci **diabetes mellitus**. Zatím není jednoznačně prokázána oprávněnost genetického screeningu na HH u pacientů s cukrovkou, byly však nalezeny korelace mezi parametry přetížení železem a inzulínovou rezistencí (47, 48).

**Léčbou volby HH jsou pravidelné flebotomie** se snahou dosáhnout redukce zásob železa až k dolní hranici normy. Doporučuje se takzvaná **kvantitativní flebotomie**, kdy je množství železa, odebrané flebotomií, korelováno s hladinou feritinu v séru. Zpočátku je nutné provádět flebotomie nejméně každý týden, udržovací flebotomie po snížení koncentrace feritinu jsou vhodné několikrát ročně za kontrol parametrů metabolismu železa, přičemž by koncentrace feritinu v séru měla být udržována pod 50 µg/l. Léčba desferioxaminem a jinými **che-**

**látorů železa** není u naprosté většiny pacientů s HH indikována, ale nachází své uplatnění u jiných typů iron overload, zvláště u vrozených hemoglobinopatií provázených hemolýzou (například u pacientů s talasemií).

Leitmanová a kol. publikovali v roce 2003 studii skupiny 130 pacientů s HH, zařazených do programu pravidelných flebotomií v Department of Transfusion Medicine, W.G. Magnuson Clinical Center v Bethesdě. 76 % probandů bylo homozygotních pro mutaci HFE C282Y, u zbytku byla HH diagnostikována na bázi vyšetření intermediálního fenotypu (tj. opakovaně patologických biochemických parametrů metabolismu železa), jiné HFE i non-HFE mutace nebyly vyšetřovány. Jediným kritériem zařazení pacientů do flebotomického programu byla genotypicky a/nebo fenotypicky prokázaná hereditární hemochromatóza, výběr nebyl ovlivněn požadavky na vhodnost pacientů k dárčovství krve. Někteří pacienti byli již v minulosti léčebně flebotomizováni nebo pravidelně darovali krev. Medián počtu flebotomií, nutných k dosažení konečného výsledku v podobě snížení středního objemu erytrocytů (MCV) o 3 % pod bazální hodnotu, obnášel 22 (rozsah 7–99). Flebotomie byly realizovány jednou nebo dvakrát týdně. Pacientům, dojíždějícím ze vzdálenějších oblastí, byla nabídnuta možnost dvojité přístrojové erythrocytaferézy. V momentě dosažení konečného výsledku byly hodnoty feritinu všech pacientů pod hranici 30 µg/l a saturace transferinu byla menší než 30 %. 76 % pacientů z celého souboru splňovalo kritéria pro dárčovství a odebraná krev byla proto použita k transfuzním účelům. 1402 donací erythrocytových transfuzních přípravků, získaných touto cestou, proběhlo bez jakýchkoliv komplikací. Dárci s HH byli ve srovnání s běžnými dárci lépe motivováni k opakovaným donacím a navíc někteří udávali i větší komfort odběrů v transfuzním centru oproti flebotomiím, prováděným dříve mimo toto centrum. Dva roky po zahájení flebotomického programu přispívali dárci s HH čtrnácti procenty všech donací významným způsobem k výrobě erythrocytových transfuzních přípravků. Autoři uzavírají, že **centralizací flebotomické léčby HH do transfuzních center** získá transfuzní služba cenný pool pozitivně motivovaných dárců, všichni pacienti s HH pak mohou profitovat z profesionálně prováděných manuálních i přístrojových flebotomií vycvičeným personálem pracovníků transfuzní služby (49). Nemalou výhodou je i možnost provádění přístrojových aferéz, které mohou oproti manuálním flebotomiím odčerpat přibližně dvojnásobné množství železa a jsou navíc vhodné i u pacientů, kteří manuální flebotomie špatně tolerují (50).

#### 4. Závěr

Poruchy metabolismu železa se v současnosti nacházejí v centru zájmu řady výzkumných týmů, pracujících jak v základním výzkumu, tak i v klinické medicíně. Vzhledem k ubikvitárnímu výskytu tohoto důležitého

biogenního prvku nepřekvapí možná asociace poruch metabolismu železa s rozvojem kardiovaskulárních onemocnění, diabetu, zhoubného bujení i poruch imunity, možnost ovlivnění vyšší nervové činnosti apod. Závažnou otázkou je oprávněnost genetického screeningu na nejfrekventnější mutace HFE genu, zvláště v kavkazoidních populacích; hlavní překážkou zavedení tohoto finančně náročného vyšetření je nejednotnost, panující v písemnictví v otázce penetrace HFE genotypu. Na druhé straně se ukazuje, že pacienti s prokázanou HH mohou být s výhodou léčeni pravidelnými venepunkcemi, resp. erythrocytaferézou na transfuzních odděleních. Na řadu výše položených otázek se dočkáme odpovědi jen díky soustředěné práci vědeckých týmů, mnohdy založené na široké interdisciplinární spolupráci.

## Literatura

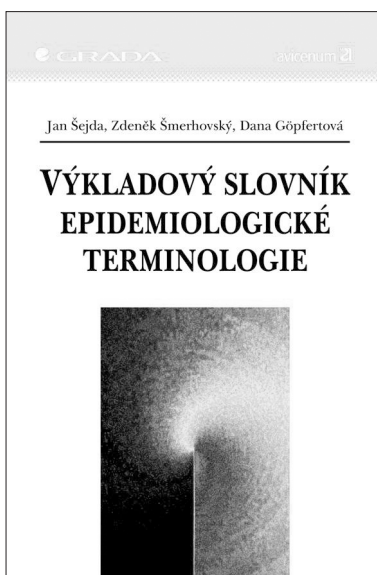
1. Eisenstein RS. Iron regulatory proteins and the molecular control of mammalian iron metabolism. *Annu Rev Nutr* 2000; 20: 627–62.
2. Pantopoulos K, Weiss G, Hentze M. Nitric oxide and oxidative stress (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) control mammalian iron metabolism by different pathways. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 3781–8.
3. Recalcati S, Taramelli D, Conte D, Cairo G. Nitric oxide-mediated induction of ferritin synthesis in J774 macrophages by inflammatory cytokines: role of selective iron regulatory protein-2 downregulation. *Blood* 1998; 91: 1059–66.
4. Weiss G, Goossen B, Doppler W, et al. Translational regulation via iron-responsive elements by the nitric oxide/NO-synthase pathway. *EMBO J* 1993; 12: 3651–7.
5. Nicolas G, Viatte L, Lou DQ, et al. Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nature Genetics* 2003; 34: 97–101.
6. Hallberg L, Rossander L. Absorption of iron from Western lunch and dinner meals. *Am J Clin Nutr* 1982; 35: 502–9.
7. Lee GR, Herbert V. Nutritional factors in the production and function of erythrocytes. In: Wintrobe's Clinical Hematology, 10th ed., Williams and Wilkins 1999; 228–66.
8. Roy CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood* 2000; 96: 4020–7.
9. Goswami T, Rolfs A, Hedinger MA. Iron transport: emerging roles in health and disease. *Biochem. Cell Biol* 2002; 80: 679–89.
10. Muckenthaler M, Ro CN, Custodio AO, et al. Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and Cybrd1 expression in mouse hemochromatosis. *Nature Genetics* 2003; 34: 102–7.
11. Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000; 275: 19906–12.
12. Fleming RE, Sly WS. Ferroportin mutation in autosomal dominant hemochromatosis: loss of function, gain in understanding. *J.Clin. Invest.* 2001, 108: 521–2.
13. Montosi G, Donovan A, Totaro A, et al. Autosomal dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001; 108: 619–23.
14. Feder JN, Penny DM, Irrinki A, et al. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 1472–77.
15. Ikuta K, Fujimoto Y, Suzuki Y, et al. Overexpression of HFE alters transferrin recycling process in human hepatoma cells. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1496: 221–31.
16. Trinder D, Macey DJ, Olynyk JK. The new iron age (review). *Int J Molec Med* 2000; 6: 607–12.
17. Harrison SA, Bacon BR. Hereditary hemochromatosis: update for 2003. *J Hepatol* 2003; 38 (Suppl 1): S14–S23.
18. Waheed A, Grubb JH, Zhou XY, et al. Regulation of transferrin-mediated iron uptake by HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 3117–22.
19. Montosi G, Paglia P, Garuti C, et al. Wild-type HFE protein normalizes transferrin iron accumulation in macrophages from subjects with hereditary hemochromatosis. *Blood* 2000; 96: 1125–9.
20. Rolfs A, Bonkovsky HL, Kohlroser JG, et al. Intestinal expression of genes involved in iron absorption in humans. *Am J Physiol* 2002; 282: G598–G607.
21. Trinder D, Olynyk JK, Sly WS, Morgan EH. Iron uptake from plasma transferrin by the duodenum is impaired in the Hfe knockout mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 5622–6.
22. Dupic F, Fruchon S, Bensaid M, et al. Inactivation of the hemochromatosis gene differentially regulates expression of iron-related mRNAs between mouse strains. *Gastroenterol* 2002; 122: 745–51.
23. Feder JN, Tusuchihashi Z, Irrinki A, et al. The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts beta2-microglobulin interaction and cell surface expression. *J Biol Chem* 1997; 272: 14025–28.
24. Zhou XY, Tomatsu S, Fleming RL, et al. HFE gene knockout produces mouse model of hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 2492–2497.
25. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hemochromatosis. *Nat Genet* 1996; 13: 399–408.
26. Jones DC, Young NT, Pigott C, et al. Comprehensive hereditary hemochromatosis testing. *Tissue Antigens* 2002; 60: 481–8.
27. Gehrke SG, Kulaksiz H, Herrmann T, et al. Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to non-transferrin-bound iron. *Blood* 2003; 102(1): 371–376.
28. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nature Genetics* 2003; 33: 21–2.
29. Imperatore G, Pinsky LE, Motulsky A, et al. Hereditary hemochromatosis: perspectives of public health, medical genetics, and primary care. *Genetics in Medicine* 2003; 5: 1–8.
30. Bradley LA, Haddow JE, Palomaki GE. Population screening for haemochromatosis: a unifying analysis of published intervention trials. *J Med Screen* 1996; 3: 178–84.
31. Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA. Penetrance of 845 G-A (C282Y) HFE hereditary hemochromatosis in the USA. *Lancet* 2002; 359: 211–18.
32. Olynyk J, Cullen D, Aquilia S, et al. A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999; 341: 718–24.
33. Coppin H, Bensaid M, Fruchon S, et al. Longevity and carrying the C282Y mutation for haemochromatosis on the HFE gene: case control study of 492 French centenarians. *Brit Med J* 2003; 327: 132–3.
34. Adams P, Brissot P, Powell LW. EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J Hepatol* 2000; 33: 485–504.
35. American Society of Human Genetics Board of Directors. Points to consider: ethical, legal, and psychosocial implications of genetic testing in children and adolescents. *Am J Hum Genet* 1995; 57: 1233–1241.
36. Annichino-Bizzacchi JM, Saad STO, Arruda VR, et al. C282Y mutation in the HLA-H gene is not a risk factor for patients with myocardial infarction. *J Cardiovasc Risk* 2000; 7: 37–40.
37. Battiloro E, Ombres D, Pascale E, et al. Haemochromatosis gene mutations and risk of coronary artery disease. *Eur J Hum Genet* 2000; 8: 389–92.
38. Bozzini C, Girelli D, Tinazzi E, et al. Biochemical and genetic markers of iron status and the risk of coronary artery disease: An

- angiography-based study. Clin Chem 2002; 48: 4.
39. **Claeys D, Walting M, Julmy F, et al.** Haemochromatosis mutations and ferritin in myocardial infarction: a case-control study. Eur J Clin Invest 2002; 32 (Suppl 1): 3–8.
  40. **Franco RF, Zago MA, Trip MD.** Prevalence of hereditary hemochromatosis in premature atherosclerotic vascular disease. Brit J Haematol 1998; 102: 1172–5.
  41. **Klipstein-Grobusch K, Koster JF, Grobbee DE, et al.** Serum ferritin and risk of myocardial infarction in the elderly: the Rotterdam Study. Am J Clin Nutr 1999; 69: 1231–6.
  42. **Meyers DG.** The iron hypothesis: does iron play a role in atherosclerosis? Transfusion 2000; 40: 1023–9.
  43. **Racek J.** Železo, volné radikály a ateroskleróza (Editorial). Vnitř Lék 2004; 50: 181–3.
  44. **Tuomainen TP, Kontula K, Nyssönen K, et al.** Increased risk of acute myocardial infarction in carriers of the hemochromatosis gene Cys282Tyr mutation. A prospective cohort study in men in Eastern Finland. Circulation 1999; 100: 1274–9.
  45. **Zacharski LR, Gerhard GS.** Atherosclerosis: a manifestation of chronic iron toxicity? Vasc Med 2003; 8: 153–155.
  46. **Whittington CA, Kowdley KV.** Review article: haemochromatosis. Aliment Pharmacol Therapeut 2002; 16: 1963–75.
  47. **Fernández-Real JM, Penarroja G, Castro A, et al.** Blood letting in high-ferritin type 2 diabetes. Effects on insulin sensitivity and  $\beta$ -cell function. Diabetes 2002; 51: 1000–10004.
  48. **Guillygomarc'h A, Mendler MH, Moirand R, et al.** Venesection therapy of insulin resistance-associated hepatic iron overload. J Hepatol 2001; 35: 344–9.
  49. **Leitman SF, Browning NJ, Yau YY, et al.** Hemochromatosis subjects as allogeneic blood donors: a prospective study. Transfusion 2003; 43: 1538–44.
  50. **Muncunill J, Vaquer P, Galmés A, et al.** In hereditary hemochromatosis, red cell apheresis removes excess iron twice as fast as manual whole blood phlebotomy. J Clin Apheresis 2002; 17: 88–92.

Došlo do redakce: 29. 4. 2005

Přijato: 11. 7. 2005

MUDr. J. Novotný  
 Oddělení klinické hematologie  
 FN Brno, Jihlavská 20  
 625 00 Brno  
 e-mail: novotnyj@fnbrno.cz



## VÝKLADOVÝ SLOVNÍK EPIDEMIOLOGICKÉ TERMINOLOGIE

*Jan Šejda, Zdeněk Šmerhovský, Dana Göpfertová*

Publikace definuje a vysvětluje formou hesel pojmy užívané při studiu výskytu, distribuce a příčin hromadně se vyskytujících nemocí a poruch zdraví. Hlavním cílem publikace je snaha o sjednocení epidemiologické terminologie, vedoucí k užívání standardních a srovnatelných termínů ve vědecké i rutinní práci, a tím i k lepšímu vzájemnému porozumění – jak v oborech epidemiologie a veřejného zdravotnictví, tak i mezi ostatními lékařskými disciplinami. Práce zahrnuje hesla obecné epidemiologie se zaměřením na epidemiologii infekčních nemocí, epidemiologickou metodologii, nejčastější termíny zdravotnické statistiky užívané epidemiology, ale též na vybrané pojmy z příbuzných lékařských oborů, jakými jsou infekční lékařství, lékařská mikrobiologie a hygiena. U řady hesel jsou uváděny i jejich anglické ekvivalenty usnadňující orientaci v anglické

odborné literatuře. Publikace je určena pro pregraduální i postgraduální studium epidemiologie. Je nepostradatelná pro zájemce z celého spektra veřejného zdravotnictví i klinických disciplin, kteří se zabývají epidemiologickými aspekty svého oboru.

Vydala Grada Publishing v roce 2005, ISBN 80-247-1068-4, kat. číslo 1324, A5, brožovaná vazba, 120 stran, cena 159 Kč, 243 Sk.

**Publikaci můžete objednat na adrese: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz**