
Imerslund–Gräsbecks syndrom

RALPH GRÄSBECK

Imerslund–Gräsbecks syndrom beskrevs samtidigt i Norge och Finland. Barn befanns ha megaloblastisk anemi till följd av brist på vitamin B₁₂ (B₁₂) samt lindrig proteinuri. De två finländska patienterna visades vara oförmögna att uppta B₁₂ från tarmen. Alla kända orsaker till detta kunde uteslutas; malabsorptionen var sålunda selektiv. Redan från början misstänktes grundorsaken vara ett fel i tarmens receptor för B₁₂-intrinsic factor-komplexet och proteinurin bero på en oförmåga att i njurtubuli reabsorbera protein. De norska fallen visades senare ha samma uppkomstmekanism.

Cirka 350 fall har nu rapporterats från olika länder. Sjukdomen är icke-könsbunden och recessiv och debuterar i tidig ålder, från några månader till puberteten. Forskningen i syndromet har utvecklats från kliniska observationer via populationsgenetik och nefrologiska undersökningar till karakterisering av de sjukdomsalstrande felaktiga generna. Dessa kodar för endera av två komponenter i B₁₂-intrinsic factor-receptorn, kubilin och amnionless. Receptorn, i vars funktion även megalin deltar, förmedlar cellupptaget i tarmen och njuren av också andra ligander, bl.a. albumin, lipoproteiner, hemoglobin och D-vitamin. Sjukdomen är svår att skilja från medfödd brist på intrinsic factor och under bristtillståndet från generell malabsorption. Säkrast nås diagnos med genanalys. Som behandling rekommenderas injektioner av hydroxokobalamin, varvid patienterna förblir helt friska. Proteinurin fortfar men njurfunktionen försämras inte. Dock förekommer inte proteinuri i ungefär i hälften av fallen.

Inledning

Sjukdomen eller syndromet beskrevs utförligt 1960 samtidigt i Finland av mig med medarbetare samt av Olga Imerslund i Norge (1, 2); därförinnan hade kongressabstrakt publicerats. För den som önskar en koncis och praktiskt inriktad redogörelse för sjukdomen, har jag nyligen publicerat en open-access-översikt (3). Med tanke på Handlingarnas läsekrets har jag här lagt tonvikten på hur de första fallen upptäcktes och hur tillståndet därefter har utretts.

Syndromet hittas

Vid årsskiftet 1957–1958 blev jag uppringd av Ilmari Kantero. Jag hade blivit närmare bekant med honom i Paris, där vi nyårshelgen 1951 som representanter för Medicinarklubben Thorax respektive Lääketieteenkandidaattiseura var med om att besluta om grundandet av International Federation of Medical Students' Associations, IFMSA (4). Den har numera vuxit till en jätteorganisation. Kantero,

som alltså kände till min forskning, bad mig komma på konsultation till Barnkliniken i Helsingfors för att bedöma en 11-årig gosse, som varit intagen på kliniken 8 gånger sedan två års ålder på grund av megaloblastisk anemi och proteinuri av okänd orsak. – Jag forskade då inom Bertel von Bonsdorffs maskanemigrupp och hade från USA hämtat de nyaste metoderna att studera vitamin B₁₂ (B₁₂),

FÖRFATTAREN

Professor **Ralph Gräsbeck** är klinisk kemist och biokemist. Han har bl.a. varit chef för Medicinska forskningsinstitutet Minerva 1971–1993, där han också idag bedriver forskning. Hans senaste publikationer handlar om kobalamin, referensvärden och Finska Läkaresällskapets antika böcker.

alias kobalamin, och relaterade faktorer, bl.a. Schilling-testet som ju utnyttjar radioaktivitet, någonting exklusivt på den tiden. Dessutom kunde jag göra absorptionsprov av olika slag (5). Jag kom till att patienten hade en selektiv absorptionsdefekt i tarmen, endast B₁₂ absorberades dåligt. Kantero och jag presenterade fallet på Nordiska barnläkarkongressen i Helsingfors 1958 (6, 7). Redan då framkastade vi att felet låg i tarmens B₁₂-acceptor (som befinner sig i ileum) och att proteinurin berodde på något fel i njurtubuli (7), som har många egenskaper som liknar tarmens.

Vid den tiden var jag assistentläkare på IV Medicinska kliniken, och sköterskorna på min avdelning viskade om en 22-årig sjuksköterskelev, som hade recidiverande makrocytär anemi och som sedan nio månaders ålder tidvis hade behandlats med leverpreparat. Hon var tydligen rädd för att de entusiastiska maskanemiforskarna skulle angripa henne, men slutligen gick hon med på att bli undersökt. Fynden var helt analogt med dem vi hade hittat hos nyssnämnda barnpatient, och också sjuksköterskeleven hade lindrig proteinuri. I och med att jag på kort tid hade träffat på två väldigt likadana fall, uppstod misstanken om att det rörde sig om en tidigare okänd sjukdom eller ett syndrom. Att det var ett ärftligt tillstånd föreföll sannolikt, ty den senare patientens föräldrar var dubbelkusiner, dvs. kusiner på både fädernet och mödernet.

Fallen undersöktes då och senare extra noga. Sannolikt har inga senare fall i hela världen blivit så grundligt undersökta. Vi visade, att det rörde sig om en B₁₂-brist, vars orsak var dålig absorption av vitaminet, men att absorptionsrubbingen inte berodde på brist på intrinsic factor (IF), generell malabsorption, bandmask, patologisk tarmflora, dålig retention av kobalamin i vävnaderna, IF-antikroppar o.s.v. Malabsorptionen var alltså selektiv. Njurfunktionen var god och njurbiopsi utfördes av Börje Kuhlback – mycket avancerat på den tiden. Biopsin från gossen var inte helt lyckad, men obetydliga histologiska förändringar sågs ändå, hos den unga kvinnan saknades de.

De grundligt undersökta fallen rapporterades i en artikel, som 1960 publicerades i *Acta medica Scandinavica* (1). Titeln beskrev patogenesen och lydde "Selective vitamin B₁₂ malabsorption with proteinuria in young people. A syndrome." I artikeln ingick en litteraturoversikt, och vi hade hittat några tidigare beskrivna fall som eventuellt representerade

samma sjukdom. Närmast kom ett fall från Jugoslavien beskrivet 1952 av Najman och Brausil (8), men undersökningsmetoderna var då rätt primitiva. Genom att mata magsaft i patienter med genuin pernicios anemi (Castles test) kunde författarna påvisa IF i patientens magsaft, men i så små mängder att sjukdomen ansågs bero på nedsatt IF-produktion. – Men så hände någonting oväntat.

Några dagar innan vi lämnade in vårt manus, ringde Kantero till mig och sade att han funnit att Osloprofessorn Leif Salomonsen i en lärobok (9) nämner att det existerar en idiopatisk familjär sjukdom som liknar pernicios anemi men att magsaften här innehåller saltsyra och urinen ofta protein. Vi skrev och bad Salomonsen om detaljer. Han svarade att cirka 11 fall i 5–6 familjer hade hittats av Olga Imerslund, som ännu inte publicerat sina fynd. Detta stärkte förstås vår åsikt att vi hade hittat en ny sjukdomsenhet. När vi fick korrektur på vår artikel, hade Imerslunds doktorsavhandling som beskrev sjukdomen utkommit (2). Den citerade vi sedan i ett *Addendum*. Hon rapporterade 10 fall av bägge könen och ansåg att sjukdomen var autosomal och recessiv. Den kliniska bilden och den familjära förekomsten var väl dokumenterade, men den patogenetiska förklaringen till tillståndet var föga utredd: Hon visade bara att magsaften band B₁₂ in vitro och att patienternas anemi inte reagerade på behandling med magsaft (IF) + B₁₂ per os, vilket tydde på att sjukdomen inte var pernicios anemi. I många fall förekom morfologiska anomalier i urinvägarna: hästskonjure och dubbla uretärer. Två fall uppvisade inte proteinuri. Nedsatt njurfunktion kunde inte påvisas, inte ens hos en patient som haft åkomman i 17 år.

Långt senare fick jag höra att Imerslunds doktorsavhandling inte hade godkänts eller snarare inte ens inlämnats. Jag har försökt ta reda på varför och fått svaret (10) att man på den tiden krävde mer experimentell forskning, och onekligen hade Olga Imerslund (som jag aldrig har träffat) gjort rätt få försök att utreda grundmekanismen. (För övrigt motsvarade en norsk doktorsexamen mer en docentur än en doktorsexamen hos oss, bl.a. krävdes provföreläsningar). Jag har undrat över om jag själv indirekt bidrog till refuseringen; på den tiden beskrev jag utförligt i nordiska tidskrifter nya metoder att undersöka B₁₂- och folsyrabrist, och i princip hade jag ju kunnat stå till tjänst med analyser. Tre år efter publiceringen av doktorsavhandlingen kompletterade Imerslund i samarbete med laboratorie-

läkaren Bjørnstad sina undersökningar med moderna metoder, bl.a. Schillingtestet, och gjorde samma fynd som vi, d.v.s. visade att patienterna led av en selektiv malabsorption av B₁₂ (11), med andra ord att det rörde sig om samma sjukdom. Sjukdomen har vanligen kallats Imerslund-Gräsbecks eller Gräsbeck-Imerslunds syndrom eller sjukdom. Ibland nämns också Najman, och även termen megaloblastisk anemi 1 förekommer. Den förstnämnda är vanligast, förkortas vanligen IGS, och den har jag själv efter moget övervägande accepterat.

Redan i våra tidiga publikationer (1, 6) framkastade vi att proteinurin berodde på en oförmåga att reabsorbera protein i njurtubuli. Vi påpekade också att eventuella histologiska förändringar i njuren sannolikt hade orsakats av bristtillståndet.

Nya fall och rön

Redan 1961 rapporterade Lamy et al. (12) liknande fall från Frankrike. Intresset för sjukdomen har varit stort i det landet, och jag har varit opponent då flera doktorsavhandlingar på temat försvarats vid franska universitet. Något senare började man rapportera fall från hela världen, bl.a. från länder med semitisk befolkning. Finländska pediatriker och populationsgenetiker har bidragit till forskningen (13, 14). Furuholm och Nevanlinna publicerade 1973 en genealogisk studie (15) och visade släktband mellan de finländska fallen och en anhopning av deras äldsta kända förfäder i vissa socknar.

Kring 1966 fick jag en i mitt tycke smickrande inbjudan att skriva om sjukdomen i ett projekt som kallades Europa medica. Artikeln skulle utkomma samtidigt i talrika europeiska tidskrifter av typ Läkartidningen (företaget sammanhänge med de trender som ledde till grundandet av EU). Min yngre medarbetare Gösta Kvist och jag lade ned stor möda på att gå igenom alla rapporterade fall (då 47 st.) samt presenterade i detalj 3 nya fall och 16 ytterligare undersökta. Nyttillkomna undersökningar, som även gjordes på våra första fall, innefattade bl.a. njur- och tunnarmsbiopsier, bestämning av transkobalaminer i serum, autoimmuna antikroppar av olika slag m.m. Biopsifynden var vanligen negativa, men i några fall syntes svaga tecken på en lätt membranös glomerulonefrit. Några intressanta rön rapporterades: Det är känt att jättedoser B₁₂ per os leder till att en liten del absorberas utan medverkan av IF, till-

räckligt för att behandla pernicios anemi (jfr preparatet Betolvex[®]). Genom att undersöka absorptionen av megadosor B₁₂, märkta med små mängder radioaktivt vitamin fann vi att patienterna absorberade mindre av dessa jättedoser än patienter med pernicios anemi. Det andra rönet, tidigare rapporterat i Nordisk Medicin (5) var att B₁₂-brist i sig kan orsaka en generell malabsorption, – också enterocyterna lider av bristen. Generell malabsorption kan sålunda endast uteslutas med prover utförda när bristtillståndet är hävt. Detta gäller även Schillingprovet: trots att patienten lider av IF-brist (d.v.s. lider av pernicios anemi), ökar samtidigt administrerad IF inte absorptionen av radioaktivitet. – När vi insåg detta, hittade vi många nya fall av IGS, som tidigare ansetts ha generell malabsorption, speciellt celiaki.

Artikeln utkom på många språk, bland dem tyska och franska (16, 17), men inte på engelska, som var manusets språk. Det sades, att British Medical Journal dragit sig ur projektet (min teori är att det berodde på att en annan artikel i samma nummer beskrev en diskutabel kirurgisk metod). Språkbarriären har lett till att rönen i vår artikel ytterst sällan noterats. Ett kort påpekande av mig om fynden i New England Journal of Medicine (18) citeras dock rätt ofta.

En tidig hypotes om sjukdomens orsak som var aktuell på sin tid var ett fel på en hypotetisk "releasing factor" som frisätter B₁₂ från IF, i tarmväggen eller tarmsaften. I vissa fall upptogs radioaktivt B₁₂ bättre från tarmen om man samtidigt gav tarmsaft per os. Jag kom med flera invändningar mot teorin (16, 17), som inte längre är aktuell.

Så småningom började nya fall rapporteras, men en tid rätt sällan. Eftersom få nya fall hittades i Finland, tänkte man sig att en exogen faktor, t.ex. dieten, hade förändrats och motverkat uppkomsten av B₁₂-bristen (19). Några skeptiska kolleger misstänkte att hela syndromet inte existerade. Själv har jag inte iakttagit någon klar minskning av fallen, utan de har dykt upp ungefär i den takt prevalensen 1:200 000 i Finland (3) teoretiskt förutsäger.

År 2006 hade 27 fall i 19 familjer från Finland och 19 fall i 15 familjer från Norge rapporterats (3). Därefter har jag fått kännedom om några nya finländska patienter. Totalt har i dag ca 350 fall publicerats, men en del torde vara feldiagnostiserade. Sjukdomen har även hittats hos hundar, först riesenschnautzer (21). Genom inavel har nya fall åstadkommit, vilket har möjliggjort studier i en djurmodell.

De nefrologiska aspekterna

Efter Imerslund (som avled 1987) har de norska fallen uppföljts av Harald Broch med medarbetare (20), som bl.a. intresserat sig för de nefrologiska aspekterna. Norrmännen och finländska kolleger har i ljusmikroskopi funnit lätta tecken på membranös glomerulonefrit och i elektronmikroskopi (20, 22) vissa tecken på glomerulopati av mesangioproliferativ typ, ökad mesangial matrix, förtjockning av basalmembranen och mesangiala pålagringar (deposits). Emellertid har sådant vanligen hittats bara hos obehandlade patienter, och fynden korrelerar inte med proteinurin. Några patienter har undergått biopsi både före och efter hävandet av bristtillståndet, och de patologiska förändringarna har vanligen saknats efter behandlingen. Broch har rapporterat (personligt meddelande) att den äldsta norska patienten förolyckats och njurarna undersökts vid obduktion. Biopsi hade tidigare gjorts på patienten och elektronmikroskopiska förändringar hade då hittats, men nu var de försvunna. Det förefaller klart, att njurförändringarna beror på B₁₂-bristen, som torde afficera alla celler i kroppen; förändringarna är analoga med megaloblastosen, som beror på en hämning av DNA-syntesen. Anatomiska abnormiteter i njurvägarna var vanliga i Imerslunds avhandling (2), men senare har få fall med sådana hittats, inte ens i Norge (Broch, personligt meddelande). Från olika håll har enstaka fall kombinerade med anomalier av andra slag rapporterats, men tydlig koppling till IGS har inte påvisats (3).

Kombinationen megaloblastisk anemi och proteinuri kan anses ha varit den iakttagelse som ledde till att sjukdomen upptäcktes. Men det är märkligt att proteinurin inte är så vanlig som vi trodde. I Imerslunds ursprungliga material (2) förekom inte proteinuri hos två patienter och i vår Europa medica-artikel inte hos två av 19. Nu när diagnosen ställts med genteknik och åkomman hittats även hos släktingar och okarakteristiska patienter har proteinurifrekvensen minskat. Tillsammans med Virve Wahlstedt-Fröberg m.fl. (23) fann vi 2003 proteinuri hos bara sex av 13 finländska patienter. Den var vanligen mycket lätt; i detta material fann vi bara tre med klart ökad exkretion av totalprotein och albumin samt i mindre grad av transferrin, lätta immunglobulinkedjor, alfa- och beta₂-mikroglobulin, tre med lätt ökad utsöndring, medan resten uppvisade knappt ökad eller ingen proteinuri. Proteinurin kan anses vara

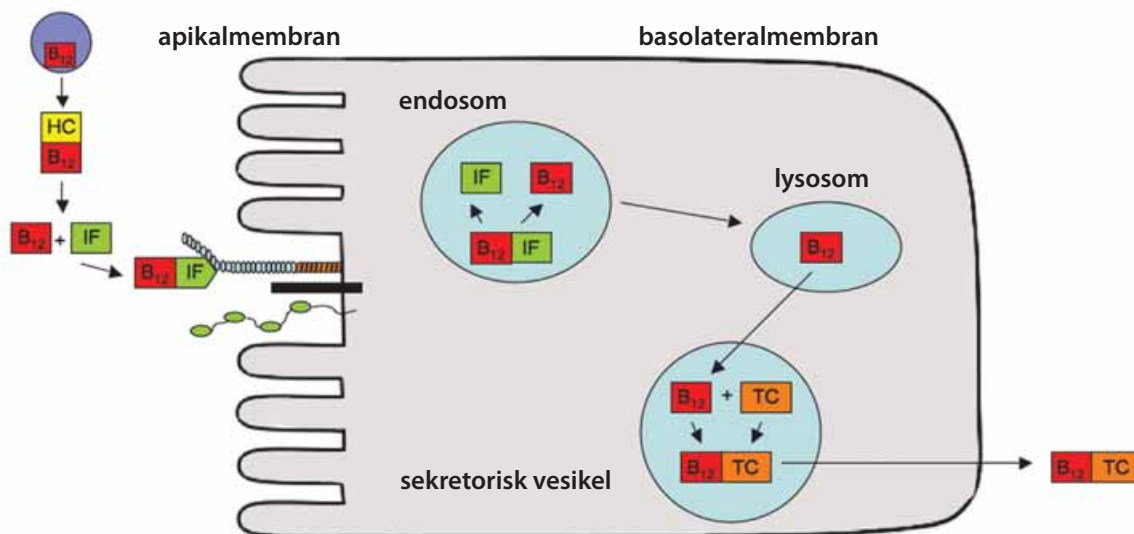
varken typiskt glomerulär eller tubulär utan beror på en oförmåga att i tubuli reabsorbere protein från primärurinen. I hela litteraturen tycks man vara ense om att njurfunktionen är god och inte försämras med åren.

Tidiga receptorstudier

Min och andra forskargrupper lade ned åtskillig energi på att isolera tarmreceptorn för B₁₂-IF-komplexet och upptäcka vilket det molekylära felet var hos patienterna. Vi kom rätt långt, visade tidigt att bindningen av liganden till receptorn krävde kalciumjoner och senare att receptorn bestod av två subenheter (24, 25). Nedsatt exkretion i urinen av receptorn påvisades hos de finländska patienterna, medan arabpatienternas utsöndring kunde vara även ökad (24, 26). (De sistnämnda torde ha lidit av IF-brist, se nedan). Konklusionen var att sjukdomen hade undergrupper troligen beroende på olika slags genetiska fel. Vidare började det komma rapporter om att njurreceptorn var identisk med tarmreceptorn och även band andra ligander än B₁₂-IF-komplexet, t.ex. albumin, vilket förklarar proteinurin (27). Att receptorn hade flera ligander föreföll sannolikt, ty jag har alltid ställt mig skeptisk till att naturen unnat sig lyxen att utveckla en unik mekanism för tarmupptaget av en enda nutrient, B₁₂. Det förefaller mer sannolikt, att transportmekanismerna är gemensamma eller varianter på samma tema (28). – Hur B₁₂ behandlas i mag-tarmkanalen illustreras i Figur 1.

De genetiska felen

På Albert de la Chapelles initiativ började man undersöka det molekylärgenetiska felet bakom sjukdomen, och Maria Aminoff-Backlund disputerade på ämnet år 2000 (19) med Tom Pettersson som opponent och i närvaro av Harald Broch. Det första genombrottet skedde 1995 då man med kopplingsanalys i finländska IGS-familjer kunde lokalisera genmutationen till ett lokus på korta armen av kromosom 10 (29). Fyndet talade entydigt för recessiv nedärvning med hög penetrans, och därmed kunde alla spekulationer om att syndromet inte existerar läggas åt sidan. Ivriga ansträngningar att finna den ”skyldiga” genen ledde inte till snabb framgång. I stället var det dansken Moestrups grupp som kom med följande viktiga fynd: den klonade och beskrev genen kubilin, som tillsammans med



Figur 1.

Hur vitamin B₁₂ upptas från mag-tarmkanalen. Vitaminet frigörs genom digestion och fastnar först på haptokorrin (R-protein, kobalofilin), (HC) som finns i saliv och andra kroppsvätskor samt leukocyter. Vitaminet frigörs när pH förändras och genom digestion. Det frigjorda vitaminet binds till intrinsic factor (IF) och förs med tarminnehållet till ileum, där komplexet först fastnar på B₁₂-IF-receptors kubilinkomponent i närvaro av kalciumjoner. Komplexet internaliseras (endocyteras) med hjälp av amnionless och megalin, dissocierar, och B₁₂ binds till transcobalamin (TC) och transporteras med blodet till andra vävnader. Vår forskargrupp har utrett flera detaljer i denna process, speciellt transportproteinerna. Doktorsavhandlingar på området har lagts fram av författaren (1956), Kai Simons (1964), Uf-Håkan Stenman (1974), George Marcoullis (1978) och Ilkka Kouvonen (1981).

megalin bildar tarmreceptorn för kobalamin (30). Danskarna tog även det följande avgörande steget: de lokaliserade kubilingenen hos människan till det lokus på kromosom 10 som redan upptäckts i Finland (31). Därmed framstod kubilin som en stark kandidatgen för IGS, och följande år kunde säcken knytas ihop i och med att mutationer i kubilingenen påvisades hos finländska IGS-familjer (32).

Substansen kubilin hittades vid studier över membrantransport i olika system, bl.a. i epitelet i tarm, njure och gulesäck. Kubilin är en multiligand-receptor med molekylvikten ca 480 kDa, ursprungligen kallad gp280, och den befanns alltså vara identisk med tarmens och njurarnas B₁₂-IF-receptor (se 19). Substansen har en egenartad struktur bestående av en kedja av 113 aminosyror följt av en ansamling (kluster) av 8 EGF (epidermal growth factor)-regioner följt av 27 CUB-domäner (CUB är en förkortning för tre proteiner). Ett typiskt N-terminalt transmembransegment (membranankare) och en cytoplasmisk domän saknas men substansen hålls kvar på cellmembranen genom att vara bunden till

megalin. Megalin är en annan multiligandreceptor och binder ett stort antal substanser, bland dem kubilin och transcobalamin, som transporterar B₁₂ från blodet till vävnaderna. Kubilin hittas i det apikala borstbrämet i polariserade epitelceller, förutom i ileum och njure även i placenta och är receptor också för lipoprotein A-1 och medverkar i endocytosen av HDL-lipoproteiner, hemoglobin och D-vitamin i njuren. Multiligandreceptorerna illustreras i Figur 2. Ämnet har vuxit enormt, varför jag här bara hänvisar till några nya artiklar (33, 34).

De norska patienterna kunde emellertid inte visas ha fel på kubilingenen, trots att kopplingsanalys av begränsad omfattning ursprungligen tydde på samma lokus i kromosom 10 som hos finländska patienter (29). Det visade sig vid närmare studium att en individ i Norge fått fel diagnos, och detta bidrog till de missvisande kopplingsfynden. Sålunda började det verka som om sjukdomen i Norge vore förorsakad av en annan gen än i Finland, något som för en sällsynt sjukdom måste anses synnerligen osannolikt. En ny

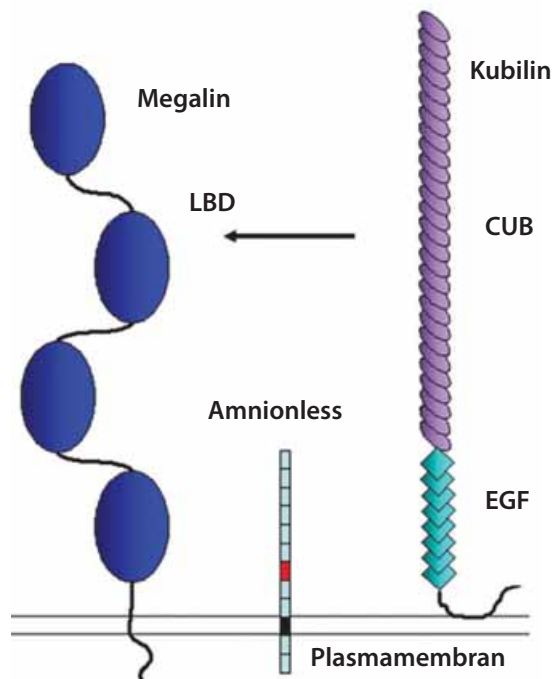
kopplingsanalys på norska patienter pekade nu på ett lokus på kromosom 14, men det innehöll inte sannolika kandidatgener.

Gruppen under de la Chapelle angrep problemet genom att anta att den felaktiga genen exprimerades i olika vävnader ungefär som kubilin och letade i register efter statistiskt sannolika kandidater, där generna låg nära det ställe där kopplingsanalys indikerade att sjukdomsgenen var belägen. AMN (amniotisk), en faktor som behövs för gastrulationen hos möss, blev en kandidat, trots att studier på dessa djur visat att homozygota mutationer i den genen är letala. Men det norska felet visade sig faktiskt bero på denna gen (35); våra och Imerlunds fall berodde alltså på fel i olika gener. Fenomenet är ett exempel på genetisk heterogenitet: en fenotyp – flera gener.

Kubilin och AMN lokaliserade sig lika i polariserade epitelceller och fastnade samtidigt på B₁₂-IF-komplexet. Kombinationen av kubilin och AMN anses representera B₁₂-IF-receptorn och döptes till cubam (36). Tarmabsorptionen börjar med att B₁₂-IF fäster sig på kubilinet. AMN binds till kubilinet aminoterminala ända och dirigerar dess lokalisering i cellen och kubilinet endocytos (cellupptag) med sin ligand. – Vilka alla komponenter som ska räknas som delar av receptorn kan diskuteras, måhända bör också megalin räknas som en av dess subenheter.

På sistone har mutationsanalys på misstänkta IGS-patienter gjorts i de la Chapelles laboratorium i Columbus, Ohio, speciellt av hans medarbetare Stephan Tanner. Många rätt så typiska fall befanns inte ha fel på vare sig kubilingenen eller AMN. Felet kunde emellertid lokaliseras till kromosom 11 och den gen som kodar för magsäckens (gastrisk) intrinsic factor (GIF). Mutationer av olika slag hittades (37). Sjukdomen var alltså inte IGS utan brist på IF, ett slags medfödd pernicios anemi. Sådana fall har länge varit kända (38). En orsak till att fallen diagnostiserats som IGS är att exogen IF icke ökat absorptionen av radioaktivt B₁₂ vid Schillingprovet, som alltså visat "malabsorptionsrespons". Detta beror vanligen på att provet utförts under bristtillståndet, som orsakar försämrad enterocytfunktion. Provet har dessutom många andra felkällor, och slutligen har man på många håll i brist på radioaktivt B₁₂ inte kunnat göra testet.

Ett flertal mutationer i generna CUBN och AMN har hittats, t.ex. två mutationer i den förra beskrevs redan av Aminoff-Backlund med medarbetare (32). Den ena, FM1, var en



Figur 2. Schematisk framställning av komplexet kubilin-megalin-amnionless enl. Kozyraki och Gofflot (33). Megalin består av fyra cysterinrika kluster, som bildar de ligandbindande domänerna (LBD), separerade av 17 upprepningar av EGF och 8 spacer-regioner innehållande s.k. YWTD-upprepningar. Substansen har en enda membranpenetrerande domän som fortsätter med en kort cytoplasmisk svans, som deltar i endocytosfenomenet och möjligen styr receptorn till cellens apexregion. Kubilin består av 27 CUB-domäner och 8 EGF-liknande upprepningar. Transmembrandomän och membranankare saknas. Amnionless är ett transmembranprotein och har ett cysteinrikt område (mörk rött) i sin extracellulära del. Dess cytoplasmiska del deltar i endocytosprocessen.

missense-mutation i CUB-domänen 8 där prolin ersatts med leucin. Den andra, FM2, var en annan mer komplicerad punktmutation, den fanns nämligen i en intronsekvens mellan CUB-domänerna 5 och 6 som resulterade i införandet av stoppkodoner i CUB-domänen 6, vilket leder till att kubilinet inte syntetiseras. Dessutom hittades en patient, som var en

blandad heterozygot FM1-FM3, där FM3 är en tredje mutation.

IGS är vanligast i Norden och Mellanöstern. I en undersökning av 42 familjer (39) fanns kubilinmutationer hos alla undersökta fall i Finland. I Norge hittades amnionlessmutationer hos alla undersökta fall, ett oväntat fynd, sannolikt slumpmässigt betingat. (Senare har en kubilinmutation hittats). I Turkiet, Israel och Saudiarabien hittades tre olika AMN- och tre CUBN-mutationer. De nordiska fallen beror tydligen på en anrikning till följd av grundareffekter, medan en kombination av grundareffekter och efterföljande anrikning leder till hög genfrekvens kring Medelhavet. Härtill kommer att höggradigt släktskap mellan föräldrarna (speciellt kusininge) leder till hög patientfrekvens i denna region.

Undersökningar av IGS hos hundar har visat att felet är analogt människans AMN-mutation (40).

Kliniska synpunkter

Vår läkarkår känner sannolikt till hur megaloblastiska anemier diagnostiseras och att deras orsak vanligen är störd absorption från tarmen. En beskrivning av diagnostiken hittas i min översikt (3). Viktigt är att B₁₂-bristen inte alltid uttrycker sig som en blodsjukdom utan ibland som infertilitet, en neuropsykiatrisk eller oftalmologisk åkomma, o.s.v. samt bidrar till uppkomsten av artärskleros, demens och osteoporos (41, 42).

IGS torde vara den vanligaste orsaken till B₁₂-brist hos barn i Finland. Andra orsaker är celiaki och bandmask. Vidare uppstår brist hos barn som ammas av mödrar som missbrukar lustgas. Vegandiet kan även vara orsaken.

Det råder i dag enighet om att inget laboratorieprov, t.ex. erythrocytindexen MCH och MCV, total-B₁₂ i serum, homocystein och metylmalonat, är den bästa indikatorn på B₁₂-brist. Ett nytt bekymmer är att man har upphört att saluföra radioaktivt vitamin, som behövs för Schillingprovet. Bestämning av transkobalaminbundet B₁₂ ("aktivt B₁₂") i serum har på sistone kommit på modet, och bestämning av värdet före och efter oral tillförsel av B₁₂ ska med framgång ha använts för att diagnostisera IGS (41). En beprövad metod är att ge en injektion av B₁₂ och studera om blodbilden och andra tecken på bristtillståndet korrigeras.

Typiskt för IGS är att sjukdomen inte debuterar omedelbart efter födseln som en del

andra rubbningar i B₁₂-omsättningen, utan tidigast vid några månaders ålder och ibland så sent som i tonåren. De första symtomen är diffusa, långsam utveckling samt återkommande respiratoriska och gastrointestinala infektioner. Laboratorieprover visar i regel megaloblastisk anemi, medan de neurologiska symtomen brukar vara svaga. Proteinuri leder förstås tanken till IGS. Sedan påvisas B₁₂-brist och att den enda nutrient som absorberas dåligt är B₁₂.

I praktiken är det svårt att grundligt undersöka patienter med misstänkt IGS. Genanalys är då en utväg. För tillfället görs det endast i de la Chapelles laboratorium, där Stephan Tanner analyserat prover från patienter som på förhand utretts rätt väl. Den vanligaste "feldiagnosen" har varit kongenital brist på IF. Behandlingen av IGS och medfödd IF-brist är emellertid densamma.

På sistone har proteinurin intresserat mig. Mot bakgrunden av att B₁₂-brist kan vara rätt symtomlös, borde det existera fall av IGS, där det enda symtomet är en långvarig benign proteinuri. Jag gissar att sådana fall existerar, och de borde hittas om man bestämmer serum-B₁₂ på patienter med benign proteinuri.

Behandlingen består i livslång tillförsel av B₁₂. Själv rekommenderar jag en injektion av hydroxokobalamin i månaden. Rätt skött är åkomman benign. Jag brukar säga att om man måste välja att drabbas av en ärftlig sjukdom är denna ett beaktansvärt alternativ.

Tack

Under senare år har min forskning understötts av Magnus Ehrnrooths stiftelse och Medicinska understödsföreningen Liv och Hälsa. Albert de la Chapelle har reviderat och förbättrat manuskriptet, speciellt i den genetiska delen.

Prof. Ralph Gräsbeck
Medicinska forskningsinstitutet Minerva
Biomedicum Helsinki 2U
00029 Helsingfors
ralph.grasbeck@helsinki.fi

Referenser

1. Gräsbeck R, Gordin R, Kantero I, Kuhlback B. Selective vitamin B₁₂ malabsorption and proteinuria in young people. A syndrome. *Acta med scand* 1960; 167:289-296.
2. Imerslund O. Idiopathic chronic megaloblastic anemia in children. *Acta paediatr* 1960; suppl 119:1-115.
3. Gräsbeck R, Imerslund-Gräsbeck syndrome (selective vitamin B₁₂ malabsorption with proteinuria). *Orphanet J Rare Dis* 2006; 1:17. www.OJRD.com/content/1/1/17.
4. Anonym. One of the IFMSA founders. Professor Ralph Gräsbeck. www.ifmsa.org/eVagus 2003; 53:12-13.
5. Gräsbeck R. Malabsorptionens laboratoriediagnostik: vitaminer. *Nord med* 1962; 68:1232-34.
6. Gräsbeck R, Kantero I. Ett fall av juvenil B₁₂-avitaminos. Abstrakt, XII Nordiska barnläkarkongressen, Helsingfors, 1958, p 77.
7. Gräsbeck R, Kantero I. A case of juvenile vitamin B₁₂ deficiency (abstrakt). *Acta paediatr* 1959; suppl 118: 140-141.
8. Najman E, Brausil B. Megaloblastische Anämie mit Relapsen ohne Achylia gastrica in Kindesalter. *Ann paediatr* 1952; 178:47-59.
9. Salomonsen L, i Fanconi G, Wallgren A, ed. *Lehrbuch der Pädiatrie*. Benno Schwabe & Co. Basel/Stuttgart, 1958, p 318.
10. Seip, M. Brev daterat i Sandvika, Norge 30/3 1994.
11. Imerslund O, Bjornstad P. Familial vitamin B₁₂ malabsorption. *Acta haematol* 1963; 30: 1-7.
12. Lamy M, Besançon F, Loverdo A, Afifi F. La malabsorption spécifique de la vitamine B₁₂ avec protéinurie. L'anémie mégalo-blastique d'Imerslund-Najman-Gräsbeck. Etude de quatre cas. *Arch franç pédiat* 1961; 18:1109-20.
13. Anttila R, Salmi HA. Selective malabsorption of vitamin B₁₂ with proteinuria in children. *Acta paediatr scand* 1967; 55:238-240.
14. Visakorpi JK, Furuhejm U. Selective malabsorption of vitamin B₁₂. *Mod Probl Pediat* 1967; 11:150-160.
15. Furuhejm U, Nevanlinna H. Inheritance of selective malabsorption of vitamin B₁₂. *Scand J Haematol* 1973; 11: 27-34.
16. Gräsbeck R, Kvist G. Kongenitale spezifische Vitamin-B₁₂-Malabsorption mit Proteinurie. *Münch med Wochenschr* 1967; 109: 1936-44.
17. Gräsbeck R, Kvist G. La malabsorption congénitale et sélective de la vitamine B₁₂ avec protéinurie. *Europa medica. Cah Coll Med Hôp Paris* 1967; 8: 935-944.
18. Gräsbeck R. Familial selective vitamin B₁₂ malabsorption. *New Engl J Med* 1972; 287:358.
19. Aminoff-Backlund M. Molecular genetics of selective intestinal malabsorption of vitamin B₁₂. The Gräsbeck-Imerslund disease (megaloblastic anemia 1). *Doktorsavhandling, Helsingfors universitet, Helsingfors* 2000.
20. Broch H, Imerslund O, Monn E, Hovig T, Seip M. Imerslund-Gräsbeck anemia. A long-term follow-up study. *Acta paediatr scand* 1984; 73:248-253.
21. Fyfe JC, Jczyk PF, Giger U, Patterson DF. Inherited selective malabsorption of vitamin B₁₂ in giant schnauzers. *J Am Animal Hosp Ass* 1989; 25:533-539.
22. Collan Y, Lähdevirta J, Jokinen EJ. Selective vitamin B₁₂ malabsorption with proteinuria. Renal biopsy study. *Nephron* 1979; 23:297-303.
23. Wahlstedt-Fröberg V, Pettersson T, Aminoff M, Dugué B, Gräsbeck R. Proteinuria in cubilin-deficient patients with selective vitamin B₁₂ malabsorption. *Pediatric Nephrol* 2003; 18: 417-421.
24. Gräsbeck R. Selective cobalamin malabsorption and the cobalamin-intrinsic factor receptor. *Acta biochim polon* 1997; 44:725-734.
25. Kouvonen I, Gräsbeck R. Topology of the hog intrinsic factor receptor in the intestine. *J Biol Chem* 181; 256:154-158.
26. Dugué B, Ismail E, Sequeira F, Thakkar J, Gräsbeck R. Urinary excretion of intrinsic factor and the receptor for its cobalamin complex in Gräsbeck-Imerslund patients: The disease may have subsets. *Pediatr Gastroenterol Nutr* 1999; 29:227-230.
27. Birn H, Fyfe JC, Jacobsen C, Mounier F, Verroust PJ, Ørskov H, Willnow TE, Moestrup SK, Christensen EI. Cubilin is an albumin binding protein important for renal tubular albumin reabsorption. *J Clin Invest* 2000; 105:1353-61.
28. Gräsbeck R, Kouvonen I. The intrinsic factor and its receptor – are all the membrane transport systems related? *Trends Biochem Sci* 1983; 8:203-205.
29. Aminoff M, Tahvanainen E, Gräsbeck R, Weissenbach J, Broch H, de la Chapelle A. Selective intestinal malabsorption of vitamin B₁₂ displays recessive Mendelian inheritance: Assignment of a locus to chromosome 10 by linkage. *Am J Hum Genet* 1995; 57:824-831.
30. Moestrup SK, Kozyraki R, Kristiansen M, Kaysen JH, Holm Rasmussen H, Brault D, Pontillon F, Goda FO, Christensen EI, Hammond TG, Verroust PJ. The intrinsic factor-vitamin B₁₂ receptor and target of teratogenic antibodies is a megalin-binding peripheral membrane protein with homology to developmental proteins. *J Biol Chem* 1998; 273:5235-42.
31. Kozyraki R, Kristiansen M, Silaharoglu A, Hansen C, Jacobsen C, Tommerup N, Verroust PJ, Moestrup SK. The human intrinsic factor-vitamin B₁₂ receptor: cubilin, molecular characterization and chromosomal mapping of the gene to 10p within the autosomal recessive megaloblastic anemia (MGA1) region. *Blood* 1998; 91:3593-3600.
32. Aminoff M, Carter JE, Chadwick RB, Johnson C, Gräsbeck R, Abdelaal MA, Broch H, Jenner LB, Verroust PJ, Moestrup SK, de la Chapelle A, Krahe R. Mutations in CUBN, encoding the intrinsic factor-vitamin B₁₂ receptor, cubilin, cause hereditary megaloblastic anaemia 1. *Nat Genet* 1999; 21:309-313.
33. Kozyraki R, Gofflot F. Multiligand endocytosis and congenital defects: Roles of cubilin, megalin and amnionless. *Curr Pharmaceut Design* 2007; 13:3038-46.
34. Ahuja R, Yammani R, Bauer J, Kalra S, Seetharam S, Seetharam B. Interactions of cubilin with megalin and the product of the amnionless gene (AMN): effect on its stability. *Biochem J* 2008; 410:301-308.
35. Tanner SM, Aminoff M, Wright FA, Liyanarachchi S, Kuroonen M, Saarinen A, Massika O, Mandel H, Broch H, de la Chapelle A. Amnionless, essential for mouse gastrulation, is mutated in recessive hereditary megaloblastic anemia. *Nat Genet* 2003; 33:426-429.
36. Fyfe JC, Madsen M, Højrup P, Christensen EI, Tanner SM, de la Chapelle A, He Q, Moestrup SK. The functional cobalamin (vitamin B₁₂)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. *Blood* 2004; 103:1573-79.
37. Tanner SM, Li Z, Perko JD, Öner C, Çetin M, Altay Ç, Yurtsever Z, David KL, Faivre L, Ismail EA, Gräsbeck R, de la Chapelle A. Hereditary juvenile cobalamin deficiency caused by mutations in the intrinsic factor gene. *Proc Natl Acad Sci US* 2005; 102:4130-33.
38. Chanarin I. *The Megaloblastic Anaemias*. 2nd ed. Blackwell, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne, 1979.
39. Tanner SM, Li Z, Bisson R, Acar C, Öner C, Öner R, Çetin M, Abdelaal MA, Ismail EA, Lissens W, Krahe R, Broch H, Gräsbeck R, de la Chapelle A. Genetically heterogeneous selective intestinal malabsorption of vitamin B₁₂: Founder effects, consanguinity, and high clinical awareness explain aggregations in Scandinavia and the Middle East. *Human Mutat* 2004; 23:327-333.
40. He Q, Fyfe JC, Schäffer AA, Kilkenny A, Werner P, Kirkness EF, Henthorn PS. Canine Imerslund-Gräsbeck syndrome maps to a region orthologous to HSA14q. *Mammalian Genome* 2003; 14:758-764.
41. Gräsbeck R. Megaloblastic anaemia. *Hematology* 2005; 10: Suppl. 1:227-228.
42. Loikas S. Vitamin B₁₂ deficiency in the aged: laboratory diagnosis, prevalence and clinical profile. *Doktorsavhandling, Åbo universitet, Åbo*, 2007.
43. Bor MV, Çetin M, Aytaç S, Altay Ç, Nexø E. Nonradioactive vitamin B₁₂ absorption test evaluated in controls and in patients with inherited malabsorption of vitamin B₁₂. *Clin Chem* 2005; 51:2151-55.