

# Znaczenie badań genetycznych i molekularnych w porfirii skórnej późnej\*

## The significance of genetic and molecular investigations in porphyria cutanea tarda

Maria Kowalska<sup>1</sup>, Artur Kowalik<sup>2</sup>

<sup>1</sup>praktyka prywatna, Kielce

<sup>2</sup>Pracownia Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii w Kielcach  
Dyrektor: dr n. med. Stanisław Góźdz

Przeł Dermatol 2012, 99, 52–61

### STRESZCZENIE

#### SŁOWA KLUCZOWE:

sporadyczna porfiring skórna, rodzinna porfiring skórna późna, gen *UROD*, gen hemochromatozy *HFE*, czynniki ryzyka, rak wątrobowokomórkowy.

#### KEY WORDS:

sporadic porphyria cutanea tarda, familial porphyria cutanea tarda, *UROD* gene, *HFE*, haemochromatosis gene, risk factors, hepatocellular carcinoma.

Porfiring skórna późna (*porphyria cutanea tarda* – PCT) jest przewlekłą chorobą metaboliczną, powszechnie znaną z punktu widzenia kliniki i postępowania leczniczego. Rozszerzanie diagnostyki o badania genetyczne i molekularne pozwala na wczesne rozpoznanie, precyzyjne ustalenie odmian PCT, a także na wykrycie powikłań, takich jak marskość i/lub rak wątroby, oraz na wdrożenie postępowania leczniczego i profilaktycznego. Podkreśla się rolę mutacji w genie *UROD* w odmianie rodzinnej PCT, co umożliwia wykrycie osób z utajonym schorzeniem. W takich przypadkach odpowiednie postępowanie profilaktyczne może uchronić przed rozwojem choroby. Gen hemochromatozy (*HFE*), który może być markerem hemochromatozy dziedzicznej, również wpływa na przebieg PCT. W ostatnich latach wykryto wiele nowych białek i mechanizmów wpływających na wchłanianie, transport, magazynowanie i wydalanie żelaza. Istotne znaczenie ma hepacydyna oddziałująca na regulację homeostazy żelaza, co pozwala na wczesną diagnostykę PCT. Każdy przypadek tej choroby powinien być dokładnie przebadany, ze szczególnym uwzględnieniem współistniejących czynników ryzyka wystąpienia marskości i/lub pierwotnego raka wątroby.

### ABSTRACT

ADRES DO KORESPONDENCJI:  
dr n. med. Maria Kowalska  
ul. Zagórska 58/3  
25-385 Kielce  
e-mail:  
slawwit@poczta.onet.pl

Porphyria cutanea tarda (PCT) is a chronic metabolic disease and its clinical picture and methods of treatment are well known. The rapid development of genetic and molecular investigations enables one to establish early diagnosis, precise type of PCT, detection of such complications as hepatic cirrhosis or hepatic carcinoma and introduction of prophylactic actions. Mutations in the *UROD* gene are highlighted in

\*Opracowanie zagadnień genetycznych w porfirii skórnej późnej wyniknęło z obserwacji dwóch braci z podejrzeniem odmiany rodzinnej tego schorzenia. Byli to mężczyźni w wieku 44 i 49 lat z typowymi zmianami skórnymi. Rozpoznanie ustalono na podstawie zwiększonego stężenia porfiryn w moczu i koproporfiryn w kale (Pracownia Porfirii w Instytucie Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie). Podstawą rozpoznania odmiany rodzinnej było stwierdzenie mutacji w genie *UROD*. Wykryto heterozygotyczną mutację c.G400C(p.V134Q) na jednym allele genu *UROD* z zamianą jednego nukleotydu G w C, prowadzącą do zamiany aminokwasu (ang. *missense*) waliny w glutaminę (Centrum Genetyki Medycznej GENESIS w Poznaniu). Pacjenci odmówili dalszych badań i leczenia. Udało się jednak przeprowadzić badania genetyczne u kilku osób z licznej rodziny. Stwierdzono tę samą mutację u matki obu braci (zmarła w wieku 67 lat z powodu przerzutów nowotworowych), ponadto u jej siostry (76 lat) po udarze mózgu oraz brata (62 lata) z chorobą wątroby. Córka jednego z braci (19 lat) ma tę samą mutację, ale bez objawów chorobowych (Pracownia Diagnostyki Molekularnej Świętokrzyskiego Centrum Onkologii). Wszyscy z wyjątkiem dziewczyny nadużywali alkoholu. W rodzinie występowały różne choroby wątroby, nowotwory piersi, nerek oraz mózgu z przerzutami.

familial type of PCT with a possibility to detect persons with latent disease. Appropriate prophylactic procedures may prevent the development of overt disease. The haemochromatosis gene (*HFE*), which may be a marker of hereditary haemochromatosis, also has an influence on the course of PCT. Novel proteins and mechanisms influencing the absorption, transfer, storage and excretion of iron have been discovered in the last years. The key position in this field belongs to hepcidin, which influences the regulation of iron homeostasis and enables an early diagnosis of PCT. All cases of PCT should be thoroughly examined with special attention to coexistent risk factors of developing hepatic cirrhosis and/or primary hepatic carcinoma.

## WPROWADZENIE

W pojęciu porfiria mieści się grupa schorzeń, często uwarunkowanych genetycznie, z różnymi objawami klinicznymi. We wszystkich przypadkach wspólną cechą jest zmniejszona aktywność enzymów biorących udział w biosyntezie hemu (ryc. 1.). Hem jest syntetyzowany w 85% w układzie erytropoetycznym, w 14% w wątrobie i w 1% w innych tkankach. Wśród porfirii można wyróżnić takie, w których zaburzenia aktywności enzymów dotyczą przede wszystkim erytrocytów (wrodzona porfiria erytropoetyczna, protoporfiria erytropoetyczna), oraz porfirie wątrobowe (ostra porfiria przerywana, koproporfiria dziedziczna, porfiria mieszana, porfiria skórna późna). Badania nad porfiriami rozpoczęli szwedzcy naukowcy już w XIX wieku, oni też zaproponowali pierwszą charakterystykę tych chorób [1].

## PORFIRIA SKÓRNA PÓŻNA

Porfiria skórna późna (*porphyria cutanea tarda* – PCT) należy do najczęściej występujących odmian i jest wywołana niedoborem enzymu – dekarboksylazy uroporfirynogenu (UROD). Enzym ten katalizuje piąty etap w biosyntezie hemu w konwersji uroporfirynogenu na koproporfirynogen. Zmniejszona aktywność UROD prowadzi do kumulacji uroporfiryn i innych karboksylowanych porfiryn. Pochłanianie światła widzialnego przez cząsteczki porfiryn prowadzi do powstania wolnych rodników z następczym uszkodzeniem błony komórkowej i nadwrażliwością na światło słoneczne – głównie o długości fali 400–410 nm [2].

### Epidemiologia

Porfiria skórna późna pojawia się zwykle w średnim wieku, najczęściej po 40. roku życia. Może wystąpić wcześniej, jeśli pacjent ma mutacje w genie *UROD* lub wykazuje obciążenie wątroby żelazem

spowodowane obecnością mutacji genu hemochromatozy (*HFE*) [3]. W przeszłości PCT dotyczyła głównie mężczyzn, obecnie zwiększa się wartość wskaźnika zachorowań u kobiet w związku z częstszym stosowaniem estrogenów oraz większą konsumpcją alkoholu. Szacuje się, że na świecie PCT występuje z częstością 1 przypadek na 5000–25 000 mieszkańców [4].

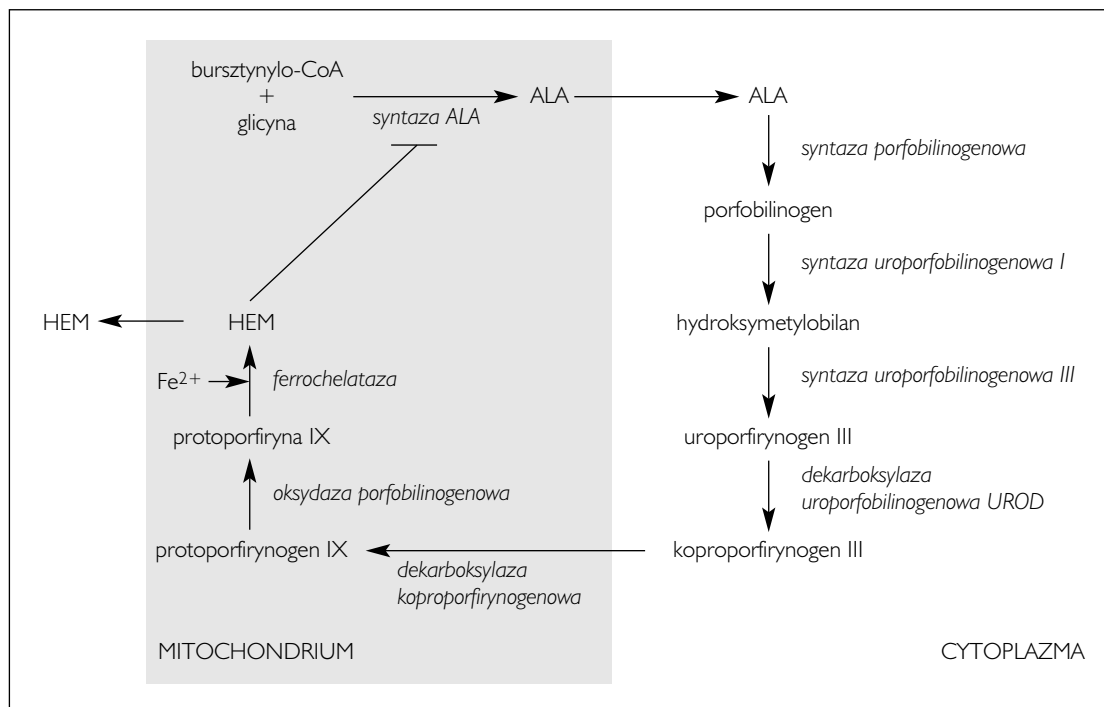
### Obraz kliniczny

Cechami charakterystycznymi PCT są występowanie zmian głównie w okolicach narażonych na działanie promieniowania słonecznego, zwłaszcza promieniowania ultrafioletowego typu A (UVA), oraz duża podatność skóry na urazy pod wpływem czynników mechanicznych, z tworzeniem pęcherzy, nadżerek, a w rezultacie blizn i prosaków [5]. Obserwuje się nadmierne owłosienie twarzy w okolicach skroniowych i jarzmowych, a także nieregularne przebarwienia i odbarwienia. W przypadkach przewlekłych mogą się tworzyć żółtawe stwardnienia przypominające twardzinę (*pseudosclerodermia*), bliznowaciejące wyłysienie oraz onycholiza (oddzielenie płytek paznokciowych) [6, 7].

W obrazie histopatologicznym obecne są dobrze zachowane pęcherze i rozproszone komórki zapalne. Strefa błony podstawnej na granicy skórno-naskórkowej i przestrzenie wokół naczyń są zgrubiałe, barwią się PAS-em (PAS+). W bezpośrednim badaniu immunofluorescencyjnym wykazano rozległe złogi IgG i IgA oraz składniki dopełniacza zarówno w ścianach naczyń, jak i naskórku [8]. Obecność tzw. *caterpillar bodies* uważa się za charakterystyczną dla PCT, chociaż złogi te mogą występować w innych schorzeniach pęcherzowych [9].

### Diagnostyka laboratoryjna

Podstawą rozpoznania PCT jest zwiększenie wartości wszystkich porfiryn i zmiana ich jakości w moczu (karboksylowane penta-, heksa- i heptauroporfi-



ALA – kwas  $\delta$ -aminolewulinowy

Rycina 1. Szlak biosyntezy hemu  
Figure 1. Haem synthesis pathway

ryny, kwas  $\delta$ -aminolewulinowy, porfobilinogen) i w kale (uroporfiryny i izokoproporfiryny). Mocz wykazuje fluorescencję charakterystyczną dla PCT, a surowica swoiste widmo fluorescencji [10]. W celu ustalenia postaci PCT (patrz niżej) wykonuje się pomiar aktywności UROD w erytrocytach metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (ang. *high-performance liquid chromatography* – HPLC). Odzwierciedleniem zaburzeń w gospodarce żelaza są zwiększone stężenie ferrytyny i wzmożone wysycenie transferyny we krwi oraz zwiększone nasycenie żelazem wątroby z cechami uszkodzenia tego narządu [11]. Ważne są badania w kierunku genu hemochromatozy (*HFE*) oraz mutacje genu *UROD* [10, 12].

### Odmiany

Wyróżnia się 2 odmiany PCT [13]:

- a) typ I – sPCT (ang. *sporadic porphyria cutanea tarda*),
- b) typ II – fPCT (ang. *familial porphyria cutanea tarda*), oraz jego odmianę – HEP (ang. *hepatoerythropoietic porphyria*).

**Typ I – sPCT** – dotyczy 75–80% przypadków. Odmiana ta cechuje się niedoborem UROD w wątrobie z prawidłową aktywnością tego enzymu w erytrocytach. Gen *UROD* leży na chromosomie 1p34 i koduje cytoplazmatyczny enzym dekarboksylazę uroporfirynogenu, który uczestniczy w syntezie hemu (ryc. 1) [14, 15]. Gen ten składa się z 10 eksonów, które kodują białko o masie 40,8 kDa zbudowa-

ne z 367 aminokwasów [16, 17]. Redukcja aktywności UROD w wątrobie jest spowodowana produkcją uroporfometanu, który blokuje ten enzym. Inhibitor ten powstaje w wyniku utlenienia mostka węglowego cząsteczki uroporfirynogenu. Produkcja uroporfometanu w komórkach wątroby jest stymulowana nadmiarem żelaza w tym narządzie [18, 19].

**W typie II – fPCT** (pozostałych 20–25%) – występuje niedobór enzymu we wszystkich tkankach. Różnicowanie między typem I i II nie może być oparte wyłącznie na poziomie aktywności UROD w erytrocytach [20–22]. Wymagane są tu badania mutacji genu *UROD*, których obecność jest podstawą do odróżnienia formy sporadycznej od rodzinnej [23]. W związku ze słabą penetracją dominanty autosomalnej w mniej niż 10% przypadków występują objawy kliniczne. Działają tu prawdopodobnie inne czynniki genetyczne lub niegenetyczne. Nie ma różnic między typem I i II w enzymach wątrobowych i profilach żelaza. W fPCT wykrywane mutacje w genie *UROD* powodują utratę funkcji i stabilności kodowanego przez ten gen białka, co szybko prowadzi do jego degradacji. Zmutowane białko może również przeszkadzać we właściwym funkcjonowaniu prawidłowego białka kodowanego przez prawidłowy allel (ang. *dominant negative*) [24, 25]. Jeżeli pacjent dziedziczy dodatkowo mutacje w *HFE*, wtedy PCT ujawnia się wcześniej w porównaniu z osobami z prawidłowym *HFE* [3].

**Hepatoerythropoietic porphyria (HEP)** jest rzadką, dziedziczną odmianą porfirii rodzinnej, która wynika ze zmniejszonej aktywności genu *UROD*. Mutacje występują w obu allelach jako homozygoty (taka sama mutacja w obu allelach) lub jako złożone heterozygoty (różne mutacje w obu allelach). W wyniku podwójnej mutacji aktywność *UROD* zmniejsza się do poniżej 10% aktywności enzymu prawidłowego. Schorzenie występuje we wczesnym dzieciństwie (do 2 lat), ma ciężki przebieg, występują nasilone objawy nadwrażliwości na światło z powstawaniem blizn i zniekształceń. Dotychczas opisano 35 przypadków HEP [26–29].

Należy jeszcze wspomnieć o **odmianie toksycznej** związanej z długotrwałym kontaktem z heksachlorobenzenem, która zajmuje oddzielne miejsce w podziale PCT. W 1955 roku dr Cihad Cam obserwował w południowo-wschodniej Turcji dziwne zjawisko wśród dzieci, które nazwano *monkey children*. Charakterystycznymi cechami było nadmierne owłosienie twarzy oraz zmiany pęcherzowe na grzbietach rąk. Dzieci te pochodziły z ubogich rodzin wiejskich, które głód zmuszał do wytwarzania chleba z nasion traktowanych środkiem chwastobójczym – heksachlorobenzenem, którego toksyczne działanie doprowadziło do zgonu wielu z nich [30]. Wraz z postępem

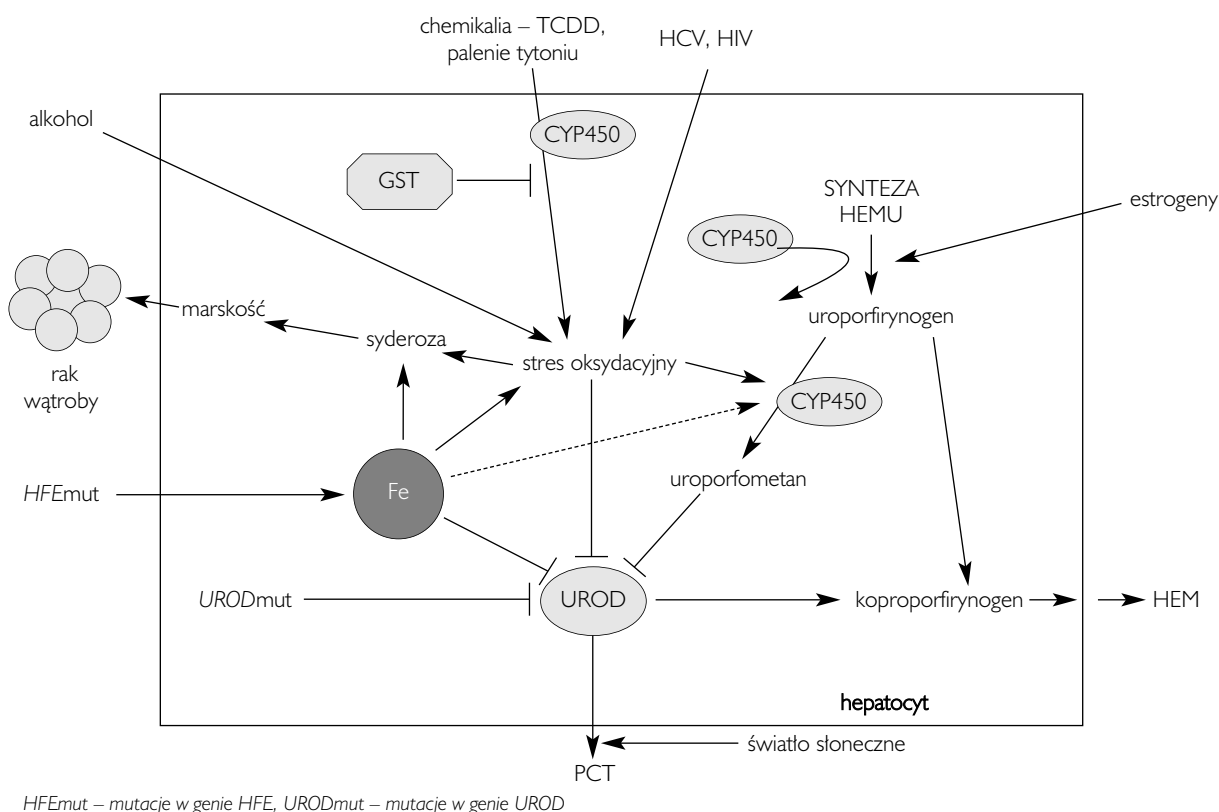
chemizacji hodowli roślin coraz częściej opisywano objawy podobne do PCT u ludzi zatrudnionych w rolnictwie. Kolejnych dowodów na związek pomiędzy węglowodorami aromatycznymi a objawami PCT dostarczył wypadek w fabryce chemicznej w Serviso we Włoszech w latach 70. XX wieku, gdzie wielu pracowników zostało narażonych na kontakt z 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyną (TCDD) [31, 32].

Niezależnie od PCT powstałej w wyniku toksycznego działania różnorodnych czynników, rozpoznaje się ponadto tzw. pseudoporfirie, wywołane przez niektóre leki z grupy niesteroidowych środków przeciwzapalnych, furosemid, tamoksyfen i inne. Pseudoporfirie obserwuje się także u pacjentów hemodializowanych i osób nadużywających solarium. U ludzi z pseudoporfirią nie stwierdza się zaburzeń w metabolizmie porfiryń [33, 34].

### Czynniki ryzyka

Wystąpienie objawów PCT u osób predysponowanych genetycznie zależy od wielu dodatkowych czynników (ryc. 2):

- zakażenia wirusami hepatotropowymi i HIV,
- nadużywania alkoholu,



**Rycina 2.** Kompleksowe interakcje genetyczno-chemiczne prowadzące do rozwoju PCT  
**Figure 2.** Complex gene-chemical interactions contributing to PCT development

- stosowania estrogenów,
- palenia papierosów,
- stosowania chlorowanych węglowodorów aromatycznych.

Zakażenia wirusami hepatotropowymi (HCV, HBV, HAV) i HIV

Według statystyk w Europie Południowej pacjenci z PCT są zakażeni wirusem zapalenia wątroby typu C (HCV) w 70–90%, natomiast w Europie Północnej poziom zakażeń wynosi 7–10%, podobnie jak w Australii i Nowej Zelandii. W USA odsetek zakażeń jest duży i wynosi 59–90%. Pomimo różnic we współistnieniu HCV i PCT w różnych rejonach geograficznych, zawsze wskaźnik zachorowań na wirusowe zapalenie wątroby w ogólnej populacji jest wyraźnie mniejszy [35–38]. Istnieją różne niepotwierdzone hipotezy co do roli HCV w rozwoju PCT, m.in.: zmniejszenie aktywności dekarboksylazy uroporfirynogenu jako wynik uszkodzenia komórek wątroby, zmiany metabolizmu porfiryn poprzez system oksydazy zależny od cytochromu 450 [39]. W badaniach molekularnych wykazano, że HCV nie stanowi swoistej przyczyny PCT [40]. Istnieją różne poglądy co do związku między mutacjami w genie hemochromatozy (*HFE*) oraz zakażeniami HCV w rozwoju PCT. Na podstawie badań statystycznych potwierdzono tę zależność we Francji [41], natomiast zanegowano ją na Węgrzech [42]. Nie udowodniono, że zakażenie ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV) może być odpowiedzialne za zaburzenie homeostazy porfiryn w PCT.

Nadużywanie alkoholu

Do najczęstszych działań synergistycznych w wywoływaniu klinicznych objawów PCT należy przełęk i nadmierne spożywanie alkoholu. Prowadzi ono do wzrostu stężenia i aktywności syntazy  $\delta$ -aminolewuliny (*ALA*), zwiększenia absorpcji żelaza i powstawania toksycznych wolnych rodników. Abstynencja może spowodować remisję choroby [29, 39, 43].

Stosowanie estrogenów

Do czynników ryzyka zalicza się używanie środków antykoncepcyjnych zawierających estrogeny przez kobiety w leczeniu objawów menopauzy oraz stosowanie estrogenów przez mężczyzn z rakiem stercza [44–46]. Obserwacja kobiet z PCT w ciąży wykazuje obostrzenia w pierwszym trymestrze, zwłaszcza przy współistnieniu czynników ryzyka (*hepatitis B, C*, nietolerancja glukozy). Istnieje skłonność do uporczywych wymiotów [47, 48].

Stosowanie chlorowanych węglowodorów aromatycznych

Objawy PCT występują w dużych populacjach w wyniku działania opisanych wyżej czynników toksycznych [30–32].

Palenie papierosów

Palenie papierosów powoduje ekspozycję na wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, które przy udziale CYP1A2 są metabolizowane do uroporfometanu blokującego aktywność UROD [19]. W grupie pacjentów bez mutacji w genie *UROD* u palaczy wcześniej występowały objawy PCT w porównaniu z osobami niepalącymi [49].

### Patologiczne przeładowanie żelazem wątroby i innych narządów

Istotne znaczenie w rozwoju PCT ma stopień nasycenia żelazem wątroby w odmianie sporadycznej oraz różnych narządów w odmianie rodzinnej. Zidentyfikowano białka, które odgrywają zasadniczą rolę w transporcie i magazynowaniu żelaza. Należą do nich: transferyna (*Tf*), receptor transferyny (*TfR1*), ferrytyna, białka regulujące żelazo *IRP-1* oraz *IRP-2* (ang. *iron regulatory proteins*), ponadto hepcydyna, której zadaniem jest regulacja absorpcji żelaza z jelit i wyzwalamie z makrofagów. Osłabienie ekspresji genu hepcydyny (*HAMP*) oraz hemojuweliny (*HJV*) prowadzi do nadmiernego wchłaniania tego metalu. Wyniki badań wskazują na hepcydynę jako główny regulator homeostazy żelaza [50–56].

Wątrobowa syderoza w PCT wiąże się z zaburzeniami genu *HAMP* i *HJV* [57]. Należy jednak nadmienić, że wpływ mutacji w genach *HAMP* i *HJV* na modulowanie gospodarki żelaza w przypadku obecności mutacji w genie hemochromatozy może być odmienny [58–62]. Dodatkowo ich rola w przypadku PCT też jest niejednoznaczna [57]. Potrzebne są dalsze badania przeprowadzane w większej liczbie przypadków oraz analizujące większą liczbę genów w celu wyjaśnienia ich roli w patogenezie PCT, w czym zapewne istotną rolę odegra sekwencjonowanie genomowe [63]. Występowanie mutacji w genach związanych z transportem i metabolizmem żelaza (*HFE*, *TFRC1*, *HAMP*, *HJV*) obserwuje się zarówno w przypadku sPCT, jak i fPCT.

### Mutacje w genie hemochromatozy

Mutacje w genie *HFE* są jednym z istotnych czynników predysponujących do ujawnienia PCT. W 1996 roku zidentyfikowano gen *HFE*, w którym mutacje są odpowiedzialne za występowanie hemochromatozy dziedzicznej (ang. *hereditary hemochromatosis* – HH). Gen ten leży na chromosomie 6 (6p22) i składa się z 7 eksonów [64]. Białko

HFE poprzez oddziaływanie z  $\beta_2$ -mikroglobuliną ( $\beta_2M$ ) oraz TfR1 i TfR2 reguluje ekspresję hepcydyny. Kompleks z obecnością zmutowanego białka HFE, pomimo nadmiaru Tf-Fe w osoczu, nie indukuje ekspresji hepcydyny, co powoduje zwiększenie stężenia żelaza w osoczu i jego ciągle odkładanie w tkankach i narządach [53]. Dziedziczna hemochromatoza jest chorobą, która charakteryzuje się zaburzeniami metabolizmu żelaza, co prowadzi do jego akumulacji w tkankach i zaburzeń ogólnoustrojowych. Powikłaniem może być marskość wątroby, rzadziej rak wątroby, niewydolność trzustki, kardiopatia, zapalenie stawów, uszkodzenia w ośrodkowym układzie nerwowym. Do najczęstszych mutacji w HH należą C282Y, H63D, rzadziej S65C [52, 65]. Podobnie rozkład mutacji przedstawia się w populacji polskiej [66]. Liczne doniesienia wskazują, że PCT może być markerem pozwalającym na wczesne rozpoznanie subklinicznych objawów hemochromatozy [67–71].

Na podstawie metaanalizy (66 tysięcy przypadków – 226 tysięcy kontroli) ustalono, że genotypy hemochromatozy mogą występować w różnych schorzeniach: PCT, cukrzyca, chorobach wątroby, serca, zapaleniach stawów, nowotworach czy zwyrodnieniach w układzie nerwowym [72]. W PCT mogą być obecne różne genotypy hemochromatozy, co dotyczy nawet około 70% przypadków tej choroby [11, 73]. Chorują osoby będące homozygotami danej mutacji lub heterozygotami różnych mutacji w dwóch allelach *HFE* (tab. I). Wyniki metaanalizy wykazują również, że allele *HFE* C282Y i H63D w różnych genotypowych kombinacjach są związane z 3–48 razy większym ryzykiem rozwoju PCT niż genotyp prawidłowy bez mutacji (ang. *wild type*). Największe ryzyko mają zmutowane homozygoty C282Y/C282Y [72, 74]. Należy dodać, że w sPCT częściej w porównaniu z fPCT występuje homozygotyczna mutacja C282Y/C282Y w *HFE* [10].

Układy genotypów PCT są różne w zależności od rejonu świata, czynników środowiskowych i etnicznych. Dla przykładu, mutacje homozygotyczne występują w północnej Europie w 25%, w Australii w 11%, a we Włoszech i Japonii te wartości są znacznie mniejsze. W Hiszpanii, Francji i we Włoszech częstsze są mutacje H63D [75–78]. W Czechach wykryto obecność mutacji w *HFE* w aż 70% przypadków PCT [73], w przeciwieństwie do Bułgarii, gdzie mutacje *HFE* w PCT nie występują [79]. W Polsce mutacje *HFE* występują rzadziej w porównaniu z Europą Północno-Zachodnią. Dla mutacji C282Y 0,13% stanowiły homozygoty, a heterozygoty 7,8%. W przypadku mutacji H63D 2,5% stanowiły homozygoty, a 25% było heterozygotami. Genotypy złożone (C282Y + H63D) stanowiły 1,4% [66].

**Tabela I.** Spektrum mutacji w genie *HFE* oraz częstość ich występowania u pacjentów z PCT w europejskich populacjach

**Table I.** Spectrum of mutations in *HFE* gene and their frequency in PCT patients in European populations

Genotypy	Częstość występowania w PCT [%]	Częstość występowania w populacji kontrolnej [%]
C282Y/C282Y	0–26	0–0,7
C282Y/WT	15–24	5–13
H63D/H63D	5,8–14	1,5–5
H63D/WT	15–41	17,2–26,6
S65C/S65C	0	0
S65C/WT	1,6	2–2,5
WT/WT	37–38,7	64,2–68
<b>Złożone</b>		
C282Y + H63D	3–10	0–4,6
C282Y + S65C	0,8–1,6	0–0,5
H63D + S65C	1,2	0,4–1

C282Y – mutacja powodująca zamianę cysteiny na tyrozynę, H63D – mutacja powodująca zamianę histydyliny na kwas asparaginowy, S65C – mutacja powodująca zamianę seryny na cysteinę, WT – allel prawidłowy, bez mutacji (dane z tabeli na podstawie [12, 23, 26, 45, 73])

#### Polimorfizm w genach metabolizujących substancje toksyczne *CYP450* i *GST*

Badano obecność polimorfizmów w genach *CYP1A2* kodujących białka cytochromu CYP450, który może być zaangażowany w szlak syntezy hemu. Wariant *GSTM1* uczestniczy natomiast w inaktywacji reaktywnych produktów pośrednich wielocyklicznych węglowodorów aromatycznych oraz wolnych rodników, które biorą aktywny udział w różnych procesach zapalnych. Oba te czynniki blokują aktywność białka UROD. Wykazano, że genotyp A/A w promotorze genu *CYP1A2\*1F* oraz prawidłowy allel *GSTM1* są czynnikami ryzyka rozwoju PCT [80]. Wykazano również, że *CYP1A2* może katalizować przy udziale żelaza syntezę inhibitora UROD – uroporfometanu z uroporfirynogenu I lub III [19].

#### Porfiria skórna późna jako czynnik ryzyka rozwoju pierwotnego raka wątroby

Pacjenci chorujący na PCT mają większe ryzyko rozwoju marskości wątroby. Nie jest to zaskakujące, ponieważ u około 2/3 osób z PCT rozwija się wątrobowa syderoza, która prowadzi do marskości tego narządu [8]. U chorych na PCT ryzyko rozwoju raka wątrobowokomórkowego (ang. *hepatocellular carcinoma* – HCC) jest względnie małe [81, 82]. Może to bezpośrednio wynikać z włóknienia i marskości lub być od nich niezależne, ponieważ opisywano przypadki rozwoju HCC na bazie hemochromatozy bez objawów marskości [70]. Kolejnym dowodem na złożo-

ność kancerogenezy HCC u pacjentów z PCT jest zwiększone ryzyko rozwoju tego nowotworu w porównaniu z osobami z przewlekłą chorobą wątroby i infekcją HCV [83]. Wykrycie swoistego dla PCT modelu kancerogenezy HCC jest trudne, ponieważ wiele czynników (HCV, alkohol, zaburzenie gospodarki żelaza, stan zapalny, wolne rodniki) wywołuje te same choroby, jak: syderoza, marskość wątroby, włóknienie wątroby, hemochromatoza oraz HCC [69, 84]. Należy nadmienić, że ważne wydaje się zaburzenie (poprzez oddziaływanie czynników genetyczno-środowiskowych) homeostazy żelaza, które może nasilać lub maskować objawy [31].

Rak wątrobowokomórkowy jest pierwotnym złośliwym guzem powstającym z hepatocytów, zwykle związanym ze zwłóknieniem – marskością wątroby. Dodatkowymi czynnikami ryzyka są zakażenia wirusowe (HCV, HBV), alkoholizm, przeładowanie żelazem, HH i PCT [85, 86]. Kancerogenza jest procesem wieloetapowym [87]. U pacjentów obarczonych czynnikami ryzyka wykonuje się regularne badania radiologiczne, które często wykrywają małe zmiany przednowotworowe [88]. Działanie kancerogenne poprzez uszkodzenie DNA i mutację genu TP53 ma m.in. aflatoksyna. Zawarta jest ona w niektórych naturalnych produktach żywnościowych zakażonych różnymi odmianami pleśni we wschodniej Azji i środkowej Afryce. W rejonach tych często współistnieje wirusowe zapalenie wątroby typu B (HBV) [89, 90]. Liczba zgonów z powodu HCC w ostatnich kilkudziesięciu latach się nie zmniejszyła, co zwykle wiąże się z opóźnionym rozpoznaniem tego nowotworu. Z tej przyczyny poszukuje się biomarkerów przydatnych do wczesnej diagnozy [91]. Określanie stężenia  $\alpha$ -fetoproteiny (AFP) (zwłaszcza w połączeniu z ultrasonografią), z czułością 39–64% i swoistością 76–91%, zaleca się w badaniach okresowych co 6–12 miesięcy. Wartości powyżej 400 ng, szczególnie przy wzroście stężenia AFP, są uznawane za diagnostyczne.  $\alpha$ -Fetoproteina należy również do markerów raka jądra [92, 93]. Oznacza się ponadto stężenie des- $\gamma$ -karboksyprotrombiny (DCP), co w połączeniu z AFP daje czułość do 91%, ale zmniejsza swoistość do 74% [94, 95].

Dzięki wynikom uzyskanym za pomocą mikromacierzy DNA wytypowano kilka genów (*HSP70*, *CAP* i *GPC3*), które mają znaczenie we wczesnej diagnozie HCC [87]. Dzięki badaniu ekspresji trzech białek (*HSP70*, *GPC3* i *GS*) za pomocą metody immunohistochemicznej osiągnięto w guzach wątroby 72-procentową czułość przy 100-procentowej specyficzności w wykrywaniu wczesnego etapu HCC [96].

Znajomość metod wczesnego rozpoznawania HCC w przebiegu PCT ma duże znaczenie. U większości pacjentów, u których rozwija się nowotwór, występują długotrwałe objawy związane z uszko-

dzeniem wątroby i współistnieniem zakażeń wirusowych. Sytuacja taka może opóźnić diagnozę HCC, stąd wartość badań AFP i DCP, badań radiologicznych z następczą biopsją guzów oraz oceny panelu trzech białek (*HSP70*, *GPC3* i *GS*) za pomocą metody immunohistochemicznej. Nie ma jednak w piśmiennictwie badań molekularnych dotyczących kancerogenezy HCC u pacjentów z PCT, które pomogłyby wytypować zestaw charakterystycznych markerów molekularnych, zwłaszcza możliwych do wykrycia metodami małoinwazyjnymi.

## PODSUMOWANIE

Badania genetyczne w PCT mają dużą wartość praktyczną. Istnieje możliwość odróżnienia odmiany sporadycznej od rodzinnej na podstawie mutacji genu *UROD*. W obu tych postaciach objawy kliniczne, a nawet leczenie, są jednakowe. Badania genetyczne w odmianie rodzinnej pozwalają na wykrycie nosicieli mutacji niemających objawów chorobowych. W takich przypadkach odpowiedni tryb życia, unikanie czynników ryzyka uszkadzających wątrobę i niektórych leków (np. estrogenów) może uchronić nosiciela mutacji przed wystąpieniem PCT.

Mutacje w genie *HFE* występujące w obu odmianach porfirii mogą być markerem hemochromatozy wrodzonej. Jest to choroba najczęściej nierozpoznawana we wczesnym okresie lub rozpoznawana w fazie zaawansowanej, praktycznie niewyleczalnej. W tym świetle wszystkie markery wczesnej diagnozy mogą uchronić przed rozwojem marskości wątroby i powikłań nowotworowych, występujących aż w 10% HH.

Wartość diagnostyczną mają również geny odpowiadające za metabolizm żelaza – osłabienie genu *HAMP* oraz *HJV*, prowadzące do przeładowania wątroby żelazem (stłuszczenie – zwłóknienie). Ważnymi markerami pozwalającymi na wczesną diagnozę raka wątroby są AFP, DCP oraz białka *HSP70*, *GPC3* i *GS*. Każdy przypadek PCT powinien być dokładnie przebadany, ze szczególnym uwzględnieniem współistniejących czynników ryzyka.

Badania nad PCT wciąż trwają, a zastosowanie nowych, bardziej wyrafinowanych i wielkoskalowych technik biologii molekularnej (sekwencjonowanie genomowe) przyniesie z pewnością w przyszłości kompleksowe zrozumienie etiologii tej złożonej choroby, co umożliwi wczesną diagnostykę i leczenie, zanim doprowadzi ona do nieodwracalnych zmian.

## Piśmiennictwo

1. Thunell S., Floderus Y., Henrichson A., Harper P.: Porphyrinuria in Sweden. *Physiol Res* 2006, 55, (Suppl 2), 109-118.
2. Thunell S.: Porphyrins, porphyrin metabolism and porphyrias, I. Update. *Scand J Clin Lab Invest* 2000, 60, 509-540.

3. **Brady J.J., Jackson H.A., Robers A.G., Morgan R.R., Whalley S.D., Rowlans G.Z. i inni:** Co-inheritance of mutations in the uroporphyrinogen decarboxylase and hemochromatosis genes accelerates the onset of porphyria cutanea tarda. *J Invest Dermatol* 2000, 115, 868-874.
4. **Mendez M., Rosetti M.V., Del C. Battle A.M., Parera V.E.:** The role of inherited and acquired factor in the development of porphyria cutanea tarda in the Argentinean population. *J Am Acad Dermatol* 2005, 52, 417-424.
5. **Jabłońska S., Majewski S.:** Choroby skóry i choroby przenoszone drogą płciową. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2005, 344-348.
6. **Goh C.L.:** Porphyria cutanea tarda simulating scleroderma. *Singapore Med J* 1987, 28, 83-88.
7. **Friedman S.J., Doyle J.A.:** Sclerodermoid changes of porphyria cutanea tarda: possible relationship to urinary uroporphyrin levels. *J Am Acad Dermatol* 1985, 13, 70-74.
8. **Frank J.:** Porfirie. [w:] Braun-Falco Dermatologia. W.H.C. Burgdorf, G. Plewig, H.H. Wolff, M. Landthaler (red.), Wydawnictwo Czelej, Lublin, 2011, 1295-1307.
9. **Fung M.A., Murphy M.J., Hoss D.M., Berke A., Grant-Kels M.:** The sensitivity and specificity of "caterpillar bodies" in the differential diagnosis of subepidermal blistering disorders. *Am J Dermatopathol* 2003, 25, 287-290.
10. **Aarsand A.K., Boman H., Sandberg S.:** Familial and sporadic porphyria cutanea tarda: characterization and diagnostic strategies. *Clin Chem* 2009, 55, 795-803.
11. **Sampietro M., Fiorelli G., Fargion S.:** Iron overload in porphyria cutanea tarda. *Haematologica* 1999, 84, 248-253.
12. **Dereure O., Aguilar-Martinez P., Bessis D., Perney P., Vallat C., Guillot B. i inni:** HFE mutations and transferrin receptor polymorphism analysis in porphyria cutanea tarda: a prospective study of 36 cases from southern France. *Br J Dermatol* 2001, 144, 533-539.
13. **Murphy G.M.:** The cutaneous porphyrias: a review. The British Photodermatology Group. *Br J Dermatol* 1999, 140, 573-581.
14. **Dubart A., Poblete-Gutierrez P., Garcia-Bravo M., Wiederholt T., Moran-Jimenez M.J., Merk H.F. i inni:** Assignment of human uroporphyrinogen decarboxylase (URO-D) to the p34 band of chromosome 1. *Hum Genet* 1986, 73, 277-279.
15. **Sassa S., de Verneuil H., Anderson K.E., Kappas A.:** Purification and properties of human erythrocyte uroporphyrinogen decarboxylase: immunological demonstration of the enzyme defect in porphyria cutanea tarda. *Trans Assoc Am Physicians* 1983, 96, 65-75.
16. **Romana M., Grandchamp B., Dubart A., Amselem S., Chabret C., Nordmann Y. i inni:** Identification of a new mutation responsible for hepatoerythropoietic porphyria. *Eur J Clin Invest* 1991, 21, 225-229.
17. **Romeo P.H., Raich N., Dubart A., Beaupain D., Pryor M., Kushner J. i inni:** Molecular cloning and nucleotide sequence of a complete human uroporphyrinogen decarboxylase cDNA. *J Biol Chem* 1986, 261, 9825-9831.
18. **Phillips J.D., Jackson L.K., Bunting M., Franklin M.R., Thomas K.R., Levy J.E. i inni:** A mouse model of familial porphyria cutanea tarda. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001, 98, 259-264.
19. **Phillips J.D., Bergonia H.A., Reilly C.A., Franklin M.R., Kushner J.P.:** A porphomethene inhibitor of uroporphyrinogen decarboxylase causes porphyria cutanea tarda. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007, 104, 5079-5084.
20. **Held J.L., Sassa S., Kappas A., Harber L.:** Erythrocyte uroporphyrinogen decarboxylase activity in porphyria cutanea tarda: a study of 40 consecutive patients. *J Invest Dermatol* 1989, 93, 332-334.
21. **Bygum A., Christiansen L., Petersen N.E., Horder M., Thomsen K., Brandrup F.:** Familial and sporadic porphyria cutanea tarda: clinical, biochemical and genetic features with emphasis on iron status. *Acta Derm Venereol* 2003, 83, 115-120.
22. **Mendez M., Poblete-Gutiérrez P., García-Bravo M., Wiederholt T., Morán-Jiménez M.J., Merk H.F. i inni:** Molecular heterogeneity of familial porphyria cutanea tarda in Spain: characterization of 10 novel mutations in the UROD gene. *Br J Dermatol* 2007, 157, 501-507.
23. **Muñoz-Santos C., Guilbert A., Moreno N., To-Figueras J., Badenas C., Darwich E. i inni:** Familial and sporadic porphyria cutanea tarda: clinical and biochemical features and risk factors in 152 patients. *Medicine* 2010, 89, 69-74.
24. **Meguro K., Fujita H., Ishida N., Akagi R., Kurihara T., Galbraith R.A. i inni:** Molecular defects of uroporphyrinogen decarboxylase in a patient with mild hepatoerythropoietic porphyria. *J Invest Dermatol* 1994, 102, 681-685.
25. **Phillips J.D., Parker T.L., Schubert H.L., Whitby F.G., Hill C.P., Kushner J.P.:** Functional consequences of naturally occurring mutations in human uroporphyrinogen decarboxylase. *Blood* 2001, 98, 3179-3185.
26. **Badenas C., To-Figueras J., Phillips J.D., Warby C.A., Muñoz C., Herrero C.:** Identification and characterization of novel uroporphyrinogen decarboxylase gene mutations in a large series of porphyria cutanea tarda patients and relatives. *Clin Genet* 2009, 75, 346-353.
27. **To-Figueras J., Phillips J.D., Gonzalez-Lopez J.M., Badenas S., Madriqal I., Gonzalez-Romaris E.M. i inni:** Hepatoerythropoietic porphyria due to a novel mutation in the uroporphyrinogen decarboxylase gene. *Br J Dermatol* 2011, 165, 499-505.
28. **Mendez M., Sorkin L., Rosetti M.V., Astrin K.H., del C Battle A.M., Parera V.E. i inni:** Familial porphyria cutanea tarda: characterization of seven novel uroporphyrinogen decarboxylase mutations and frequency of common hemochromatosis alleles. *Am J Hum Genet* 1998, 63, 1363-1375.
29. **Lambrecht R.W., Thapar M., Bonkovsky H.L.:** Genetic aspects of porphyria cutanea tarda. *Semin Liver Dis* 2007, 27, 99-108.
30. **Sarkany R.P.E.:** The management of porphyria cutanea tarda. *Clin Exp Dermatol* 2005, 26, 225-232.
31. **Smith A.G., Elder G.H.:** Complex gene-chemical interactions: hepatic uroporphyrin as a paradigm. *Chem Res Toxicol* 2010, 23, 712-723.
32. **Jones R.E., Chelsky M.:** Further discussion concerning porphyria cutanea tarda and TCDD exposure. *Arch Environ Health* 1986, 41, 100-103.
33. **Liu A.C.:** Hepatotoxic reaction to chloroquine phosphate in a patient with previously unrecognized porphyria cutanea tarda. *West J Med* 1995, 162, 548-551.
34. **Agarwal R., Peters T.J., Coombes R.C., Vigushin D.M.:** Tamoxifen-related porphyria cutanea tarda. *Med Oncol* 2002, 19, 121-123.
35. **Bonkovsky H.L., Poh-Fitzpatrick M., Pimstone N., Obando J., Di Bisceglie A., Tattre C. i inni:** Porphyria cutanea tarda, hepatitis C, and HFE gene mutations in North America. *Hepatology* 1998, 27, 1661-1669.
36. **Stransky J., Malina L., Cieslarova B., Stritesky J., Putova I., Horak J.:** Overt and hidden coinfection with hepatitis B and C viruses in chronic liver disease and porphyria cutanea tarda. *Acta Virol* 2000, 44, 23-28.
37. **Egger N.G., Goeger D.E., Payne D.A., Miskovsky E.P., Weinman S.A., Anderson K.E.:** Porphyria cutanea tarda: multiplicity of risk factors including HFE mutations, hepatitis C, and inherited uroporphyrinogen decarboxylase deficiency. *Dig Dis Sci* 2002, 47, 419-426.



38. **Gisbert J.P., Garcia-Buey L., Pajares J.M., Moreno-Otero R.:** Prevalence of hepatitis C virus infection in porphyria cutanea tarda: systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2003, 39, 620-627.
39. **Brashear R., Began D., Petersen J., Chuang T.Y.:** An epidemic of porphyria cutanea tarda? *Int J Dermatol* 2000, 39, 154-156.
40. **Phillips J.D., Smith M.W., Katze M., Kushner J.P.:** Hepatic gene expression profiling hepatitis C virus infected patients with porphyria cutanea tarda (PCT). S.A. Congress Editor, Cape Town, 2005.
41. **Chiaverini C., Halimi G., Ouzan D., Halfon P., Ortonne J.P., Lacour J.P.:** Porphyria cutanea tarda, C282Y, H63D and S65C HFE gene mutations and hepatitis C infection: a study from southern France. *Dermatology* 2003, 206, 212-216.
42. **Nagy Z., Koszo F., Par A., Karadi O., Rumi Jr. G., Morvay M. i inni:** Hemochromatosis (HFE) gene mutations and hepatitis C virus infection as risk factors for porphyria cutanea tarda in Hungarian patients. *Liver Int* 2004, 24, 16-20.
43. **Dziemianko J., Piszko P., Simon K., Głady A.:** Patologie wątroby w przebiegu porfirii skórnej późnej. *Adv Clin Exp Med* 2004, 13, 833-838.
44. **Sixel-Dietrich F., Doss M.:** Hereditary uroporphyrinogen-decarboxylase deficiency predisposing porphyria cutanea tarda (chronic hepatic porphyria) in females after oral contraceptive medication. *Arch Dermatol Res* 1985, 278, 13-16.
45. **Bulaj Z.J., Phillips J.D., Ajioka R., Franklin M.R., Griffen L.M., Guinee D.J. i inni:** Hemochromatosis genes and other factors contributing to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. *Blood* 2000, 95, 1565-1571.
46. **Vieira F.M J., Martins J.E.C.:** Porphyria cutanea tarda. *An Bras Dermatol* 2006, 81, 569-580.
47. **Loret de Mola J.R., Muise K.L., Duchon M.A.:** Porphyria cutanea tarda and pregnancy. *Obstet Gynecol Surv* 1996, 51, 493-497.
48. **Wolff C., Merino R.A.:** Porphyria and pregnancy. Review of 17 women. *Rev Med Chil* 2008, 136, 151-156.
49. **Fontanellas A., Martínez-Fresno M., Garrido-Astray M.C., Perucho T., Morán-Jiménez M.J., García-Bravo M. i inni:** Smoking but not homozygosity for CYP1A2 g-163A allelic variant leads to earlier disease onset in patients with sporadic porphyria cutanea tarda. *Exp Dermatol* 2010, 19, 326-328.
50. **Brittenham G.M., Weiss G., Brissot P., Laine F., Guillygomarc'h A., Guyader D. i inni:** Clinical consequences of new insights in the pathophysiology of disorders of iron and heme metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2000, 39-50.
51. **Romanowski T., Sikorska K., Bielawski K.P.:** Molecular basis of hereditary hemochromatosis. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2006, 60, 217-226.
52. **Janssen M.C.H., Swinkels D.W.:** Hereditary haemochromatosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009, 23, 171-183.
53. **Swinkels D.W., Fleming R.E.:** Novel observations in hereditary hemochromatosis: potential implications for clinical strategies. *Haematologica* 2011, 96, 485-488.
54. **Ganz T.:** Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011, 117, 4425-4433.
55. **Viatte L., Vaulont S.:** Hepcidin, the iron watcher. *Biochimie* 2009, 91, 1223-1228.
56. **Biasiotto G., Belloli S., Ruggeri G., Zanella I., Gerardi G., Corrado M. i inni:** Identification of new mutations of the HFE, hepcidin, and transferrin receptor 2 genes by denaturing HPLC analysis of individuals with biochemical indications of iron overload. *Clin Chem* 2003, 49, 1981-1988.
57. **Ajioka R.S., Phillips J.D., Weiss R.B., Dunn D.M., Smit M.W., Proll S.C. i inni:** Down-regulation of hepcidin in porphyria cutanea tarda. *Blood* 2008, 112, 4723-4728.
58. **Le Gac G., Scotet V., Ka C., Gourlaouen I., Bryckaert L., Jacolot S. i inni:** The recently identified type 2A juvenile haemochromatosis gene (HJV), a second candidate modifier of the C282Y homozygous phenotype. *Hum Mol Genet* 2004, 13, 1913-1918.
59. **Altes A., Bach V., Ruiz A., Esteve A., Felez J., Remacha A.F. i inni:** Mutations in HAMP and HJV genes and their impact on expression of clinical hemochromatosis in a cohort of 100 Spanish patients homozygous for the C282Y mutation of HFE gene. *Ann Hematol* 2009, 88, 951-955.
60. **Merryweather-Clarke A.T., Cadet E., Bomford A., Capron D., Viprakasit V., Miller A. i inni:** Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE results in different types of haemochromatosis. *Hum Mol Genet* 2003, 12, 2241-2247.
61. **Lee P.L., Barton J.C., Brandhagen D., Beutler E.:** Hemojuvelin (HJV) mutations in persons of European, African-American and Asian ancestry with adult onset haemochromatosis. *Br J Haematol* 2004, 127, 224-229.
62. **Jacolot S., Le Gac G., Scotet V., Quere I., Mura C., Ferec C.:** HAMP as a modifier gene that increases the phenotypic expression of the HFE pC282Y homozygous genotype. *Blood* 2004, 103, 2835-2840.
63. **Metzker M.L.:** Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet* 2010, 11, 31-46.
64. **Feder J.N., Gnirke A., Thomas W., Tsuchihashi Z., Ruddy D.A., Basava A. i inni:** A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996, 13, 399-408.
65. **European Association for the Study of the Liver EASL:** Clinical practice guidelines for HFE hemochromatosis. *J Hepatol* 2010, 53, 3-22.
66. **Raszeja-Wyszomirska J., Kurzawski G., Suchy J., Zawada I., Lubinski J., Milkiewicz P.:** Frequency of mutations related to hereditary haemochromatosis in northwestern Poland. *J Appl Genet* 2008, 49, 105-107.
67. **Mehrany K., Drage L.A., Brandhagen D.J., Pittelkow M.R.:** Association of porphyria cutanea tarda with hereditary hemochromatosis. *J Am Acad Dermatol* 2004, 51, 205-211.
68. **de Geus H.R.H., Dees A.:** Sporadic porphyria cutanea tarda due to haemochromatosis. *Neth J Med* 2006, 64, 307-309.
69. **Mogl M.T., Pascher A., Presser S.J., Schwabe M., Neuhaus P., Nuessler N.C.:** An unhappy triad: hemochromatosis, porphyria cutanea tarda and hepatocellular carcinoma - a case report. *World J Gastroenterol* 2007, 13, 1998-2001.
70. **Wallace D.F., Subramaniam V.N.:** Co-factors in liver disease: the role of HFE-related hereditary hemochromatosis and iron. *Biochim Biophys Acta* 2009, 1790, 663-670.
71. **Bovenschen H.J., Vissers W.H.:** Primary hemochromatosis presented by porphyria cutanea tarda: a case report. *Cases J* 2009, 2, 7246.
72. **Ellervik C., Birgens H., Tybjaerg-Hansen A., Nordgestgaard B.G.:** Hemochromatosis genotypes and risk of 31 disease endpoints: meta-analyses including 66,000 cases and 226,000 controls. *Hepatology* 2007, 46, 1071-1080.
73. **Kratka K., Dostalíková-Cimburová M., Michalíková H., Stránský J., Vranová J., Horák J.:** High prevalence of HFE gene mutations in patients with porphyria cutanea tarda in the Czech Republic. *Br J Dermatol* 2008, 159, 585-590.
74. **Stölzel U., Köstler E., Schuppan D., Richter M., Wollina U., Doss M.O. i inni:** Hemochromatosis (HFE) gene mutations and response to chloroquine in porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol* 2003, 139, 309-313.
75. **Sinclair P.R., Gorman N., Walton H.S., Bement W.J., Sinclair J.F., Gerhard G.S. i inni:** Uroporphyrin in HFE mutant

- mice given 5-aminolevulinic acid: a new model of Fe-mediated porphyria cutanea tarda. *Hepatology* 2001, 33, 406-412.
76. **Sampietro M., Piperno A., Lupica L., Arosio C., Vergani A., Corbetta N. i inni:** High prevalence of the His63Asp HFE mutation in Italian patients with porphyria cutanea tarda. *Hepatology* 1998, 27, 181-184.
  77. **Furuyama K., Kondo M., Hirata K., Fujita H., Sassa S.:** Extremely rare association of HFE mutations with porphyria cutanea tarda in Japanese patients. *Hepatology* 1999, 30, 1532-1533.
  78. **Skowron F., Berard F., Grezard P., Wolf F., Morel Y., Perrot H.:** Role of the hemochromatosis gene in porphyria cutanea tarda. Prospective study of 56 cases. *Ann Dermatol Venereol* 2001, 128, 600-604.
  79. **Ivanova A., von Ahsen N., Adjarov D., Krastev Z., Oelrich M., Wieland E.:** C282Y and H63D mutations in the HFE gene are not associated with porphyria cutanea tarda in Bulgaria. *Hepatology* 1999, 30, 1531-1532.
  80. **Wickliffe J.K., Abdel-Rahman S.Z., Lee C., Kormos-Hallberg C., Sood G., Rondelli C.M. i inni:** CYP1A2\*1F and GSTM1 alleles are associated with susceptibility to porphyria cutanea tarda. *Mol Med* 2011, 17, 241-247.
  81. **Cassiman D., Vannoote J., Roelandts R., Libbrecht L., Roskams T., Van den Oord J. i inni:** Porphyria cutanea tarda and liver disease. A retrospective analysis of 17 cases from a single centre and review of the literature. *Acta Gastroenterol Belg* 2008, 71, 237-242.
  82. **Gisbert J.P., García-Buey L., Alonso A., Rubio S., Hernández A., Pajares J.M. i inni:** Hepatocellular carcinoma risk in patients with porphyria cutanea tarda. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004, 16, 689-692.
  83. **Fracanzani A.L., Taioli E., Sampietro M., Fatta E., Bertelli C., Fiorelli G. i inni:** Liver cancer risk is increased in patients with porphyria cutanea tarda in comparison to matched control patients with chronic liver disease. *J Hepatol* 2001, 35, 498-503.
  84. **Siersema P.D., ten Kate F.J., Mulder P.G.H., Wilson J.H.:** Hepatocellular carcinoma in porphyria cutanea tarda: frequency and factors related to its occurrence. *Liver* 1992, 12, 56-61.
  85. **Fattovich G., Stroffolini T., Zagni I., Donato F.:** Hepatocellular carcinoma in cirrhosis: incidence and risk factors. *Gastroenterology* 2004, 127, (Suppl 1), 35-50.
  86. **Kowdley K.V.:** Iron, hemochromatosis, and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004, 127, (Suppl 1), 79-86.
  87. **Sakamoto M., Effendi K., Masugi Y.:** Molecular diagnosis of multistage hepatocarcinogenesis. *Jpn J Clin Oncol* 2010, 40, 891-896.
  88. **Sakamoto M.:** Early HCC: diagnosis and molecular markers. *J Gastroenterol* 2009, 44, (Suppl 19), 108-111.
  89. **Ross R.K., Yuan J.M., Yu M.C., Wogan G.N., Qian G.S., Tu J.T. i inni:** Urinary aflatoxin biomarkers and risk of hepatocellular carcinoma. *Lancet* 1992, 339, 943-946.
  90. **Bosch F.X., Ribes J., Diaz M., Cléries R.:** Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* 2004, 127, (Suppl 1), 5-16.
  91. **Marrero J.A., Lok A.S.F.:** Newer markers for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004, 127, (Suppl 1), 113-119.
  92. **Daniele B., Bencivenga A., Megna A.S., Tinessa V.:** Alpha-fetoprotein and ultrasonography screening for hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004, 127, (Suppl 1), 108-112.
  93. **Peng S.Y., Chen W.J., Lai P.L., Jeng Y.M., Sheu J.C., Hsu H.C.:** High alpha-fetoprotein level correlates with high stage, early recurrence and poor prognosis of hepatocellular carcinoma: significance of hepatitis virus infection, age, p53 and beta-catenin mutations. *Int J Cancer* 2004, 112, 44-50.
  94. **Marrero J.A., Su G.L., Wei W., Emick D., Conjeevaram H.S., Fontana R.J. i inni:** Des-gamma carboxyprothrombin can differentiate hepatocellular carcinoma from nonmalignant chronic liver disease in American patients. *Hepatology* 2003, 37, 1114-1121.
  95. **Lok A.S., Sterling R.K., Everhart J.E., Wright E.T., Hoefs J.C., Di Bisceglie A.M. i inni:** Des-gamma-carboxy prothrombin and alpha-fetoprotein as biomarkers for the early detection of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2010, 138, 493-502.
  96. **Di Tommaso L., Franchi G., Park Y.N., Fiamengo B., Destro A., Morenghi E. i inni:** Diagnostic value of HSP70, glypican 3, and glutamine synthetase in hepatocellular nodules in cirrhosis. *Hepatology* 2007, 45, 725-734.

**Otrzymano:** 12 X 2011 r.  
**Zaakceptowano:** 13 XII 2011 r.