

Received: 2006.06.23
Accepted: 2006.12.09
Published: 2006.12.27

Hemochromatoza dziedziczna – najczęstsza choroba genetyczna człowieka*

Hereditary hemochromatosis: The most frequent inherited human disease

Katarzyna Sikorska¹, Krzysztof Piotr Bielawski², Tomasz Romanowski²,
Piotr Stalke¹

¹ Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej w Gdańsku

² Pracownia Diagnostyki Molekularnej, Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii
Uniwersytet Gdański – Akademia Medyczna w Gdańsku

Streszczenie

Hemochromatoza dziedziczna jest chorobą metaboliczną, uwarunkowaną genetycznie, bardzo często występującą wśród osób rasy kaukaskiej. Stanowi jednostkę kliniczną o określonym podłożu patofizjologicznym, wywołowaną przez mutacje genów, których produkty są czynnikami regulującymi wewnątrzustrojowy metabolizm żelaza. Dochodzi do nadmiernego gromadzenia żelaza w tkankach, co wzmaga stres oksydacyjny prowadzący do destrukcji organelli komórkowych, indukcji reakcji zapalnej oraz włóknienia narządów. Na etapie znacznego zaawansowania choroby są rozpoznawane: marskość wątroby, rak wątrobowokomórkowy, cukrzyca, niewydolność krążenia. Naturalny przebieg choroby jest modyfikowany przez czynniki środowiskowe i predyspozycje osobnicze. W podziale klinicznym hemochromatozy wyodrębnia się trzy zasadnicze postaci: klasyczną, młodzieńczą o złośliwym, dynamicznym przebiegu z szybko postępującą niewydolnością krążenia i hipogonadyzmem oraz chorobę ferroportynową, charakteryzującą się spichrzeniem żelaza w układzie siateczkowo-śródbłonkowym. Właściwie ukierunkowane badania diagnostyczne obejmujące analizę parametrów gospodarki żelazowej we krwi, ocenę gromadzenia żelaza w tkankach i badania genetyczne najczęściej występujących mutacji umożliwiają wczesne wdrożenie leczenia hamującego postęp choroby i chroniącego przed rozwojem nieodwracalnej niewydolności wielonarządowej.

Słowa kluczowe:

żelazo • hemochromatoza • homeostaza żelaza • nadmiar żelaza • HFE • choroba genetyczna

Summary

Hereditary hemochromatosis is now recognized as a very common inherited disease of the Caucasian population. It is defined as a disorder of unique clinicopathology caused by mutations of genes that control iron metabolism. Inappropriately increased intestinal iron absorption and accelerated recycling of iron by macrophages lead to progressive body iron accumulation and the generation of oxidative stress in tissues. This results in significant cellular damage, induction of inflammation, and fibrosis. Liver cirrhosis, hepatocellular carcinoma, diabetes mellitus, and cardiac insufficiency are diagnosed in the advanced phase of this disease. The natural course is modified by environmental factors and personal predisposition. Three forms of hemochromato-

* Praca została sfinansowana z grantu Akademii Medycznej w Gdańsku W-175 (KS) i ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego Unii Europejskiej oraz budżetu państwa w związku z realizacją projektu nr Z/2.22/II/2.6/002/05 (TR).

sis with the pathophysiology of iron overload are described. Among them the classical form, juvenile hemochromatosis with severe course and circulatory insufficiency, and ferroportin disease are presented. Properly directed diagnostics makes early treatment protecting against disease progression and multiorgan insufficiency possible.

Key words: iron • hemochromatosis • iron homeostasis • iron overload • *HFE* • genetic disease

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9976.pdf

Word count: 3493

Tables: 3

Figures: 1

References: 102

Adres autora: dr hab. Krzysztof Piotr Bielawski, Pracownia Diagnostyki Molekularnej, Katedra Biotechnologii, Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego i Akademii Medycznej w Gdańsku, ul. Kładki 24, 80-822 Gdańsk; e-mail: bielawsk@biotech.univ.gda.pl

Wykaz skrótów: **ECM** – macierz pozakomórkowa (extracellular matrix); **HCC** – rak wątrobowokomórkowy (hepatocellular carcinoma); **HH** – dziedziczna hemochromatoza (hereditary hemochromatosis); **HIC** – wątrobowe stężenie żelaza (hepatic iron concentration); **HII** – wątrobowy indeks żelaza (hepatic iron index); **HLA** – antygeny zgodności tkankowej (human leukocyte antigen); **HSC** – komórki gwieździste (hepatic stellate cells); **IFN** – interferon; **IL** – interleukina; **MCV** – wskaźnik średniej objętości krwinki czerwonej; **MHC** – główny układ zgodności tkankowej (major histocompatibility complex); **MRI** – rezonans magnetyczny (magnetic resonance imaging); **TfR** – receptor transferyny; **TGF** – nowotworowy czynnik wzrostu (tumor growth factor); **TNF** – czynnik martwicy nowotworu (tumor necrosis factor).

WSTĘP

Żelazo jest jednym z najważniejszych pierwiastków śladowych potrzebnych do funkcjonowania żywych organizmów. Niedobór, jak i nadmiar jego związków w tkankach prowadzi do poważnych schorzeń objawiających się dysfunkcją wielu narządów, a w skrajnych przypadkach śmiercią. Wśród przyczyn zgonu, będących następstwem nadmiernego gromadzenia żelaza, najczęściej wymienia się marskość wątroby, raka wątrobowokomórkowego (hepatocellular carcinoma – HCC), cukrzycę, niewydolność krążenia [66,95]. Niedobór żelaza poza ciężką, zagrażającą życiu niedokrwistością czy obniżeniem sprawności układu immunologicznego (upośledzona komórkowa odpowiedź immunologiczna), rzadko bezpośrednio prowadzi do śmierci. U podstaw patologicznego spichrzenia żelaza leży nierównowaga między regulacją wchłaniania pierwiastka z przewodu pokarmowego, a jego wydalaniem z organizmu. Rozbudowanemu systemowi kontrolującemu intensywność absorpcji towarzyszy brak fizjologicznej możliwości usuwania nadmiaru żelaza. Jego dobowy utrata wraz ze złuszczonego nabłonkiem przewodu pokarmowego wynosi jedynie 1–4 mg, a ilość ta zwykle jest równoważona dobowym wchłanianiem jonów żelazawych w przewodzie pokarmowym [6,78].

Pierwsze opisy choroby objawiającej się patologicznym gromadzeniem żelaza sięgają 1865 r. Trousseau opisał wówczas triadę objawów: nadmierną pigmentację skóry, marskość wątroby, cukrzycę (bronze diabetes) identyfikowaną do dnia dzisiejszego jako klasyczną postać cho-

roby. Termin „hemochromatoza” po raz pierwszy użył w 1889 r. von Recklinghausen, który związał nadmierną pigmentację z zawartością żelaza w tkankach. W 1935 r. Sheldon opisał ponad 300 przypadków hemochromatozy, sugerując wrodzony, dziedziczny charakter schorzenia [79]. Dopiero w 1977 r. Simonowi z zespołem udało się określić typ dziedziczenia choroby [93]. Dziedziczna hemochromatoza (hereditary hemochromatosis) należy do najczęstszych wrodzonych wad metabolicznych. Jej występowanie szacuje się na 3–8 przypadków/1000 wśród populacji rasy kaukaskiej [38,74].

ETIOLOGIA HEMOCHROMATOZY

Gen *HFE*, którego mutacje są odpowiedzialne za zaburzenia regulacji i nadmierne gromadzenie żelaza, został zlokalizowany w bezpośrednim sąsiedztwie genów kodujących białka układu HLA-A3, na ramieniu krótkim chromosomu 6, przez zespół Federa w roku 1996 [43,93].

W ciągu 10 lat, które minęły od opisanego związku mutacji genu *HFE* z obrazem klinicznym choroby, dokonano nowych odkryć w zakresie czynników regulujących wewnątrzustrojowy obrót żelaza oraz kodujących je genów [27]. Pozwoliło to na wyróżnienie kilku typów hemochromatozy o zróżnicowanych uwarunkowaniach genetycznych (wg bazy OMIM Online Mendelian Inheritance in Man, tabela 1) [56]. Charakterystykę poszczególnych typów podają Romanowski i wsp. [92]. Przyjmuje się, że najważniejszym czynnikiem regulującym metabolizm żelaza w organizmie człowieka jest układ: hepcydyna-peptyd

Tabela 1. Hemochromatoza wrodzona – uwarunkowania genetyczne zespołów pierwotnego spichrzania żelaza

Typ hemochromatozy	1	2A (młodzieńcza)	2B (młodzieńcza)	3	4 (choroba ferroportynowa)
Zmutowany gen	<i>HFE</i>	<i>HJV</i>	<i>HAMP</i>	<i>TFR2</i>	<i>SLC40A1</i>
Produkt genu i jego funkcja	HFE – interakcja z receptorem transferyny 1, regulacja syntezy hepcydyny	hemojuwelina – regulacja ekspresji hepcydyny	hepcydyna – blokowanie ferroportyny	receptor transferyny 2 – pobieranie żelaza związanego z transferyną, regulacja syntezy hepcydyny	ferroportyna – uwalnianie żelaza z makrofagów i enterocytów
Lokalizacja genu	6p21	1q21	19q13	7q22	2q32
Model dziedziczenia	aut. rec.	aut. rec.	aut. rec.	aut. rec.	aut. dom.
Częstość występowania mutacji	często	rzadko	bardzo rzadko	rzadko	rzadko

aut. – autosomalny; rec. – recesywny; dom. – dominujący

syntetyzowany w wątrobie, oraz ferroportyna – swoisty receptor – odpowiadający za uwolnienie żelaza z komórek [49,90]. U podłoża wszystkich znanych postaci hemochromatozy wrodzonej leży dysfunkcja tego układu. Wynika ona z nieadekwatnie małej ekspresji hepcydyny w wątrobie, która występuje w hemochromatozie typu 1, związanej z mutacją genu *HFE* [22] i hemochromatozie młodzieńczej typu 2b, gdzie mutacja dotyczy genu hemojuweliny [61]. Z kolei zaburzenia syntezy peptydu uwarunkowane mutacjami kodującego go genu *HAMP* opisywane są w typie 2a hemochromatozy młodzieńczej [91]. Także w hemochromatozie typu 3 proponowany mechanizm zaburzeń opiera się na zaburzeniach regulacji syntezy hepcydyny spowodowanych inaktywacją jej modulatora. Funkcja modulatora przypisywana jest receptorowi transferyny *Tfr2* [64]. W hemochromatozie typu 4 mutacje dotyczą genu ferroportyny, która jest białkiem transportującym żelazo, umiejscowionym na błonach enterocytów, makrofagów układu siateczkowo-śródbłonkowego wątroby, śledziony, szpiku i podlegającym hamującemu działaniu hepcydyny [59]. Niektóre z mutacji tego genu prowadzą do inaktywacji przenośnika jonów żelaza, inne natomiast znoszą wrażliwość białka na hamujący wpływ hepcydyny [37].

Badania genetyczne zrewolucjonizowały wiedzę w zakresie rozpoznawania, klasyfikacji oraz patomechanizmu znanej i opisywanej od ponad 100 lat choroby [24]. Według A. Pietrangela dziedziczna hemochromatoza jest chorobą o określonym podłożu patofizjologicznym, wywołaną przez liczne mutacje w jednym lub kilku z poznanych dotąd pięciu genów. Naturalny przebieg choroby może ulegać modyfikacji przez predyspozycje osobnicze, jak i czynniki środowiskowe. Wśród czynników modyfikujących wymieniane są: wiek, płeć, spożycie alkoholu, zakażenia wirusami hepatotropowymi [79].

Na nasilenie zmian uszkodzeniowych w narządach ma wpływ aktywność cytokin prozapalnych i związanych z fibrogenezą oraz sprawnie funkcjonujące mechanizmy antyoksydacyjne. Analizowany jest wpływ polimorfizmu genów, których produktami są *TNF-α*, *IFN-γ*, *IL-1*, *IL-10*,

TGF-β1, na stopień destrukcji narządów spichrzających żelazo [19,22,41,57,72,75]. Podkreślana jest także rola białek ochronnych, niwelujących cytotoksyczne działanie reaktywnych form tlenu oraz znaczenie zmniejszenia ich ekspresji w patogenezie indukowanego żelazem uszkodzenia tkanek [10,89,95,98].

PODZIAŁ ZESPOŁÓW SPICHRZANIA ŻELAZA

Wśród zespołów spichrzania żelaza wyróżniana jest pierwotna, wrodzona, uwarunkowana genetycznie hemochromatoza oraz hemosyderoza rozwijająca się jako zespół patologicznego gromadzenia żelaza, wtórny do innych chorób, wrodzonych lub nabytych. Najczęściej hemosyderoza wtórna towarzyszy niedokrwistościom, wymagającym licznych przetoczeń krwi. Szczególnie podatni na rozwój nasilonej patologii narządowej są pacjenci, u których występuje nieefektywna erytropoeza. Wśród wrodzonych chorób układu czerwono krwinkowego, którym towarzyszą objawy hemosyderozy są wymieniane m.in. talasemie, wrodzona sferocytosis, wrodzony niedobór dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej [5,71,88]. Do chorób nabytych, w przebiegu których rozwija się wtórna hemosyderoza, należą nabyta niedokrwistość syderoblastyczna oraz niektóre przewlekłe choroby wątroby; wśród nich są wymieniane: przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C, niealkoholowa choroba tłuszczowa wątroby, alkoholowa choroba wątroby, porfirie wątrobowe (tabela 2) [1,14,20,25,30,42,52,63].

W rozpoznaniu wrodzonej hemochromatozy należy uwzględnić trzy elementy: podatność genetyczną (opisane i nowe mutacje genów, wpływ genów regulujących), wyniki badań laboratoryjnych związanych z metabolizmem żelaza oraz objawy kliniczne [15,79]. Analiza tych czynników pozwoliła stworzyć przydatną klinicznie, szczególnie w planowaniu terapii, czterostopniową klasyfikację [55]. Do grupy pierwszej przyporządkować można osoby zdrowe, genetycznie predysponowane do rozwoju choroby, ale charakteryzujące się brakiem jej fenotypowej ekspresji (w odniesieniu do mutacji genu *HFE* przeprowadzono liczne badania populacyjne, wykazując m.in., że połowa

Tabela 2. Hemosyderoza – wybrane zespoły wtórnego spichrzania żelaza

Zaburzenia erythropoezy oraz niedokrwistości wymagające częstych przetoczeń krwi
<ul style="list-style-type: none"> • talasemie • wrodzona sferocytoza • niedobór dehydrogenazy glukozy-6-fosforanowej • niedokrwistość syderoblastyczna • przewlekła niedokrwistość hemolityczna • niedokrwistość aplastyczna • przewlekła niewydolność nerek z dializoterapią
Przewlekłe choroby wątroby
<ul style="list-style-type: none"> • przewlekłe zapalenie wątroby typu C (rzadziej typu B) • porfiria skórna późna • alkoholowa choroba wątroby • niealkoholowa stłuszczeniowa choroba wątroby

homozygotycznych nosicieli mutacji C282Y i prawie 20% heterozygotycznych nosicieli może rozwinąć objawy patologicznego spichrzania żelaza [17,68]. W drugiej grupie są klasyfikowani pacjenci, nosiciele mutacji, prezentujący tylko cechy laboratoryjne nadmiernego gromadzenia żelaza (podwyższone stężenia żelaza, ferrytyny, wysycenia transferyny w surowicy). Wczesne objawy kliniczne tkankowego spichrzania żelaza, charakterystyczne dla pacjentów z 3 grupy wskazują na toczący się już proces chorobowy w narządach. Do objawów tych należą uczucie przewlekłego znużenia, uszkodzenie wątroby objawiające się hepatomegalią i umiarkowanym wzrostem aktywności aminotransferaz, bóle stawów. Symptomatologia ostatniej fazy choroby (grupa 4) związanej z zaawansowanym uszkodzeniem narządów jest bogata i obejmuje postępującą chorobę wątroby z włóknieniem i rozwojem nadciśnienia wrotnego, cukrzycę, kardiomiopatię rozstrzeniową i niewydolność serca, hipogonadyzm, niedoczynność tarczycy, destrukcyjne zmiany wielu stawów, nadmierną pigmentację skóry [55].

OBRAZ HISTOPATOLOGICZNY W ZESPOŁACH SPICHRZANIA ŻELAZA

Żelazo gromadzi się w wielu tkankach (płuca, nerki, serce, trzustka, gruczoły wydzielania dokrewnego), jednak głównym rezerwuarem pozostaje szpik kostny i wątroba. Na przykładzie wątroby, ze względu na dostępność badań diagnostycznych, można prześledzić niekorzystny wpływ nadmiaru tego pierwiastka na gromadzące go tkanki. Podobne zmiany morfologiczne zachodzą także w komórkach mięśniowych serca i w komórkach gruczołowych (trzustka, nadnercza, gonady).

W typowej postaci hemochromatozy wrodzonej (typy 1, 2, 3) nadmiar żelaza gromadzi się pierwotnie przede wszystkim w hepatocytach, głównie w przestrzeniach okołowrotnych – wątrobowy gradient żelaza zmniejsza się od strefy 1 do 3 gronka wątrobowego. Inaczej w hemosyderozie wtórnej, czy w części przypadków klasyfikowanych jako typ 4 hemochromatozy wrodzonej, w których proces spichrzania żelaza odbywa się przeważnie w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego [34].

Wtórnie do procesu zapalnego toczącego się w wątrobie, gromadzone są w makrofagach zatokowych (komórki Kupffera) złogi żelaza będące pozostałością po sfagocytowanych, zniszczonych hepatocytach [34,97]. Jak wspomniano w części przypadków hemochromatozy wrodzonej, związanych z mutacjami genu kodującego ferroportynę (HH typ 4), przyczyną patologii jest zaburzenie uwalniania żelaza z makrofagów, enterocytów. Typ mezenchymalnego spichrzania żelaza występuje tylko wtedy, gdy mutacja w genie ferroportyny powoduje jej inaktywację, jako przezłożonego transportera żelaza [37].

W zaawansowanym stadium wrodzonej hemochromatozy nasiloną syderozą dotyczy także komórek Kupffera zatok i przestrzeni wrotnych, komórek wyściółki zatok wątroby, śródbłonka naczyń, nabłonka dróg żółciowych. Deugnier i wsp., którzy poddali analizie histopatologicznej wycinki wątroby osób chorujących na hemochromatozę, wskazują na istotny związek nasilonego włóknienia ze znacznym gromadzeniem depozytów żelaza mezenchymalnego [34].

W patomechanizmie włóknienia wątroby, w tym także w zespołach spichrzania żelaza, główną rolę odgrywają komórki gwiaździste (komórki Ito) (hepatic stellate cells – HSC) [29,75,87]. Komórki te, stanowiące 13–15% wszystkich komórek wątroby, są uważane za główne źródło wytwarzania kolagenu i pozostałych składników macierzy pozakomórkowej (extracellular matrix – ECM) [44]. Bezpośredni, stymulujący gromadzenie kolagenu, wpływ żelaza jest wymieniany jako jeden z powodów aktywacji fibrogenezy [51]. Badania prowadzone wśród chorych z rozpoznaniem hemochromatozy, będących homozygotami C282Y, jak i badania na modelu zwierzęcym, potwierdzały związek nasilenia spichrzania żelaza w wątrobie z pobudzeniem komórek gwiaździstych [75,85,86]. Komórki gwiaździste są wyposażone w swoisty receptor ferrytyny – białka magazynującego tkankowe żelazo [84]. Odkrycie *in vitro* ekspresji receptora transferyny – białka transportującego żelazo i wykazanie jej silnego wiązania na pobudzonych komórkach gwiaździstych wskazywało na możliwość aktywacji tych multipotencjalnych komórek niezależnie od toczącego się w narządzie procesu zapalnego [21].

Wydaje się jednak, że główne profibrogenne działanie żelaza ma związek z jego dużym potencjałem oksydoredukcyjnym, prowadzącym do nadmiernego wytwarzania reaktywnych form tlenu. Aktywne, toksyczne postaci tlenu powstają w trakcie metabolizmu komórkowego (np. H₂O₂, OH⁻), jednakże ich ilość znacznie wzrasta w przypadku nadmiernego gromadzenia żelaza w komórce. Wyrazem obecności wolnych rodników w ilości przekraczającej możliwość ich wewnątrzkomórkowej utylizacji jest stres oksydacyjny, prowadzący do uszkodzenia błon komórkowych (w następstwie peroksydacji lipidów błonowych), a w efekcie do uszkodzenia komórek, aktywacji reakcji zapalnej oraz włóknienia [67,75,99]. Aktywacja makrofagów zatok wątrobowych, uwolnienie cytokin prozapalnych (TNF- α , IL-1, IL-10, IFN- γ) czynników wzrostu (TGF- β 1), rekrutacja komórek limfocytarnych tworzących nacieki zapalne są następstwem powstawania zmian zwyrodnieniowych (zwyrodnienia balonowatego, stłuszczenia) i martwicy hepatocytów (syderonekrozy) [12,42,60,75]. Pobudzone makrofagi mogą wpływać także na aktywację receptora transferyny,

zmieniając komórkowy metabolizm żelaza. Pierwiastek ten może modulować aktywność czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, będącego sygnałem przekąźnikowym do wytwarzania mediatorów cytotoksyczności, włóknienia, zapalenia [94,99]. Integralnym elementem reakcji zapalnej jest aktywacja komórek gwiaździstych z intensywną syntezą cząsteczek macierzy pozakomórkowej [29,87]. Podkreśla się również zdolność do modulowania przez komórki gwiaździste proliferacji limfocytów T [94,101]. Przekształcenia komórek gwiaździstych w miofibroblasty sprzyjają wytworzeniu dużych ilości składników substancji pozakomórkowej oraz czynników wzrostu z nasilającym się gromadzeniem tkanki łącznej w przestrzeniach zatokowych (Dissego). Limfocytarny lub histiocytarny naciek zapalny, w tym także o niewielkiej aktywności, umiejscowiony w przestrzeniach wrotnych i okołowrotnych, korelował z natężeniem włóknienia u badanych z rozpoznaniem klinicznym hemochromatozy [21,34].

IMMUNOLOGIA W ZESPÓŁACH SPICHRZANIA ŻELAZA

Wyniki licznych badań potwierdzają modyfikację charakteru odpowiedzi T komórkowej, pozostającej w związku z gromadzeniem żelaza. Wiele prac oceniających subpopulacje limfocytów T i ich stan czynnościowy u pacjentów z rozpoznaniem hemochromatozy wrodzonej wskazywało głównie na obniżenie liczby limfocytów CD8 w krwi obwodowej, zmniejszenie ich aktywności cytotoksycznej, wzrost stosunku CD4/CD8 korelujący z nasileniem spichrzania żelaza i włóknieniem wątroby [7]. Obserwowano także zmniejszenie liczby limfocytów CD4 i komórek NK. Inne badania określające subpopulacje limfocytów w tkance wątrobowej wykazywały zmniejszenie liczby CD8 w zespołach spichrzania żelaza [27].

Zaburzenia funkcji immunologicznych nie są analizowane wyłącznie w aspekcie ich modyfikacji przez gromadzone w nadmiarze żelazo. Badane jest także znaczenie dysfunkcji układu immunologicznego zaburzającej homeostazę żelaza u pacjentów z rozpoznaniem wrodzonej hemochromatozy. Nadrzędną rolę przypisuje się układowi antygenów zgodności tkankowej, kompleksowi MHC klasy I, odnosząc się do genetycznych uwarunkowań regulacji liczby limfocytów CD8 i regulacji metabolizmu żelaza. Wykazali to autorzy analizujący stan gospodarki żelazowej u myszy pozbawionych genów regionu MHC I, co prowadziło do samoistnego wzrostu zasobów żelaza w wątrobie [28]. Z kolei istotną korelację zaburzeń ekspansji dwóch głównych populacji limfocytów T z kliniczną ekspresją hemochromatozy wykazali Porto i wsp. [80]. Udowodnili, że wartość stosunku CD4/CD8 w krwi istotnie wiąże się z objawami choroby, wynikającymi ze znacznego gromadzenia żelaza, poprzedza je i może stanowić czynnik predykcyjny w określaniu ciężkości przebiegu klinicznego choroby. Ekspansja limfocytów CD8 zależy od rozpoznania antygenów przez cząstki klasy MHC I – zasugerowano więc znaczenie fenotypu HLA dla ekspresji choroby.

Mutacja genu *HFE* skutkująca deficytem kodowanego przezeń białka HFE, homologicznego z cząstkami MHC klasy I, także może być odnoszona do dysfunkcji układu immunologicznego we wrodzonej hemochromatozie. Białko to bowiem, wiążąc się z receptorem transferyny, jest integralnym elementem fizjologicznych mechanizmów wpły-

wających na indukcję proliferacji różnych komórek, w tym limfocytów [31,40].

Zagadnienie dotyczące znaczenia i możliwości wykorzystania leczenia immunomodulacyjnego u pacjentów z rozpoznaniem hemochromatozy pozostaje otwarte i wymaga dalszych badań.

ROZPOZNANIE CHOROBY

W przypadkach podejrzanych o hemochromatozę wrodzoną wzrosło znaczenie wczesnego ustalenia rozpoznania, stwarzającego możliwość wdrożenia systematycznego leczenia, chroniącego przed nieodwracalnym uszkodzeniem narządów. Klasyczna triada objawów: marskość, cukrzyca, śniade zabarwienie skóry ustępuje miejsca innym wcześniej omówionym, ale i mało charakterystycznym symptomom choroby, u osób dorosłych w średnim wieku i młodszych [55]. Należą do nich: ogólne złe samopoczucie, bóle stawów, powiększenie wątroby, umiarkowane podwyższenie aktywności aminotransferaz. Z czasem objawy choroby wynikające z gromadzenia żelaza w wątrobie, trzustce, sercu, gonadach, przysadce nasilają się. W zaawansowanej fazie choroby obecność marskości wątroby wiąże się z istotnym ryzykiem rozwoju raka wątrobowokomórkowego [58,65]. Chorzy ponadto mają często objawy kardiomiopatii, destrukcyjnej artropatii [55]. Zanik tkanki gruczołowej prowadzi nie tylko do ujawnienia się zaburzeń gospodarki węglowodanowej, ale także do zaburzeń funkcji płciowych, niedoczynności tarczycy. Obecnie szacuje się, że przeciętnie mija około 10 lat od wystąpienia objawów do ustalenia rozpoznania (tabela 3) [78].

Do podstawowych badań diagnostycznych, które najwcześniej u młodych osób sygnalizują zaburzenia gospodarki żelazowej, należą oznaczenia stężenia żelaza i wysycenia transferyny w surowicy. Wysycenie transferyny nie powinno przekraczać 45%, zafalszowane obniżenie tej wartości może być konsekwencją desaturacji transferyny w chorobach zapalnych. Przydatnym (choć mającym ograniczoną czułość ze względu na związek z reakcjami ostrej fazy) markerem, określającym wewnątrzustrojowe zasoby żelaza, jest ferrytyna. Znacznie podwyższone stężenie tego białka w surowicy zwykle ściśle koreluje z nadmiernym gromadzeniem żelaza w tkankach. W przypadkach, gdy ferrytyna przekracza 1000 ng/ml obserwuje się istotny wzrost ryzyka włóknienia wątroby [54].

Po potwierdzeniu nieprawidłowości w badaniach biochemicznych, proponuje się wykonanie badania genetycznego w kierunku najczęstszych mutacji genów związanych z rozwojem hemochromatozy wrodzonej. Według części autorów biopsja wątroby nie jest zalecana do ustalenia rozpoznania hemochromatozy w przypadku potwierdzenia mutacji genów *HFE*, *TJR2*, hemojuweliny lub hepcydyny, szczególnie u młodych pacjentów z objawami klinicznymi patologicznego spichrzania żelaza [55]. Problemem diagnostycznym w rutynowej praktyce może się stać brak możliwości wykonania badań molekularnych. Ponadto doświadczenia ostatnich 2 lat, kiedy to zidentyfikowano znaczenie nowych związków regulujących wewnątrzustrojowy metabolizm żelaza (hepcydyna, hemojuwelina) i mutacje genów, których produktami są te związki, nakazują dużą ostrożność diagnostyczną w sytuacji, gdy niepotwierdzo-

Tabela 3. Hemochromatoza wrodzona – różnicowanie obrazu klinicznego

Typ hemochromatozy	1	2A/2B	3	4
Czas pojawienia się pierwszych objawów	późno, 40.–50. rok życia	wcześnie, ok. 20.–30. rok życia	późno, 40.–50. rok życia	późno, 40.–50. rok życia
Przebieg choroby	przebieg choroby zróżnicowany od łagodnego do poważnego, żelazo gromadzi się w tkankach mięszzowych wątroby, gruczołów dokrewnych, serca	przebieg choroby ciężki, żelazo gromadzi się w tkankach mięszzowych wątroby, gruczołów dokrewnych, serca; szybki rozwój hipogonadyzmu, kardiomiopatii	przebieg choroby łagodny, żelazo gromadzi się w tkankach wątroby, gruczołów dokrewnych serca	przebieg łagodniejszy niż w 1 typie HH, żelazo gromadzi się głównie w układzie siateczkowo-śródbłonkowym wątroby i śledziony
Terapia	upusty krwi, podawanie substancji chelatujących żelazo	upusty krwi, podawanie substancji chelatujących żelazo, przeszczep serca	upusty krwi, podawanie substancji chelatujących żelazo	upusty krwi – ryzyko anemizacji, podawanie erytropoetyny

ny jest defekt genetyczny. W takim przypadku nie można wykluczyć rozpoznania wrodzonej hemochromatozy u pacjenta z ewidentnymi objawami klinicznymi – laboratoryjnymi i narządowymi [78].

Badanie histopatologiczne wycinka wątroby, mające na celu potwierdzenie obecności i oszacowanie nasilenia depozytów tkankowych żelaza oraz określenie zaawansowania włóknienia, jest wskazane, jeśli obserwowane są hepatomegalia, podwyższone aktywności aminotransferaz, stężenie ferrytyny przekraczające 1000 ng/ml, a także u osób >40 r.ż. [70,78]. Złotym standardem pozostaje ilościowe oznaczenie metodą spektrofotometryczną zawartości żelaza w biopacie [13]. Określane jest stężenie żelaza HIC (hepatic iron concentration), gdzie za prawidłowe przyjęto $HIC < 36 \mu\text{mol/g}$ suchej tkanki wątrobowej. Za wartość krytyczną odpowiadającą rozpoznaniu hemochromatozy uznano $HIC > 80 \mu\text{mol/g}$ [6,81]. Korzysta się także z oznaczenia HII (hepatic iron index; HIC/wiek), uwzględniającego wiek pacjenta w szacowaniu zasobów żelaza. Jego wartość nie powinna przekraczać 1,9 [3].

Metoda półilościowej oceny depozytów żelaza wykorzystuje barwienie preparatów wycinka wątroby błękitem pruskim i szacowanie ilości żelaza w badaniu histopatologicznym najczęściej według skali punktowej – 0–4 punktów [23,97].

Poszukuje się także nowych, nieinwazyjnych metod pozwalających z dużą dokładnością mierzyć zawartość żelaza w wątrobie. Osobnym problemem, szczególnie dotyczącym pacjentów z rozpoznaną marskością wątroby jest wątpliwa miarodajność badania wycinka na obecność żelaza w hepatocytach. Zawartość pierwiastka w mięszu może być bardzo zróżnicowana, niejednorodna, co jest skutkiem postępującego włóknienia i guzkowej przebudowy narządu [62,100]. Podnoszone jest znaczenie obrazowania technikami rezonansu magnetycznego (MR) dla diagnostyki i określania natężenia spichrzenia żelaza w wątrobie [47]. Wyniki badań potwierdzających czułość i swoistość metody zachęcają do korzystania z niej, szczególnie w tych sytuacjach klinicznych, gdy niemożliwe jest wykonanie biopsji wątroby bądź ilościowe oznaczenie stężenia żelaza w uzyskanym wycinku tkankowym. W badaniu MR

zwiększona zawartość żelaza w wątrobie wydłuża czas relaksacji T2 i zmniejsza intensywność sygnału wątrobowego SI, dając typowy obraz ciemnej wątroby [47]. W analizach porównujących badanie histopatologiczne i badanie MR, wykazano, że włóknienie i stłuszczenie wątroby nie ma wpływu na ocenę zawartości żelaza badaniem MR, czułość wynosi około 89%, a swoistość 80%. Korelacja między wynikiem badania MR, a biochemicznymi wykładnikami spichrzenia żelaza oceniana jest jako dobra. Żelazo tą metodą było wykrywane, gdy jego zawartość wynosiła od $60 \mu\text{mol/g}$ do wartości przekraczających dziesięciokrotnie wartości prawidłowe [4,48].

LECZENIE

Ustalenie rozpoznania wrodzonej hemochromatozy pociąga za sobą konieczność oszacowania prawdopodobieństwa wystąpienia narządowych czy metabolicznych konsekwencji spichrzenia żelaza. Pacjent wymaga klinicznej kontroli, należy identyfikować dodatkowo inne czynniki ryzyka mogące sprzyjać szybkiej progresji choroby [11,96]. Podstawowe badania biochemiczne powinny być przeprowadzone u rodzeństwa, zaś badanie genetyczne jest uzasadnione, jeśli mutacja została zidentyfikowana [39,82]. Leczenie zespołów związanych z patologicznym spichrzeniem żelaza obejmuje dietę z unikaniem suplementacji żelaza i witaminy C, oraz niespożywanie produktów bogatych w żelazo np. czerwonego mięsa, wątróbek. Najchętniej zalecanym, dobrze tolerowanym, efektywnym i korzystnym ekonomicznie sposobem jest leczenie krwiopustami (flebotomie) [13]. Zabiegi te nie są zalecane wśród pacjentów nosicieli mutacji genu ferroportyny (HH typ 4) oraz osób źle tolerujących upusty (np. z rozpoznaniem marskości wątroby, zaburzeń erytropoezy, choroby wieńcowej, niewydolności nerek). Terapeutyczne krwiopustasy są wykonywane z powodzeniem od ponad 50 lat. Nawet jeśli wprowadzone są późno – mogą poprawić jakość życia, zmniejszyć hepatomegalie, dolegliwości bólowe stawów czy spowolnić dalszą progresję choroby [66]. Cukrzyca, hipogonadyzm, marskość wątroby, kardiomiopatia należą do zmian chorobowych nieodwracalnych.

Leczenie ma prowadzić do opróżnienia magazynów żelaza i utrzymania surowiczego stężenia żelaza w grani-

cach normy, nie ma ono powodować anemizacji czy deficytu żelaza. Tego typu leczenie można odkładać, ale staje się konieczne, gdy ferrytyna przekracza wartość 1000 ng/ml [78]. Istotne jest wdrożenie energicznego leczenia, gdyż w czasie flebotomii wzrasta wchłanianie żelaza z przewodu pokarmowego, przekraczając niekiedy nawet 5 mg/dobę. Właściwy efekt terapeutyczny można osiągnąć przeprowadzając flebotomie co 1–2 tygodnie. Celem jest obniżenie stężenia ferrytyny do około 30 ng/ml (wg niektórych autorów pożądane są jeszcze mniejsze stężenia – 10 ng/ml) i wysycenia transferyny <50%. Po osiągnięciu stężenia ferrytyny 80–100 ng/ml zaleca się terapię podtrzymującą z wydłużeniem okresu między kolejnymi krwiopustami u mężczyzn do 3–4 miesięcy, u kobiet do 6 miesięcy. Jedna utoczona jednostka 450 ml krwi u pacjenta z hematokrytem 45% oznacza usunięcie 200–250 mg żelaza z organizmu i zmniejszenie stężenia ferrytyny o prawie 30 ng/ml. Potwierdzeniem istotnego zubożenia zasobów wewnątrzustrojowych żelaza jest obniżanie się wartości średniej objętości krwinki czerwonej (MCV). Seryjnie powtarzane flebotomie, dobrze tolerowane przez pacjentów i nieprowadzące do szybkiej anemizacji pozwalają oszacować zasoby zgromadzonego żelaza. W dawniejszych opracowaniach wartość 4 g usuniętego żelaza w trakcie powtarzanych co 2 tygodnie flebotomii, stanowiła uzasadnienie dla rozpoznania wrodzonej hemochromatozy [34].

Związki chelatujące znajdują zastosowanie głównie u pacjentów z wtórną hemosyderozą, szczególnie tam, gdzie powodem tkankowego przeładowania żelazem jest nieefektywna erytropoeza z towarzyszącą niedokrwistością. Ich podawanie jest obciążone dużym ryzykiem wystąpienia objawów niepożądanych oraz znaczną ceną leków. W kwalifikacji do tego rodzaju leczenia istotna jest ocena stopnia uszkodzenia serca. Terapia związkami chelatującymi jest możliwa i uzasadniona przed wystąpieniem nieodwracalnego uszkodzenia tego narządu. [5,16].

ZNACZENIE BADAŃ PRZESIEWOWYCH

Prowadzenie genetycznych badań przesiewowych na szeroką skalę nie jest obecnie zalecane. Odgrywają tu rolę względy medyczne, etyczne i ekonomiczne. Zwraca się jednak uwagę na śledzenie wartości wysycenia transferyny w wyselekcjonowanych populacjach chorych na przewlekłą chorobę wątroby lub kardiomiopatię o niepewnej etiologii, cukrzycę typu 2, nietypowe zapalenie stawów czy u osób cierpiących z powodu wcześniej ujawniającej się impotencji [32,55]. Wskazuje się także na znaczenie badań przesiewowych do identyfikowania osób z grupy ryzyka rozwoju choroby raka wątrobowokomórkowego [18].

Najwięcej danych opublikowanych odnosi się do częstości występowania mutacji C282Y genu *HFE*. Nosicielstwo pojedynczego allele z mutacją C282Y szacowane jest od 1:12 do 1:20, zaś homozygoty wykrywane są z częstością 1:200 do 1:400 wśród osób rasy kaukaskiej. W populacji Afroamerykanów mutacja jest rozpoznawana zdecydowanie rzadziej, w stosunku 1:4000 [18,55]. Częstość występowania mutacji C282Y w populacji osób chorych, prezentujących typowe objawy hemochromatozy, w Europie, Ameryce Północnej i Australii określana była w przedziale 60-96% [2,24]. Brak rozpoznania wrodzonej hemochromatozy i wdrożenia właściwego leczenia skutkuje skróceniem czasu przeżycia u 10% homozygotycznych nosicieli mutacji C282Y [65,68]. Wiadomo jednak, że nie u wszystkich będących homozygotami C282Y rozwijają się objawy choroby. Niemniej szacowanie fenotypowej ekspresji budzi wiele kontrowersji, gdyż wyniki badań są istotnie zróżnicowane. Beutler i wsp. porównujący częstość współwystępowania objawów hemochromatozy z mutacjami genu *HFE* sugerują zaledwie 1% szansy na ich fenotypowe ujawnienie się [17]. Badania prowadzone wśród mieszkańców Europy, USA, Kanady, Australii i Nowej Zelandii wskazywały na rozwijanie się wielonarządowych objawów spichrzania żelaza u 10-25% homozygot C282Y [8,68,74]. Przyczyna braku fenotypowej ekspresji nie jest jednoznacznie określona, poszukuje się znaczenia wpływu genów modyfikujących przebieg choroby. Do czynników niezależnych od uwarunkowań genetycznych, a zwiększających ryzyko włóknienia wątroby u osób z potwierdzonym defektem genetycznym należą nadmierne spożycie alkoholu i zakażenie HCV [36,44].

Znaczenie drugiej mutacji genu *HFE* (H63D) jest podnoszone w odniesieniu do mieszanych heterozygot C282Y/H63D, u których spodziewane ryzyko wystąpienia objawów patologicznego gromadzenia żelaza szacowane jest na 1–2% [78]. Sama mutacja H63D występuje w populacji rasy kaukaskiej z częstością 15–20%, a homozygotyczni nosiciele mają objawy łagodnego spichrzania żelaza, głównie pod postacią zaburzeń biochemicznych parametrów gospodarki żelazowej [53]. Podobne zjawisko obserwuje się u nosicieli mieszanych mutacji C282Y/S65C [9].

Strategia działań przesiewowych musi uwzględniać częste nieujawnianie objawów choroby w młodym wieku. Siedemnastoletnia obserwacja nieleczonych pacjentów z rozpoznaniem hemochromatozy (homozygot C282Y), mieszkańców Busselton, potwierdza znaczenie systematycznego kontrolowania wysycenia transferyny. Takie postępowanie jest gwarancją właściwej kontroli tych przypadków choroby, w których pomimo prawidłowych wartości parametrów gospodarki żelazowej w młodym wieku dochodzi do postępującego spichrzania żelaza w miarę upływu lat [69]. Należy podkreślić zasadność prowadzenia skriningu fenotypowego ze względu na rzadkie mutacje, rutynowo nieoznaczane [73].

Strategia działań przesiewowych musi uwzględniać częste nieujawnianie objawów choroby w młodym wieku. Siedemnastoletnia obserwacja nieleczonych pacjentów z rozpoznaniem hemochromatozy (homozygot C282Y), mieszkańców Busselton, potwierdza znaczenie systematycznego kontrolowania wysycenia transferyny. Takie postępowanie jest gwarancją właściwej kontroli tych przypadków choroby, w których pomimo prawidłowych wartości parametrów gospodarki żelazowej w młodym wieku dochodzi do postępującego spichrzania żelaza w miarę upływu lat [69]. Należy podkreślić zasadność prowadzenia skriningu fenotypowego ze względu na rzadkie mutacje, rutynowo nieoznaczane [73].

PODSUMOWANIE

Dziedziczna hemochromatoza należy do najczęstszych wrodzonych wad metabolicznych człowieka. Stanowi ona jednostkę kliniczną o określonym podłożu patofizjologicznym, wywołaną przez liczne mutacje w jednym lub kilku z poznanych dotąd pięciu genów. W przebiegu choroby dochodzi do poważnego uszkodzenia wielu narządów na skutek nadmiernego gromadzenia żelaza w tkankach. Naturalny przebieg choroby może ulegać modyfikacji przez predyspozycje osobnicze, jak i czynniki środowiskowe. Choć zgromadzono dowody na niewielką ekspresję fenotypową mutacji genowych odpowiedzialnych za patologiczne spichrzanie żelaza, uzasadnione jest prowadzenie badań przesiewowych w oparciu o kontrolę podstawowych parametrów gospodarki żelazowej. Stwarza to możliwość wczesnego wdrożenia terapii i zapobiegania postępującemu uszkodzeniu wielu narządów.

PIŚMIENNICTWO

- [1] Adams P.C.: Iron overload in viral and alcoholic liver disease. *J. Hepatol.*, 1998; 28(Suppl.1): 19–20
- [2] Adams P., Brissot P., Powell L.W.: EASL International Consensus Conference on Haemochromatosis. *J. Hepatol.*, 2000; 33: 485–504
- [3] Adams P.C., Kertesz A.E., McLaren C.E., Barr R., Bamford A., Chakrabarti S.: Population screening for hemochromatosis: a comparison of unbound iron-binding capacity, transferrin saturation and C282Y genotyping in 5,211 voluntary blood donors. *Hepatology*, 2000; 31: 1160–1164
- [4] Alustiza J.M., Artetxe J., Castiella A., Agirre C., Emparanza J.I., Otazua P., Garcia-Bengochea M., Barrio J., Mujica F., Recondo J.A., Gipuzkoa Hepatic Iron Concentration by MRI Study Group: MR quantification of hepatic iron concentration. *Radiology*, 2004; 230: 479–484
- [5] Anderson L.J., Wonke B., Prescott E., Holden S., Walter J.M., Pennell D.J.: Comparison of effects of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentration and ventricular function in beta-thalassaemia. *Lancet*, 2002; 360: 516–520
- [6] Andrews N.C.: Disorders of iron metabolism. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 1986–1995
- [7] Arosa F.A., Oliveira L., Porto G., da Silva B.M., Kruijer W., Veltman J., de Sousa M.: Anomalies of the CD8+Tcell pool in haemochromatosis: HLA-A3 linked expansion of CD8+CD28– Tcells. *Clin. Exp. Immunol.*, 1997; 107: 548–554
- [8] Asberg A., Hveem K., Thorstensen K., Ellekjer E., Kannelonning K., Fjosne U., Halvorsen T.B., Smethurst H.B., Sagen E., Bjerve K.S.: Screening for hemochromatosis: high prevalence and low morbidity in an unselected population of 65,238 persons. *Scand. J. Gastroenterol.*, 2001; 36: 1108–1115
- [9] Asberg A., Thorstensen K., Hveem K., Bjerve K.S.: Hereditary hemochromatosis: the clinical significance of the S65C mutation. *Genet. Test.*, 2002; 6: 59–62
- [10] Azevedo-Martins A.K., Lortz S., Lenzen S., Curi R., Eizirik D.L., Tiedge M.: Improvement of the mitochondrial antioxidant defense status prevents cytokine-induced nuclear factor- κ B activation in insulin-producing cells. *Diabetes*, 2003; 52: 93–101
- [11] Bacon B.R.: Hemochromatosis: diagnosis and management. *Gastroenterology*, 2001; 120: 718–725
- [12] Bacon B.R., Britton R.S.: The pathology of hepatic iron overload: a free radical-mediated process? *Hepatology*, 1990; 11: 127–137
- [13] Bassett M.L., Halliday J.W., Powell L.W.: Value of hepatic iron measurements in early hemochromatosis and determination of the critical iron level associated with fibrosis. *Hepatology*, 1986; 6: 24–29
- [14] Beinker N.K., Voigt M.D., Arendse M., Smit J., Stander I.A., Kirsch R.E.: Threshold effect of liver content on hepatic inflammation and fibrosis in hepatitis B and C. *J. Hepatol.*, 1996; 25: 633–638
- [15] Beutler E., Felitti V.J., Koziol L.A., Ho N.J., Gelbart T.: Penetrance of the 845G→A (C282Y) HFE hereditary hemochromatosis mutation in the USA. *Lancet*, 2002; 359: 211–218
- [16] Beutler E., Hoffbrand V., Cook J.D.: Iron deficiency and overload. *Hematology (Am. Soc. Hematol. Educ. Program)*, 2003: 40–61
- [17] Blanc J.F., De Ledinghen V., Bernard P.H., De Verneuil H., Winnock M., Le Bail B., Carles J., Saric J., Balabaud C., Bioulac-Sage P.: Increased incidence of HFE C282Y mutations in patients with iron overload and hepatocellular carcinoma developed in non-cirrhotic liver. *J. Hepatol.*, 2000; 32: 805–811
- [18] Bomford A.: Genetics of haemochromatosis. *Lancet*, 2002; 360: 1673–1681
- [19] Bonkovsky H.L., Jawaid Q., Tortorelli K., LeClair P., Cobb J., Lambrecht R.W., Banner B.F.: Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J. Hepatol.*, 1999; 31: 421–429
- [20] Bridle K.R., Crawford D.H.G., Fletcher L.M., Smith J.L., Powell L.W., Ramm G.A.: Evidence for a sub-morphological inflammatory process in the liver in haemochromatosis. *J. Hepatol.*, 2003; 38: 426–433
- [21] Bridle K.R., Crawford D.H., Ramm G.A.: Identification and characterization of the hepatic stellate cell transferrin receptor. *Am. J. Pathol.*, 2003; 162: 1661–1667
- [22] Bridle K.R., Frazer D.M., Wilkins S.J., Dixon J.L., Purdie D.M., Crawford D.H., Subramaniam V.N., Powell L.W., Anderson G.J., Ramm G.A.: Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated hemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet*, 2003; 361: 669–673
- [23] Brissot P., Bourel M., Herry D., Verger J.P., Messner M., Beaumont C., Regnourd F., Ferrand B., Simon M.: Assessment of liver iron content in 271 patients: a reevaluation of direct and indirect methods. *Gastroenterology*, 1981; 80: 557–565
- [24] Brissot P., Moirand R., Guyader D., Loreal O., Turlin B., Deugnier Y.: Hemochromatosis after the gene discovery: revisiting the diagnostic strategy. *J. Hepatol.*, 1998; 28(Suppl.1): 14–18
- [25] Bulaj Z.J., Philips J.D., Ajioka R.S., Franklin M.F., Griffen L.M., Guinee D.J., Edwards C.Q., Kushner J.P.: Hemochromatosis genes and other factors contributing to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. *Blood*, 2000; 95: 1565–1571
- [26] Camaschella C.: Understanding iron homeostasis through genetic analysis of hemochromatosis and related disorders. *Blood*, 2005; 106: 3710–3717
- [27] Cardoso E.M., Hagen K., de Sousa M., Hultcrantz R.: Hepatic damage in C282Y homozygotes relates to low number of CD8+cells in the liver lobuli. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2001; 31: 45–53
- [28] Cardoso E.M., Macedo M.G., Rohrlrich P., Ribeiro E., Silva M.T., Lemonnier F.A., de Sousa M.: Increased hepatic iron in mice lacking classical MHC class I molecules. *Blood*, 2002; 100: 4239–4241
- [29] Cassiman D., Roskams T.: Beauty is in the eye of the beholder: emerging concepts and pitfalls in hepatic stellate cells research. *J. Hepatol.*, 2002; 37: 527–535
- [30] Cazzola M., Barosi G., Gobbi P.G., Invernizzi R., Riccardi A., Ascarei E.: Natural history of idiopathic refractory sideroblastic anemia. *Blood*, 1988; 71: 305–312
- [31] Cruz E., Vieira J., Goncalves R., Alves H., Almeida S., Rodrigues P., Lacerda R., Porto G.: Involvement of the major histocompatibility complex region in the genetic regulation of circulating CD8 T-cell numbers in humans. *Tissue Antigens*, 2004; 64: 25–34
- [32] Delatycki M.B., Allen K.J., Nisselle A.E., Collins V., Metcalfe S., du Sart D., Halliday J., Aitken M.A., Macciocia I., Hill V., Wakefield A., Ritchie A., Gason A.A., Nicoll A.J., Powell L.W., Williamson R.: Use of community genetic screening to prevent HFE-associated hereditary hemochromatosis. *Lancet*, 2005; 366: 314–316
- [33] de Sousa M., Porto G.: The immunological system in hemochromatosis. *J. Hepatol.*, 1998; 28(Suppl.1): 1–7
- [34] Deugnier Y.M., Loreal O., Turlin B., Guyader D., Jouanolle H., Moirand R., Jacquelinet C., Brissot P.: Liver pathology in genetic hemochromatosis: a review of 135 homozygous cases and their biochemical correlations. *Gastroenterology*, 1992; 192: 2050–2059
- [35] Distante S., Berg J.P., Lande K., Haug E., Bell H.: HFE gene mutation (C282Y) and phenotypic expression among a hospitalised population in a high prevalence area of haemochromatosis. *Gut*, 2000; 47: 575–579
- [36] Diwakaran H.H., Befeler A.S., Britton R.S., Brunt E.M., Bacon B.R.: Accelerated hepatic fibrosis in patients with combined hereditary hemochromatosis and chronic hepatitis C infection. *J. Hepatol.*, 2002; 36: 687–691
- [37] Drakesmith H., Schimanski L.M., Ormerod E., Merryweather-Clarke A.T., Viprakasit V., Edwards J.P., Sweetland E., Bastin J.M., Cowley D., Chinthammitr Y., Robson K.J., Townsend A.R.: Resistance to hepcidin is conferred by hemochromatosis-associated mutations of ferroportin. *Blood*, 2005; 106: 1092–1097
- [38] Edwards C.Q., Griffen L.M., Goldgar D., Drummond C., Skolnick M.H., Kushner J.P.: Prevalence of hemochromatosis among 11,065 presumably healthy blood donors. *N. Engl. J. Med.*, 1988; 318: 1355–1362
- [39] El-Serag H.B., Inadomi J.M., Kowdley K.V.: Screening for hereditary hemochromatosis in siblings and children of affected patients. A cost-effectiveness analysis. *Ann. Intern. Med.*, 2000; 132: 261–269
- [40] Fabio G., Zarbonello M., Mocellin C., Bonara P., Corengia C., Fargion S., Fiorelli G.: Peripheral lymphocytes and intracellular cytokines in C282Y homozygous hemochromatosis patients. *J. Hepatol.*, 2002; 37: 753–761
- [41] Fargion S., Valenti L., Dongiovanni P., Scaccabarozzi A., Fracanzani A.L., Taioli E., Mattioli M., Sampietro M., Fiorelli G.: Tumour necrosis factor alpha promoter polymorphisms influence the phenotypic expression of hereditary hemochromatosis. *Blood*, 2001; 97: 3707–3712
- [42] Farinati F., Cardin R., De Maria N., Della Libera G., Marafin C., Lecis E., Burra P., Floreani A., Cecchetto A., Naccarato R.: Iron storage, lipid peroxidation and glutathione turnover in chronic anti-HCV positive patients. *J. Hepatol.*, 1995; 22: 449–456

- [43] Feder J.N., Gnirke A., Thomas W., Tsuchihashi Z., Ruddy D.A., Basava A., Dormischian F., Domingo R.Jr, Ellis M.C., Fullan A., Hinton L.M., Jones N.L., Kimmel B.E., Kronmal G.S., Lauer P., Lee V.K., Loeb D.B., Mapa F.A., McClelland E., Meyer N.C., Mintier G.A., Moeller N., Moore T., Morikang E., Prass C.E., Quintana L., Starnes S.M., Schatzman R.C., Brunke K.J., Drayna D.T., Risch N.J., Bacon B.R., Wolff R.K.: A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary hemochromatosis. *Nat. Genet.*, 1996; 13: 399–409
- [44] Fletcher L.M., Dixon J.L., Purdie D.M., Powell L.W., Crawford D.H.G.: Excess alcohol greatly increases the prevalence of cirrhosis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 2002; 122: 281–289
- [45] Födinger M., Sunder-Plassmann G.: Low clinical penetrance of homozygosity for HFE C282Y: implications for genetic testing. *Eur. J. Clin. Invest.*, 2003; 33: 737–739
- [46] Friedman S.L.: Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 2247–2250
- [47] Gandon Y., Guyader D., Heautot J.H., Reda M.I., Yaouanq J., Buhe T., Brissot P., Carsin M., Deugnier Y.: Hemochromatosis: diagnosis and quantification of liver iron with gradient-echo MR imaging. *Radiology*, 1994; 193: 533–538
- [48] Gandon Y., Olivie D., Guyader D., Aube C., Oberti F., Sebille V., Deugnier Y.: Non-invasive assessment of hepatic iron stores by MRI. *Lancet*, 2004; 363: 341–342
- [49] Ganz T.: Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*, 2003; 102: 783–788
- [50] Ganz T.: Hepcidin – a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best. Pract. Res. Clin. Haematol.*, 2005; 18: 171–182
- [51] Gardi C., Arezzini B., Fortino V., Comporti M.: Effect of free iron on collagen synthesis, cell proliferation and MMP-2 expression in rat hepatic stellate cells. *Biochem. Pharmacol.*, 2002; 64: 1139–1145
- [52] George D.K., Goldwurm S., MacDonald G.A., Cowley L.L., Walker N.I., Ward P.J., Jazwinski E.C., Powell L.W.: Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology*, 1998; 114: 311–318
- [53] Gochee P.A., Powell L.W., Cullen D.J., Du Sart D., Rossi E., Olynyk J.K.: A population-based study of the biochemical and clinical expression of the H63D hemochromatosis mutation. *Gastroenterology*, 2002; 122: 646–651
- [54] Guyader D., Jacquelinet C., Moirand R., Turlin B., Mendler M.H., Chaperon J., David V., Brissot P., Adams P., Deugnier Y.: Noninvasive prediction of fibrosis in C282Y homozygous hemochromatosis. *Gastroenterology*, 1998; 115: 929–936
- [55] Harrison S.A., Bacon B.R.: Hereditary hemochromatosis: update for 2003. *J. Hepatol.*, 2003; 38: S14–S23
- [56] Hemochromatosis. In: Online Mendelian Inheritance in Man. www.ncbi.nlm.nih.gov/omim (05.12.2006)
- [57] Houglum K., Ramm G.A., Crawford D.H., Witztum J.L., Powell L.W., Chojkier M.: Excess iron induces oxidative stress and transforming growth factor beta 1 in genetic hemochromatosis. *Hepatology*, 1997; 26: 605–610
- [58] Hübscher S.G.: Iron overload, inflammation and fibrosis in genetic hemochromatosis. *J. Hepatol.*, 2003; 38: 521–525
- [59] Knutson M.D., Okka M., Koss L.M., Aydemir F., Wessling-Resnick M.: Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 1324–1328
- [60] Kruszewski M.: Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress. *Mutat. Res.*, 2003; 531: 81–92
- [61] Lanzara C., Roetto A., Daraio F., Rivard S., Ficarella R., Simard H., Cox T.M., Cazzola M., Piperno A., Gimenez-Roqueplo A.P., Grammatico P., Volinia S., Gasparini P., Camaschella C.: Spectrum of hemojuvelin gene mutations in 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Blood*, 2004; 103: 4317–4321
- [62] Ludwig J., Hashimoto E., Porayko M.K., Moyer T.P., Balduz W.P.: Hemochromatosis in cirrhosis: A study of 447 native livers. *Gastroenterology*, 1997; 112: 882–888
- [63] Metwally M.A., Zein C.O., Zein N.Z.: Clinical significance of hepatic iron deposition and serum iron values in patients with chronic hepatitis C infection. *Am. J. Gastroenterol.*, 2004; 99: 286–291
- [64] Nemeth E., Roetto A., Garozzo G., Ganz T., Camaschella C.: Hepcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Blood*, 2005; 105: 1803–1806
- [65] Niederau C., Fischer R., Purschel A., Stremmel W., Haussinger D., Strohmeyer G.: Long term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology*, 1996; 110: 1107–1119
- [66] Niederau C., Fischer R., Sonnenberg A., Stremmel W., Trampisch H.J., Strohmeyer G.: Survival and causes of death in cirrhotic and in non-cirrhotic patients with primary hemochromatosis. *N. Engl. J. Med.*, 1985; 313: 1256–1262
- [67] Niemela O., Parkkila S., Britton R.S., Brunt E., Janney C., Bacon B.: Hepatic lipid peroxidation in hereditary hemochromatosis and alcoholic liver injury. *J. Lab. Clin. Med.*, 1999; 133: 451–460
- [68] Olynyk J.K., Cullen D.J., Aquilia S., Rossi E., Summerville L., Powell L.W.: A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 341: 718–724
- [69] Olynyk J.K., Hagan E.S., Cullen D.J., Beilby J., Whittall D.E.: Evolution of untreated hereditary hemochromatosis in the Busselton population: a 17-year study. *Mayo Clin. Proc.*, 2004; 79: 309–313
- [70] Olynyk J.K., O'Neill R., Britton R.S., Bacon B.R.: Determination of hepatic iron concentration in fresh and paraffin-embedded tissue: diagnostic implications. *Gastroenterology*, 1994; 106: 674–677
- [71] O'Mahony S., O'Brien P.A., Whelton M.J.: Genetic haemochromatosis and congenital spherocytosis. *Lancet*, 1987; 1: 282
- [72] Osterreicher C.H., Datz C., Stöckel F., Hellerbrand C., Penz M., Hofer H., Wrba F., Penner E., Schuppan D., Ferenci P.: TGF-beta1 codon 25 gene polymorphism is associated with cirrhosis in patients with hereditary hemochromatosis. *Cytokine*, 2005; 31: 142–148
- [73] Patch C., Roderick P., Rosenberg W.: Factors affecting the uptake of screening: a randomized controlled non-inferiority trial comparing a genotypic and a phenotypic strategy for screening for hemochromatosis. *J. Hepatol.*, 2005; 43: 149–155
- [74] Phatak P.D., Sharm R.L., Raubertas R.F., Dunnigan K., O'Leary M.T., Braggins C., Cappuccio J.D.: Prevalence of hereditary hemochromatosis in 16031 primary care patients. *Ann. Intern. Med.*, 1998; 129: 954–961
- [75] Pietrangelo A.: Metals, oxidative stress and hepatic fibrogenesis. *Semin. Liver Dis.*, 1996; 16: 13–30
- [76] Pietrangelo A.: Iron, friend or foe? "Freedom" makes the difference. *J. Hepatol.*, 2000; 32: 862–864
- [77] Pietrangelo A.: Physiology of iron transport and the hemochromatosis gene. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2002; 282: G403–G414
- [78] Pietrangelo A.: Hereditary hemochromatosis – a new look at an old disease. *N. Engl. J. Med.*, 2004; 350: 2383–2397
- [79] Pietrangelo A., Gualdi R., Casalgrandi G., Montosi G., Ventura E.: Molecular and cellular aspects of iron-induced hepatic cirrhosis in rodents. *J. Clin. Invest.* 1995; 95: 1824–1831
- [80] Porto G., Vicente C., Teixeira M.A., Martins O., Cabeda J.M., Lacerda R., Goncalves C., Fraga J., Macedo G., Silva B.M., Alves H., Justica B., de Sousa M.: Relative impact of HLA phenotype and CD4-CD8 ratios on the clinical expression of hemochromatosis. *Hepatology*, 1997; 25: 397–402
- [81] Powell L.W., George K.G., McDonnell S.M., Kowdley K.V.: Diagnosis of hemochromatosis. *Ann. Intern. Med.*, 1998; 129: 925–931
- [82] Powell L.W., Nixon J.L., Hewitt D.G.: Role of early case detection by screening relatives of patients with HFE-associated hereditary hemochromatosis. *Best. Pract. Res. Clin. Haematol.*, 2005; 18: 221–234
- [83] Powell L.W., Subramanian V.N., Yapp T.R.: Hemochromatosis in the new millennium. *J. Hepatol.*, 2000; 32(Suppl.1): 48–62
- [84] Ramm G.A., Britton R.S., O'Neill R., Bacon B.R.: Identification and characterization of a receptor for tissue ferritin on activated rat lipocytes. *J. Clin. Invest.* 1994; 94: 9–15
- [85] Ramm G.A., Crawford D.H., Powell L.W., Walker N.I., Fletcher L.M., Halliday J.W.: Hepatic stellate cell activation in genetic hemochromatosis. Lobular distribution, effect of increasing hepatic iron and response to phlebotomy. *J. Hepatol.*, 1997; 26: 584–592
- [86] Ramm G.A., Li S.C., Li L., Britton R.S., O'Neill R., Kobayashi Y., Bacon B.R.: Chronic iron overload causes activation of rat lipocytes *in vivo*. *Am. J. Physiol.*, 1995; 268: G451–G458
- [87] Reeves H.L., Friedman S.L.: Activation of hepatic stellate cells – a key issue in liver fibrosis. *Front. Biosci.*, 2002; 7: d808–d826
- [88] Risdon R.A., Barry M., Flynn D.M.: Transfusional iron overload: the relationship between tissue iron concentration and hepatic fibrosis in thalassaemia. *J. Pathol.*, 1975; 116: 83–95
- [89] Robert K., Nehme J., Bourdon E., Pivert G., Frignt B., Delcayre C., Delabar J.M., Juel N.: Cystathionine beta synthase deficiency promotes oxidative stress, fibrosis and steatosis in mice liver. *Gastroenterology*, 2005; 128: 1405–1415
- [90] Robson K.J.: Hepcidin and its role in iron absorption. *Gut*, 2004; 53: 617–619

- [91] Roetto A., Papanikolaou G., Politou M., Alberti F., Girelli D., Christiakis J., Loukopoulos D., Camaschella C.: Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat. Genet.*, 2003; 33: 21–22
- [92] Romanowski T., Sikorska K., Bielawski K.P.: Molekularne podstawy dziedzicznej hemochromatozy. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 2006; 60: 217–226
- [93] Simon P., Bourel M., Genetet B., Fauchet R.: Idiopathic hemochromatosis. Demonstration of recessive transmission and early detection by family HLA typing. *N. Engl. J. Med.*, 1977; 297: 1017–1021
- [94] Stal P., Broome U., Schenius A., Befrits R., Hultcrantz R.: Kupffer cell iron overload induces adhesion molecule-1 expression on hepatocytes in genetic hemochromatosis. *Hepatology*, 1995; 21: 1308–1316
- [95] Stickel F., Osterreicher C.H., Datz C., Ferenci P., Wolfel M., Norgauer W., Kraus M.R., Wrba F., Hellerbrand C., Schuppan D.: Prediction of progression to cirrhosis by a glutathione S-transferase P1 polymorphism in subjects with hereditary hemochromatosis. *Arch. Intern. Med.*, 2005; 165: 1835–1840
- [96] Tavill A.S.: American Association for the Study of Liver Diseases; American College of Gastroenterology; American Gastroenterological Association: Diagnosis and management of hemochromatosis. *Hepatology*, 2001; 33: 1321–1328
- [97] Turlin B., Deugnier Y.: Evaluation and interpretation of iron in the liver. *Semin. Diagn. Pathol.*, 1998; 4: 237–245
- [98] Vartanian V., Lowell B., Minko I.G., Wood T.G., Ceci J.D., George S., Ballinger S.W., Corless C.L., McCullough A.K., Lloyd R.S.: The metabolic syndrome resulting from a knockout of the NEIL1 DNA glycosylase. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2006; 103: 1864–1869
- [99] Videla L.A., Fernandez V., Tapia G., Varela P.: Oxidative stress-mediated hepatotoxicity of iron and copper: role of Kupffer cells. *Biometals*, 2003; 16: 103–111
- [100] Villeneuve J.P., Bilodeau M., Lepage R., Cote J., Lefebvre M.: Variability in hepatic iron concentration measurement from needle-biopsy specimen. *J. Hepatol.*, 1996; 25: 172–177
- [101] Viñas O., Bataller R., Sancho-Bru P., Gines P., Berenguer C., Enrich C., Nicolas J.M., Ercilla G., Gellart T., Vives J., Arroyo V., Rodes J.: Human hepatic stellate cells show features of antigen presenting cells and stimulate proliferation. *Hepatology*, 2003; 38: 919–929
- [102] Yang Q., Mc Donnell S., Khoury M., Cono J., Parrish R.G.: Haemochromatosis-associated mortality in the United States from 1979 to 1992: an analysis of multiple-cause mortality data. *Ann. Intern. Med.*, 1998; 129: 946–953