

Porfiria cutánea tarda: asociación con mutaciones HFE, hepatitis virales, alcohol y otros factores de riesgo en Guipúzcoa, País Vasco

A. Castiella, E. Zapata, M. D. de Juan¹, F. Múgica², J. Barrio³, P. Otazua⁴, J. A. Arriola², A. Cosme², E. Elósegui², J. Fernández, L. Zubiaurre, L. F. Alzate⁵ y E. Utrilla⁵, para el Grupo Porfiria Guipúzcoa*

Servicio de Gastroenterología. Hospital de Mendaro. ¹Servicios de Inmunología y ²Gastroenterología. Hospital Donostia. San Sebastián. ³Servicio de Gastroenterología. Hospital Bidasoa. Irún. ⁴Hospital Mondragón. ⁵Centro de Salud Zarauz. Guipúzcoa

RESUMEN

Objetivo: estudiar la frecuencia de las mutaciones en el gen HFE (C282Y, H63D, S65C) en un grupo de 54 pacientes con porfiria cutánea tarda (PCT) y en un grupo de controles sanos (donantes de sangre) en Guipúzcoa. También analizar su relación con los virus de la hepatitis B y C (VHB, VHC), alcohol y otros factores de riesgo reconocidos.

Métodos: el análisis de las mutaciones se hizo mediante PCR. Se compararon las frecuencias alélicas y genotípicas. Se determinaron la probabilidad y el test de Chi cuadrado.

Resultados: no encontramos asociación entre C282Y y PCT (5,76 vs. 5% controles). Se observó una alta frecuencia alélica en la mutación H63D en PCT (34,25%), pero sin ser estadísticamente significativa (controles 29,31%), debido a la alta prevalencia de esta mutación en la población vasca. La mutación S65C fue menor en PCT que en controles. Encontramos una idéntica presencia de H63D en heterocigosis en ambos grupos (38,8 vs. 38,8%). La asociación con el VHC se objetivó en el 35,18% de los pacientes y la infección por VHB en el 7,4%. Un 55,55% de los pacientes tenía un hábito alcohólico de más de 60 g etanol día. Todos eran negativos para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y 1 de las 5 mujeres con PCT tomaba estrógenos.

Conclusión: las mutaciones C282Y y H63D no tienen un papel relevante en los pacientes con PCT en Guipúzcoa. Los factores externos (consumo importante de alcohol y VHC) parecen jugar un papel fundamental en el desarrollo de la PCT en nuestra población.

Palabras clave: Porfiria cutánea tarda. Enfermedades hepáticas. Gen HFE.

ABSTRACT

Aim: to study the frequency of HFE gene mutations (C282Y, H63D, S65C) in a group of 54 sporadic PCT patients and in a group of healthy controls (blood donors) from Guipúzcoa, Spain. We studied the association of PCT with HCV, HBV, alcohol abuse, and other established risk factors.

Methods: the analysis of mutations was made by PCR. Allelic and genotypic frequencies were compared. Probability was determined and a Chi-squared test was performed.

Results: no association was observed between C282Y mutation and PCT (5.76 vs. 5% in controls). A high H63D mutation frequency was observed in PCT (34.25%) but was not statistically significant (controls 29.31%) because of the high prevalence of this mutation in the Basque general population. The S65C mutation was lower in PCT than in controls. There is a similar presence for H63D heterozygosis in PCT (38.8 vs. 38.8%). HCV association was observed in 35.18% of patients with PCT. HBV infected 7.4% of patients. Heavy alcohol intake (> 60 g/day) was present in 55.55% of patients. No HIV-infected patients were detected. The study of other risk factors revealed only one of the five women with PCT taking estrogens.

Conclusion: our results found no relevant role for C282Y and H63D mutations. External factors such as HCV and alcohol could be determinant in the development of PCT in the Basque population.

Key words: Porphyria cutanea tarda. Liver diseases. HFE gene.

Presentado en la SEO 2006, Granada, y en la 14th UEGW, Berlín 2006.

*Grupo Porfiria Guipúzcoa: Hospital Mendaro: Agustín Castiella, Eva Zapata, Javier Fernández, Leire Zubiaurre (Digestivo), Mario Ugarte, Lourdes Legasa (Radiología), Javier Leanizbarrutia, Eukene Suárez (Hematología), Aitziber Ugalde (Anatomía Patológica); Hospital Donostia: M^a Dolores de

Juan (Inmunología), Fernando Múgica, J. Alberto Arriola, Ángel Cosme, Eduardo Elósegui, Luis F. Alzate, Manuel García-Bengochea (Digestivo), Irune Ruiz (Anatomía Patológica); Hospital Bidasoa: Jesús Barrio (Digestivo), Carlos Herrera (Médico de Familia); Hospital Zumárraga: Begoña Ibarra, Manuel Álvarez (Digestivo); Hospital Mondragón: Pedro Otazua (Digestivo); Centro Salud Zarauz: Eduardo Utrilla (Medicina Interna).

Recibido: 06-10-08.
Aceptado: 10-11-08.

Correspondencia: Agustín Castiella. Servicio de Gastroenterología. Hospital Mendaro. B^o. Mendarozabal, s/n. 20850 Mendaro, Guipúzcoa. e-mail: agustincastiella@yahoo.es

Castiella A, Zapata E, de Juan MD, Múgica F, Barrio J, Otazua P, Arriola JA, Cosme A, Elosegui E, Fernández J, Zubiaurre L, Alzate LF, Utrilla E, para el Grupo Porfiria Guipúzcoa. Porfiria cutánea tarda: asociación con mutaciones HFE, hepatitis virales, alcohol y otros factores de riesgo en Guipúzcoa, País Vasco. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100: 774-778.

INTRODUCCIÓN

La porfiria cutánea tarda (PCT) constituye el trastorno en el metabolismo de las porfirinas que ocurre con mayor frecuencia. La enfermedad está originada por un déficit enzimático en la síntesis del heme. Generalmente, las PCT son esporádicas o adquiridas, debidas a un defecto adquirido en la uroporfirinogeno descarboxilasa (1). La forma familiar de la enfermedad se observa en un 20% de los casos (2). En la forma esporádica, la actividad de la enzima está disminuida al 50% sólo en los hepatocitos, mientras que en la familiar el defecto está también presente en otros tipos de células como los eritrocitos (3). Desde el punto de vista clínico, esta enfermedad se caracteriza por provocar lesiones en la piel en las zonas expuestas al sol, alteraciones hepáticas y elevados niveles de porfirinas en plasma y orina. El consumo de alcohol, los estrógenos, la exposición a pesticidas, la sobrecarga férrica y las infecciones virales pueden ser factores “gatillo”, detonantes que precipiten un defecto enzimático latente y hagan que se manifieste clínicamente la PCT (1,4).

La asociación de la PCT con el virus de la hepatitis C (VHC) está claramente reconocida (3), si bien la prevalencia es menor según las regiones. Se piensa que el VHC sería importante en los países mediterráneos. Se ha observado con frecuencia sobrecarga férrica en pacientes con PCT y en pacientes con hepatitis C. Se desconoce la razón exacta por la que se acumula hierro en estos pacientes, pero la mayoría de los pacientes con PCT tienen evidencia analítica de sobrecarga férrica, siderosis hepática e incremento en los depósitos de hierro. Las causas de sobrecarga férrica parecen ser heterogéneas. Pueden intervenir cofactores como el alcohol y la infección crónica por VHC, que se asocian con frecuencia con la PCT. Los hallazgos clínicos y experimentales sugieren un proceso hierro-dependiente reversible que inactivaría la uroporfirinogeno descarboxilasa (5). La siderosis hepática suele ser, sin embargo, leve o moderada y alcanza el rango bajo de la hemocromatosis en menos del 10% de los casos (2).

Desde que en 1996 Feder (6) descubriera el gen HFE y las mutaciones responsables del desarrollo de la hemocromatosis genética, se han publicado numerosos trabajos (1,2) relacionando dichas mutaciones con el desarrollo de la PCT.

Al existir diferencias en la prevalencia del VHC y en la frecuencia de las mutaciones HFE en diferentes poblaciones, hemos querido estudiar la asociación de infección por el VHC y la PCT y la frecuencia de mutaciones en el gen HFE en un grupo de pacientes con PCT y en un grupo control (donantes de sangre) de Guipúzcoa.

PACIENTES Y MÉTODOS

Estudio retrospectivo en el que revisamos las historias clínicas de los pacientes diagnosticados de PCT y en seguimiento en los Servicios de Digestivo de los Hospitales de Mendara, Donostia, Bidasoa, Mondragón y Zumárraga (Guipúzcoa). El diagnóstico de la PCT se realizó por los síntomas clínicos típicos y se confirmó mediante porfirinas en orina. Se obtuvieron los siguientes parámetros clínico-analíticos: edad, sexo, porfirinas en orina, hierro sérico, saturación de transferrina, ferritina, ALT, AST, GGTP, serología VHB y C, serología VIH, biopsia hepática, mutaciones del gen HFE (C282Y, H63D, S65C), consumo de alcohol, toma de estrógenos o exposición a pesticidas. El grupo control para el estudio de mutaciones HFE estaba constituido por 116 donantes de sangre sanos (7).

Analítica hepática, perfil férrico y porfirinas en orina: se analizaron según métodos habituales.

—*Serología viral*: anti-VHC (ELISA). HBsAg, Anti HBe y Anti HBs (ELISA). Confirmación mediante RNA-VHC y DNA-VHB por PCR. Anti-VIH (ELISA).

Análisis de las mutaciones del gen HFE: se realizó mediante PCR siguiendo el método descrito previamente (7,8).

—*Biopsia hepática*: biopsia hepática guiada por ecografía en el lóbulo derecho hepático con una aguja Tru cut 14G (*Allegiance Healthcare*, III). Se obtuvo un espécimen que se fijó durante 12-24 horas en formaldehído tamponado al 4% y se procesó de forma rutinaria para estudio histológico. Se utilizaron las tinciones hematoxilina eosina, tricrómico de Masson y Perls azul prusia. En los casos en que se determinó la concentración de hierro hepático (CHH), se obtuvo otro espécimen que se envió a Laboratorio Reference, Barcelona, para medición por espectrofotometría de absorción atómica/cámara de grafito. Las biopsias fueron expuestas a luz ultravioleta para observar fluorescencia roja.

—*Análisis estadístico*: la comparación de las frecuencias de las mutaciones HFE entre los pacientes con PCT y el grupo control se realizó mediante análisis Chi cuadrado. Se estudiaron probabilidad, test Chi cuadrado y significación estadística.

RESULTADOS

Estudio retrospectivo de 54 pacientes con PCT (49 hombres, 5 mujeres). Periodo: 1978-2005. Edad media 49,74 (rango: 23-78). Las características clínicas y demográficas se presentan como media \pm desviación estándar y rango (Tabla I). Se llevó a cabo estudio del gen HFE en

Tabla I. Características clínicas y demográficas

	Media	Desviación Estándar	Máximo	Mínimo
Edad (años)	49,9	11,79	78	23
ALT (U/l)	74,2	116	793	24
AST (U/l)	57	40	224	19
GGT (U/l)	84,4	276	1943	20
Fe (µg/dl)	142	47	270	46
SatTransferrina (%)	84,32%	21,32%	95,5%	12,4%
Ferritina (ng/dl)	632,6	586,9	2651	19
Porfirinas (µg/24 h)	743,9	823,26	3759	104
Uroporfirinas (µg/24 h)	401,64	730,96	3547	61,6
Coproporfirinas (µg/24 h)	259,15	252,87	1167,6	15

los 54 pacientes: treinta y cuatro presentaron algún tipo de mutación (62,96%) y 20 ninguna (37,04%), similar al grupo control (62,93%), por lo que no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas (Tabla II). Seis tenían la mutación C282Y, en forma heterocigota (2 C282Y/wt y 4 C282Y/H63D), con una frecuencia alélica del 5,76%, frente al 5% de los controles. Entre estos pacientes, 3 (50%) estaban también infectados por el VHC. Treinta y un pacientes presentaron la mutación H63D. Seis homocigotos, 4 C282Y/H63D y 21 H63D/wt. La frecuencia alélica de H63D se encontró aumentada (34,25%) pero sin alcanzar significación estadística respecto a controles (29,31%). Al estudiar si la presencia de la mutación en heterocigosis podría presentar diferencias con controles nos encontramos que ambos grupos presentaron idéntica prevalencia (38,8%). Doce pacientes estaban infectados por el VHC. Sólo un paciente presentó la mutación S65C en heterocigosis, siendo menor que en controles (0,9 vs. 3%). Se estudiaron otros factores de riesgo como asociación con VHC, VHB, ingesta alcohólica > 60 g etanol/día, estrógenos, etc. (Tabla III); destacó

Tabla II. Porcentaje de mutaciones de HFE en PCT vs. controles

	Mutación C282Y	Mutación H63D	Heterocigosis
PCT	5,76%	34,25%	38,8%
Control	5%	29,31%	38,8%
p	> 0,05	> 0,05	> 0,05

Tabla III. Distribución de factores de riesgo en pacientes con PCT

Factor de riesgo	Porcentaje pacientes
Asociación VHC	35,18
Infección por VHB	7,4
Consumo alcohol (> 60 g/día)	55,55
Estrógenos	1,85
Otros: VIH, insecticidas	0

la asociación de la PCT con la infección por el VHC con el 35% (19 pacientes RNA-VHC positivos) y un 55% de bebedores importantes (> 60 g etanol/día). La frecuencia de portadores del VHC en la población general de Guipúzcoa es del 2,85% y del 0,5% entre los donantes de sangre (9).

También estudiamos la relación entre los diferentes factores de riesgo para valorar si se potencian entre sí (Tabla IV). De los 34 con mutaciones en el gen HFE (C282Y, H63D, S65D), 13 estaban además infectados por el VHC (35%) y de los 30 consumidores de más de 60 g etanol/día (55,5%), 19 presentaron mutaciones (63,3%). Los marcadores de infección por el VIH fueron negativos en todos los casos. Sólo una de las 5 mujeres estaba siendo tratada con estrógenos (sin otros factores de riesgo añadidos). El 7,4% de los pacientes (4/54) estaba infectado por el VHB, confirmándose mediante DNA-VHB. La prevalencia de anti HBc positivos fue del 20,37%. No encontramos ningún paciente expuesto a insecticidas.

Tabla IV. Genotipos HFE, VHC y otros factores de riesgo en pacientes PCT

Mutaciones HFE	Nº	VIM	RNA VHC +	Alcohol > 60 g/día	Estrógenos
C282Y/C282Y					
C282Y/wt	2	2/0	1	1	
C282Y/H63D	4	4/0	2	3	
H63D/H63D	6	4/2	2	2	1
H63D/wt	21	20/1	8	12	
S65C/wt	1	1/0		1	
wt/wt	20	18/2	6	11	

En los 43 pacientes en los que se determinó índice de saturación de transferrina, esta fue mayor del 45% en 23 (53,4%). De los 23, 15 presentaron diferentes mutaciones (C282Y/H63D 2, H63D homocigosis 3, H63D heterocigosis 9 y S65C heterocigosis 1). En los 51 pacientes en los que se dispuso de ferritina pre-tratamiento (normal 10-291 µg/dl mujer/22-322 hombre), 41 tuvieron concentraciones elevadas (80,38%).

En 14 pacientes se llevó a cabo biopsia hepática, obteniéndose 4 casos de pre-cirrosis/cirrosis y 10 de lesión leve-moderada (fibrosis grado 1-2, sistema Scheuer); Perls con siderosis III/IV en 4 casos y 0-II/IV en el resto; la CHH se determinó en 6 casos (media 4081,16; rango 2016-5938 µg/g), el índice de hierro hepático fue 1,23 de media (rango 0,69-1,86); esteatosis leve-moderada en 5 casos. En todos se obtuvo fluorescencia roja con luz ultravioleta.

DISCUSIÓN

Existe una importante variedad geográfica en la prevalencia de la infección por el VHC en pacientes con PCT, con elevadas tasas en países mediterráneos y Sudamérica

(70-90%) (4,10-12), baja o intermedia (0-44%) en Europa Central y del Norte y en Australia (13-17). En Norteamérica, encontraron su asociación con el VHC en el 56% de los pacientes (18). Recientemente, Gisbert y cols. (3) realizaron una revisión sistemática y meta-análisis de los diferentes trabajos que estudian esta asociación, concluyendo que la prevalencia aproximada de VHC en pacientes con PCT es del 50%, mucho mayor que la publicada en la población general, lo que sugiere un posible papel etiopatogénico del virus C en la PCT. Las importantes variaciones geográficas sugieren que factores genéticos o ambientales deben de jugar también un papel en esta enfermedad.

En nuestra serie el 35% de los pacientes estuvieron infectados por el VHC, siendo esta cifra claramente superior a la publicada en la población guipuzcoana en población general (2,8%) o en donantes de sangre (0,5%), y similar a la encontrada en países como Francia, si bien algo inferior a la de otras series publicadas en España (40-80%) (19,20).

El 7,4% de los pacientes presentaron infección activa por VHB. En Guipúzcoa la prevalencia de portadoras en embarazadas era del 0,43% en 1991 (21), por lo que parece claro que el VHB puede jugar también un papel como factor de riesgo desencadenante.

En cuanto al abuso de alcohol, considerando como bebedores importantes a aquellos con un consumo diario de más de 60 g de etanol, hemos encontrado una asociación del 55,55%, por lo que parece que el etilismo crónico constituye un claro factor exógeno que influye en el desarrollo de la PCT. Es conocido que el alcohol actúa sinérgicamente con el VHC en la patogénesis de la lesión hepática, produciendo estrés oxidativo en los hepatocitos (22). También se ha sugerido que el VHC podría incrementar la captación de hierro en los pacientes con PCT, actuando sinérgicamente con las mutaciones HFE, aunque sea una única mutación (17,23). El mecanismo por el que el alcohol incrementa el desarrollo y la gravedad de la PCT es desconocido (1). Se piensa que el efecto del etanol para producir un fenotipo de PCT estaría mediado por los efectos del alcohol en el metabolismo férrico, aumentando el hierro intrahepatocitario específicamente (24).

En los pacientes con PCT, la presencia de mutaciones del gen HFE está reconocida como la causa principal en el aumento del hierro intrahepático, con el alcohol jugando un papel secundario (1). Investigadores de Gran Bretaña reportaron un 44% de pacientes frente a un 11% en controles para la mutación C282Y (25). La mutación H63D fue aproximadamente del 15% en ambos grupos. También se ha visto una alta frecuencia de homocigosis C282Y en PCT (17%). Bonkovsky y cols. (18) encontraron en Norteamérica que el 73% de los pacientes con PCT tenían una o más mutaciones en el gen HFE (23% heterocigotos, 19% homocigotos C282Y; para H63D 23% heterocigotos y 8% homocigotos). Se han publicado hallazgos similares por otros autores (16,26-28). En con-

traste Sampietro y cols. (29) estudiaron pacientes del norte de Italia y obtuvieron una asociación significativa entre PCT y la presencia de H63D (50 vs. 24% controles) y no encontraron asociación con C282Y. No existió una correlación positiva entre H63D y el estado férrico de los pacientes (variables séricas o histopatológicas). Es por ello que especularon con la posibilidad de que la presencia de la mutación H63D causara una sutil anomalía del metabolismo férrico que podría interactuar con el VHC o con el alcohol, provocando la inhibición final de la enzima uroporfirinogeno descarboxilasa.

Diferentes estudios han investigado la relación entre la PCT, el hierro y las mutaciones HFE. La relación entre mutaciones HFE con los índices séricos férricos, la concentración férrica hepática y la fibrosis varía de unos trabajos a otros (2,4,16,18,25,26,28,30,31). En nuestra serie el 80% de los pacientes presentaron elevación de ferritina.

En España, González-Hevilla y cols. (32) comprobaron que la PCT esporádica no tiene una asociación significativa con H63D, si bien la mutación es más frecuente que en controles; sin embargo la mutación C282Y/H63D sí parece ser un riesgo significativo para el desarrollo de PCT. Las frecuencias alélicas de C282Y (y no de H63D) mostraron una asociación significativa. Más recientemente, Toll y cols. (33) investigan el papel de las mutaciones C282Y y H63D y del VHC en Barcelona, observando que hay una elevada frecuencia de C282Y en pacientes con PCT y su relación con la sobrecarga férrica. La mutación C282Y tiene un papel relevante en la PCT no asociada a VHC, mientras que la mutación H63D no está aumentada en pacientes con PCT. Cruz-Rojo y cols. (34), en una serie de 116 pacientes con PCT, determinaron que la ingesta importante de alcohol era en su medio el principal factor de riesgo para el desarrollo de PCT. Encontraron la mutación H63D como la más frecuente, pero ambas mutaciones C282Y y H63D parecen jugar un papel como factores precipitantes en la PCT esporádica cuando se asocian con el VHC y un abuso de alcohol.

La distribución de los factores predisponentes a la PCT tiene relevantes diferencias geográficas. Parece claro que la mutación C282Y es más frecuente en casos de origen celta o vikingo, disminuyendo la prevalencia de esta mutación en los países del sur de Europa (1,7,8,35). La distribución de las mutaciones es muy similar a la que tiene lugar en la hemocromatosis genética, con un predominio de C282Y en los países nórdicos y una relativa importancia de H63D en las áreas mediterráneas (30). El VHC es más frecuente en países mediterráneos y el alcoholismo en los países nórdicos (2).

En nuestra serie, la frecuencia de mutaciones entre los pacientes con PCT fue similar a la del grupo control. No encontramos diferencias significativas entre ambos grupos para las diferentes mutaciones, si bien existía una mayor frecuencia alélica de H63D en el grupo PCT. La elevada frecuencia de la mutación H63D en población

general vasca podría explicar este fenómeno (7). También es conocida la menor presencia de la mutación C282Y en pacientes con HH y origen vasco (7,35); la frecuencia alélica de C282Y fue prácticamente igual para ambos grupos en nuestro estudio (5,7 vs. 5%).

Por ello concluimos que las mutaciones C282Y y H63D no juegan un papel relevante en los pacientes con PCT de Guipúzcoa. Los factores externos como el elevado consumo de alcohol y la infección por el VHC parecen jugar un papel fundamental en el desarrollo de la PCT en nuestra población.

AGRADECIMIENTOS

Al instituto Vasco de Investigaciones Sanitarias (BIO-EF) por su ayuda en la traducción.

BIBLIOGRAFÍA

- Alla V, Bonkovsky HL. Iron in nonhemochromatotic liver disorders. *Semin Liver Dis* 2005; 25: 461-72.
- Sebastiani G, Walker AP. HFE gene in primary and secondary hepatic iron overload. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4673-89.
- Gisbert JP, García-Buey L, Pajares JM, Moreno-Otero R. Prevalence of hepatitis C virus infection in porphyria cutanea tarda: systematic review and meta-analysis. *J Hepatol* 2003; 39: 620-7.
- Martinelli ALC, Zago MA, Roselino AMF, Filho AB, Villanova MG, Secaf M, et al. Porphyria cutanea tarda in Brazilian patients: association with hemochromatosis C282Y mutation and hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3516-21.
- Elder GH, Urquhart AJ, De Salamanca RE, Muñoz JJ, Bonkovsky HL. Immunoreactive uroporphyrinogen decarboxylase in the liver in porphyria cutanea tarda. *Lancet* 1985; 2: 229-33.
- Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996; 13: 399-408.
- De Juan MD, Reta A, Castiella A, Pozueta J, Prada A, Cuadrado E. HFE gene mutations analysis in Basque hereditary haemochromatosis patients and controls. *Eur J Hum Genet* 2001; 9: 961-4.
- Castiella A, Zapata E, Otazua P, Fernandez J, Alustiza JM, Ugarte M, et al. Utilidad de los diferentes métodos no invasivos de predicción de fibrosis hepática en pacientes del País Vasco con hemocromatosis fenotípica. *Rev Esp Enferm Dig* 2008 (en prensa).
- García-Bengochea M, Emparanza JI, Sarriguarte A, Cortés A, Vega JL, González F, et al. Antibodies to hepatitis C virus: a cross-sectional study in patients attending a trauma unit or admitted to hospital for elective surgery. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1995; 7: 237-41.
- Herrero C, Vicente A, Bruguera M, Ercilla MG, Barrera JM, Vidal J, et al. Is hepatitis C virus infection a trigger of porphyria cutanea tarda? *Lancet* 1993; 341: 788-9.
- Lacour JP, Bodokh I, Castanet J, Bekri S, Ortonne JP. Porphyria cutanea tarda and antibodies to hepatitis C virus. *Br J Dermatol* 1993; 128: 121-3.
- Fargion S, Piperno A, Cappellini MD, Sampietro M, Fracanzani AL, Romano R, et al. Hepatitis C virus and porphyria cutanea tarda: evidence of a strong association. *Hepatology* 1992; 16: 1322-6.
- Murphy A, Dooley S, Hillary IB, Murphy GM. HCV infection in porphyria cutanea tarda. *Lancet* 1993; 341: 1534-5.
- Stolzel U, Kostler E, Koszka C, Stöffler-Meilecke M, Schuppan D, Somasundaram R, et al. Low prevalence of hepatitis C virus infection in porphyria cutanea tarda in Germany. *Hepatology* 1995; 21: 1500-3.
- Gibson PR, Ratnaike S, Blake D, Sinickas V. Porphyria cutanea tarda and hepatitis C (letter). *Med J Aust* 1995; 162: 54.
- Stuart KA, Busfield F, Jazwinska EC, Gibson P, Butterworth LA, Cooksley WG, et al. The C282Y mutation in the hemochromatosis gene (HFE) and hepatitis C virus infection are independent cofactors for porphyria cutanea tarda in Australian patients. *J Hepatol* 1998; 28: 404-9.
- Nagy Z, Koszo F, Par A, Emri G, Horkay I, Horanyi M, et al. 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.
- Bonkovsky HL, Poh-Fitzpatrick M, Pimstone N, Obando J, Di Bisceglie, Tattre C, et al. Porphyria cutanea tarda, hepatitis C and HFE gene mutations in North America. *Hepatology* 1998; 27: 1661-9.
- Martín-Vivaldi Martínez R, Espinosa Aguilar MD, Sánchez Sánchez-Vizcaíno J, Quintero Fuentes D, Noguera López F, López de Hierro Ruiz M. Association of porphyria cutanea tarda and hepatitis C virus. *Rev Esp Enferm Dig* 1996; 88: 213-6.
- López Morante A, Saez Royuela F, Martín Lorente JL, Yuguero del Moral, Ojeda Giménez C. Hepatitis C virus infection and porphyria cutanea tarda. *Gastroenterol Hepatol* 1995; 18: 7-10.
- Pérez-Trallero E, Cilla G, Saenz J, Montes M, Idigoras P. Low risk of mother to infant transmission of hepatitis B virus in Guipúzcoa (Basque country, northern Spain). *Eur J Epidemiol* 1992; 8: 878-81.
- Schiff E. Hepatitis C and alcohol. *Hepatology* 1997; 26: 39-42.
- Fargion S, Fracanzani AL, Romano R, Cappellini MD, Faré M, Mattioli M, et al. Genetic hemochromatosis in Italian patients with porphyria cutanea tarda: possible explanation for iron overload. *J Hepatol* 1996; 24: 564-9.
- Sinclair PR, Gorman N, Trask HW, Bement WJ, Szakacs JG, Elder GH, et al. Uroporphyrin caused by ethanol in Hfe(-/-) mice as a model for porphyria cutanea tarda. *Hepatology* 2003; 37: 351-8.
- Roberts AG, Whatley SD, Morgan RR, Worwood M, Elder GH. Increased frequency of the haemochromatosis Cys282Tyr mutation in sporadic porphyria cutanea tarda. *Lancet* 1997; 349: 321-3.
- Bulaj ZJ, Phillips JD, Ajioka RS, Franklin M, Griffen LM, Guinee DJ, et al. Hemochromatosis genes and other factors contributing to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. *Blood* 2000; 95: 1565-71.
- Egger NG, Goeger DE, Payne DA, Miskovsky EP, Weinman SA, Anderson KE. Porphyria cutanea tarda: multiplicity of risk factors including HFE mutations, hepatitis C, and inherited uroporphyrinogen decarboxylase deficiency. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 419-26.
- Tannapfel A, Stolzel U, Kostler E, Melz S, Richter M, Keim V, et al. C282Y and H63D mutation of the hemochromatosis gene in German porphyria cutanea tarda patients. *Virchows Arch* 2001; 439: 1-5.
- Sampietro M, Piperno A, Lupica L, Arosio C, Vergani A, Corbetta N, et al. High prevalence of the His63Asp HFE mutation in Italian patients with porphyria cutanea tarda. *Hepatology* 1998; 27: 181-4.
- Bereure O, Aguilar-Martinez P, Bessis D, Perney P, Vallat C, Guillot B, et al. HFE mutations and transferring receptor polymorphism analysis in porphyria cutanea tarda: a prospective study of 36 cases from southern France. *Br J Dermatol* 2001; 144: 533-9.
- Stolzel U, Kostler E, Schuppan D, Richter M, Wollina U, Doss MO, et al. Hemochromatosis (HFE) gene mutations and response to chloquine in porphyria cutanea tarda. *Arch Dermatol* 2003; 139: 309-13.
- González-Hevilla M, De Salamanca RE, Morales P, Martínez-Laso J, Fontanellas A, Castro MJ, et al. Human leukocyte antigen haplotypes and HFE mutations in Spanish hereditary hemochromatosis and sporadic porphyria cutanea tarda. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 456-62.
- Toll A, Celis R, Ozalla MD, Bruguera M, Herrero C, Ercilla MG. The prevalence of HFE C282Y gene mutation is increased in Spanish patients with porphyria cutanea tarda without hepatitis C virus infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006; 20: 1201-6.
- Cruz-Rojo J, Fontanellas A, Morán-Jiménez MJ, Navarro-Ordóñez S, García-Bravo M, Méndez M, et al. Precipitating/aggravating factors of porphyria cutanea tarda in Spanish patients. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2002; 48: 845-52.
- Bauduer F, Scribans C, Degioanni A, Renoux M, Dutour O. Distribution of the C282Y and H63D polymorphisms in hereditary hemochromatosis patients from the French Basque Country. *Ann Hematol* 2005; 84: 99-102.