

# Kriptojenik ve HBV ilişkili sirozda HFE gen mutasyonları

## HFE gene mutations in cryptogenic and HBV related cirrhosis

Yekta TÜZÜN<sup>1</sup>, Mustafa YAKUT<sup>2</sup>, Mehmet DURSUN<sup>1</sup>, Kadim BAYAN<sup>1</sup>, Şerif YILMAZ<sup>1</sup>, Sabri BATUN<sup>3</sup>, Bilge DEVECIOĞLU<sup>3</sup>

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı<sup>1</sup>, Biyokimya Bilim Dalı<sup>3</sup>, Diyarbakır

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı<sup>2</sup>, Ankara

**Giriş ve Amaç:** Karaciğer herediter hemokromatoziste etkilenen organların başında gelmektedir. Karaciğer sirozunda 2 önemli alt başlık olan kriptojenik siroz ile Hepatit B Virus (HBV) ilişkili sirozda HFE gen mutasyonları ile ilgili kısıtlı bilgiye sahibiz. Bu hasta gruplarında HFE gen mutasyonlarını inceledik. **Gereç ve Yöntem:** Çalışmaya 58 sirozlu hasta alındı. Hastalar eşit sayıda 2 gruba ayrıldı. 1.grubu kriptojenik sirozlar; 2. grubu HBV zemininde gelişen sirozlar oluşturdu. Her iki grupta HFE geninin 12 mutasyonuna bakıldı: V53M, V59M, H63D, H63H, S65C, Q127H, P160delC, E168Q, E168X, W169X, C282Y, Q282P. **Bulgular:** 58 hastanın 18'i kadın, 40'i erkekti. Ortalama yaş 1. grupta 44.35±20.6; 2. grupta 49.39±12.17 idi. İki grup arasında istatistiksel anlamlı fark yoktu (p=0.230). Kriptojenik sirozlularda toplam allelik H63D mutasyon oranı %24.13 (7/29) bulundu. Bir hastada (1/29; %3.44) C282Y heterozigot mutasyonu saptandı. İkinci grupta toplam allelik mutasyon oran %20.68 (6/29) idi. Mutant hasta sayısı itibarıyla iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (p=1.0). H63D ve C282Y mutasyonlarının total prevalansı sırasıyla %22.4 (13/58) ve %1.72 (1/58) olarak saptandı. H63D homozigotluğu %3.44 (2/58), heterozigotluğu %18.96 (11/58) sıklıkta saptandı. **Sonuç:** Kriptojenik ve HBV sirozlularda HFE gen mutasyonu oranları benzer bulundu. C282Y mutasyonu bölümizde ilk kez bu çalışma ile ortaya kondu.

**Anahtar kelimeler:** Hemokromatozis, HFE gen mutasyonları, kriptojenik siroz

## GİRİŞ

Karaciğerde artan demir yükü daha şiddetli fibrozis, artan hepatoselüler kanser (HCC) riski ve antiviral tedaviye rezistansla birlikte. Karaciğer demir yükündeki artışla bağlantılı karaciğer hasarının tipik örneğini herediter hemokromatozis (HH) oluşturmaktadır. Fakat alkol, steatohepatit ve viral hepatit dâhil diğer karaciğer hastalıklarında meydana gelen daha az şiddetli karaciğer demir birikimi dahi karaciğer hasarına katkı sağlamaktadır.

HH Kuzey Avrupa'daki Kelt soyundakiler başta olmak üzere beyazları etkileyen otozomal resesif

**Background/aims:** The liver leads the list among the affected organs in hereditary hemochromatosis. We have limited knowledge about HFE gene mutations in cryptogenic cirrhosis and hepatitis B virus -related cirrhosis, which are the two important sub-titles in liver cirrhosis. We studied HFE gene mutations in these patient groups. **Methods:** Fifty-eight patients with cirrhosis were included in the study. The patients were divided into two equal groups. Group 1 consisted of patients with cryptogenic cirrhosis and Group 2 of patients with cirrhosis appearing on the base of hepatitis B virus. The following 12 mutations of the HFE gene were studied in both groups: V53M, V59M, H63D, H63H, S65C, Q127H, P160delC, E168Q, E168X, W169X, C282Y, and Q282P. **Results:** Eighteen patients were female and 40 were male. The average age in the first group was 44.35±20.6 and in the second group was 49.39±12.17; there was no statistically significant difference between the groups (p=0.230). In the cryptogenic cirrhosis patients, the total rate of allelic H63D mutation was found as 24.13% (7/29). C282Y heterozygote mutation was determined in one patient (1/29; 3.44%). In the second group, total allelic mutation rate was 20.68% (6/29). No statistically significant difference was determined between the two groups with respect to mutation rates (p=1.0). The total prevalences of H63D and C282Y mutations were found as 22.4% (13/58) and 1.72% (1/58), respectively. H63D homozygosity was found as 3.44% (2/58) and heterozygosity as 18.96% (11/58). **Conclusions:** The HFE gene mutation rates in cryptogenic and hepatitis B virus cirrhosis were found to be similar. C282Y mutation has been put forward in this study for the first time in our area.

**Key words:** Hemochromatosis, HFE gene mutations, cryptogenic cirrhosis

geçişli en sık hastalıktır. HH biriken aşırı demir karaciğer sirozu dışında, primer karaciğer kanseri, diyabetes mellitus, endokrinopati, artropati ve kardiomyopatiye de yol açabilmektedir. Hastalığın erken dönemde tespiti ve uygun flebotomi komplikasyonları önleyebilmekte ve normal sağ kalım sağlayabilmektedir (1). Hastaların büyük çoğunluğunda 6. kromozomda bulunan HFE genindeki mutasyon sorumludur. HH ile en yakın ilişki C282Y homozigot mutasyonuyla. Diğer sık görülen ama ilişkisi zayıf olan mutasyon ise H63D mutasyonudur. C282Y mutasyonunun sık-

lığı Avrupa'nın Kuzey'inden Güney'ine geçildikçe azalırken, H63D mutasyonunda coğrafik dağılım homojendir.

Etyolojisi saptanamayan sirotik hastalar kriptojenik olgular olarak kabul edilmektedir. Son tanısal gelişmelere rağmen sirozlu hastaların %5-31'inde etyolojik ajan ortaya konamamaktadır (2-5). Bu oranın azaltılması klinik yaklaşımları ve dolayısıyla hastaların prognozunu olumlu yönde etkileyecektir. Etyolojiden bağımsız olarak sirozda demir metabolizmasında oluşan önemli değişiklikler; kriptojenik karaciğer sirozlu hastalarda HH'in standart tarama metotları olan serum demir, demir bağlama kapasitesi ve transferin saturasyonunun yol gösterici rolünü azaltmaktadır. Bu durumda genetik çalışmalar önem arz etmektedir. Güneydoğu Anadolu bölgesinde HFE mutasyonu ile ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Kriptojenik sirozda HH'in rolü ile ilgili ülkemizde yapılmış herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Hepatit B Virüsü (HBV) zemininde gelişen karaciğer sirozu önemli bir sağlık sorunudur. Karaciğerdeki demir miktarının prognostik önemi, bu hasta grubundaki HFE mutasyon durumunu önemli kılmaktadır.

Sayılan gerekçelerden ötürü hem kriptojenik hem de hepatit B ilişkili sirozda HFE gen mutasyonlarını inceledik. Bilgi açığının yaşandığı bu alanda bölgemiz verilerini ortaya koymayı amaçladık.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Nisan 2006 ile Ekim 2008 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Birimi'ne başvuran kriptojenik ve hepatit B sirozlu 58 erişkin hasta çalışmaya dâhil edildi. Çalışmaya alınan hastalardan onay formu alındı. Çalışma Helsinki Deklarasyonu prensipleri doğrultusunda yürütüldü.

Hastalar 2 gruba ayrıldı. Kriptojenik sirozu olan 29 kişi 1. grubu; HBV'ye bağlı sirozu olan 29 hasta ise 2. grubu oluşturdu. Karaciğer sirozunun tanısı klinik, laboratuvar ve görüntüleme bulgularına dayanarak kondu. Etraflı değerlendirmeye rağmen spesifik etyolojik ajan saptanamayanlar kriptojenik siroz olarak kabul edildi. Kriptojenik sirozlu vakalarda aşağıdaki kıstasların hepsinin uyumu arandı: 1) HBsAg, HBV DNA, Anti-HCV ve HCV RNA negatifliği; 2) Alkol ve hepatotoksik ilaç öyküsünün olmaması; 3) Anti-Nükleer Antikor (ANA), Düz kas antikor (SMA), Anti-Mito-

kondriyal Antikor (AMA) ve anti-Liver/Kidney Mikrozom Antikor tip 1 (Anti-LKM1) negatifliği; 4) Primer sklerozan kolanjit ve Primer Biliyer Sirozun bulgularının olmaması; 5) Serum seruloplazmin,  $\alpha$ 1-antitripsin, demir saturasyonu ve ferritin düzeylerinin normal olması. Karaciğer hastalığının şiddetini belirlemede Child-Turcot-Pugh (CTP) sınıflaması kullanıldı.

Hepatit B markerleri enzim immunoassay (Roche makro ELISA-kit); HBV DNA düzeyi Real time PCR ile (COBAS Ampl-Prep/COBAS TaqMan HBV Test); HCV RNA düzeyi Real time PCR ile (COBAS Ampl-Prep/COBAS TaqMan HCV Test) ve Anti-HCV enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA-Cobas Core II immunochemistry system, Roche) kullanılarak incelendi. ANA, SMA, AMA ve anti-LKM1 indirekt immunofloresans yöntemle araştırıldı. Rutin hematolojik, biyokimyasal, radyolojik araştırmalar yapıldı. Serum demir ve serum demir bağlama kapasitesi Architect C1 6000 Abbott cihazı kullanılarak saptandı ve transferrin saturasyonu hesaplandı.

### DNA izolasyonu

Genomik DNA üretici firmanın talimatlarına uygun şekilde 20 mL heparinli kandan Puregene kit (Gentra Systems, Inc., Mineapolis, MN) kullanılarak ekstrakte edildi.

### Mutasyonların saptanması

EDTA'lı -80 °C'de dondurulmuş kan örnekleri derin dondurucudan alınıp oda ısısına getirildi. GEN-TRACT DNA izolasyon kiti ile DNA izolasyonu yapıldı. İzole edilen DNA örnekleri Ependorff thermacyl'da amplifiye edildi.

### PCR protokolü

94 °C'de 15 saniye; 58 °C'de 30 saniye ve 72 °C'de 30 saniye şeklinde 35 kez tekrarlandı. İşlem sonunda 72 °C'de 2 dakika tutuldu. Hibridizasyon işlemi OTO-LİPA cihazında gerçekleştirildi. Bu işlem ViennaLab GmbH Strip Assay kitiyle yapıldı. Naylon membrane emdirilmiş allel spesifik oligonükleotid problemleri içeren stripler hibride edildikten sonra Streptoavidin-alkolin fosfat boyası kullanılarak bandlar görünür hale getirildi ve 12 mutasyon içeren standart triple karşılaştırıldı. Ölçümlerde HFE geninde 12 mutasyona bakıldı: V53M, V59M, H63D, H63H, S65C, Q127H, P160delC, E168Q, E168X, W169X, C282Y, Q282P. Tfr2 geninde 4 mutasyona bakıldı: E60X, M172K, Y250X, AVA Q594-597 del. FPN geninde de 2 mutasyona bakıldı: N144H, V162 del.

**Tablo 1.** HFE mutasyon analiz sonuçları

Etyoloji	N	Wild/ Wild	Wild/ H63D	H63D/ H63D	Wild/ C282Y	H63D/ E168Q	p*
<b>Kriptojenik siroz</b>	29	21/29(%72.4)	5/29(%17.24)	2/29(%6.89)	1/29(%3.44)		1.0
<b>Hepatit B ilişkili siroz</b>	29	23/29(%79.31)	5/29(%17.24)			1/29(%3.44)	1.0

N:Sayı \*x2 p değeri; İstatistiksel analizler HFE mutasyonunun varlığı ve yokluğuna göre 2 grup arasında yapıldı.

## BULGULAR

Ellisekiz hastanın 18'i kadın, 40'ı erkekti. Ortalama yaş 1. grupta 44.35±20.6; 2. grupta 49.39±12.17 idi. İki grup arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel anlamlı fark yoktu (p=0.230). Birinci grupta ortalama CTP skoru 8.42±2.2; 2. grupta ise 8.25±2.6 idi. İki grup arasında CTP skoru açısından fark yoktu (p=0.823).

HFE mutasyonunun strip test sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Birinci grupta H63D mutasyonu 5 hastada heterozigot; 2 hastada homozigot olarak saptandı. Kriptojenik sirozlularda toplam allel sayısı itibariyle H63D mutasyon oranı %24.13 (7/29) bulundu. Bir hastada (1/29; %3.44) C282Y heterozigot mutasyonu saptandı. İkinci grupta 5 hastada H63D heterozigot mutasyonu; 1 hastada H63D ve E168Q compound heterozigot mutasyonu saptandı. Hepatit B grubunda toplam allel sayısı itibariyle H63D ve C282Y mutasyon oranı %20.68 (6/29) idi. Mutant hasta sayısı itibariyle iki grup arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (p=1.0).

H63D ve C282Y mutasyonlarının total prevalansı sırasıyla %22.4 (13/58) ve %1.72 (1/58) olarak saptandı. H63D homozigotluğu %3.44 (2/58), heterozigotluğu %18.96 (11/58) sıklıkta saptandı.

Tablo 2'de hastalardaki HFE mutasyon varlığı ve yokluğu baz alınarak klinik ve fenotipik özellikleri verilmiştir. Ferritin ve transferin saturasyonu açısından HFE mutasyonu olanlar ile olmayanlar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmadı. Serum ferritin ve transferin saturasyonunun ortalama değerleri mutasyonu olanlarda sırasıyla 307.29±524.53 ve 131.61±361.24 iken; mutasyonu olmayanlarda sırasıyla 168,70±102,78 ve 68.52±104,98 idi (Ferritin için p=0.394; Trasferin saturasyonu için p=0.335). Mutasyon varlığı veya yokluğu CTP'nin ortalama değerinde istatistiksel anlamlı değişiklik oluşturmamaktadır (p=0.823). HFE mutasyonunun varlığı ve yokluğuna göre ortalama CTP skoru sırasıyla 8.42±2.27 ve 8.25±2.63 idi (p=0.823).

## TARTIŞMA

Karaciğer demir yükünün artması karaciğer hasarı ve fibrozisi ile yakın ilişkilidir. Aşırı demir birikiminin tipik örneğini HH vakaları oluşturmaktadır. Tarama çalışmalarında HH'nin yaygın bir genetik hastalık olduğu ve Kuzey Avrupalı beyazlarda sıklığının fenotipik ve genetik kriterlere göre yaklaşık olarak 1/200-1/400 dolayında seyrettiği bildirilmektedir (6). Aşırı demir birikiminin sonucunda karaciğer sirozu, HCC, diyabetes mellitus, diğer endokrinopatiler, artropati, kardiyomyopati gibi komplikasyonlar ile önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaktadır. Demir yükünden kaynaklanan bu komplikasyonlar organ hasarı oluşmadan önce flebotomi ile tedavi edilerek önlenilebilmekte ve normal yaşam süresi sağlanabilmektedir (7). C282Y ve H63D mutasyonları HFE ilişkili HH'nin bilinen en önemli iki mutasyonudur. Bu mutasyonlar kuzey Avrupa'da ve Kafkas'larda yaygın görülmektedirler. Homozigot C282Y mutasyonu Kuzey Avrupalı HH vakalarının %90'unda, Kuzey Amerikalı vakaların %80'inden fazlasında tespit edilmiştir (8). Kafkaslar'da toplum taramalarında C282Y heterozigot mutasyonu yaklaşık olarak %10, homozigot mutasyonu ise binde 3-5 civarında görüldüğü bildirilmektedir (9). C282Y mutasyonunda fenotipik penetrasyon oranı çalışmalar arasında önemli farklılıklar arz etmektedir. Brissot ve arkadaşları (9) C282Y homozigot bireylerin %50'sinin flebotomi gerektiren fenotipik profile sahip olduklarını rapor etmişlerdir. Beutler ve arkadaşları (10) ise homozigot C282Y mutasyonlularda aşikar klinik

**Tablo 2.** HFE mutasyonuna göre hastaların klinik ve fenotipik özellikleri

	Mutasyon pozitif Ortalama (±SD)	Mutasyon negatif Ortalama (±SD)	p
<b>Ferritin</b>	307.29±524.53	168.70±102.78	0.394
<b>TS</b>	131.61±361.24	68.52±104.98	0.335
<b>ALT</b>	102.67±207.71	116.29±364.48	0.893
<b>AST</b>	122.40±181.30	112.18±224.05	0.876
<b>LDH</b>	505.60±1117.94	324.47±213.64	0.350
<b>Globulin</b>	3.95±1.10	4.29±3.05	0.693
<b>CTP Skoru</b>	8.42±2.27	8.25±2.63	0.823
<b>Sirozun süresi</b>	43.92±45.80	37.51±26.78	0.551

hemokromatozis penetrasyonunu %1'den az saptamışlardır. McCune ve arkadaşlarının (11) yaptığı çalışmada C282Y homozigot index vakanın akrabaları araştırılmış, C282Y homozigotluğunda demir birikim penetrasyonunun yüksek ama klinik penetrasyonun düşük olduğu saptanmıştır.

C282Y homozigotluğu dışındaki HFE gen mutasyonlarının aşikâr hemokromatozisteki rolleri hala net hatlarla ifade edilememektedir. Geniş serili bir çalışmada H63D mutasyonunun trasferin saturasyonunda anlamlı artışa yol açtığı, ancak demir yükünde anlamlı artış oluşturmadığı rapor edilmiştir (12). C282Y/H63D compound heterozigotluğunda demir parametrelerinde artış görülmeyle birlikte, komorbid bir hastalık olmadığı sürece ilerleyici hastalığın gelişmediği rapor edilmiştir (13).

Hemokromatozisteki aşırı demir birikiminin yarattığı hepatotoksisite çok iyi bilinmektedir. Fakat daha az şiddetteki demir birikimlerinin de hepatik hasar veya hepatik fibrozise katkı sağlayabileceği yönünde giderek artan verilere rastlanılmaktadır (14). Artan demir birikiminin özellikle kronik viral hepatitlerde uygulanan tedaviye yanıtı da olumsuz etkilediği rapor edilmektedir. Bayraktar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada desferoksaminle karaciğerden demirin uzaklaştırılmasının interferon yanıtını arttırdığı gösterilmiştir (15).

Karaciğer demir aşırı birikimi kronik karaciğer hastalıklarında yaygın saptanan bir bulgudur. Çalışma grubumuzu oluşturan kriptojenik sirozlularda HFE gen mutasyonu ile ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Lal ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 22 kriptojenik sirozlu hastanın birinde (%4.6) C282Y mutasyonu raporlamışlardır. HCV ile kıyaslamada demir birikiminin kriptojenik sirozlularda daha az olduğunu rapor etmişlerdir (16). Panigrahi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise 31 kriptojenik sirozlu hastanın 7'sinde (%22.5) H63D mutasyonu saptanmış; C282Y mutasyonunu ise bulunmamıştır (17). Çalışmamızda kriptojenik sirozluların %17.24 (5/29)'ünde heterozigot, %6.89 (2/29)'ünde homozigot H63D mutasyonu ve %3.44 (1/29) C282Y heterozigot mutasyonu saptadık. Ülkemizde kriptojenik siroz-

larda yapılmış çalışmaya rastlamadık. Şimşek ve arkadaşları kan vericilerinde yaptıkları çalışmada C282Y mutasyonu bildirmemişlerdir. H63D heterozigot ve homozigot mutasyon oranlarını sırasıyla %17.13 ve %7.69 bulmuşlar (18). Şimşek ve arkadaşları bir önceki çalışmanın bir alt grubu şeklinde Nonalkolik Steatohepatit (NASH)'li hastalarda H63D mutasyonunu araştırmışlardı. Hastaların %3.3'ünde (1/30) homozigot; %40'ında (12/30) heterozigot mutasyon saptamışlardır (19). Bozkaya ve arkadaşları açlık serum demir bağlama kapasitesi <28 microM olan 5 hastanın 2'sinde H63D heterozigot mutasyonunu saptamışlardır (20) Yönel ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kronik karaciğer hastalarında C282Y ve H63D mutasyonları araştırılmıştır. Oranlar kontrol grubundan farksız olarak bulunmuştur (21). Tüm bu çalışmalardan anlaşıldığı üzere çalışmamızda bulduğumuz HFE gen mutasyon oranları genel taramalarda saptanan değerlerden farklı görünmemektedir.

Kronik hepatit B'de demir aşırı birikiminin prevalansını ve patofizyolojisini değerlendiren az sayıda çalışma mevcuttur. İran'dan yapılan bir çalışmada Kronik Hepatit B'li hastalarda HFE mutasyon oranları kontrol grubundan farklı bulunmamıştır (22). Tayvan'dan yapılan bir çalışmada kronik hepatit B'li hastalarda H63D alelik frekansını %6 saptamışlar ve mutasyonlu vakaların karaciğer sirozu gelişimine daha yatkın olduklarını tespit etmişlerdir (23). Martinelli ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kronik hepatit B'li hastalarda H63D mutasyon oranını %23.4 saptamışlardır (24). Çalışmamızda Hepatit B zemininde gelişen sirozluların %17.24'ünde (5/29) H63D/wild tip mutasyon; %3.44'ünde (1/29) H63D/E168Q mutasyonunu saptadık. Veriler genel tarama oranları ve Martinelli'nin çalışmasındakilerle uyumlu görünmektedir. Türkiye'de rapor edilen çalışmalardan sadece Yönel ve arkadaşlarının çalışmasında 1 vakada homozigot C282Y vakası saptanmıştır (21).

Sonuç olarak çalışmamızdaki bulgular; kriptojenik ve hepatit B zemininde gelişen sirozluların artan HFE riski altında olmadıklarını desteklemektedir.

## KAYNAKLAR

1. Niederau C, Fischer R, Purschel A, et al. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996;110:1107-19.
2. Kojima H, Sakurai S, Matsumura M, et al. Cryptogenic cirrhosis in the region where obesity is not prevalent *World J Gastroenterol* 2006;12:2080-5.



3. Kodali VP, Gordon SC, Silverman AL, McCray DG. Cryptogenic liver disease in the United States: further evidence for non-A, non-B, and non-C hepatitis. *Am J Gastroenterol* 1994;89:1836-9.
4. Greeve M, Ferrell L, Kim M, et al. Cirrhosis of undefined pathogenesis: absence of evidence for unknown viruses or autoimmune processes. *Hepatology* 1993;17:593-8.
5. Ayata G, Gordon FD, Lewis WD, et al. Cryptogenic cirrhosis: clinicopathologic findings at and after liver transplantation. *Hum Pathol* 2002;33:1098-104.
6. McLaren CE, Barton JC, Adams PC, et al; Hemochromatosis and Iron Overload Study Research Investigators. Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) study design for an evaluation of 100,000 primary care-based adults. *Am J Med Sci* 2003;325:53-62.
7. Barton JC, McDonnell SE, Adams PC, et al. Management of hemochromatosis. Hemochromatosis Management Working Group. *Ann Intern Med* 1998;129:932-9.
8. Cazzola M. Novel genes, proteins, and inherited disorders of iron overload: iron metabolism is less boring than thought. *Haematologica* 2002;87:115-6.
9. Brissot P, Troade C, Bardou-Jacquet E, et al. Current approach to hemochromatosis. *Blood Rev* 2008;22:195-210. Epub 2008 Apr 21.
10. Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, et al. Penetrance of 845G→A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002;359:211-8.
11. McCune C, Ravine D, Carter K, et al. Iron loading and morbidity among relatives of HFE C282Y homozygotes identified either by population genetic testing or presenting as patients. *Gut* 2006;55:554-62.
12. Gochee PA, Powell LW, Cullen DJ, et al. A population-based study of the biochemical and clinical expression of the H63D hemochromatosis mutation. *Gastroenterology* 2002;122:646-51.
13. Walsh A, Dixon JL, Ramm GA, et al. The clinical relevance of compound heterozygosity for the C282Y and H63D substitutions in hemochromatosis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006;4:1403-10.
14. Bonkovsky HL, Lambrecht RW, Shan Y. Iron as a co-morbid factor in nonhemochromatotic liver disease. *Alcohol* 2003;30:137-44.
15. Bayraktar Y, Koseoglu T, Somner C, et al. The use of deferoxamine infusions to enhance the response rate to interferon-alpha treatment of chronic viral hepatitis B. *J Viral Hepat* 1996;3:129-35.
16. Lal P, Fernandes H, Koneru B, et al. C282Y mutation and hepatic iron status in hepatitis C and cryptogenic cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med* 2000;124:1632-5.
17. Panigrahi I, Ahmad F, Kapoor R, et al. Evidence for non-HFE linked hemochromatosis in Asian Indians. *Indian J Med Sci* 2006;60:491-5.
18. Şimşek H, Sümer H, Yılmaz E, et al. Frequency of HFE mutations among Turkish blood donors according to transferrin saturation: genotype screening for hereditary hemochromatosis among voluntary blood donors in Turkey. *J Clin Gastroenterol* 2004;38:671-5.
19. Şimşek H, Balaban YH, Sümer H, et al. HFE mutations analysis of Turkish patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Dig Dis Sci* 2006;51:1723-4.
20. Bozkaya H, Bektas M, Metin O, et al. Screening for hemochromatosis in Turkey. *Dig Dis Sci* 2004;49:444-9.
21. Yönel O, Hatırmaz O, Akyüz F, et al. HFE gene mutation, chronic liver disease, and iron overload in Turkey. *Dig Dis Sci* 2007;52:3298-302.
22. Ghaziani T, Alavian SM, Zali MR, et al. Serum measures of iron status and HFE gene mutations in patients with hepatitis B virus infection. *Hepatol Res* 2007;37:172-8.
23. Mah YH, Kao JH, Liu CJ, et al. Prevalence and clinical implications of HFE gene mutations (C282Y and H63D) in patients with chronic hepatitis B and C in Taiwan. *Liver Int* 2005;25:214-9.
24. Martinelli AL, Filho AB, Franco RF, et al. Liver iron deposits in hepatitis B patients: association with severity of liver disease but not with hemochromatosis gene mutations. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:1036-41.