پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و یکم شماره ۸۵ آذر سال ۱۳۹۰ (۸۳-۷۶)

رابطه بین ژنوتایپ‌های هپاتیت C با آسیب‌های کبدی در بیماران مبتلا به هپاتیت C

محمدرضا حق شناس[۱]
فرهنگ بابامحمودی[۲]
علیرضا رفیعی[۱]
وحید واحدی[۳]

چکیده

سابقه و هدف : ویروس هپاتیت Hepatitis C Virus (HCV) C یک عامل عمده برای ایجاد بیماری مزمن کبدی بوده که براساس تنوع در توالی ژنوم حداقل به شش ژنوتایپ اصلی طبقه‌بندی می‌شود. ژنوتایپ‌های مختلف این ویروس با شدت تغییرات بافت کبدی در بیماران هپاتیت C مثبت مرتبط می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف بررسی رابطه ژنوتیپ‌های ویروس هپاتیت C با آسیب‌های کبدی انجام شد.

مواد و روش ها : این مطالعه مقطعی بر روی ۸۶ بیمار HCV مثبت مراجعه کننده به بخش عفونی مرکز آموزشی درمانی رازی قائمشهر در طی سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۹ انجام شد. جهت تشخیص ژنوتایپ ویروس هپاتیت C از تست Real Time PCR استفاده شد و همچنین شاخص فعالیت بافت شناختی نمونه بیوپسی (نمره Knodell) با استفاده رنگ‌آمیزی محاسبه و مقادیر سرمی AST و ALT نیز اندازه‌گیری گردید.

یافته ها : در نمونه های بیماران مورد بررسی، ژنوتیپ 3a در ۵۸/۲ درصد و 1a/b در ۴۱/۸ درصد وجود داشت. میانگین AST و ALT در بیماران به ترتیب ۶۰/۸ ± ۸۹/۵ و ۷۹/۴ ± ۱۰۳/۷ واحد در لیتر بوده است. نمرات شاخص فعالیت بافت شناختی در ۱۳/۱ درصد در محدوده پایین، در ۴۱ درصد در محدوده متوسط و در ۴۵/۹ درصد در محدوده بالا قرار داشت. میانگین نمره Knodell نیز در ژنوتیپ‌های مختلف HCV تفاوت معنی‌دار نداشته است ($p>0/05$) ولی با میزان AST و ALT سرمی بیماران همبستگی مثبت معنی‌دار ($p<0/05$) داشت.

استنتاج : یافته‌های مطالعه ما نشان دادکه میان شاخص فعالیت بافت شناختی بیماران و نوع ژنوتیپ ویروس هپاتیت C ارتباط آماری معنی‌داری وجود ندارد ولی با افزایش امتیاز شاخص فعالیت بافت‌شناختی سطح سرمی AST و ALT بالاتر می‌رفت.

واژه‌های کلیدی: ژنوتیپ HCV، بیماری مزمن کبدی، تست‌های عملکردی کبد

مقدمه

ویروس هپاتیت C (Hepatitis C Virus: HCV) یک عامل عمده برای ایجاد بیماری مزمن کبدی بوده که به طور فزاینده‌ای به سمت سیروز کبدی و کارسینوم هپاتوسلولار در حال پیشرفت می‌باشد(۲،۱). درحال حاضر

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی شماره ۴۳- ۸۹ است که توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران تامین شده است.

مولف مسئول: فرهنگ بابامحمودی- قائم شهر: بیمارستان رازی قائم شهر E-mail: farhangbabamahmodi@yahoo.com
۱. گروه میکروب و ویروس شناسی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۲. گروه عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران
۳. عضو کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت : ۸۹/۱۲/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۹۰/۴/۱ تاریخ تصویب : ۹۰/۵/۳۰

Archive of SID
www.SID.ir

عفونت ناشی از ویروس هپاتیت C یکی از مشکلات اصلی سلامت در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه، به ویژه کشورهای آسیایی محسوب می‌شود(۳). بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، حدود ۳ درصد از جمعیت جهان (۱۷۰ تا ۲۵۰ میلیون نفر) به ویروس هپاتیت C مبتلا هستند(۶-۴). ۸۰ درصد از بیماران HCV مثبت مبتلا به هپاتیت مزمن شده و نزدیک به ۲۰ درصد از آنان در خطر پیشرفت به سمت سیروز می‌باشند(۷) و سالیانه ۱/۵ تا ۴ درصد از هپاتیت مزمن به سوی هپاتوسلولار کارسینوما پیشرفت می‌کند(۸). شیوع ویروس هپاتیت C در کشورهای مختلف متفاوت گزارش شده است به طوری که برخی از کشورها نظیر کشورهای اسکاندیناوی و انگلیس کمترین شیوع ویروس هپاتیت C را دارند (کمتر از ۰/۱ درصد)، در کشورهای غربی و در آمریکای شمالی ۱ درصد، در کشورهای مدیترانه و آسیایی۳ تا ۴ درصد، در بخش‌هایی از آفریقای مرکزی بیشتر از ۱۰ تا ۲۰درصد در مصر و بیشترین شیوع این ویروس (۱۹ تا ۶۰ درصد) گزارش شده است(۹).

ویروس هپاتیت C یک ویروس RNA دار تک رشته ای پوشش دار و از خانواده فلاوی ویریده بوده که به عنوان عامل عمده هپاتیت ویروسی غیر A و غیر B می‌باشد(۱۰). تا کنون ویروس هپاتیت C را براساس تنوع درتوالی ژنوم حداقل به شش ژنوتایپ اصلی و چندین زیر گروه طبقه‌بندی کردند(۱۱) که شیوع آن در جوامع مختلف متفاوت گزارش شده است. بررسی‌های متعدد نشان داده است که ژنوتایپ ۱ بیشترین شیوع را در بین بیماران هپاتیت C مثبت دارا می‌باشد ولی میزان شیوع آن در مناطق مختلف متفاوت گزارش شده است(۱۳،۱۲). مطالعات نشان داده است که ژنوتایپ ۱ در استرالیا ۸۰/۴ درصد (۱۴) و در مکزیک ۷۰/۶ درصد (۱۵) در ایتالیا ۴۹ درصد (۱۶) بوده است ولی در هند ژنوتایپ ۳ با ۶۶/۶ درصد بیشترین شیوع را داشته است(۱۷). برخی از بررسی‌های انجام شده در برخی از مناطق ایران نشان داده است که ژنوتایپ ۱ بیشترین شیوع را در بین بیماران هپاتیت C مثبت دارا می باشد که میزان آن در مناطق مختلف ۵۰ تا ۷۰ درصد گزارش شده است(۲۰-۱۸) و در بین بیماران دیالیزی شایع‌ترین ژنوتیپ ویروس هپاتیت C ، ژنوتیپ a/b ۱ و بیماران غیر اورمیک ژنوتیپ a ۳ بوده است(۲۱).

مطالعات متعدد نشان داده است که عفونت‌های ناشی از تایپ‌های متعدد HCV می‌تواند نتایج بالینی متفاوتی را در پی‌داشته باشد و برخی از تایپ‌ها به میزان بیشتری با سیروز کبدی و هپاتوسلولار کارسینوما همراه می‌باشد(۸) و بین میزان افزایش فیبروز و آسیب کبدی و میزان افزایش ALT رابطه مستقیم وجود دارد(۲۴-۲۲). به نظر می‌رسد ژنوتایپ‌های مختلف ویروس هپاتیت C با شدت تغییرات بافتی کبدی در بیماران هپاتیت C مثبت مرتبط می‌باشد(۲۷-۲۵) و تایپ‌های متعدد این ویروس پاسخ‌های متفاوتی را در برابر داروهای ضد ویروسی نشان می‌دهد(۲۸). لذا این مطالعه با هدف تعیین ژنوتایپ ویروس هپاتیت C و رابطه آن با تغییرات احتمالی بافت شناختی در کبد در بیماران مراجعه‌کننده به بخش عفونی مرکز آموزشی درمانی رازی قائمشهر انجام شد.

مواد و روش ها

نمونه برداری

این مطالعه، یک مطالعه توصیفی- مقطعی بوده و جامعه مورد مطالعه شامل بیماران HCV مثبت مراجعه کننده به بخش عفونی مرکز آموزشی درمانی رازی قائمشهر در طی سال‌های ۱۳۸۶ تا ۱۳۸۹بوده است. در این مطالعه نمونه‌گیری از ۸۶ بیمار HCV مثبت جهت تشخیص ژنوتایپ ویروس هپاتیت C و آسیب‌های ایجاد شده در کبد انجام شده است. از بیماران مورد نظر بیوپسی کبدی گرفته شد و سپس بافت‌ها پس از رنگ آمیزی با استفاده از الگوی Knodell (۳۰،۲۹) شاخص فعالیت بافت شناختی(Histologic Activity Index (HAI هر نمونه تعیین گردید در ادامه از بیماران مورد مطالعه

Archive of SID
www.SID.ir

۵ ml خونگیری بعمل آمده و بلافاصله سرم بیماران پس از نمونه‌گیری توسط سانتریفیوژ جدا شد و نمونه‌های سرم تا زمان مورد آزمایش در دمای $80^{o}C$- نگهداری شد. داده‌های خام توسط نرم افزار آماری SPSS و ضریب همبستگی Pearson و آزمون T-Test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. اطلاعات افراد شامل خصوصیات سنی و جنسی، داروهای مصرفی، بیماری زمینه‌ای، سابقه فعالیت جنسی پرخطر و اعتیاد تزریقی و تزریق خون به همراه نتایج آخرین آزمایشات انجام شده (PT، ALT و AST)، از طریق پرونده آن‌ها و پرسشنامه جمع‌آوری شد.

استخراج RNA

جهت استخراج RNA از نمونه‌های سرم، از کیت تجاری RNeasy Mini Kit از شرکت Qiagen استفاده شد. در این مرحله ۲۵ µl پروتیناز را به تیوپ‌های سانتریفیوژ استریل اضافه کرده و سپس ۲۰۰ µl از نمونه بیمار و هم حجم آن محلول Lysis Buffer به آن اضافه شد و به مدت ۱۵ ثانیه با ورتکس آن را مخلوط کردیم. محلول فوق در دمای $4^{o}C$ به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه و سپس سانتریفیوژ شد. به محلول فوق ۲۵۰ µl الکل ۹۶ تا ۱۰۰ درصد اضافه کرده و سپس به مدت ۱۵ ثانیه با ورتکس آن را مخلوط کرده و محلول فوق را به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کردیم. ۶۷۵ µl از محلول حاصله را به تیوپ‌های Viral Spin C که حاوی فیلتر مخصوص می‌باشد اضافه کرده و سپس آن را دور ۶۸۰۰ g سانتریفیوژ کردیم. ستون حاوی فیلتر مخصوص را به میکروتیوپ دیگر منتقل کرده و با استفاده ازمحلول Wash Buffer به میزان ۵۰۰ µl و بر اساس پروتکل دو بار عمل شستشو را انجام داده و با استفاده از سانتریفیوژ، محلول داخل تیوپ را دور ریخته و با استفاده از سانتریفیوژ با دور بالا آن را خشک کردیم. فیلتر مخصوص Viral Spin C را به تیوپ‌های ۱/۵ میلی‌لیتری موجود در کیت قرار داده و سپس به میزان ۵۰ µl از آب مقطر استریل یا RNase free water را به مرکز ستون حاوی فیلتر مخصوص اضافه و به مدت ۱ دقیقه در دمای اطاق انکوبه کرده و سپس به مدت ۱ دقیقه با دور بالا آن را سانتریفیوژ کردیم. مایع حاصله که حاوی ژنوم می‌باشد با استفاده از اسپکتروفتومتر مشخص کرده و در دمای $80^{o}C$- جهت استفاده Real Time PCR نگهداری کردیم.

انجام تست Real Time PCR

جهت تعیین ژنوتایپ ویروس هپاتیت C، نمونه‌های بیماران از کیت‌های مخصوص Roche از کشور آلمان و دستگاه Rotorgenes System 6000 از کشور استرالیا استفاده شد و با استفاده از پروتکل خاص و پرایمرها و پروب‌های اختصاصی تست Real Time PCR انجام شد. در این روش، مقدار ۱۶ µl از محلول میکس واکنشی (Forward primer(۴۰ UM ، (Primer Reverse (۴۰UM ،۲x Reaction Mix-Primer ، Probe (۱۰UM) و Super Script III RT/Platinum-Taq mix- را با ۴ µl از ژن استخراج شده مخلوط می‌نمودیم. حجم نهایی ۲۰ µl را با استفاده از دستگاه Rotorgenes System 6000 و پروتکل خاص تست Real Time PCR در آزمایشگاه ویروس شناسی و آزمایشگاه مرکز آموزشی- درمانی رازی قائمشهر انجام دادیم.

یافته ها

۸۶ بیمار در این مطالعه شرکت داشتند که میانگین سنی بیماران ۱۴/۳± ۳۹/۳ سال (در محدوده سنی ۱۸ تا ۷۲) بوده است. ۷۴ نفر از بیماران (۸۶ درصد) مذکر و ۱۲ نفر (۱۴ درصد) مونث بوده‌اند از این میان ۳۲ بیمار (۳۷/۲ درصد) مجرد و ۵۴ بیمار (۶۲/۸ درصد) متاهل بودند. از مجموع نمونه‌ها، ۲۰ نفر (۲۳/۲ درصد) بیکار، ۵۰ نفر (۵۸/۲ درصد) دارای شغل آزاد، ۱۰ نفر (۱۱/۶ درصد) خانه دار، ۲ نفر (۲/۳ درصد) کارمند و ۴ نفر (۴/۷ درصد) دانشجو بوده‌اند. در ۵۱ بیمار (۶۶/۲

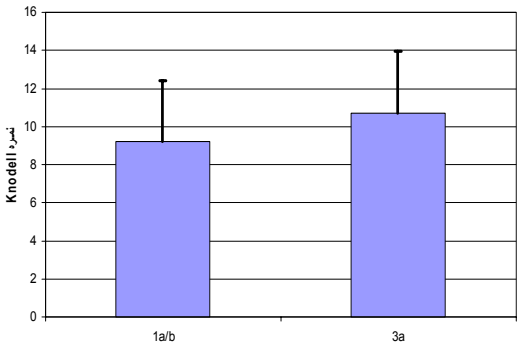
Archive of SID

www.SID.ir

درصد) سابقه سوء استفاده از مواد مخدر تزریقی وجود داشت، ۸ بیمار (۱۰/۴ درصد) سابقه ترانسفوزیون خونی داشتند، ۴ بیمار(۵/۲ درصد) تحت دیالیز قرار گرفته بودند، ۵ بیمار(۶/۵ درصد) سابقه جراحی را ذکر می‌کردند، ۱ بیمار (۱/۳ درصد) پیوند کلیه انجام داده بود، ۲ بیمار (۲/۳ درصد) خالکوبی بر روی بدن داشتند، ۱ بیمار (۱/۳ درصد) دارای همسر هپاتیت C مثبت بوده است، یک بیمار سابقه مراجعات مکرر به دندانپزشکی داشته و یک بیمار هم سابقه هپاتیت C در خانواده را ذکر می‌کرد. همچنین ۳ بیمار (۳/۹ درصد) به سیروز کبدی مبتلا بوده‌اند. ۷۶ بیمار (۷۷/۴ درصد) تنها به ویروس هپاتیت C مبتلا بودند. ۶ بیمار (۷ درصد) علاوه بر HCV، با ویروس HIV هم آلوده بوده‌اند، ۳ بیمار (۳/۵ درصد) علاوه بر هپاتیت C، HBs Ag مثبت بودند و یک بیمار (۱/۲ درصد) علاوه بر هپاتیت C، با ویروس‌های هپاتیت B و HIV نیز به طور همزمان آلودگی داشت. در این مطالعه فراوانی ژنوتیپ‌های ویروس هپاتیت C در نمونه‌های بیماران مورد بررسی، ژنوتیپ‌های ۳a (۵۸/۲ درصد) و ۱a/b (۴۱/۸ درصد) بود.

میانگین AST بیماران ۶۰/۸ ± ۸۹/۵ واحد در لیتر (در محدوده ۱۲ تا ۵۶۰) و میانگین ALT ۷۹/۴ ± ۱۰۳/۷ واحد در لیتر (در محدوده ۱۱ تا ۹۷۰) بوده است. ضمن این‌که میانگین PT برابر با ۱/۶ ± ۱۳/۲ ثانیه برآورد شد (در محدوده ۱۱/۸ تا ۱۹). نمرات شاخص فعالیت بافت‌شناختی (HAI) در ۸ بیمار (۱۳/۱ درصد) در محدوده پایین (بین ۱ تا ۵)، در ۲۵ بیمار (۴۱ درصد) در محدوده متوسط (بین ۶ تا ۱۰) و در ۲۸ بیمار (۴۵/۹ درصد) در محدوده بالا (بین ۱۱ تا ۲۲) قرار داشت. میانگین نمرات Knodell بیماران ۴/۱ ± ۱۰/۴ (در محدوده ۴ تا ۲۰) بود. میانگین نمره Knodell نیز در ژنوتیپ‌های مختلف HCV متفاوت بود. به این صورت که امتیاز بیشتر، از آن ژنوتیپ ۳a بود و ژنوتیپ ۱a/b در رتبه بعدی قرار داشت. البته در بررسی آماری صورت گرفته تفاوت موجود معنی‌دار نبود (p=۰/۷) (نمودار شماره ۱).

همچنین بین نمره Knodell با مقادیر AST سرمی (p=۰/۰۱۵ و r=۰/۳۹) و ALT سرمی (p=۰/۰۰۲ و r=۰/۳۱) همبستگی مثبت معنی‌داری وجود داشت.



نمودار شماره ۱: میانگین و انحراف معیار نمره Knodell در بیماران مورد بررسی بر حسب نوع ژنوتیپ

بحث

تاکنون ویروس هپاتیت C را براساس تنوع درتوالی ژنوم حداقل به شش ژنوتایپ اصلی و چندین ساب ژنوتایپ طبقه‌بندی کرده‌اند که شیوع آن در کشورهای مختلف متفاوت گزارش شده است(۱۱). بررسی‌های متعدد نشان داده است که عفونت‌های ناشی از تایپ‌های متعدد HCV می‌تواند نتایج بالینی متفاوتی را در پی داشته باشد و برخی از تایپ‌ها به میزان بیشتری با سیروز کبدی و کارسینوم هپاتوسلولار همراه می‌باشد(۸). در این مطالعه از ۸۶ بیمار HCV مثبت، ژنوتیپ‌های ۳a فراوانی ۵۸/۲ درصد و ۱a/b فراوانی ۴۱/۸ درصد داشت. در مطالعه انجام شده توسط حسینی مقدم (۳۱) بر روی بیماران دیالیزی و Verma و همکاران آن‌ها (۳۲) بر روی بیماران HCV مثبت، مشابه مطالعه ما شایعترین ژنوتیپ ویروس هپاتیت C در بیماران ژنوتیپ ۳a بوده است. درحالی‌که در بررسی صمیمی‌راد و همکاران (۳۳) در ایران، ژنوتیپ ۱a/b را غالب دانسته‌اند. همچنین در بررسی مخلوق و همکاران (۲۱) در بین بیماران دیالیزی شایعترین ژنوتیپ ویروس هپاتیت C، ژنوتیپ ۱a/b و ژنوتیپ ۳a بوده است. حجازی و همکاران (۳۴) در

Archive of SID
www.SID.ir

مطالعه ای که در تبریز بر روی بیماران مبتلا به هپاتیت C انجام داده‌اند، مشاهده کردند که شایعترین ژنوتیپ 1a (۷۱/۴ درصد) و1b (۱۴/۲ درصد) و 2a (۷/۱ درصد) بود که در مقایسه با مطالعه حاضر، متفاوت بوده است.

میانگین AST و ALT در مطالعه ما ۸۹/۵ و ۱۰۳/۷ واحد در لیتر بوده و میانگین نمرات شاخص فعالیت بافت‌شناختی در بیماران ما حدود ۱۰/۴ بود و بیشتر بیماران در محدوده نمرات بالا (۱۱ تا ۲۲) قرار داشتند. یافته‌های ما حاکی از آن بود که میان شاخص فعالیت بافت‌شناختی بیماران و نوع ژنوتیپ ویروس هپاتیت C ارتباط آماری معنی‌داری وجود نداشته است. در مطالعات گذشته نیز نشان داده شده که برخی زیرگونه‌ها به میزان بیشتری با بیماری کبدی پیشرفته و کارسینوم هپاتوسلولار همراهی داشته‌اند(۱۰). همچنین میانگین نمرات شاخص فعالیت بافت‌شناختی با میزانAST و ALT سرمی بیماران ارتباط آماری واضحی داشت به طوری‌که با افزایش امتیاز سطح سرمی این شاخص‌ها نیز بالاتر می‌رفت، که نشان‌دهنده فعال بودن بیماری است. در مطالعه Akkaya و همکاران نیز رابطه مشخصی بین سطوح ALT با میزان آسیب کبدی براساس امتیاز HAI وجود داشت(۳۵) و از سوی دیگر محققین دریافتند بین سطوح ALT و شاخص فعالیت بافت شناختی کبدی بیماران رابطه مستقیمی وجود داشته است و بیشترین موارد فیبروز در بیماران با ALT بالا دیده شد.

یافته‌های مطالعه ما نشان داد که اکثریت بیماران در محدوده سنی حدود ۴۰ سال قرار داشتند و همچنین اکثریت آن‌ها مذکر بوده‌اند(نسبت مذکر به مونث ۶ به ۱) همان‌طورکه اشاره شد بیشترین سوابق مربوط به عفونت، سابقه استفاده از مواد مخدر تزریقی و پس از آن تزریق خون، جراحی و دیالیز بوده است. در مطالعه Abraham و همکاران که برروی ۹۶ بیمار مبتلا به هپاتیت C در هند صورت گرفت، میانگین سنی بیماران ۴۵/۸ سال بوده و نسبت مذکر به مونث ۲ به ۱ برآورد شد. بیشترین عوامل خطر در این مطالعه برای ابتلا به هپاتیت C به ترتیب سابقه جراحی، ترانسفوزیون خون و اعتیاد تزریقی بوده است که با مطالعه ما تفاوت دارد(۳۶). در مطالعات دیگری نیز برتری جنسیتی مذکر به مونث در ابتلا به هپاتیت C مشاهده و اثبات شده است(۳۷)، در مطالعه‌ای که Akkaya و همکاران در ترکیه بر روی ۳۶ بیمار مبتلا به HCV انجام دادند میانگین سنی بیماران حدود ۴۷/۹ سال بود و اکثریت بیماران دارای جنسیت مونث بودند(۳۵).

مطالعات نشان داده است که عفونت‌های ناشی از تایپ‌های متعدد هپاتیت C می‌تواند نتایج بالینی متفاوتی را در پی‌داشته باشد و برخی از تایپ‌ها به میزان بیشتری با سیروز کبدی و هپاتوسلولار کارسینوما همراه می‌باشد(۸) و بین میزان افزایش فیبروز و آسیب کبدی و میزان افزایش ALT رابطه مستقیم وجود دارد (۲۴-۲۲) و همچنین ژنوتایپ‌های مختلف ویروس هپاتیت C با شدت تغییرات بافتی کبدی در بیماران هپاتیت C مثبت مرتبط می‌باشد(۲۷- ۲۵). لذا با توجه به گستردگی جغرافیایی زیاد کشور ایران و تأثیر کشورهای همسایه بر فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف HCV در مناطق مجاور، به نظر می‌رسد که این ژنوتیپ‌ها در مناطق مختلف ایران با هم تفاوت‌هایی داشته باشند. همچنین مهمترین عامل مسبب این تفاوت ژنوتیپی در بیماران عوامل متعددی نظیر تزریق خون مکرر و یا درمان در بیماران می‌تواند باشد که نیازمند مطالعات بیشتر جهت اثبات یا رد این مطلب می‌باشد.

سپاسگزاری

از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران بخاطر حمایت مالی و کلیه همکاران و پرسنل زحمتکش بخش عفونی بیمارستان رازی قائمشهر تشکر می‌گردد. این مقاله حاصل پایان‌نامه پزشک عمومی آقای وحید واحدی بوده است.

Archive of SID

www.SID.ir

References

1. Zein NN, Persing DH. Hepatitis C genotypes: current trends and future implications. Mayo Clin Proc 1996; 71(5): 458-462.
2. Chen YD, Liu MY, Yu WL, Li JQ, Peng M, Dai Q, et al. Hepatitis C virus infection and genotypes in China. Hepatobiliary Pancreat Dis Int 2002; 1(2): 194-201.
3. Ding X, Gu H, Zhong ZH, Zilong X, Tran HT, Iwaki Y, et al. Molecular epidemiology of hepatitis viruses and genotypic distribution of hepatitis B and C viruses in Harbin, China. Jpn J Infect Dis 2003; 56(1): 19-22.
4. Ramia S, Eid-Fares J. Distribution of hepatitis C virus genotypes in the Middle East. Int J Infect Dis 2006; 10(4): 272-277.
5. Sarbah SA, Younossi ZM. Hepatitis C: an update on the silent epidemic. J Clin Gastroenterol 2000; 30(2): 125-143.
6. Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. N Engl J Med 2001; 345(1): 41-52.
7. Alter MJ. Epidemiology of hepatitis C in the West. Semin Liver Dis 1995; 15(1): 5-14.
8. Poynard T, Bedossa P, Opolon P. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. The obsvirc, Metavir, clinical, and dosvirc groups. Lancet 1997; 349(9055): 825-832.
9. Wong T, Lee SS. Hepatitis C: a review for primary care physicians. CMAJ 2006; 174(5): 649-659.
10. Gully PR, Tepper ML. Hepatitis C. [Article in English, French] CMAJ 1997; 156(10): 1427-1430.
11. Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Genetic heterogeneity of hepatitis C virus: quasispecies and genotypes. Semin Liver Dis 1995; 15(1): 41-63.
12. Zein NN, Rakela J, Krawitt EL, Reddy KR, Tominaga T, Persing DH. Hepatitis C virus genotypes in the United States: epidemiology, pathogenicity, and response to interferon therapy. Collaborative Study Group. Ann Intern Med 1996; 125(8): 634-639.
13. Nousbaum JB, Pol S, Nalpas B, Landais P, Berthelot P, Bréchot C. Hepatitis C virus type 1b (II) infection in France and Italy. Collaborative Study Group. Ann Intern Med 1995; 122(3): 161-168.
14. Maieron A, Metz-Gercek S, Hackl F, Luger C, Ziachehabi A, Strauss R, et al. Chronic hepatitis C in Austria, 1992-2006: genotype distribution and demographic factors. Euro Surveill 2010; 15(8): 19492.
15. Dehesa-Violante M, Bosques-Padilla F, Kershenobich-Stalnikowitz D, Mexican Study Group of Pagasys. Prevalence of hepatitis C virus genotypes in Mexican patients. Rev Gastroenterol Mex 2007; 72(4): 344-348.
16. Cenci M, De Soccio G, Recchia O. Prevalence of hepatitis C virus (HCV) genotypes in central Italy. Anticancer Res 2003; 23(6D): 5129-5132.
17. Singh S, Malhotra V, Sarin SK. Distribution of hepatitis C virus genotypes in patients with chronic hepatitis C infection in India. Indian J Med Res 2004; 119(4): 145-148.
18. Farshadpour F, Makvandi M, Samarbafzdeh AR, Jalalifar MA. Determination of Hepatitis C Virus genotypes among blood donors in Ahvaz, Iran. Indian J Med Microbiol 2010; 28(1): 54-56.
19. Samimi-Rad K, Shahbaz B. Hepatitis C virus genotypes among patients with thalassemia and inherited bleeding disorders in Markazi province, Iran. Haemophilia 2007; 13(2): 156-163.

Archive of SID
www.SID.ir

20. Ahmadi Pour MH, Sabahi F, Alavian SM. Determination of HCV Genotypes, in Iran by PCR-RFLP. Iran J Publ Health 2006; 35(4): 54-61.
21. Makhloogh A, Aezinia N, Haghshenas MR, Tirgar-fakheri H, Maleki I, Taghvaei T, et al. Comparison of Hepatitis C Virus Genotypes in Hemodialysis and Nonuremic Patients. Armaghane-danesh 2010; 15(3): 283-292 (Persian).
22. Haber MM, West AB, Haber AD, Reuben A. Relationship of aminotransferases to liver histological status in chronic hepatitis C. Am J Gastroenterol 1995; 90(8): 1250-1257.
23. Anand BS, Velez M. Assessment of correlation between serum titers of hepatitis C virus and severity of liver disease. World J Gastroenterol 2004; 10(16): 2409-2411.
24. Altiparmak E, Saritac U, Altintac E, Tureyen A, Oguz D, Sahin T. Relationship between histological damage, viral load and serum transaminase levels in patients with chronic hepatitis C. Turk J Gastroenterol 2001; 12(3): 185-188.
25. Saracco G, Sostegni R, Ghisetti V, Rocca G, Gariti G, Ardreoni M, et al. Hepatitis C virus genotypes in a non-cirrhotic Italian population with chronic hepatitis C: correlation with clinical, virological and histological parameters. Results of a prospective multicentre study. J Viral Hepatitis 2000; 7(2): 124-129.
26. Mahaney K, Tedeschi V, Maertens C, Di Bisceglie AM, Vergalla J, Hoofnagle JH, et al. Genotypic analysis of hepatitis C virus in American patients. Hepatology 1994; 20(6): 1405-1411.
27. Lau JY, Mizokami M, Kolberg JA, Davis GL, Prescott LE, Ohno T, et al. Application of six hepatitis C virus genotyping systems to sera from chronic hepatitis C patients in the United States. J Infect Dis 1995; 171(2): 281-289.
28. Verbeeck J, Maes P, Wollants E, Van der Merwe S, Song E, Nevens F, et al. Use of a commercially available line probe assay for genotyping of hepatitis C virus 5a strains. J Clin Microbiol 2005; 43(12): 6117-6119.
29. Perrillo RP. The role of liver biopsy in hepatitis C. Hepatology 1997; 26(3 Suppl 1): 57S-61S.
30. Akhund AA, Shaikh KR, Naqvi SQH, Kamal M. HCV Genotype in correlation to histopathological grading and stagin in interior Sindh. Gomal J Med Sci 2008; 6(2): 93-97.
31. Hosseini-Moghaddam SM, Keyvani H, Kasiri H, Kazemeyni SM, Basiri A, Aghel N, Alavian SM. Distribution of hepatitis C virus genotypes among hemodialysis patients in Tehran--a multicenter study. J Med Virol 2006; 78(5): 569-573.
32. Verma V, Chakravarti A, Kar P. Genotypic characterization of hepatitis C virus and its significance in patients with chronic liver disease from Northern India. Diagn Microbiol Infect Dis 2008; 61(4): 408-414.
33. Samimi-rad K, Hosseini M, Shahbaz B. Hepatitis C virus infection and hcv genotypes of hemodialysis patients. Iran J Pub Health 2008; 37(3): 146-152.
34. Hejazi MS, Ghotaslou R, Farshdoosty Hagh M, Mohammadzadeh Sadigh Y. Genotyping of Hepatitis C Virus in Northwest of Iran. Biotechnology 2007; 6(3): 302-308.
35. Akkaya O, Kiyici M, Yilmaz T, Ulukaye E, Yerci O. Clinical significance of activity of ALT enzyme in patients with hepatitis C virus. World J Gastroenterol 2007; 13(41): 5481-5485.

Archive of SID

www.SID.ir

36. Abraham R, Ramakrishna B, Balekuduru A, Daniel HD, Abraham P, Eapen CE, et al. Clinicopathological features and genotype distribution in patients with hepatitis C virus chronic liver disease. Indian J Gastroenterol 2009: 28(2): 53-58.

37. Lee YS, Yoon SK, Chung ES, Bae SH, Choe JY, Hn JY, et al. The relationship of histological activity to serum ALT, HCV genotype and HCV RNA titers in chronic hepatitis C. J Korean Med Sci 2001; 16(5): 585-591.

Archive of SID

www.SID.ir