

موتاسیون های HFE در بیماران ایرانی مبتلا به هپاتیت B

دکتر حسین سندی، دکتر طاهره غازیانی، دکتر پیمان ادیبی،

دکتر محمد رضا آگاه، مریم جزایری، دکتر محمد رضا زالی *

* مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: تمرکز اصلی تحقیقات اخیر بر پیدا کردن ارتباط بین موتاسیون های HFE و هپاتیت C بخصوص در بیماران مبتلا به اضافه بار آهن بوده است. ما در مطالعه خود فراوانی این موتاسیون ها و سطح فریتین را در گروهی از بیماران مبتلا به هپاتیت B با درجات مختلف این بیماری و افراد سالم بررسی کردیم.

مواد و روشها: در این مطالعه ۷۵ بیمار دارای آنتی ژن سطحی هپاتیت B (HBsAg-positive) شامل ۱۸ ناقل و ۵۷ مورد مزمن بیماری و نیز ۱۹۴ فرد سالم شرکت داشتند. موتاسیون های C282Y و H63D در تمام افراد، بوسیله هضم آنزیمی محصولات PCR با کمک آنزیمهای محدود کننده اندونوکلاز *RsaI* و *Ksp22I* بررسی شدند.

یافته ها: ۱۵ مورد بیمار (۱۳٪) و ۳۱ فرد کنترل (۱۶٪) برای موتاسیون H63D هتروزیگوت بودند و هیچ تفاوت معنی داری بین آنها وجود نداشت (NS). در مورد موتاسیون C282Y، سه بیمار (۴٪) هتروزیگوت بودند اما در گروه کنترل موتاسیونی پیدا نشد ($p < 0.021$). فراوانی هتروزیگوت بودن برای C282Y در گروه بیماران مزمن ۵/۲٪ بود، درحالی که چنین موردی در گروه ناقلین وجود نداشت. ضمن تفاوت در مورد این موتاسیون بین گروه بیمار و کنترل معنی دار بود ($p < 0.005$). از طرفی هیچ تفاوت معنی داری بین گروه ناقلین و بیماران مزمن از نظر فراوانی موتاسیون های HFE وجود نداشت (NS). بین میانگین سطح فریتین در افراد دارای موتاسیون و بیماران بدون آن نیز تفاوت معنی داری از نظر آماری، ملاحظه نشد (NS).

نتیجه گیری: این اطلاعات نشان می دهند که فراوانی موتاسیون C282Y به طور قابل ملاحظه ای در بیماران دارای مارکرهای سرمی هپاتیت B (seropositive) بالاتر از افراد سالم می باشد. افراد هتروزیگوت از نظر موتاسیون C282Y که در معرض ویروس هپاتیت B قرار گرفته اند ممکن است در معرض ریسک بیشتری برای پایداری ویروس و یا حتی ازمان بیماری باشند.

واژگان کلیدی: HFE، موتاسیون HFE، هپاتیت B.

مقدمه

تیروزین تبدیل می کند (C282Y) و بیشتر افراد مبتلا به هموکروماتوز برای این موتاسیون هموزیگوت هستند (۳). موتاسیون دوم، هیستیدین موقعیت ۶۳ را به آسپارتیک اسید تبدیل می کند (H63D) اما نقش آن در هموکروماتوز هنوز کاملاً مشخص نشده است (۵-۱).

به نظر می آید که شیوع موتاسیون های HFE از منطقه ای به منطقه دیگر متفاوت باشد، به هر حال، براساس مطالعات مختلف، هتروزیگوت بودن برای C282Y در ۶-۱۵ درصد جمعیت قفقازی دیده شده است درحالی که ۱۶-۲۵ درصد

HFE اولین ژن شناخته شده در ارتباط با هموکروماتوز ارثی، در سال ۱۹۹۶ برای اولین بار بوسیله Feder و همکارانش مشابه سازی^۱ شد (۱) و در آن زمان بعنوان HLA-H نامگذاری گردید (۲).

دو موتاسیون missense برای HFE شناخته شده اند. یکی از این موتاسیونها اسیدآمینه سیستین در موقعیت ۲۸۲ را به

¹ Clone

مواد و روشها

ما ۷۵ بیمار دارای آنتی ژن سطحی هیپاتیت B را در دو گروه ناقلین غیرفعال و بیماران با عفونت مزمن ارزیابی کردیم. ۱۸ نفر از ۷۵ بیمار دارای معیارهای گروه ناقل بودند و مابقی (۵۷ نفر) در گروه دارای عفونت مزمن قرار گرفتند.

ناقل غیر فعال به این صورت تعریف شد: فردی که برای شش ماه یا بیشتر از نظر آنتی ژن سطحی هیپاتیت B مثبت باشد و هیچ یافته‌ای، شامل آلانین آمینوترانسفراز بالا (ALT) و یا HBeAg مثبت، دال بر فعالیت بیماری نداشته باشد. معیارهای بیمار دارای عفونت مزمن هیپاتیت B نیز اینگونه است: فردی که از نظر HBSAg مثبت باشد و: (۱) آلانین آمینوترانسفراز (ALT) بالاتر از دو برابر نرمال برای حداقل شش ماه با یا بدون بیوپسی داشته باشد در حالیکه علل شناخته شده دیگر کنار گذاشته شده باشد، یا (۲) ALT بین ۱/۵ تا ۲ برابر نرمال برای حداقل شش ماه، و درجه چهار یا بیشتر (Knodel score) در بیوپسی کبد داشته باشد.

بیماران مثبت از نظر آنتی‌بادی هیپاتیت C (HCV-Ab) به روش الیزا و یا دارای یافته‌های دیگر به نفع بیماریهای شناخته شده کبدی دیگر از این مطالعه حذف شدند.

۱۹۴ فرد سالم بعنوان گروه کنترل انتخاب شدند. این گروه از بین کارکنان بیمارستان و خانواده آنها انتخاب شدند که از نظر HBSAg و آنتی‌بادی هیپاتیت C منفی بودند و نیز آزمایشات عملکرد کبدی آنها در محدوده طبیعی قرار داشت. پس از پرکردن فرم رضایت نامه، نمونه خون از افراد تحت مطالعه گرفته شد و DNA ژنومیک به روش Salting out استخراج شد. آمپلیفیکاسیون نیز بوسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمرز چند تایی^۲ انجام شد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر و با ۵۰-۱۰۰ ng DNA ژنومیک، ۱۰ pmol از پرایمرهای اگزون ۲ ژن HFE (5'-acatggttagcctgttc-3' و 5'-gccacatctgcttgaatt-3')، ۱۵ pmol از پرایمرهای اگزون ۴ ژن HFE (بیماری موتاسیون C282Y) (5'-ccttctccaacctatagaa-3' و 5'-cagccatcccctaacaacaag-3')، ۱/۵ واحد DNA پلی مزاز Taq (super Taq, England)، ۰/۲ میلی مولار از هر نوکلئوتید: dATP، dGTP، dCTP، dTTP، ۲ میکرومولار MgCl₂ و بافر ۱× برای PCR (۵۰ mmol KCl، ۲۰ mmol Tris-HCl، ۰/۴ M PH) انجام شد.

پس از دمای اولیه ۹۴°C برای یک دقیقه، ۳۵ سیکل آمپلیفیکاسیون در ترموسایکلر personal thermocycler

نیز ناقل موتاسیون دوم یا H63D هستند (۸-۶). فرضیه‌های متفاوتی وجود دارند که ارتباط بین موتاسیونهای HFE و ابتلا به هیپاتیت ویروسی را نشان می‌دهند هر چند که اثر پاتوژنیک دو موتاسیون اصلی HFE بر هیپاتیت ویروسی هنوز به طور کامل شناخته نشده است (۹).

بیشتر مطالعات روی عفونت مزمن هیپاتیت C در مقایسه با هیپاتیت B متمرکز شده‌اند، اما نتایج متناقض بوده‌اند، بعضی مطالعات فراوانی بیشتر موتاسیون C282Y را در بیماران مبتلا به هیپاتیت ویروسی، بخصوص هیپاتیت C، در مقایسه با جمعیت طبیعی گزارش کرده‌اند (۱۲-۱۰). با این حال، مطالعات دیگر هیچ تفاوتی بین فراوانی موتاسیونهای HFE در بیماران مبتلا به هیپاتیت و جمعیت طبیعی نشان نداده‌اند (۱۴، ۱۳). مطالعاتی نیز با نتایج متضاد وجود دارند که بعضی ارتباط بین موتاسیون هتروزایگوت C282Y و تجمع آهن در کبد (۱۳، ۱۲، ۱۰)، یا فیبروز کبد در بیماران مبتلا به HCV را نشان می‌دهند (۱۷-۱۵)، در حالیکه برخی هر دو نظریه را رد کرده‌اند (۱۱).

این داستان در مورد هیپاتیت B کمی متفاوت است: بیست و دو سال قبل، Blumberg و همکارانش برای اولین بار نشان دادند که بین آهن سرم و نتیجه هیپاتیت B ارتباط وجود دارد. آنها به این نکته پی بردند که بیماران همودیلیزی که از نظر مارکرهای سرمی هیپاتیت B منفی نمی‌شدند سطوح بالاتری از نظر آهن سرم در مقایسه با بیمارانی داشتند که مارکرهای هیپاتیت B از سرم آنها پاک شده بود و این در حالی بود که هر دو گروه قبل از عفونت سطوح سرمی یکسانی را نشان می‌دادند (۱۸). در مطالعه دیگری که توسط همین گروه انجام شد مجدداً ملاحظه شد که بیماران همودیلیزی با سطح سرمی فریتین بالاتر شانس بالاتری از نظر پایداری عفونت HBV داشتند (۱۹). مطالعات بعدی (۲۴-۲۰) روی پیدا کردن ارتباط بین آهن و ویروس هیپاتیت B متمرکز شدند و مکانیسم‌های مختلفی را برای این تداخل عمل پیشنهاد کردند. در ضمن، براساس دانش ما، تا به حال مطالعه‌ای که فقط روی ارتباط بین موتاسیون HFE و پایداری یا تاریخچه طبیعی هیپاتیت B متمرکز شده باشد، انجام نشده است.

هدف مطالعه فعلی، تعیین تفاوت بین بیماران دارای آنتی ژن سطحی هیپاتیت B (HBSAg-positive) و جمعیت نرمال از نظر فراوانی موتاسیونهای HFE بود. در ضمن ما در نظر داشتیم که ارتباط احتمالی بین وراثت مغلوب موتاسیونهای HFE و پایداری یا ازمان عفونت هیپاتیت B را نشان دهیم.

² Multiplex PCR

Ksp22I مشخص می‌شد. در مورد آللهای هتروزایگوت، باندها در سه ناحیه ۲۰۸bp، ۱۳۸bp و ۷۰bp وجود داشتند. فریتین سرمی بوسیله روش الایزا (Ferritin, ELISA, DRG, USA) اندازه‌گیری شد.

آنالیز این اطلاعات بوسیله نرم افزار SPSS (ver 11) انجام شد. از تست خی دو برای پیدا کردن اختلاف معنی دار بین گروه‌ها و زیرگروه‌های جزو این مطالعه استفاده شد. برای نشان دادن اهمیت آماری و قدرت مطالعه به ترتیب خطای آلفا ۰/۰۵ و خطای بتا ۰/۲ در نظر گرفته شدند.

یافته‌ها

۴۶ بیمار (۶۱٪) مرد و ۲۹ بیمار (۳۹٪) زن بودند. میانگین سنی آنها ۴۰ سال و با محدوده بین ۷۰-۱۰ سال بود. گروه کنترل شامل ۱۰۹ (۵۶٪) مرد و ۸۵ (۴۴٪) زن بود که متوسط سنی ۳۵ سال داشتند و در محدوده سنی ۶۰-۱۶ سال قرار می‌گرفتند.

جدول ۱ نتایج آنالیز برای موتاسیونهای H63D و C282Y را بین ۷۵ بیمار دارای آنتی‌ژن سطحی هیپاتیت B و زیر گروه‌های مختلف آنها (ناقل و مزمن) و نیز ۱۹۴ فرد سالم نشان می‌دهد.

جدول ۱- توزیع فراوانی موتاسیونهای ژن HFE در بیماران با مراحل مختلف هیپاتیت B و کنترل‌های سالم

| گروه | تعداد | ۲۸۲ | ۶۳ | ۲۸۲ | ۶۳ |
|--------|-------|------------|------------|-----------|-----------|
| | | هتروزایگوت | هتروزایگوت | هموزایگوت | هموزایگوت |
| ناقلین | ۱۸ | ۰ | ۲ (۱۱/۱۱) | - | - |
| مزمن | ۵۷ | ۳ (۵/۲) | ۸ (۱۴) | - | - |
| کل | ۷۵ | ۳ (۴) | ۱۰ (۱۳/۳) | - | - |
| کنترل | ۱۹۴ | - | ۳۱ (۱۶) | - | ۴ (۲) |

* اعداد داخل پرانتز معرف درصد است

۱۰ بیمار (۱۳/۳٪) و ۳۱ کنترل (۱۶٪) از نظر موتاسیون H63D هتروزایگوت بودند و هیچ اختلاف قابل توجه آماری در تعداد موتاسیونها بین دو گروه وجود نداشت (NS). از نظر زیر گروه‌ها، این موتاسیون به صورت هتروزایگوت در ۲ نفر از گروه ناقلین (۱/۱۱٪) و ۸ نفر از بیماران مزمن (۱۴٪) دیده شد.

سه فرد بیمار (HBV) دارای موتاسیون C282Y به طور هتروزایگوت وجود داشت درحالیکه در گروه کنترل چنین موتاسیونی اصلاً دیده نشد. تمام این سه بیمار مربوط به گروه بیماران مزمن بودند و یکی از آنها برای هردو موتاسیون هتروزایگوت بود (compound heterozygote). از نظر وجود

(Eppendorf, GmbH, Hamburg, Germany) انجام شد. هرسیکل شامل دنا تورا سبون در ۹۴°C برای ۲۰ ثانیه، اتصال (annealing) در ۵۵°C برای ۲۰ ثانیه و اکستانسبون در ۷۲°C برای ۴۰ ثانیه بود. یک مرحله انتهایی اکستانسبون در ۷۲°C برای ۱۰ دقیقه (Final extension step) این پروسه را خاتمه می‌داد.

برای تأیید درستی شرایط آمپلیفیکاسیون، ۵ میکرولیتر از محصول PCR که نتیجه آمپلیفیکاسیون همزمان آگزون‌های HFE (Coamplification) بود نهایتاً به وسیله الکتروفورز روی ژل آگاروز ۱/۵٪ رنگ‌آمیزی شده توسط اتیدیوم بروماید در ولتاژ 100V برای ۴۰ دقیقه، آنالیز شد. وجود باندهای ۲۰۸ و ۴۸۶ جفت بار (base pair) نشانه انجام صحیح آمپلیفیکاسیون هر دو آگزون (C282Y, H63D) بود. برای تعیین پلی مورفیسم ژن HFE، DNA باقیمانده و تقویت شده (۵μl) به طور همزمان توسط ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم RsaI (10U/ml) و ۰/۱۲۵ میکرولیتر آنزیم Ksp22I (40U/ml) که توسط شرکت (Sibenzyme, Russia) تهیه شده بود و همراه با یک میکرولیتر بافر Tango (Sibenzyme, Russia) در درمای ۳۷ برای سه ساعت نگهداری شد. نتیجه این هضم آنزیمی ایجاد دو باند ۲۹۳ و ۱۹۳ جفت باز بعنوان آلل نوع Wild برای کدون ۲۸۲ ژن HFE (آگزون ۴) و دو باند ۷۰bp و ۱۳۸bp آلل نوع Wild برای کدون ۶۳ (آگزون ۲) ژن HFE بود. برای جدا کردن این قطعات از الکتروفورز در ژل پلی اکریل آمید ۱۰٪ استفاده شد.

پلی مورفیسم کدون ۲۸۲، پس از هضم آنزیمی بوسیله RsaI، از طریق وجود یا عدم وجود باند ۱۹۳bp، ۱۶۴bp تشخیص داده می‌شد. برای این کدون، آلل موتانت دو ناحیه برای هضم توسط (GTAC) RsaI دارا است که باعث شکسته شدن محصول PCR به سه قسمت ۲۹۳، ۱۶۴ و ۲۹ جفت باز می‌شود درحالیکه آلل نوع Wild یکی از نواحی هضم را نداشته و از طریق وجود باندهای ۱۹۳bp، ۱۶۴bp تشخیص داده می‌شود.

موارد هموزایگوت برای تیروزین در کدون ۲۸۲ دارای باندهای ۲۹۳ و ۱۶۴ جفت باز هستند (باند ۲۹bp معمولاً دیده نمی‌شود)، در حالیکه وجود سه باند ۲۹۳bp، ۱۹۳bp، ۱۶۴bp نشانه هتروزایگوت بودن است.

برای کدون ۶۳ ژن HFE، دیده شدن باندها در نواحی ۱۳۸bp و ۷۰bp پس از هضم آنزیمی نشانه آلل نوع Wild بودند. وجود یک باند تنها در ناحیه ۲۰۸ جفت باز نشانه وجود آلل موتانت هموزایگوت بود که با عدم وجود ناحیه هضم آنزیمی توسط

بهتری برای ذخیره کبدی آهن نسبت به اشباع ترانسفرین در بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن است (۲۵).

افراد مبتلا به هپاتیت مزمن معمولاً سطح بالای از مارکرهای سرمی آهن دارند که ممکن است با تجمع کبدی آهن در ارتباط باشد (۲۶). بیشتر محققین بر این اعتقاد هستند که موتاسیونهای ژن HFE، نقش مهمی در تجمع آهن و بنابراین پیشرفت یا ازمان هپاتیت ویروسی بازی می کنند. به هر حال هنوز مشخص نیست که آیا افزایش اندکسهای آهن خود پدیده‌ای به دلیل آسیب کبدی ناشی از هپاتیت ویروسی، التهاب کبدی و تکثیر ویروس است و یا افزایش پارامترهای آهن همراه با موتاسیونهای HFE در پیشرفت بیماریهای کبدی ناشی از هپاتیت ویروسی نقش بازی می کند (۱۴) با این وجود هنوز هیچ یافته‌ای دال بر مضر بودن موتاسیون C282Y به طریق دیگر به جز افزایش تجمع آهن بدست نیامده است (۱۵).

نتایج ما ممکن است این فرضیه را که موتاسیون HFE پیشرفت هپاتیت ویروسی و یا حتی بیماریهای کبدی را مستقل از اثرات اضافه بار آهن تحت تأثیر قرار می دهد، حمایت کند. ممکن است این نتایج مربوط به این واقعیت باشند که ژن HFE یک پروتئین از نوع MHC-I را کد می کند، که ممکن است روی پاسخهای ایمنی اثر داشته باشد (۱۰).

ما هیچ تفاوت معنی‌داری بین میزان هتروزیگوتهای H63D در دو گروه کنترل و بیمار پیدا نکردیم که این نشانه نقش کمتر این موتاسیون در هپاتیت B است، همان نتیجه‌ای که در مطالعات دیگر برای هپاتیت C بدست آمده است. تنها مطالعه در تضاد با مطالعه فعلی، تحقیقی است که Erhardt و همکارانش انجام دادند که در آن فراوانی آلل C282Y در بیماران HCV دوبار بیشتر بود. آنها نشان دادند که هتروزیگوت بودن از نظر H63D در ارتباط با ریسک افزایش یافته فیروز کبد و سیروز می‌باشد (۱۴).

با در نظر گرفتن این نکته که وجود موتاسیون پتانسیل تغییر تاریخچه طبیعی بیماران مبتلا به هپاتیت B را دارد، که البته می‌تواند از طریق یک مکانیسم ناشناخته به دلیل از دست دادن بیان HFE در سطح سلول و یا تغییر در ذخایر آهن کبدی باشد، ما فراوانی موتاسیون C282Y را در زیر گروه‌های مختلف بیماران هپاتیت B (ناقل و مزمن) با یکدیگر مقایسه و آنالیز کردیم. فراوانی این موتاسیون در بیماران مزمن (۵/۲٪) نسبت به ناقلین HBV (۰٪) بیشتر بود. با وجود این، شاید به دلیل تعداد کم گروه ناقلین، ما نتوانستیم تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین این دو گروه نشان دهیم، به هر حال چون

این موتاسیون (C282Y) اختلاف معنی‌داری بین بیماران مبتلا به هپاتیت B و گروه کنترل بدست آمد ($p < 0.021$). در ضمن اختلاف آماری بین بیماران مزمن و گروه کنترل قابل ملاحظه بود ($p < 0.011$), درحالیکه هیچ تفاوتی بین گروه ناقل و کنترل وجود نداشت. هیچ اختلاف معنی‌داری از نظر تعداد موتاسیونهای C282Y نیز بین گروه ناقل و بیماران مزمن بدست نیامد.

۴ فرد گروه کنترل از نظر موتاسیون H63D هموزیگوت بودند در حالیکه در بین بیماران، هیچ مورد هموزیگوتی از نظر موتاسیون C282Y یا H63D دیده نشد.

میانگین سطح فریتین سرم $105/3 \text{ ng/ml}$ و 60 ng/ml به ترتیب در بیمارانی با و بدون وجود موتاسیون C282Y بود. با وجود اینکه بیماران دارای موتاسیون در مقایسه با بیمارانی که این موتاسیون را نداشتند سطح بالاتری از فریتین را نشان دادند، هر دو گروه در محدوده طبیعی ($3/5 - 223/5 \text{ ng/ml}$) در خانمها و $501 - 32$ در آقایان) قرار داشتند. سطح میانگین فریتین در بیماران دارای موتاسیون H63D ($37/6 \text{ ng/ml}$) حتی از سطح فریتین بیماران بدون موتاسیون پایین تر بود. در بین بیمار ارزیابی شده فقط دو بیمار دارای سطح بالای فریتین بودند که در هیچ یک موتاسیون HFE (از هر نوع) دیده نشد.

بحث

ما به این نتیجه رسیدیم که فراوانی موتاسیون C282Y در بیماران مبتلا به هپاتیت B نسبت به گروه کنترل بیشتر بود. این نتیجه در هماهنگی با نتایج دیگر محققین است (۱۲-۱۰). یافته‌های ما در تضاد با یافته‌های Piperno و همکارانش است که اظهار داشتند هیچ تفاوتی در فراوانی موتاسیونهای HFE بین بیماران مبتلا به هپاتیت مزمن و گروه کنترل وجود ندارد (۱۳). در مطالعه آنها، ۱۰ بیمار از نظر آنتی‌ژن سطحی هپاتیت B مثبت بودند، ۹۷ نفر از نظر آنتی بادی هپاتیت C و سه نفر از نظر هر دو مارکر مثبت بودند. نتایج مطالعه فعلی وقتی بیشتر قابل ملاحظه به نظر می‌رسد که ما به این یافته که هیچ تفاوت معنی‌داری در غلظت میانگین فریتین سرم بین بیماران HBV دارای موتاسیون و بدون موتاسیون وجود نداشت، توجه کنیم. حتی یک نفر از تعداد محدود بیماران دارای سطح بالای فریتین نیز موتاسیون HFE نداشتند.

با وجود اینکه ما غلظت کبدی آهن و اشباع ترانسفرین را ارزیابی نکردیم، به نظر می‌آید که سطح فریتین سرم مارکر

انتظار ما مبنی بر اینکه فراوانی این موتاسیون در جمعیت غیرقفقازی پایین است و نیز به دلیل فراوانی پایین این موتاسیون در گروه کنترل (کمتر از ۰/۵٪)، این مطالعه می‌تواند نماینده‌ای از جمعیت کل باشد و پیدا کردن و گزارش موارد هتروزیگوت در بین تعداد کم بیماران هپاتیت B می‌تواند نقطه شروع جالبی برای تحقیقات آینده در این زمینه باشد. براساس این یافته‌ها و به دلیل فراوانی بالاتر موتاسیون C282Y در بیماران دارای سیر مزمن‌تر، مطالعات مشابه با تعداد بیشتر بیماران مبتلا به هپاتیت B ممکن است در تأیید ارتباط بین موتاسیون HFE و سیر طبیعی هپاتیت B کمک کننده باشند.

تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین بیماران مزمن و گروه کنترل نشان داده شد، می‌توان نتیجه گرفت افرادی که برای موتاسیون C282Y هتروزیگوت هستند ممکن است ریسک بالاتری از نظر ازمان عفونت داشته باشند. این مشابه نتیجه‌ای است که Erhardt و Smith در بیماران هپاتیت C یافتند (۱۴،۱۵). Smith و همکارانش در سال ۱۹۹۸ (۱۵) به این نتیجه رسیدند که افراد هتروزیگوت برای هموکروماتوز، فیبروز بیشتری در ارتباط با هپاتیت مزمن C نشان دادند. همچنین Erhardt و همکارانش (۱۴) به نتایج مشابهی در جمعیتی بزرگتر دست یافتند. با وجود اینکه با این مطالعه به تنهایی نمی‌توان وجود هرگونه ارتباط کلینیکی را ثابت کرد، براساس

REFERENCES

1. 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(4): 399-408.
2. Jazwinska EC, Cullen LM, Busfield F, et al. Hemochromatosis and HLA-H. *Nat Genet* 1996; 14(3): 249-50.
3. Jouanolle AM, Gandon G, Jezequel P, et al. Haemochromatosis and HLA-H. *Nat Genet* 1996; 14(3): 251-2.
4. Feder JN, Tsuchihashi Z, Irrinki A, et al. The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts β 2-microglobulin interaction and cell surface expression. *J Biol Chem* 1997; 272(22): 1425-8.
5. Beutler E. The significance of the 187G (H63D) mutation in hemochromatosis. *Am J Hum Genet* 1997; 61(3): 762-4.
6. Worwood M. HFE mutations as risk factors in disease. *Best Pract Res Clin Haematol* 2002; 15(2): 295-314.
7. 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(9084): 321-2.
8. Roberts AG, Whatley SD, Nicklin S, et al. The frequency of hemochromatosis-associated alleles is increased in British patients with sporadic porphyria cutanea tarda. *Hepatology* 1997; 25(1): 159-61.
9. Powell LW, Nathan Subramaniam VN, Yapp TR. Haemochromatosis in the new millennium. *J Hepatol* 2000; 32(Suppl 1): 48-62.
10. Bonkovsky HL, Troy N, McNeal K, et al. Iron and HFE or TfR1 mutations as comorbid factors for development and progression of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2002; 37(6): 848-54.
11. Thorburn D, Curry G, Spooner R, et al. The role of iron and haemochromatosis gene mutations in the progression of liver disease in chronic hepatitis C. *Gut* 2002; 50: 248-52.
12. Kazemi-Shirazi L, Datz C, Maier-Dobersberger T, et al. The relation of iron status and hemochromatosis gene mutations in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1999; 116(1): 127-34.
13. Piperno A, Vergani A, Malosio I, et al. Hepatic iron overload in patients with chronic viral hepatitis: role of HFE gene mutations. *Hepatology* 1998; 28(4): 1105-9.
14. Erhardt A, Maschener-Olberg A, Mellenthin C, et al. HFE mutations and chronic hepatitis C: H63D and C282Y heterozygosity are independent risk factors for liver fibrosis and cirrhosis. *J Hepatol* 2003; 38(3): 335-42.
15. Smith BC, Grove J, Guzail MA, et al. Heterozygosity for hereditary hemochromatosis is associated with more fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1998; 27(6): 1695-9.
16. Pirisi M, Scott CA, Avellini C, et al. Iron deposition and progression of liver disease in chronic hepatitis C. *Am J Clin Pathol* 2000; 113(4): 546-54.
17. Martinelli AL, Franco RF, Villanova MG, et al. Are haemochromatosis mutations related to the severity of liver disease in hepatitis C virus infection? *Acta Haematol* 2000; 102: 152-6.
18. Blumberg BS, Lustbader ED, Whitford PL. Changes in serum iron levels due to infection with hepatitis B virus. *Proc Natl Acad Sci* 1981; 78(5): 3222-4.

19. Lustbader ED, Hann HW, Blumberg BS. Serum ferritin as a predictor of host response to hepatitis B virus infection. *Science* 1983; 220(4595): 423-5.
20. Ishak KG. Light microscopic morphology of viral hepatitis. *Am J Clin Pathol* 1976; 65(5): 787-827.
21. Hengeveld P, Zuyderhoudt FM, Jobsis AC, vanGool J. Some aspects of iron metabolism during acute viral hepatitis. *Hepatogastroenterology* 1982; 29(4): 138-41
22. Sebna M, Nakamura T, Itakura H. Statistical analysis of relationship between iron accumulation and hepatitis B surface antigen. *Am J Clin Pathol* 1985; 84: 340-2.
23. Sutnick AI, Blumberg BS, Lustbader ED. Elevated serum iron levels and persistent Australia antigen (HBsAg). *Ann Intern Med* 1974; 81(6): 855-6.
24. Deugnier Y, Battistelli D, Jouanolle H, et al. Hepatitis B virus infection makers in genetic haemochromatosis. A study of 272 patients. *J Hepatol* 1991; 13(3): 286-90.
25. Barbaro G, Di Lorenzo G, Ribersani M, et al. Serum ferritin and hepatic glutathione concentrations in chronic hepatitis C patients related to the hepatitis C virus genotype. *J Hepatol* 1999; 30(5): 774-82.
26. Beinker NK, Voigt MD, Arendse M, Smit J, Stander IA, Kirsh RE. Threshold effect of liver iron content on hepatic inflammation and fibrosis in hepatitis B and C. *J Hepatol* 1996; 25(5): 633-8.