



تعیین میزان شیوع عفونت ویروس HGV در مبتلایان به سرطان خون

رامین یعقوبی^{۱*}، میترا میرزابی^۱، مانی رمزی^۲، مرجان شاه ایلی^۳

^۱ مرکز تحقیقات پیوند و ترمیم اعضاء شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

^۲ گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی شهر

^۳ مرکز تحقیقات هماتولوژی، بیمارستان نمازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

^۳ گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان

چکیده

زمینه: عفونت ویروس‌های ایجاد کننده هپاتیت بدلیل پتانسیل ایجاد عفونت‌های حاد و مزمن در لکوسیت‌های خونی و بهخصوص لنفوسیت‌ها یکی از علل احتمالی چالش برانگیز در بیماران مبتلا به انواع سرطان‌های خون محسوب می‌گردد. امروزه از میان ویروس‌های مختلف ایجاد کننده هپاتیت ویروسی HGV بدلیل مکانیسم ناشناخته پاتوژن در روند بروز و یا تشدید بدخیمی‌های خونی از جایگاه ویژه‌ای برخوردار شده است. در این تحقیق به منظور تشخیص سریع و به موقع عفونت ویروس HGV و تعیین نقش این ویروس در وضعیت بالینی مبتلایان به سرطان‌های خون، تعیین میزان شیوع و نقش احتمالی این ویروس مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که به صورت گذشته‌نگر انجام گردید، نمونه‌های خون حاوی EDTA در طول مدت دو و نیم سال از ۱۰۰ بیمار مبتلا به انواع سرطان‌های خون و ۱۰۰ نفر مراجعه کننده به این مرکز که عدم ابتلا به سرطان‌های خونی در آنها تأیید شده بود، به عنوان گروه کنترل جمع‌آوری و پس از جداسازی پلاسما از نمونه‌های فوق تا زمان انجام آزمایش در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. به منظور تعیین میزان شیوع عفونت گذشته ویروس‌های HCV، HBV و آنتی‌ژن و آنتی‌بادی‌های ضد این ویروس‌ها با آزمایش ELISA بررسی گردید. همچنین وجود ویرمی ویروس HGV با آزمایش Nested-RT-PCR با آزمایش HCV و HBV بر روی نمونه‌های افراد بیمار و گروه کنترل آزمایش گردید.

یافته‌ها: آنتی‌بادی ضد آنتی‌ژن E2 ویروس HGV (Anti-E2-Ab) تنها در یک نفر از مبتلایان به سرطان خون مشاهده شد که این فرد قادر سابقه ابتلا به عفونت ویروس‌های HCV و HBV بود. همچنین ژنوم HGV در ۴ (۴ درصد) بیمار مبتلا به انواع سرطان خون و یک نفر (۱ درصد) از افراد گروه کنترل گزارش شد و که از میان این افراد تنها در یک نفر از مبتلایان به سرطان خون عفونت هم‌زمان با ویروس HBsAg+ (HBsAg+) تشخیص داده شد. میان فراوانی HBsAg در گروه بیمار و کنترل تفاوت معنی‌دار ($P=0.02$) مشاهده گردید. به علاوه میان فاکتور جنسیت با حضور HBsAg ارتباط معنی‌داری ($P=0.02$) مشاهده شد، اما میان هیچ‌یک از فاکتورهای خطرساز و ایجاد عفونت HGV در افراد بیمار روابط معنی‌داری مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: در این بررسی میزان شیوع پایین عفونت غیرفعال و فعل HGV در بیماران مبتلا به سرطان خون در مقایسه با گروه کنترل مورد تأیید قرار گرفت. همچنین شناسایی عفونت مشترک HGV و HBV می‌تواند توجه سایر محققان را برای مطالعه عفونت این ویروس در جمیعت‌های وسیع‌تر مبتلا به نقصان‌ها و بدخیمی‌های خونی به منظور مدیریت تشخیصی و درمانی صحیح‌تر این گروه از سرطان‌ها جلب کند.

وازگان کلیدی: HGV، HBV، HCV، سرطان‌های خون

دریافت مقاله: ۸۷/۱۰/۲۳ - پذیرش مقاله: ۸۸/۱۱/۲۷

*شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، دانشکده پزشکی

مقدمه

گیرندگان مکرر خون (بیماران هموفیلی، تالاسمی، همودیالیز و مبتلایان به انواع سرطان‌های خونی)، معتادین تزریقی، گیرندگان پیوند عضو، افراد دارای شرکای جنسی متعدد و نوزادان متولد شده از مادران آلووده به عفونت HGV می‌باشند (۱۰-۸). این ویروس قادر به تحریک دستگاه ایمنی می‌باشد و حضور آنتی‌بادی بر علیه پروتئین E2 پوششی ویروس (Anti-E2-Ab) نشانه عفونت قبلی و پاک شدن ویروس از بدن فرد آلووده می‌باشد (۳). مبنای بررسی وجود عفونت فعال این ویروس با سنجش وجود HGV-RNA با روش RT-PCR و مبنای بررسی ابتلا به عفونت گذشته این ویروس با سنجش آنتی‌بادی بر علیه پروتئین E2 با روش ELISA در نمونه‌های خون میسر می‌باشد. هر چند که در زمینه تعیین میزان عفونت HGV در جمعیت‌های مختلف و به خصوص در اهداکنندگان خون مطالعات متعددی انجام شده است و اعلام شده است که به طور کلی آلوودگی به عفونت HGV در اهدا کنندگان خون در کشورهای مختلف دنیا و از جمله ایران (به‌غیر از کشورهای غرب آفریقا که عفونت این ویروس دارای میزان شیوع بالا (۴۰-۵۰ درصد می‌باشد) از یک شیوع نزدیک به یکدیگر و در حدود ۵-۱۰ درصد برخوردار می‌باشد (۶-۴ و ۱۱-۱۳). اما در زمینه تعیین میزان شیوع و نقش اختصاصی عفونت این ویروس در ایجاد بیماری‌های مختلف مطالعات محدود و پراکنده‌ای انجام شده است که سهم بررسی جایگاه عفونت HGV با توجه به پتانسیل عفونت‌زاوی این ویروس در لکوسیت‌های خونی و به خصوص لنفوسیت‌ها در ایجاد و یا تشديد علایم بالینی مبتلایان به سرطان خون بسیار ناچیز می‌باشد.

احتمال بروز انواع سرطان خون یا لوسمی (Leukemia) با علت‌های گوناگون به صورت حاد و مزمن در افراد مختلف اجتماع وجود دارد. امروزه از میان علل متعدد و مختلف مؤثر در ایجاد سرطان‌های خون یا محققان بر اهمیت فعالیت بعضی از ویروس‌های ایجاد‌کننده هپاتیت به عنوان فاکتورهای خطرساز و تسهیل‌کننده سرطان خون تأکید دارند (۱ و ۲). با توجه به شیوع بالا ویروس‌های HCV و HBV در جامعه بیشتر مطالعات بررسی تعیین نقش احتمالی HCV در افزایش احتمال بروز انواع سرطان‌های خون معطوف گردیده است (۱ و ۲)، اما پتانسیل حضور سایر ویروس‌های ایجاد‌کننده هپاتیت مزمن به غیر از HBV و HCV در خون و سلول‌های خونی (لنفوسیت‌ها) از قبیل عفونت ویروس هپاتیت نوع G (HGV) و عدم مطالعه دقیق فاکتورهای ایمونولوژیک و مولکولی ویروس فوق در مبتلایان به انواع سرطان‌های بدخیم و خوش‌خیم خونی در این دسته از بیماران را نیز نمی‌توان نادیده گرفت (۳-۷). ویروس HGV که با عنوان GBV-C نیز شناخته می‌شود، متعلق به خانواده فلاوی ویرویده می‌باشد و با برخورداری از RNA ژنومی مثبت از لحاظ ساختار ژنومی و خصوصیات بیولوژیک به ویروس HCV از اعضای همین خانواده بسیار شبیه می‌باشد (۸). این ویروس اولین بار در سال ۱۹۹۵ از خون یک جراح که در سال ۱۹۵۰ به هپاتیت ایکتیریک حاد مبتلا شد به دست آمد (۱ و ۲). این ویروس به آسانی از راه انتقال خون و فراورده‌های خونی و یا از راه مواجهه با خون مثل تزریق داخلی وریدی و همودیالیز منتقل می‌شود. بنابراین گروه‌های در معرض خطر ابتلا به عفونت این ویروس شامل

بیمارستان نمازی شیراز در فاصله زمانی فروردین ۱۳۸۳ تا خرداد ماه ۱۳۸۵ و بیماران فاقد هرگونه اختلالات خونی و بستری در سایر بخش‌های همین بیمارستان در این تحقیق مورد مطالعه قرار گرفتند. هم‌زمان با گرفتن یک نمونه خون حاوی EDTA از هر یک از ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان خون و ۱۰۰ بیمار گروه کنترل، برای هر بیمار نیز یک فرم پرسشنامه با مشخصات از قبیل: سن، جنس، وضعیت تأهل، سطح تحصیلات، شغل، استعمال دخانیات، دریافت خون، دریافت پیوند مغز استخوان، اعمال جراحی و سابقه ابتلا به عفونت‌های ویروسی از جمله HIV تهیه گردید. پلاسمای هر یک از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده پس از جداسازی در فریزر ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند. عوامل مداخله‌گر: به منظور بررسی دقیق جایگاه عفونت ویروس HGV در بروز و یا تشدید علایم بالینی در بیماران مبتلا به انواع سرطان خون هر یک از نمونه‌های HGV فوق پیش از بررسی از نظر امکان وجود عفونت HGV از نظر سابقه وجود عفونت ویروس‌های HBV و HCV مورد بررسی قرار گرفتند.

آزمایش‌های ایمنولوژی

ارزیابی وجود آنتی‌بادی ضد HCV

به منظور تشخیص سابقه عفونت HCV در افراد مورد مطالعه در این بررسی، وجود و یا عدم وجود آنتی‌بادی ضد این ویروس در نمونه پلاسمای جمع‌آوری شده از گروه بیماران و گروه کنترل با استفاده از نسل سوم کیت‌های ELISA، شرکت Diagnostic bioprobe (DIA.PRO) (ایتالیا) بر اساس دستور کار موجود در کیت انجام شد.

که در زیر به نمونه‌ای از این مطالعات اشاره می‌گردد: آقای گیانولیس (Giannoulis) و همکاران تأثیر عفونت ویروس‌های HCV و HGV را در بیماران مبتلا به B-NHL بررسی کردند و فقط توانستند آنتی‌بادی ضد HCV را ردیابی کنند اما در همین زمان در آلمان ثابت شد که HGV بهدلیل حضورش در لنفوسيت‌ها افراد مبتلا به B-NHL یک ویروس Lymphotrophic (Idilman) و همکاران نیز بیان کردند که HGV می‌تواند به عنوان یک ریسک فاکتور در ایجاد سرطان‌های خون عمل می‌کند (۱۵).

از طرف دیگر خانم میتون (Minton) و همکاران با مطالعه بر روی بیماران مبتلا به لینفوما و دهنده‌های خون طبیعی حضور HGV را در مبتلایان به لینفوما تأیید کردند (۱۶) و در آخر آقای یاماذا (Yamada) و همکاران با مطالعه بر روی بیماران دریافت‌کننده پیوند مغز استخوان متوجه شدند که بر اثر سرکوب سیستم ایمنی علاوه بر HCV ویروس HGV هم باعث درگیری‌های کبدی شده و میزان آمینوترانسفرازهای کبدی را تغییر داده است (۱۷).

بنابراین با توجه به لینوتروپیسم ویروس HGV و عدم مطالعه میزان شیوع و نقش این ویروس در ایجاد و یا تشدید علایم بالینی در مبتلایان به انواع سرطان خون، بررسی میزان شیوع عفونت ویروس HGV در بیماران مبتلا به سرطان‌های خون در حضور گروه کنترل مورد توجه قرار گرفت.

مواد و روش‌کار

بیماران و نمونه‌ها

بیماران مبتلا به انواع مختلف سرطان خون حاد و مزمن بستری در بخش هماتولوژی-آنکولوژی

-۳۵ ثانیه مخلوط کردن به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ نمونه ها سانتریفیوژ گردید. پس از تخلیه فاز آبی ایجاد شده، به رسوب باقیمانده مقدار ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد افزوده و پس از ۵-۳ ثانیه مخلوط کردن نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. در پایان پس از دور ریختن فاز آبی ایجاد شده برای مدت ۲۰-۳۰ دقیقه رسوب باقیمانده در دمای اتاق نگهداری شده تا کمی خشک گردد و سپس به هر میکروتیوب مقدار ۳۰ میکرولیتر آب حاوی DEPC اضافه کرده و RNA استخراج شده تا زمان انجام آزمایش RT-PCR در فریزر -۸۰ درجه سانتی گراد نگه می شود.

آزمایش HGV-Nested-RT PCR

طراحی و تولید پرایمر

ابتدا تراودهای مربوط به ناحیه ۵'-UTR سویه های مختلف ویروس HGV، از بانک اطلاعاتی NCBI جمع آوری و با استفاده از روش multiple alignment تراودهای مورد نظر از نظر Alignment software اختصاصیت و ساختمان مولکولی مورد ارزیابی و مقایسه قرار گرفت. در پایان نیز با بهره گیری از نرم افزار Gene Runner دو جفت پرایمر اختصاصی برای تکثیر دو قطعه از ژنوم HGV بصورت Nested-RT-PCR طراحی گردید و برای تولید به شرکت Pioneer سفارش داده شد. تراوaf جفت پرایمر شامل:

بیرونی ۵'-GGTCGTAAATCCCGGTCAACC-3' و ۳'-CCCACTGGTCCATTGTCAACT-5' یک قطعه ۲۶۲ جفت باز را تکثیر می کند. همچنین جفت

ارزیابی وجود آنتیژن HBsAg (HBs)

سابقه ابتلا به عفونت ویروس HBV در افراد مبتلا به سرطان خون و کنترل از طریق تعیین میزان آنتیژن سطحی ویروس هپاتیت B یا HBsAg در نمونه پلاسمای جمع آوری شده از این افراد با استفاده از DIA.PRO، شرکت ELISA (Diagnostic bioprobe I)، ایتالیا) براساس دستور کار موجود در کیت، صورت گرفت.

ارزیابی وجود آنتی بادی ضد HGV

امکان وجود عفونت گذشته HGV از طریق تعیین آنتی بادی تولید شده بر علیه پروتئین E2 پوششی ویروس (Anti-E2-Ab) در نمونه پلاسمای جمع آوری شده از گروه بیماران به کمک نسل سوم کیت های ELISA Amerika و بر اساس دستور Diagnostic automation کار موجود در کیت، مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش های مولکولی استخراج RNA

برای استخراج ژنوم HGV از نمونه های پلاسمای جمع آوری شده از مبتلایان به سرطان خون و افراد گروه کنترل از روش فنل کلروفرم تغییر یافته که شرح آن در زیر می آید استفاده شد: در این روش ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از نمونه های پلاسمای ۵۰۰ میکرولیتر از محلول RNX plus تا زمان حل شدن توده تشکیل شده مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه بر روی بخش قرار داده شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از کلروفرم به محلول بدست آمده اضافه و پس از ۵-۳ ثانیه مخلوط کردن به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. به فاز آبی به دست آمده پس از انتقال به میکروتیوب های جدید به میزان هم حجم آنها (۲۵۰-۳۰۰ میکرولیتر) ایزوپروپانول اضافه و پس از

مخلوط مرحله اول واکنش Nested-RT-PCR از ترکیباتی که در زیر می‌آید تکثیر شد: مقدار ۲/۵ میکرولیتر از PCR-Buffer با غلظت یک برابر، مقدار ۰/۷۵ میکرولیتر از MgCl₂ با غلظت ۱/۵ میل مول، مقدار ۰/۵ میکرولیتر از dNTPs با غلظت ۲۰۰ میلی مول، مقدار ۰/۲۵ میکرولیتر از پرایمرهای بیرونی با غلظت ۰/۰ میکرومول، مقدار ۰/۲۵ میکرولیتر از آنزیم Taq polymerase میکرولیتر از cDNA سترز شده به همراه مقدار ۱۸ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه پس از تولید مخلوط فوق در کنار کنترل‌های منفی و مثبت مرحله اول واکنش RT-PCR با برنامه ترموسایکلر شامل سیکل آول: دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، سیکل دوم: ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵۰ ثانیه برای ۲۵ سیکل و سیکل سوم: ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه انجام می‌گردید.

HGV-Nested-RT PCR
در مرحله دوم آزمایش Nested-RT-PCR به کمک پرایمرهای درونی یک قطعه ۱۸۸ جفت باز از ژنوم HGV-RNA از قطعه ۲۶۲ جفت باز تکثیر شده در مرحله اول تولید می‌شد. مواد تشکیل‌دهنده مخلوط مرحله دوم آزمایش Nested-RT-PCR شامل: مقدار ۰/۵ میکرولیتر از PCR-Buffer با غلظت یک واحد، ۰/۷۵ میکرولیتر از MgCl₂ با غلظت ۰/۵ میلی مول، ۰/۵ میکرولیتر از dNTPs با غلظت ۰/۲۵ میلی مول، ۰/۰۵ میکرولیتر از پرایمرهای درونی با غلظت ۰/۱ میلی مول، ۰/۲۵ میکرولیتر از آنزیم Taq polymerase میکرولیتر از PCR محصول مرحله اول به همراه ۱۸ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه بود. مخلوط تولید شده

پرایمر درونی شامل: ۵'-TAGCCACTAGAGGTGGTCT-۳' و ۵'-ATTGAAGGGCGACGTGGACC-۳' قطعه داخلی قطعه ابتدایی به طول ۱۸۸ جفت باز را تکثیر می‌کند.

cDNA تولید

برای تولید cDNA از ژنوم HGV مخلوطی شامل: مقدار ۴ میکرولیتر از RT-PCR-Buffer با غلظت یک برابر از Random Hexamer ۱ میکرولیتر، ۱ میکرولیتر از RNase Inhibitor با غلظت ۴۰ واحد در هر میکرولیتر، مقدار ۰/۵ میکرولیتر از آنزیم ریورس ترانسکریپتاز M-Mulv با غلظت ۲۰۰ ماکرومول، مقدار ۰/۷۵ میکرولیتر از آنزیم در هر میکرولیتر و مقدار ۸/۲۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه و در میکروتیوب‌های ۰/۵ میکروتیوی ریخته می‌شود. سپس به مخلوط فوق مقدار ۳ میکرولیتر از HGV-RNA استخراج شده اضافه و مخلوط می‌شود. باید توجه داشت که در میکروتیوب کنترل منفی چیزی به مخلوط تولید cDNA اضافه نشده و در میکروتیوب کنترل مثبت به مخلوط فوق کنترل مثبت اضافه می‌گردید. پس از اتمام مراحل اضافه کردن RNA درب تیوب‌ها بسته شد و در شرایط استریل میکروتیوب‌ها به دستگاه ترموسایکلر منتقل می‌شدند. ۲۵ برنامه تولید C-DNA از یک سیکل شامل شرایط درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۴۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه تشکیل می‌شد.

مرحله اول آزمایش

با استفاده از پرایمرهای بیرونی یک قطعه ۲۶۲ جفت باز از cDNA تولید شده از ژنوم HGV با استفاده از

$P < 0.05$) تعیین گردید.

یافته‌ها

یکصد بیمار شرکت داده شده در این تحقیق از نظر نوع سرطان خونی که به آن مبتلا بودند به قرار زی طبق‌بندی می‌شوند: ۲۹ نفر مبتلا به لوسومی لنفاوی حاد می‌شوند (ALL, n=۲۹)، ۱۲ نفر مبتلا به لوسومی لنفاوی مزمن (CLL, n=۱۲)، ۴۵ نفر مبتلا به لوسومی میلوئیدی حاد (AML, n=۴۵)، ۲ نفر مبتلا به لوسومی میلوئیدی مزمن (CML, n=۲)، ۶ نفر مبتلا به مالتیپل میلوما (M.M, n=۶) و ۴ نفر مبتلا به سایر انواع لوسومی (n=۴) و ۱۰۰ بیمار گروه کنترل می‌باشد. از میان ۱۰۰ بیمار مبتلا به سرطان خون ۶۳ نفر مرد و ۳۷ نفر زن با میانگین سنی ۴۱ سال و از میان ۱۰۰ بیمار گروه کنترل ۳۹ نفر مرد و ۶۱ نفر زن با میانگین سنی ۳۶ سال وجود داشتند.

آلودگی به عفونت HCV

سابقه ابتلا به عفونت HCV و وجود آنتی‌بادی ضد این ویروس (HCV-Ab) در ۳ نفر (۳ درصد) از بیماران مبتلا به انواع سرطان خون یافت شد. اما آنتی‌بادی ضد HCV در هیچ یک از افراد گروه کنترل شناسایی نگردید. میان شیوع عفونت HCV در افراد بیمار در مقایسه با افراد گروه کنترل تفاوت معنی‌دار ($P = 0.123$) مشاهده نگردید. میان عفونت HCV و فاکتورهای خطرساز بررسی شده رابطه معنی‌دار مشاهده نگردید.

آلودگی به عفونت HBV

عفونت ویروس HBV از نظر سابقه وجود آنتی‌زن سطحی ویروس هپاتیت B (HBsAg) در ۸ نفر (۸ درصد) از گروه بیمار و تنها در ۲ نفر (۲ درصد) از افراد گروه کنترل تشخیص داده شد. میان شیوع عفونت HBV در افراد بیمار در مقایسه با افراد گروه کنترل تفاوت

در کنار کنترل‌های منفی و مثبت مرحله دوم واکنش RT-PCR با برنامه ترموسایکلر شامل سیکل اول: دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سیکل دوم: ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه، ۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۰ ثانیه برای ۳۵ سیکل و سیکل سوم: ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، انجام گردید.

آشکارسازی محصول RT-PCR

با استفاده از غلظت ۱/۵ (درصد) ژل آگاروز تهیه شده در بافر TAE و $\text{PH}=7/8$ محصولات مرحله دوم آزمایش HGV-Nested-RT PCR الکتروفورز و با محلول اتیدیوم بروماید باندهای ایجاد شده بر روی ژل رنگ آمیزی شده و سپس عکس برداری گردیدند.

آنالیز آماری

در این مطالعه میزان شیوع عفونت ویروس HGV در بیماران مبتلا به انواع سرطان خون و همچنین نقش فاکتورهای خطرساز در تشدید و تقویت عفونت این ویروس مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. به همین منظور در این تحقیق از روش‌های آنالیز آماری موجود در نرم‌افزار کامپیوتری SPSS (SPSS Inc USA, IL, Chicago, Inc) نسخه ۱۵ استفاده گردید. روش‌های تحلیلی مورد استفاده شامل: آنالیزهای Explore, Crosstab و توصیفی با روش‌های Frequencies و تعیین روابط معنی‌دار در میان داده‌ای به دست آمده از این تحقیق با روش‌های Parametric and nonparametric شامل: Two-tailed Fisher's exact test, chi-square bivariate and normal correlation روش‌های همچنین سطح معنی‌دار روابط آماری بررسی شده

(دوگانه و سهگانه) ویروس‌های HGV و HBV و HCV (دوگانه و سهگانه) ویروس‌های HGV و HBV در هیچ‌یک از افراد گروه کنترل تشخیص داده نشد.

تحلیل آماری رابطه میان نتایج اطلاعات پرسشنامه‌ای با عفونت ویروس‌های HCV، HGV و HBV

از میان تمامی عوامل خطرساز مطرح شده در پرسشنامه تنها میان عامل جنسیت و میزان مثبت بودن شاخصه HBs Ag ارتباط معنی‌دار مشاهده گردید و میان هیچ‌یک از عوامل خطرساز مانند اعمال جراحی، پیوند مغز استخوان، سابقه عفونت HIV و دریافت خون با شاخصه‌های سرولوژی و مولکولی عفونت‌زایی این سه ویروس ارتباط معنی‌داری مشاهده نگردید.

تحلیل وضعیت مبتلایان به عفونت فعال و گذشته HGV
از ۴ بیمار مبتلا به سرطان خون آلودگی به عفونت فعال ویروس HGV (مثبت از نظر HGV-RNA) دو بیمار زن و دو بیمار مرد بودند. از این بیماران دو بیمار مبتلا به سرطان خون از نوع ALL و دو بیمار مبتلا به سرطان خون از نوع AML بودند. در تمامی این بیماران سابقه دریافت خون و شیمی درمانی مشاهده شد.

این ۴ بیمار تنها در یک بیمار سابقه عمل جراحی و در یک بیمار سابقه مصرف دخانیات گزارش شد. تنها یکی از این بیماران علاوه بر آلودگی به عفونت ویروس HGV سابقه ابتلا به سایر ویروس‌های شایع قابل انتقال از طریق خون و فراورده‌های خونی مانند ویروس‌های هپاتیت و ایدز یعنی داشتند. همچنین ۳ نفر از این بیماران جوان و در رده سنی ۳۰-۶۰ سال و تنها یک بیمار پیر و در رده سنی ۵۰-۶۰ سال قرار داشت. هیچ‌یک از این بیماران سابقه خالکوبی، حجامت، سابقه مصرف مواد مخدر تزریقی و غیرتزریقی، سابقه جراحت شیمیایی و سابقه دیالیز نداشتند. به علاوه هیچ‌کدام از این بیماران به‌دلیل ابتلا به سرطان خون تحت

معنی‌دار ($P=0.02$) مشاهده شد. همچنین به‌غیر از ارتباط معنی‌دار شیوع عفونت HBV با فاکتور جنسیت HBV ($P=0.02$) رابطه معنی‌دار دیگری میان عفونت HBV و فاکتورهای خطرساز بررسی شده مشاهده نگردید.

آلودگی به عفونت HGV

نتایج بررسی میان آلودگی افراد گروه مبتلا به سرطان خون و افراد گروه کنترل به عفونت HGV از نظر سرولوژیکی و از نظر مولکولی عبارتست از: از نظر HGV سرولوژی آتی‌بادی ضدآتنی‌ژن E2 ویروس (Anti-E2-Ab) تنها در یک نفر (۱ درصد) از مبتلایان به سرطان خون مشاهده شد که این فرد فاقد سابقه ابتلا به عفونت ویروس‌های HCV و HBV بود.

از نظر مولکولی ژنوم HGV در ۴ بیمار (۴ درصد) مبتلا به انواع سرطان خون گزارش شد. که از میان این افراد تنها در یک نفر عفونت همزمان با ویروس HBV (نتیجه مثبت HBsAg) تشخیص داده شد. از افراد گروه کنترل نیز تنها یک نفر (۱ درصد) به عفونت HGV-RNA آلودگی به عفونت ویروس‌های HCV و HBV در این بیمار مشاهده نگردید. همچنین میان عفونت HCV و فاکتورهای خطرساز بررسی شده رابطه معنی‌دار مشاهده نگردید.

آلودگی به عفونت همزمان ویروس‌های HCV و HBV

از یکصد بیمار مبتلا به انواع سرطان خون تنها در یک بیمار عفونت همزمان ویروس‌های HCV و HBV تشخیص داده شد. عفونت همزمان ویروس‌های HGV نیز تنها در یک بیمار مشاهده شد. اما عفونت همزمان ویروس‌های HCV و HGV و همچنین عفونت همزمان سه ویروس HCV و HBV در هیچ‌یک از افراد بیمار مشاهده نشد. به علاوه عفونت همزمان

فعال و یا پایدار در لکوسیت‌های خونی و به خصوص لمفوسیت‌ها از جایگاه ویژه‌ای برخوردار می‌باشد (۳-۷). در سال‌های اخیر بیشتر محققان به بررسی نقش و جایگاه ویروس‌های شایع هپاتیت از جمله ویروس‌های HBV و HCV در نحوه بروز و یا تشدييد بيماري انواع سرطان خون پرداخته (۱۸-۲۰) و بر بررسی مکانیسم ناشناخته پاتوژن‌ویروس دیگر هپاتیت یا HGV در روند بیماری بدخیمی‌های خونی کمتر متوجه شده‌اند. بنابراین در این مطالعه به عنوان اولین گام تعیین میزان شیوع سرولوژیکی و مولکولی این ویروس در مبتلایان به لوسومی مورد توجه قرار گرفت. در این بررسی میزان شیوع ژنوم HGV در نمونه‌های خون افراد کنترل تنها ۱ درصد بود.

همچنین شیوع عفونت فعال و گذشته HGV در دو مطالعه جداگانه در اهداف‌گان خون در تهران به ترتیب ۱ درصد و ۴/۲ درصد گزارش گردید (۱۱ و ۱۲). در صورتی که در ایالات متحده فراوانی HGV-RNA که نشانه‌ی عفونت فعال ویروس است ۱-۷ درصد، در کشورهای غربی مانند فرانسه، آلمان، اسپانیا، ایتالیا، چک، یونان، نروژ، اسکاتلند، به ترتیب میزان فراوانی هپاتیت G فعال ۳/۲، ۱/۹-۴، ۱/۹-۷، ۰/۵-۹، ۲/۱۵، ۱/۲-۳، ۰/۵-۲ و ۲/۲۵ درصد برآورد گردیده است و در کشورهای آسیایی مثل تایوان، عربستان و چین نیز میزان شیوع هپاتیت G ۳، ۴، ۰/۵-۲ و ۱ درصد گزارش شده است (۴).

در آمریکای جنوبی نیز فراوانی ویروس، آمار متفاوتی دارد به گونه‌ای که به ترتیب در آرژانتین، بولیوی و بربادیل ۵/۵ درصد، ۱۴/۶ درصد و ۹-۱۰ درصد تخمین زده شده است (۵). اما میزان شیوع HGV-RNA در مبتلایان به سرطان خون ۴ درصد و میزان شیوع Anti-E2-Ab در این بیماران ۱ درصد تعیین شد.

عمل پیوند مغز استخوان قرار نگرفته بودند. همچنین یک بیماری که از نظر سرولوژی سابقه ابتلا به عفونت گذشته ویروس HGV-Ab (HGV) مثبت را داشت نیز آقایی ۲۴ ساله و مبتلا به سرطان خون از نوع ALL بود. در این بیمار سابقه دریافت خون و شیمی درمانی وجود داشت اما سابقه عمل جراحی و یا دریافت پیوند مغز استخوان گزارش نشد. این بیمار سابقه ابتلا به سایر ویروس‌های شایع از طریق خون و فراورده‌های خونی مانند ویروس‌های هپاتیت و ایدز را نداشت. اما این بیمار سابقه مصرف دخانیات را داشت. در این بیمار نیز سابقه خالکوبی، حجامت، سابقه مصرف مواد مخدر تزریقی و غیرتزریقی، سابقه جراحت شیمیایی و سابقه دیالیز دیده نشد.

بحث

محققان بر این عقیده‌اند که عوامل متعددی از قبیل عوامل ژنتیکی، فیزیولوژیکی، جسمانی، بیماری‌های زمینه‌ای، عوامل عفونی و غیرعفونی در ایجاد و یا تشدييد عالیم بالینی بروز کرده در مبتلایان به انواع سرطان خون حاد و مزمن به‌طور مستقیم و غیرمستقیم تأثیر دارند (۴-۱). به‌همین منظور بررسی هر یک از عوامل یاد شده در دستور کار محققانی که در زمینه بیماری‌های هماتولوژی و انکولوژی فعالیت دارند، می‌باشد.

از میان عوامل عفونی که احتمال دارد در بروز و یا تغییر تابلو بالینی بیماران مبتلا به انواع سرطان خون حاد و مزمن نقشی داشته باشند، عفونت ویروس‌های ایجاد‌کننده هپاتیت به‌دلیل برخورداری از پتانسیل ایجاد عفونت گسترده در جمعیت‌های گوناگون، قابلیت انتشار سریع از طریق ترشحات مختلف بدن و خون و فراورده‌های خونی و همچنین توانایی ایجاد عفونت

متلایان به ویروس HIV نیز گزارش شده است (۱۳). در نهایت، شناسایی عفونت گذشته و فعل HGV در این بررسی که برای اولین بار از نوع خود در بیماران متلا به سرطان خون انجام می‌شود هر چند که از شیوع پایین این ویروس در این بیماران حکایت دارد اما می‌تواند توجه سایر محققان را برای مطالعه عفونت این ویروس در جمیعت‌های دیگر و وسیعتر متلا به نقص‌ها و بدخیمی‌های خونی بهمنظور مدیریت تشخیصی و درمانی صحیح‌تر این گونه از بیماری‌ها جلب کند.

تشکر و قدردانی

در این قسمت برخود لازم دانسته تا از خانم‌ها نرگس رضایی و ویدا مؤید و آقایان نادر کهن و مهدی روشن‌نیا به‌دلیل همکاری در جمع‌آوری نمونه‌ها کمال تشکر را داشته باشیم.

References:

- Visona K, Baez F, Taylor L, et al. Impact of hepatitis Band hepatitis C virus infections in a hematology-oncology unit at children hospital in Nicaragua, 1997 to 1999. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9: 622-6.
- Takai S, Tsurumi H, Andok, et al .Prevalence of hepatitis B and C virus infection in haematological malignancies and liver injury following chemotherapy. Eur J Haematol 2005; 74: 158-65.
- Cacoub P, Rosenthal E, Gerolami V, et al. Transfusion-associated TT virus co-infection in patients with hepatitis C virus is associated with type II mixed cryoglobulinemia but not with B-cell non-Hodgkin lymphoma. Clin Microbiol Infect 2003; 9: 39-44.
- Zhong S, Yeo W, Tang MW ,et al. Gross elevation of TT virus genome load in the peripheral blood mononuclear cells of cancer patients . Ann N Y Acad Sci 2001; 945: 84-92.
- Pavlova BG, Heinz R, Selim U,et al. Association of GB virus C (GBV-C) hepatitis G virus (HGV) with hematological disease of different malignant potential . J Med Virol 1999; 57: 361-6.
- Pagano JS, Blaser M, Buendia MA, et al .Infectious agents and cancer: criteria for causal relation. Semin Cancer Biol 2004; 14: 453-71.
- Minton J, Iqbal A, Eskiturk A, et al. Hepatitis G virus infection in lymphoma and in blood donors. J Clin Pathol 2005; 51: 675-8.
- Knipe DM, Howley PM, editors. Fields virology. 5th ed. Lippincott Williams and Wilkins, 2007.
- Linnen J, Wages JJ, Zhang-Keck ZY, et al. Molecular cloning and disease association of hepatitis G virus: a transfusion-transmissible agent. Science 1996; 271: 50-8.
- Kupfer B, Ruf T, Matz B, et al ;Comparison of GB virus C, HIV, and HCV infection

همچنین در یک مطالعه که بر روی متلایان به نقص‌های خونی در تهران انجام شد میزان شیوع ۱۲/۹ این ویروس در بیماران تالاسمی به ترتیب Anti-E2-Ab ۱۱) و در مطالعه دیگر شیوع ۲۵ درصد (۱۸). همچنین سابقه سرولوژیکی عفونت HGV در ۳۱/۳ درصد از بیماران هموفیلی و ۲۲/۷ درصد از بیماران همودیالیزی نیز شناسایی گردید.

عفونت همزمان HGV با سایر ویروس‌های شایع قبل انتقال از راه خون تنها در یک بیمار به صورت عفونت همزمان HGV و HBV تشخیص داده شد. در صورتی که عفونت همزمان این ویروس با HCV در در متلایان به لنفوم غیرهوچکین (۱۴)، در بیماران لمفوم هوچکین (۱۹) و در گیرندگان پیوند مغز استخوان (۱۷) گزارش شده بود. عفونت همزمان این ویروس با عفونت HCV در بیماران همودیالیزی، هموفیلی و تالاسمی نیز در ایران گزارش شده بود (۱۲). همچنین عفونت این ویروس در ۱۵/۵ درصد از

- markers in hemophiliacs exposed to non-inactivated or inactivated factor concentrates. *J Clin Viro* 2005; 34: 42-7.
- 11.Amini S, Andalibi-Mahmoodabadi S, Lamian S, et al. Prevalence of hepatitis G virus (HGV) in high-risk groups and blood donors in Tehran,Iran. *Iranian J Publ Health* 2005; 34: 41-6.
 - 12.Gharehbaghian A, Tavakoli S, Amini Kafibad S, et al. Seroepidemiologic HGV in blood donors, haemodialysis patients,haemophiliacs and major thalassemics with history of liver disease. *SJIBTO* 2005; 2: 189-96.
 - 13.Purfatollah AA, Haji Molla Hosseini M, Soheili S, et al. Frequence of active HGV infection in patients with human immuno deficiency virus infection in Tehran (2005). *Feiz* 2007; 11: 45-50.
 - 14.Giannoulis E, Economopoulos T, Mandraveli K, et al. The prevalence of hepatitis C and G virus infection in patient with B cell non hodgkin lymphoma in Greece. *Acta Hematol* 2004; 112: 189-93.
 - 15.Idelman R, Ustun C, Aslan O, et al. The incidence of hepatitis G virus in patients with hematological malignancies. *Turk J Hematol* 2000; 17: 67-71.
 - 16.Minton J, Iqbal A, Eskiturk A, et al. Hepatitis G virus infection in lymphoma and in blood donors. *J Clin Pathol* 1998; 51: 676-8.
 - 17.Yamada M, sumazaki O, et al. Persistence and clinical outcome of hepatitis G virus infection in pediatric bone marrow transplantation recipients and children treated for hematological malignancy. *Blood* 1999; 93: 721-7.
 - 18.Michaeils S, Kazakov DV, Schmid M, et al. Hepatitis C and G viruses in B-cell lymphomas of the skin. *J Culan Pathol* 2003; 30: 369-72.
 - 19.keresztes K, takacs M, Horanyi M, et al. HCV and HGV infection in Hodgkin's disease. *Pathol Oncol Res* 2003; 9: 222-5.
 - 20.Esmaeili H, Hajiani GHR, Mankhian AR, et al. Seroepidemiological survey of hepatitis B, C, HIV and syphilis among blood donors in Bushehr-Iran. *Iran South Med J* 2009; 11: 183-90.